

ELOY JUNIOR REZENDE

**EFEITO DE NÚCLEO MINERAL E DE *Lentilactobacillus buchneri* SOBRE O PERFIL
FERMENTATIVO DE SILAGEM DE RAÇÃO EM MISTURA TOTAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Odilon Gomes Pereira

Coorientadoras: Karina Guimarães Ribeiro
Fernanda Helena M Chizzotti

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus**

T

R467e
2022

Rezende, Eloy Junior, 1994-
Efeito de núcleo mineral e de *Lentilactobacillus buchneri* sobre o perfil fermentativo de silagem de ração em mistura total: / Eloy Junior Rezende. - Viçosa, MG, 2022.
1 tese eletrônica (47 f.): il.
Orientador: Odilon Gomes Pereira
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, 2022.
Inclui bibliografia.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.736>
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Bovinos de corte - Alimentação e rações; 2. Antibióticos na nutrição animal; 3. Minerais na nutrição animal; 4. Forragem - Conservação; I. Pereira, Odilon Gomes II. Universidade Federal de Viçosa.. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia III. Título

CDD 22. ed. 636.20855

Bibliotecário(a) responsável: BRUNA SILVA CRB-6/2552

ELOY JUNIOR REZENDE

**EFEITO DE NÚCLEO MINERAL E DE *Lentilactobacillus buchneri* SOBRE O PERFIL
FERMENTATIVO DE SILAGEM DE RAÇÃO EM MISTURA TOTAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de setembro de 2022.

Assentimento:

Eloy Junior Rezende
Autor

Odilon Gomes Pereira
Orientador

A todos que se gastam em busca de um bem maior,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus criador do céu e da terra.

À minha eterna companheira Leticia Gabriela Ferreira de Almeida.

A meus pais Elenice Carmo Magalhães Rezende e Eloi Oliveira Rezende.

À minha irmã Renata Rezende, por todo apoio e carinho durante toda minha vida.

A todos meus familiares, amigos e benfeitores.

A meus companheiros de república, Alberto, Hosnerson Renan e João Pivotto que estiveram comigo durante essa fase em Viçosa.

Aos colegas da Forragicultura da UFV Thiago, Vinícius, Felipe, Gabriela, Gabriel, Wagner, Giovana, Cecília, Eduardo, Gabriela F., Gabriela B., Rafael, Roberta e Ana Laura.

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Zootecnia, e a todos os professores pelos conhecimentos ministrados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Odilon Gomes Pereira pela orientação, confiança e apoio para a realização deste trabalho.

Às professoras Fernanda Helena Martins Chizzotti e Karina Guimarães Ribeiro pela coorientação.

Aos Funcionários do Departamento de Zootecnia pela colaboração e auxílio sempre que necessário.

BIOGRAFIA

Eloy Junior Rezende, filho de Eloi Oliveira Rezende e Elenice Carmo Magalhães Rezende, nasceu em 16 de dezembro de 1994, em Conselheiro Lafaiete, Minas Gerais.

Em setembro de 2013, ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal de Lavras, e durante seu último ano estagiou fora do país, na Dinamarca, onde residiu e trabalhou por um ano. Na fazenda de vacas de leite de alta produção, em Bredebro, adquiriu conhecimento e vivência da rotina de uma fazenda de 800 vacas em lactação.

Em fevereiro de 2020 concluiu a Graduação em Zootecnia, pela Universidade Federal de Lavras.

Em agosto de 2020, ingressou no Programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Zootecnia – na área de Forragicultura e Pastagens – da Universidade Federal de Viçosa, começando o curso de forma *on-line*, devido a pandemia de COVID-19 e mudando-se para Viçosa em abril de 2021.

Em setembro de 2022, formou-se Mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa.

“Por causa de um prego perdeu-se a ferradura, por causa da ferradura perdeu-se o cavalo, por falta do cavalo não se entregou a mensagem, pela falta da mensagem perdeu-se a guerra”

RESUMO

REZENDE, Eloy Junior, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2022. **Efeito de núcleo mineral e de *Lentilactobacillus buchneri* sobre perfil fermentativo de silagem de ração em mistura total.** Orientador: Odilon Gomes Pereira. Coorientadoras: Fernanda Helena Martins Chizzotti e Karina Guimarães Ribeiro.

Os antibióticos ionóforos, bem como os sais minerais, podem inibir o crescimento microbiano desejável e aumentar o poder tampão do material ensilado, respectivamente. Portanto, o objetivou-se com o presente estudo avaliar os efeitos de núcleo mineral (N) e da inoculação (I) com *Lentilactobacillus buchneri* (LB) sobre o perfil fermentativo de ração em mistura total ensilada (TMR), para bovinos de corte. Foi utilizado um esquema fatorial 2x2 (com ou sem inoculante x com ou sem núcleo mineral), no delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Foi usado o inoculante Lalsil® AS (*L. buchneri* CNCM I-4323, Lallamend, Brasil) e um núcleo mineral (Probeef® Confinamento, Nutron, Brasil) contendo monensina sódica (1100 mg/Kg). As dietas com e sem núcleo mineral foram preparadas contendo milho planta inteira, farelo de milho, farelo de soja, ureia e núcleo mineral nas proporções (20,0; 72,2; 5,0; 1,5; e 1,3) e (20,0; 73,5; 5,0; e 1,5), respectivamente. As rações foram ensiladas em silos experimentais de 12 litros, durante 60 dias de estocagem. As silagens foram analisadas quanto ao perfil fermentativo, populações microbianas, composição química e estabilidade aeróbia. Foi usado o procedimento GLM do SAS® versão 9.4 (SAS Institute Inc., EUA), cujas médias foram comparadas utilizando-se o teste F, ao nível de 5% de probabilidade de ocorrência do erro tipo I. Houve efeito da interação I x N ($P < 0,001$) sobre a perda de matéria seca, com menor valor na silagem de TMR inoculada contendo núcleo mineral. Houve efeito da interação I x N ($P = 0,0063$) sobre a população de BAL, registrando-se maior contagem na silagem de TMR inoculada com LB, com inclusão de núcleo mineral. Houve efeito do núcleo mineral ($P < 0,0001$) sobre o pH das silagens, com maior valor para aquelas contendo núcleo mineral. Foi observado efeito de inoculante ($P = 0,0054$) sobre o teor de amido das silagens ($P = 0,0243$), registrando-se maior valor na silagem inoculada. Também houve efeito de núcleo mineral sobre os valores de nitrogênio amoniacal, com menores valores na presença de núcleo mineral. Houve efeito de inoculante ($P = 0,0060$) e de núcleo mineral ($P = 0,0006$) sobre a população de leveduras, enquanto que os fungos filamentosos foram afetados apenas pelo inoculante ($P = 0,0416$), registrando-se menor população nas silagens inoculadas. A estabilidade aeróbia das silagens

não foi afetada ($P>0,05$) por nenhum dos fatores estudados, nem pela interação deles, no período de 168h avaliadas. A presença do núcleo mineral não afeta o perfil fermentativo, bem como a população de bactérias do ácido lático em silagens de *TMR*. A inoculação com *L. buchneri* reduz a população de leveduras e fungos filamentosos, o que pode melhorar a qualidade sanitária das silagens, sem alterar a estabilidade aeróbia das silagens de *TMR*. Portanto, recomenda-se a adição do núcleo mineral e do inoculante à base de *L. buchneri* na ensilagem de *TMR*.

Palavras-chave: Conservação de forragens. Monensina sódica. Minerais. Estabilidade aeróbia.

ABSTRACT

REZENDE, Eloy Junior, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2022. **Effect of mineral nucleus and *Lentilactobacillus buchneri* on fermentative profile of total mixed ration silage.** Adviser: Odilon Gomes Pereira. Co-advisers: Fernanda Helena Martins Chizzotti and Karina Guimarães Ribeiro.

Ionophore antibiotics, as well as mineral salts, can inhibit the desirable microbial growth and increase the buffering power of the ensiled material, respectively. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of mineral nucleus (N) and inoculation (I) with *Lentilactobacillus buchneri* (LB) on the fermentative profile of the total mixed ration (TMR) for beef cattle. A 2x2 factorial scheme (with or without inoculant x with or without mineral nucleus) was used, in a completely randomized design, with five replications. The inoculant Lalsil® AS (*L. buchneri* CNCM I-4323, Lallamend, Brazil) and a mineral nucleus (Probeef® Confinamento, Nutron, Brazil) containing sodium monensin (1100 mg/Kg) were used. Diets with and without mineral nucleus were prepared containing whole plant corn, corn meal, soybean meal, urea and mineral nucleus in the proportion (20.0; 72.2; 5.0; 1.5; and 1.3) and (20.0; 73.5; 5.0; and 1.5), respectively. The rations were ensiled in experimental silos of 12 liters, during 60 days of storage. The silages were analyzed for fermentative profile, microbial populations, chemical composition and aerobic stability. The GLM procedure of SAS® version 9.4 (SAS Institute Inc., USA) was used, whose means were compared using the F test, at the level of 5% probability of occurrence of type I error. There was an interaction effect I x N ($P < 0.001$) on dry matter loss, with lower value in inoculated TMR silage containing mineral nucleus. There was an effect of the I x N interaction ($P = 0.0063$) on the BAL population, registering a higher count in the TMR silage inoculated with LB, with inclusion of mineral nucleus. There was an effect of the mineral nucleus ($P < 0.0001$) on the pH of the silages, with a higher value for those containing mineral nucleus. Inoculant effect ($P = 0.0054$) was observed on the starch content of silages ($P = 0.0243$), registering a higher value in the inoculated silage. There was also an effect of mineral nucleus on ammoniacal nitrogen values, with lower values in the presence of mineral nucleus. There was an effect of inoculant ($P = 0.0060$) and mineral nucleus ($P = 0.0006$) on the yeast population, while filamentous fungi were affected only by the inoculant ($P = 0.0416$), registering a lower population in the inoculated silages. The aerobic stability of silages was not affected ($P > 0.05$) by any of the factors studied, nor by their

interaction, in the period of 168 hours evaluated. The presence of mineral nucleus does not affect the fermentative profile, as well as the population of lactic acid bacteria in TMR silages. Inoculation with *L. buchneri* reduces the population of yeasts and filamentous fungi, which can improve the sanitary quality of silages, without altering the aerobic stability of TMR silages. Therefore, the addition of the mineral nucleus and the inoculant based on *L. buchneri* in the TMR ensilage is recommended.

Keywords: Forage conservation. Sodium monensin. Minerals. Aerobic stability.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das rações experimentais.....	27
Tabela 2 – Populações microbianas e composição químico-bromatológica das TMR com e sem núcleo mineral antes da ensilagem.....	31
Tabela 3 – Composição química das silagens de ração em mistura total em função de inoculante microbiano e núcleo mineral.....	32
Tabela 4 – Perfil fermentativo das silagens de ração em mistura total em função de inoculante e núcleo mineral.....	34
Tabela 5 - Populações microbianas das silagens de ração em mistura total em função de inoculante e núcleo mineral.....	35
Tabela 6 – Estabilidade aeróbia, pH, matéria seca e contagens de leveduras e fungos filamentosos em silagens de ração em mistura total em função de inoculante microbiano e núcleo mineral, após sete dias de exposição ao ar.....	36

LISTA DE ABREVIACOES

TMR: Sigla em inglês para rao em mistura total (total mixed ration)

PMR: Sigla em inglês para rao em mistura parcial (partial mixed ration)

CSA: Carboidratos solúveis em gua

UFC: Unidade formadora de colnia

BAL: Bactéria do ácido ltico

N-NH3: Nitrogênio amoniacal

MS: Matéria Seca

MN: Matéria Natural

NDT: Nutrientes digestíveis totais

CNF: Carboidratos não-fibrosos

PB: Proteina Bruta

EE: Extrato etéreo

FDNcp: Fibra em detergente neutro corrigida pra cinzas e proteina

MM: Matéria mineral

P: Fósforo

NNP: Nitrogênio não proteico

°C: Graus Celsius

CT: Capacidade tampão

LB: *Lentilactobacillus buchneri*

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO GERAL	14
2.0 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Silagem de ração em mistura total	15
2.1.1 Estado da arte de forragens conservadas na forma de silagem	15
2.1.2 Vantagens da ensilagem de ração em mistura total	16
2.1.3 Processo fermentativo de silagens de rações em mistura total	17
2.2 Aditivos microbianos para silagens de ração em mistura total e estabilidade aeróbia	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
3.0 INTRODUÇÃO	24
4.0 MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1 Local do experimento	26
4.2 Delineamento experimental	26
4.3 Preparo da TMR, inoculação, ensilagem e recuperação de matéria seca	26
4.4 Perfil fermentativo	28
4.5 Estabilidade Aeróbia	29
4.6 Análises químicas e bromatológicas	29
4.7 Análises estatísticas	30
5.0 RESULTADOS	31
5.1 Caracterização das rações em mistura total antes da ensilagem	31
5.2 Composição químico-bromatológica das silagens de ração em mistura total	32
5.3 Perfil fermentativo e perda de matéria seca das silagens de ração em mistura total	34
5.4 Quantificação das populações microbianas das silagens de ração em mistura total	35
5.5 Estabilidade aeróbia das silagens de ração em mistura total	36
6.0 DISCUSSÃO	38
7.0 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1.0 INTRODUÇÃO GERAL

A sazonalidade da produção de forragem, bem como o avanço tecnológico dos sistemas de produção de ruminantes, justificam a ensilagem de ração em mistura total. Farelo de grãos de cereais, gramíneas tropicais, subprodutos úmidos, alimentos de baixa aceitabilidade e aditivos também têm sido incorporados às rações e ensilados juntos, visando a redução dos custos e a otimização do processo de alimentação dos animais.

A facilitação ao acesso a maquinários sofisticados possibilita a confecção de grandes quantidades de ração em mistura total, e também o acondicionamento do material, seja em silos tipo bag, ensacados ou em trincheira convencional. Com isso, concentra-se os investimentos em mão-de-obra, maquinário e aquisição de alimentos em uma única época do ano, possibilitando que a operação seja executada na época de safra, quando os preços dos alimentos concentrados normalmente estão mais baixos (DE ÁVILA et al., 2019).

Para contornar os problemas de umidade de alguns resíduos agroindustriais ou gramíneas tropicais, a ensilagem com materiais secos seria uma alternativa estratégica para manter a qualidade nutricional e armazenar de forma barata, grandes quantidades de material para consumo animal na fazenda por longos períodos de tempo (WEINBERG et al., 2011).

A opção por silagem de ração em mistura total também se justifica devido às características como alta estabilidade aeróbia, homogeneidade de mistura, possibilidade de incorporação de alimentos diversos, possibilidade de inclusão de mais de um alimento volumoso, acréscimo na disponibilidade do amido dos grãos de cereais, e aspectos logísticos e econômicos da operação (HAO et al., 2015; WANG; NISHINO, 2009; TIAN et al., 2020).

No entanto, algumas substâncias presentes nos ingredientes da ração, são potenciais causadoras de insucesso da ensilagem, principalmente os antibióticos ionóforos, bem como os sais minerais, que podem inibir o crescimento microbiano desejável e aumentar o poder tampão do material ensilado.

Portando, objetivou-se com o presente estudo avaliar os efeitos do núcleo mineral e da inoculação com *Lentilactobacillus buchneri* sobre o perfil fermentativo de silagem de ração em mistura total.

2.0 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Silagem de ração em mistura total

2.1.1 Estado da arte de forragens conservadas na forma de silagem

A sazonalidade da produção de forragem durante o ano agrícola e a alta variabilidade de sua qualidade nutricional conduzem muitos produtores a preencherem seu planejamento forrageiro com a adoção de forragens conservadas. A ocorrência de chuvas, alta temperatura e luminosidade acontecem em época específica para a maioria do território nacional, de modo que há excedente de forragem nessa época, por outro lado na época seca, a pluviosidade diminui em intensidade e frequência, as temperaturas ficam mais amenas e a luminosidade também diminui, levando as espécies forrageiras a desacelerarem seu crescimento e acúmulo de forragem (PEQUENO et al., 2015).

A qualidade nutricional da forragem também varia durante o ano, com o aumento da proporção de material senescente e de colmo na época de entressafra forrageira o resultado é pior qualidade nutricional dessas plantas. Fernandes et al. (2021) reportaram dados de variados autores os quais relataram aumento no teor de matéria seca, e de FDN e diminuição no teor de CNF de forrageiras do gênero *Urochloa*, na época seca em comparação com o período chuvoso.

Diante da realidade de excesso de forragem na época das águas, a grande produtividade apresentada por algumas espécies, o crescente acesso a maquinários e a disseminação do conhecimento sobre a ensilagem, incentivou muitos produtores a optarem por ensilar alguma cultura na fazenda. Dentre as mais ensiladas, se destacam os capins das espécies *Cenchrus purpureus* e *Megathyrsus maximus* pela alta produção, por serem plantas perenes e necessitarem de menos tratamentos culturais em comparação a culturas anuais como o milho (PEREIRA et al., 2016; ÁVILA et al., 2009; GUSMÃO et al., 2018).

No entanto, a planta mais ensilada no Brasil é o milho (*Zea mays*), na forma de planta inteira, em aproximadamente 82,7% das propriedades brasileiras pesquisadas por Bernardes & Do Rêgo (2014), as quais são caracterizadas pelo sistema intensivo de produção de bovinos de leite. Essa opção pelo milho se explica devido suas características de alta produtividade e valor nutricional, baixo poder tampão e adequado teor de carboidratos solúveis (FERRARETTO; SHAVER; LUCK, 2018).

Os fatores logísticos também influenciam a decisão de se ensilar um material em detrimento de outro, como por exemplo o milho colhido no estágio mais avançado de maturidade, grão úmido de milho e silagem de espigas (SNAP), buscando-se não apenas fonte de forragem, mas também maiores concentrações de CNF na silagem, reduzindo o custo de NDT/kg de silagem fornecida aos animais. Os avanços em maquinário e a popularização do acesso aos mesmos também possibilitaram a confecção de silagens mais densas (DANIEL et al., 2019)

Além dos fatores logísticos, os fatores de manejo e nutricionais também passaram a influenciar na decisão do material a ser ensilado, culminando nas silagens de ração em mistura total (*TMR*) e, ou, parcial (*PMR*). Aqueles que optam por esse tipo de silagem, buscam por vantagens logísticas, econômicas e nutricionais que a ensilagem de ração pode proporcionar. Dessa forma, a ensilagem ampliou sua aplicabilidade como forma de conservação de forragem para uma ferramenta associada a nutrição, manejo e sanidade animal (HAO et al., 2015; WANG; NISHINO, 2009; TIAN et al., 2020).

2.1.2 Vantagens da ensilagem de ração em mistura total

A compra estratégica de concentrado é uma vantagem em favor da silagem de *TMR*. A exemplo de silagem de grão de milho reidratado, onde a compra do milho em grande escala e com preço competitivo atrai os produtores, o mesmo vale para a ração completa. Contudo, na silagem de *TMR*, todos os ingredientes podem ser comprados de forma estratégica na safra para serem fornecidos aos animais na entressafra, sendo armazenados como silagem de *TMR* durante todo esse período, sem a necessidade de um silo graneleiro, que é uma estrutura dispendiosa (DE ÁVILA et al., 2019).

A ensilagem da ração como estratégia de manejo também é uma opção para os produtores que buscam a otimização do manejo de corte de capineiras e melhora na qualidade da silagem de capins (GUSMÃO et al., 2018), pois possibilita o corte de todo o material no momento adequado para a cultura, eliminando a colheita diária e concentrando a utilização de mão-de-obra.

A genética do milho produzido para grão no território brasileiro se caracteriza por ter o grão duro (Flint), de endosperma vítreo e de difícil degradação (SALVATI et al., 2021). A ação de enzimas proteolíticas sobre proteínas que englobam os grânulos de amido, durante a

ensilagem, proporciona aumento da disponibilidade do amido dos grãos de cereais, o que pode resultar em oportunidade de ganho nutricional e financeiro ao se fornecer silagem de *TMR* aos animais (HOFFMAN et al., 2011).

A concentração da mão-de-obra e maquinário para colheita de culturas perenes e anuais, preparo da ração, transporte e compactação do material em apenas uma época do ano extingue a tarefa diária de mistura na fazenda, concentrando o trabalho e diminuindo a demanda por maquinário e funcionários. Em contrapartida, um grande investimento deve ser feito no momento da operação de confecção de silagem de *TMR*, por isso, tal dispêndio de recurso financeiro deve ser planejado e adaptado para cada realidade de produção.

Agroindústrias produtoras de certos resíduos buscam com a ensilagem de ração em mistura total, a agregação de valor aos subprodutos e coprodutos úmidos, bem como otimizar o armazenamento desses materiais, de forma que seja econômica e ambientalmente aceita (NISHINO et al., 2003). Empresas de venda de silagem vêm nessa prática a possibilidade de incorporar uma maior diversidade de alimentos, inclusive aqueles de baixa aceitabilidade, para que o processo fermentativo altere suas características organolépticas (BUENO et al., 2020).

O armazenamento por longos períodos na forma de silagem, possibilita que essas rações sejam submetidas a vários meses de armazenamento, possibilitando que as mesmas sejam produzidas perto dos polos graneleiros e transportadas por grandes distâncias, sem que haja perda no valor nutricional das mesmas (TIAN et al., 2020).

2.1.3 Processo fermentativo de silagens de rações em mistura total

Na produção de silagem, a fase aeróbia se caracteriza pela presença de oxigênio remanescente após a vedação do silo, que é consumido pelos tecidos vegetais e microrganismos aeróbios. Por isso, é imprescindível minimizar a duração dessa fase, fechando o silo o mais rápido possível e compactando bem o material. As silagens de *TMR* têm demonstrado potencial de minimizar essa fase de metabolismo microbiano aeróbio, por atingir maior densidade que a forrageira ensilada sozinha, e assim expulsar mais o oxigênio presente nos poros formados entre as partículas de alimento (MAROCCO et al., 2020).

Após o esgotamento do oxigênio dentro do silo, inicia-se a fase de fermentação, em que os microrganismos anaeróbios facultativos e obrigatórios como enterobactérias, clostrídios e leveduras competem com as bactérias do ácido láctico (BAL) pelo substrato liberado das células vegetais. Essa fase pode se estender por várias semanas, dependendo de características do material ensilado como quantidade de carboidratos solúveis, poder tampão e atividade de água. As bactérias do ácido láctico, ao dominarem a fermentação, produzem grande quantidade de ácido láctico e inibem o crescimento de microrganismos indesejáveis (PAHLOW et al., 2003).

Após a redução do pH, ocorre acentuado decréscimo na intensidade fermentativa do material e então a ensilagem entra na sua terceira fase, a de estabilidade do pH. Apenas enzimas tolerantes ao ambiente ácido permanecem ativas, causando hidrólise ácida de carboidratos constituintes de parede celular, o que suprime o meio de carboidratos solúveis em água (CSA) (PAHLOW et al., 2003).

Quando acontece a abertura do silo e o desabastecimento do material, a entrada de oxigênio no perfil da silagem provoca a ativação do metabolismo de microrganismos oportunistas (leveduras, esporos e conídios de fungos filamentosos) e então começa-se a quarta e última fase do processo. As leveduras são os primeiros microrganismos indesejáveis a se proliferarem, devido sua capacidade de tolerar o ambiente ácido e de assimilar ácido láctico como fonte energia (HAO et al., 2015).

Após a abertura do silo, outro fator em silagem de *TMR* é a capacidade tampão (CT), que dificulta o aumento do pH e mantém o material em condições sanitárias aceitáveis por maior período de tempo (TIAN et al., 2020). Por se tratar de rações que suprem toda a demanda nutricional dos animais, normalmente são dotadas de altas doses de ingredientes tamponantes, como bicarbonato de cálcio, além disso, os próprios alimentos concentrados adicionados, bem como o núcleo mineral, algumas forragens e a ureia, contribuem para a alta CT das mesmas (LAZZARI et al., 2021).

2.2 Aditivos microbianos para silagens de ração em mistura total e estabilidade aeróbia

Muito tem se discutido sobre a inoculação de microrganismos capazes de favorecer a conservação do material ensilado. Dois grandes objetivos direcionam a busca pelas melhores

cepas, que são as espécies iniciadoras que promovam à redução do pH o mais rapidamente possível e espécies que proporcionem maior estabilidade aeróbia da silagem (MUCK et al., 2018).

Xie et al. (2020) inocularam uma cepa de *Lactobacillus plantarum* (LP) em silagem de ração em mistura total e observaram que não houve efeito da inoculação sobre o pH e o conteúdo de ácido láctico, contudo, as silagens inoculadas apresentaram menor concentração de nitrogênio amoniacal. Já Restelatto et al. (2019b), concluíram que a inoculação com *Lactobacillus plantarum* e *Lentilactobacillus buchneri* (LB) reduziu o pH e aumentou a estabilidade aeróbia das silagens de ração em mistura total, respectivamente.

A estabilidade aeróbia pode ser definida como o número de horas que a silagem permanece estável antes da temperatura subir 2°C acima da temperatura ambiente (KUNG, 2010). Dentre as espécies mais promissoras para o incremento no tempo de estabilidade aeróbia das silagens de ração em mistura total se encontra o *Lentilactobacillus buchneri*, uma espécie heterofermentativa obrigatória amplamente estudada pelo fato de produzir quantidades significativas de ácido acético e por esse motivo melhorar a estabilidade aeróbia das silagens (COSTA et al., 2021; RESTELATTO et al., 2019b).

Kleinschmit e Kung (2006), em estudo de meta-análise sobre os efeitos da inoculação com *L. buchneri*, concluíram que, ao tratarem silagens com bactérias dessa espécie, a fermentação de planta inteira de milho, gramíneas e grãos-pequenos de culturas temperadas foram consistentes em algumas medições quantitativas. Em geral, houve redução do pH, das concentrações de ácido láctico e da população de leveduras, e aumento das concentrações de ácido acético e da estabilidade aeróbia em todos os tipos de forrageiras.

Contudo, existem relatos na literatura em que a melhora da estabilidade aeróbia, tanto em escala laboratorial quanto de campo, é dependente da dose, da cepa inoculada e do período de ensilagem (ARRIOLA et al., 2021b). Restelatto et al. (2019b) reportaram efeito na estabilidade aeróbia ($P < 0,01$), causado pela inoculação de *Lentilactobacillus buchneri* na dosagem de $1,0 \times 10^5$, embora a produção de ácido láctico e ácido acético em relação ao controle não tenha sido diferente com a inoculação.

Alguns autores têm atribuído às altas concentrações de ácido acético, causadas pela inoculação de cepas heterofermentativas obrigatórias, o efeito negativo no consumo dos animais. Lazzari et al. (2021) encontraram associação entre o alto teor de ácido acético e menor

consumo de matéria seca. Contudo, vários são os fatores associados ao consumo dos animais, não podendo ser atribuído somente à concentração de ácido acético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, A. P. et al. Aspectos qualitativos da silagem de capim-elefante com fubá de milho e casca de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 3, p. 1209–1218, 2012.
- ARRIOLA, K. G. et al. Effect of *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus buchneri*, or their combination on the fermentation and nutritive value of sorghum silage and corn silage. **Journal of Dairy Science**, 2021a.
- ARRIOLA, K. G. et al. Meta-analysis of effects of inoculation with *Lactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 7, p. 7653–7670, 2021b.
- ÁVILA, C. L. DA S. et al. Estabilidade aeróbia de silagens de capim-mombaça tratadas com *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 5, p. 779–787, 2009.
- BARNETT, A.J.G. Silage fermentation. **Butterworths Sci. Pub.**, London.1954.
- BASSO, F. C. Estabilidade aeróbia de silagens de planta e de grãos úmidos de milho. **Aleph**, p. 80, 2010.
- BERNARDI, A. et al. A meta-analysis examining lactic acid bacteria inoculants for maize silage: Effects on fermentation, aerobic stability, nutritive value and livestock production. **Grass and Forage Science**, v. 74, n. 4, p. 596–612, 2019.
- BUENO, A. V. I. et al. Ensiling total mixed ration for ruminants: A review. **Agronomy**, v. 10, n. 6, 2020.
- COSTA, D. M. et al. New epiphytic strains of lactic acid bacteria improve the conservation of corn silage harvested at late maturity. **Animal Feed Science and Technology**, v. 274, 1 abr. 2021.
- DANIEL, J. L. P. et al. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. **Grass and Forage Science**, v. 74, n. 2, p. 188–200, 2019.
- DE ÁVILA, N. R. B. et al. Characterization of silage of rehydrated corn grain associated with tilapia residue. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, p. 1–12, 2019.
- FERNANDES G.A. et. al. Influência da época do ano no valor nutritivo das forragens consumidas por bovinos de corte criados a pasto. **Zootecnia: pesquisa e práticas contemporâneas** - Volume 1. p.178 – 192. 2021. <doi:10.37885/210504646>
- FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D.; LUCK, B. D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3937–3951, 2018.
- GUSMÃO, J. O. et al. Total mixed ration silage containing elephant grass for small-scale dairy farms. **Grass and Forage Science**, v. 73, n. 3, p. 717–726, 2018.
- GUSMÃO, J. O. et al. Effects of hybrid and maturity on the conservation and nutritive value of snaplage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 274, n. March, p. 1–11, 2021.
- HAN, K. J. et al. Bale location effects on nutritive value and fermentation characteristics of annual ryegrass bale stored in in-line Wrapping Silage. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 9, p. 1276–1284, 2014.

- HOFFMAN, P. C. et al. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5, p. 2465–2474, 2011.
- HU, X. et al. Fermentation characteristics and lactic acid bacteria succession of total mixed ration silages formulated with peach pomace. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, n. 4, p. 502–510, 2015.
- KLEINSCHMIT, D. H.; KUNG, L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 4005–4013, 2006.
- LAZZARI, G.; DANIEL, J. L. P. Efeitos da fonte de proteína e suplementação lipídica sobre o desempenho de bovinos em terminação alimentados com silagens de ração total misturada. **Repositório UEM**. Dissertação. 2020.
- LAZZARI, G. et al. Effects of protein source and lipid supplementation on conservation and feed value of total mixed ration silages for finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 99, n. 2, 2021.
- MAROCCO, D. H. et al. Use of by-products in a total mixed ration silage. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 6, p. 3473–3480, 2020.
- MIYAJI, M.; MATSUYAMA, H.; NONAKA, K. Effect of ensiling process of total mixed ration on fermentation profile, nutrient loss and in situ ruminal degradation characteristics of diet. **Animal Science Journal**, v. 88, n. 1, p. 134–139, 2017.
- MIYAJI, M.; NONAKA, K. Effects of altering total mixed ration conservation method when feeding dry-rolled versus steam-flaked hulled rice on lactation and digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 6, p. 5092–5101, 2018.
- MUCK, R.E. Initial bacterial numbers on lucerne prior to ensiling. **Grass Forage Science**. 44: 19- 25. 1989.
- MUCK, R. E. et al. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3980–4000, 2018.
- PAHLOW, G.; WEISSBACH, F. Effect of numbers of epiphytic lactic acid bacteria (LAB) and of inoculation on the rate of pH-decline in direct cut and wilted grass silages. p. 104-105. In D.I.H. Jones et al. (ed.) **Proc. Int. Silage Conf.**, 11th. Aberystwyth, UK. 8-11. IGER, Aberystwyth, UK. 1996.
- PAHLOW, G. et al. Microbiology of Ensiling. **Silage Science and Technology**, n. 42, p. 31–93, 2003.
- PEQUENO, D. N. L. et al. Forage accumulation and nutritive value of brachiariagrasses and Tifton 85 bermudagrass as affected by harvest frequency and irrigation. **Agronomy Journal**, v. 107, n. 5, p. 1741–1749, 2015.
- PEREIRA A.V. et al. BRS Capiagu: cultivar de capim-elefante de alto rendimento para produção de silagem. **Comunicado Técnico 79**. Embrapa Gado de Leite. Juiz de Fora, MG. 2016.
- RESTELATTO, R. et al. Effects of holes in plastic film on the storage losses in total mixed ration silage in round bales. **Translational Animal Science**, v. 3, n. 4, p. 1543–1549, 2019a.

- RESTELATTO, R. et al. Chemical composition, fermentative losses, and microbial counts of total mixed ration silages inoculated with different *Lactobacillus* species. n. 2, p. 1–27, 2019b.
- REZENDE, E. J. Seleção de inoculantes para capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Repositório UFLA**. Trabalho de conclusão de curso. 2018.
- ROOKE, J. A.; HATFIELD, R. D. Biochemistry of ensiling. **Silage Science and Technology**, n. (Agronomy Series No. 42). D. R. Buxton, R. E. Muck, and H. J. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI, p. 95–139, 2003.
- SALVATI, G. G. S. et al. Effect of kernel processing and particle size of whole-plant corn silage with vitreous endosperm on dairy cow performance. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 2, p. 1794–1810, 2021.
- TABACCO, E. et al. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 11, p. 5589–5598, 2011.
- TIAN, P. et al. Effects of calcium carbonate on the fermentation quality and aerobic stability of total mixed ration silage. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 29, n. 2, p. 167–174, 2020.
- WANG, F.; NISHINO, N. Association of *Lactobacillus buchneri* with aerobic stability of total mixed ration containing wet brewers grains preserved as a silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 149, n. 3–4, p. 265–274, 2009.
- WEINBERG, Z. G. et al. Preservation of total mixed rations for dairy cows in bales wrapped with polyethylene stretch film - A commercial scale experiment. **Animal Feed Science and Technology**, v. 164, n. 1–2, p. 125–129, 2011.
- WEISSBACH, F. New developments in crop conservation. p. 11-25. In D.I.H. Jones et al. (ed.) **Proc. Int. Silage Conf.**, 11th. Aberystwyth, UK. 8-11. IGER, Aberystwyth, UK.1996.
- XIE, Y. et al. Effects of the application of *Lactobacillus plantarum* inoculant and potassium sorbate on the fermentation quality, in vitro digestibility and aerobic stability of total mixed ration silage based on alfalfa silage. **Animals**, v. 10, n. 12, p. 1–14, 2020.
- YANG, H. et al. Improvement of fermentation quality in the fermented total mixed ration with oat silage. **Microorganisms**, v. 9, n. 2, p. 1–12, 2021.
- YANG, L.; ZENG, X.; QIAO, S. Advances in research on solid-state fermented feed and its utilization: The pioneer of private customization for intestinal microorganisms. **Animal Nutrition**, v. 7, n. 4, p. 905–916, 2021.
- ZHENG, J. et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2782–2858, 2020.

3.0 INTRODUÇÃO

As vantagens em ensilar a ração em mistura total (*TMR*) associam tanto os benefícios associados à prática de se formular e confeccionar ração em mistura total quanto os benefícios associados a ensilagem (SCHINGOETHE, 2017; HOFFMAN et al., 2011).

Os produtores de ruminantes, ao utilizarem silagem de *TMR*, buscam otimizar a utilização do maquinário e da mão-de-obra, melhorar o manejo de corte de gramíneas e aumentar a qualidade da silagem de capins tropicais, a compra estratégica de concentrado na época de safra, a atenuação de seleção de partículas no cocho devido à redistribuição de umidade e o incremento da disponibilidade do amido dos grãos de cereais (HOFFMAN et al., 2011; GUSMÃO, 2017; LAZZARI, 2020). Por outro lado, a agroindústria busca, com a ensilagem de *TMR*, a agregação de valor aos subprodutos e coprodutos úmidos, e também otimizar o armazenamento desses materiais, de forma que sejam econômica e ambientalmente aceitos (NISHINO et al., 2003).

Também, as empresas de venda de silagem vêm potencial nessa prática por possibilitar incorporar uma maior diversidade de alimentos, inclusive aqueles de baixa aceitabilidade, e fornecer ração sob medida para cada categoria animal (BUENO et al., 2020). A possibilidade de armazenamento por longo tempo, na forma de silagem possibilita que essas rações sejam submetidas a vários dias de transporte (TIAN et al., 2020).

Muitas culturas agrícolas como milho, sorgo, cana-de-açúcar, aveia, centeio, cevada e capins tropicais podem ser ensilados com sucesso (ÁVILA et al., 2014; HAN, 2014, BORREANI et al., 2018). Variações também são possíveis como milho grão úmido, milho grão reidratado, silagem de espigas de milho, capins tropicais com adição de concentrado, entre várias outras culturas ou combinações (GUSMÃO et al., 2021; COSTA et al., 2021; SANTOS et al., 2020). As *TMR*, contendo fontes de forragens, concentrados, minerais, vitaminas e aditivos também apresentam características adequadas para serem conservadas na forma de silagem (TIAN et al. 2020). No entanto, os produtos finais da fermentação dependerão de fatores, como as características da cultura, o teor de MS, o tempo de estocagem, o uso de aditivos redutores de umidade e microbianos, entre outros (LAZZARI, 2020; MIYAJI & NONAKA, 2018).

Alguns aditivos acrescidos às dietas de animais têm potencial de influenciar negativamente o processo de fermentação de silagens de *TMR*. Hoon & Meeske (2011), em

estudo com silagem de milho planta inteira, tratada com 0,15 g/kg de lasalocida - antibiótico ionóforo utilizado em dietas animais como promotor de crescimento, verificaram decréscimo na produção de ácido láctico de 2,03 % da MS para 1,73% com 90 dias de fermentação, sugerindo atuação ativa do ionóforo na população de bactérias do ácido láctico.

Os ionóforos são geralmente bacteriostáticos (NAGARAJA & TAYLOR, 1987) e seu mecanismo de ação promove a alteração do fluxo de cátions através da membrana, pois são moléculas que se ligam aos íons metálicos, favorecendo o transporte dos destes através da membrana celular de microrganismos causando a alteração de seu pH celular (GONÇALVES et al., 2013). No entanto, outros autores, como Lazzari et al. (2021) reportaram que a adição de antibióticos ionóforos, como promotores de crescimento, em silagens de *TMR*, não afeta o perfil fermentativo das mesmas, mantendo a qualidade da conservação.

Os sais presentes nos núcleos minerais para alimentação animal também têm potencial de interferir nas silagens de *TMR*, aumentando a produção de ácidos orgânicos e estabilidade aeróbia (TIAN et al., 2020; WILKINSON & DAVIES, 2013). Esses minerais podem alterar a capacidade tampão das rações e favorecer a produção de ácido acético, ácido butírico e amônia, além de proporcionar maior estabilidade aeróbia da cultura ensilada (WILKINSON & DAVIES, 2013).

As rações completas possuem alto valor agregado, por isso zelar pela estabilidade aeróbia é imprescindível, por meio do uso de espécies e cepas de microrganismo heterofermentativos (ÁVILA et al. 2008). As BAL heterofermentativa obrigatórias, por não possuírem genes específicos, não são capazes de realizarem a glicólise, por isso essas metabolizam os carboidratos solúveis pela via metabólica da fosfoquetolase resultando em fermentação heterolática, produzido ácido láctico, ácido acético, 1,2-propanodiol e etanol (HEINL et al., 2012). Algumas cepas heterofermentativa também são capazes de assimilar o ácido láctico, produzindo ácido acético, 1,2-propanodiol e dióxido de carbono (AGARUSSI et al., 2022; ROOKE & HATFIELD, 2003).

O aumento da concentração de ácido acético controla a população de leveduras (KLEINSCHMIT & KUNG, 2006), um dos principais microrganismos envolvidos na deterioração aeróbia e que atuam assimilando e consumindo ácido láctico do meio, abaixando o pH e promovendo ambiente favorável ao crescimento dos fungos filamentosos.

Baseado no exposto, a nossa hipótese é que o núcleo mineral provido de monensina, na presença de *Lentilactobacillus buchneri* afeta o perfil fermentativo de silagem de *TMR*. Desta

forma, propõe-se o presente trabalho com o objetivo de avaliar o perfil fermentativo de rações contendo núcleo mineral e ionóforo, tratadas com *Lentilactobacillus buchneri*.

4.0 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no Laboratórios de Forragicultura e Microbiologia da Silagem, do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizada na cidade de Viçosa, no Estado de Minas Gerais, Brasil. A cidade está localizada na latitude Sul de 20°45' e longitude Oeste de 42° 51', com altitude média de 660 m.

4.2 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 2x2 (*TMR* com e sem núcleo mineral x inoculada ou não), no delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Foi utilizado um núcleo mineral comercial para bovinos de corte em terminação (Probeef® Confinamento, Nutron, Brasil). O inoculante utilizado foi o *Lentilactobacillus buchneri* (Lalsil® AS CNCM I-4323, Lallamend, Brasil).

4.3 Preparo da *TMR*, inoculação, ensilagem e recuperação de matéria seca

As rações foram formuladas adotando-se relação forragem:concentrado de 20:80, na base da MS, utilizando-se o BR-Corte 4.0, para atender as exigências de novilhos de corte, da raça Nelore, não-castrados, em terminação, com ganho médio diário de 1,5kg (VALADARES et al., 2020).

O milho planta inteira foi cultivado no Departamento de Zootecnia da UFV, colhido manualmente e picado em máquina forrageira estacionária (PN Plus 2000, Nogueira®, Brasil) com tamanho de partículas de aproximadamente 1 cm, e distribuído em pilhas

individuais de 10 kg. Os ingredientes do concentrado foram processados na Fábrica de Ração da UFV, e após pesados, foram misturados manualmente à forragem resultando nas rações em mistura total. A proporção dos ingredientes compondo as rações experimentais, bem como a matéria seca (MS) de cada um deles, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição das rações experimentais.

Itens	MPI ¹	FM ²	FS ³	U ⁴	NM ⁵
Ração com núcleo mineral					
MS (%)	25,24	85,96	89,86	99,00	99,00
Proporção (% da MS)	20,00	72,20	5,00	1,50	1,30
Ração sem núcleo mineral					
MS (%)	25,24	85,96	89,86	99,00	99,00
Proporção (% da MS)	20,00	73,70	5,00	1,50	0,00

¹MPI: Milho planta inteira. ²FM: farelo de milho. ³FS: farelo de soja. ⁴Ureia misturada com sulfato de amônio, na proporção 9:1. ⁵NM: Núcleo mineral. Composição por kg: Ca 242 g, S 24,5 g, P 13,5 g, Na 61,5 g, Mg 19 g, Co 11 mg, Cu 556 mg, Fe 370 mg, I 27 mg, Mn 1668 mg, Se 6,7 mg, Zn 2223 mg e monensina sódica 928 mg.

O núcleo mineral utilizado é composto dos seguintes ingredientes em ordem decrescente de inclusão: calcário calcítico, cloreto de sódio, enxofre, fosfato monobicálcico, óxido de magnésio, veículo, aromatizante de frutas, aroma misto de ervas, extrato de cebola, extrato de semente de uva, iodato de cálcio, monensina sódica, óxido de manganês, óxido de zinco, selenito de sódio, sulfato de cobalto, sulfato de cobre, sulfato de ferro, Vitamina A, Vitamina D3 e Vitamina E.

A taxa de aplicação do inoculante foi de um grama por tonelada de material, segundo as recomendações do fabricante. O inoculante foi solubilizado em 50 mL de água destilada e aplicado com borrifador manual. A mesma quantidade de água destilada foi aplicada no tratamento controle.

Em seguida, as *TMR* foram acondicionadas em baldes plásticos de 12 litros previamente pesados (peso vazio) e compactadas manualmente, atingindo-se densidade de aproximadamente 800 kg de MN/m³. Os baldes foram vedados, pesados e armazenados à

temperatura ambiente até o momento da abertura, após 60 dias de armazenamento, os mesmos foram pesados novamente e abertos.

Após a homogeneização do material, foram coletadas amostras de *TMR* em cada balde, para pré-secagem em estufa com circulação forçada de ar, a 55°C, por 72 horas. As amostras pré-secas foram moídas em moinho tipo Willey, em peneira de crivos de 1 mm, para serem caracterizadas quanto a sua composição químico-bromatológica.

Outra alíquota de amostra foi separada para preparo do extrato aquoso para avaliação das características fermentativas e populações microbianas, obtido a partir de 25 g de amostra homogeneizada por 1 minuto em liquidificador industrial, juntamente com 225 ml de solução *Ringer Solution* (Oxoid™, Reino Unido) estéril. Alíquotas de 10 mL do extrato aquoso foram acondicionadas em tubos contendo 1 mL de ácido sulfúrico (50%) e armazenadas em freezer a -20 °C, para análises de carboidratos solúveis em água, nitrogênio amoniacal e ácidos orgânicos. Outras alíquotas do extrato aquoso foram submetidas a diluições seriadas, variando de 10⁻¹ a 10⁻⁷, para contagem da população microbiana.

A perda de matéria seca foi estimada segundo método descrito por Jobim (2007).

4.4 Perfil fermentativo

O plaqueamento foi realizado seguindo a técnica *pour plate*, em placas de Petri. A população de bactérias do ácido lático foi determinada em meio ágar MRS (Difco™ Lactobacilli MRS Agar), incubadas a 37°C por 48 horas. O cultivo de enterobactérias foi realizado em VRB ágar (Violet Red Bile Agar, CM 0107 - Oxoid™) e incubadas a 37°C, por 24 horas, e fungos filamentosos e leveduras foram cultivados em meio DRBC (Agar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol, CM1148 - Oxoid™) a 25°C, por 72 horas para leveduras e 120 horas para fungos filamentosos.

Foram consideradas passíveis de contagem as placas contendo entre 25 e 250 unidades formadoras de colônias (UFC). Para avaliação e interpretação dos dados, os resultados obtidos foram convertidos para base logarítmica (Log₁₀ UFC).

O pH do extrato aquoso foi mensurado em peagâmetro digital (W38/Tecnal®, Brasil). O poder tampão das *TMR* antes da ensilagem foram mensuradas de acordo com o método descrito por Playne e McDonald (1966).

Os teores de carboidratos solúveis em água foram determinados segundo Nelson (1944). As concentrações de nitrogênio amoniacal foram mensuradas seguindo o método de Okuda et al. (1965).

4.5 Estabilidade Aeróbia

Após a abertura dos baldes, todo o material foi homogeneizado em sacos plásticos e uma amostra de 2 kg de silagem foi retornada a cada balde, para avaliação da estabilidade aeróbia. Os baldes foram acondicionados em sala com temperatura controlada, com ar condicionado regulado para 20 °C. No centro da massa geométrica da silagem foi depositado um *data-logger* (Cryopak, MX-CE-154-0022, Roanoke, Virginia, EUA) para mensuração da temperatura, a cada 10 minutos, por sete dias consecutivos. Dois *data-loggers* foram distribuídos pela sala para mensuração da temperatura ambiente.

A estabilidade aeróbia foi definida como o número de horas que a silagem permaneceu estável antes da temperatura subir 2°C acima da temperatura ambiente (KUNG, 2010).

Ao final dos sete dias de exposição aeróbia, os baldes foram novamente pesados e a silagem foi homogeneizada e amostrada.

Os procedimentos realizados com as amostras de estabilidade aeróbia foram os mesmos a realizados no momento da abertura dos baldes.

4.6 Análises químicas e bromatológicas

Nas amostras de *TMR* antes da ensilagem e respectivas silagens, foram realizadas análises dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) de acordo com a *Association of Official Analytical Chemistry - AOAC* (1990). O teor de proteína bruta (PB) foi calculado multiplicando 6,25 ao teor de nitrogênio determinado usando o método de Kjeldahl (AOAC, 1995; método número 988.05). As amostras foram analisadas para teor de fibra em detergente neutro (AOAC 2002.04-2005) e fibra em detergente ácido (AOAC, 1990; método número 973,18) corrigidos para cinzas (MERTENS, 2002) e proteínas (LICITRA et al., 1996).

A concentração de amido das amostras foi mensurada pelo método descrito por Zinn et al. (1990), adaptado por Silva et al. (2019).

O teor de nitrogênio não-proteico (NNP) foi mensurado a partir do método descrito por Licitra et al. (1995).

O teor de fósforo inorgânico total foi mensurado de acordo com Métodos para Análise de Alimentos INCT – Ciência Animal (DETMANN et al., 2012). Inicialmente, foi preparada solução mineral de acordo com o proposto por Gomes & Oliveira, (2011) e descrito no método M004/2 do INCT. A partir da solução mineral, foi calculado o teor de fósforo de acordo com o Método do Fósforo-Molibdato (INCT-M008/2).

4.7 Análises estatísticas

Os dados de populações microbianas de bactérias do ácido lático, enterobactérias, fungos filamentosos e leveduras foram transformados para a base logarítmica (Log 10 UFC).

Todos os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) por intermédio do procedimento GLM do SAS® versão 9.4 (SAS Institute Inc., EUA), usando o arranjo fatorial 2×2 , no delineamento inteiramente casualizado, no qual a inclusão de núcleo mineral e inoculante microbiano, bem como suas interações, foram considerados efeitos fixos, e o erro experimental efeito aleatório.

As interações significativas foram submetidas ao desdobramento e usou-se o teste F para teste de médias. Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos utilizando-se 5% como nível crítico de probabilidade de ocorrência do erro tipo I.

5.0 RESULTADOS

5.1 Caracterização das rações em mistura total antes da ensilagem

As características químicas, bromatológicas e microbiológicas das *TMR* antes da ensilagem estão expostas na Tabela 2.

Tabela 2 – Populações microbianas e composição químico-bromatológica das *TMR* com e sem núcleo mineral antes da ensilagem.

Itens	<i>TMR</i> com núcleo mineral	<i>TMR</i> sem núcleo mineral
BAL ¹ , Log CFU/g	6,00	6,43
Leveduras, Log CFU/g	6,45	6,35
Fungos Filamentosos, Log CFU/g	4,59	4,79
Enterobactérias, Log CFU/g	5,63	4,52
pH	6,07	6,16
Capacidade tampão (e.mg NaOH/100g MS)	0,16	0,15
CSA ² , g/kg de MS	49,23	42,90
MS ³ , % da MN	57,60	61,19
EE ⁴ , % da MS	4,74	4,48
FDNcp ⁵ , % da MS	11,21	12,72
MM ⁶ , % da MS	4,65	2,28
P ⁷ , % da MS	0,73	0,37
PB ⁸ , % da MS	9,98	11,70
NNP ⁹ , % da MS	3,96	4,04
PIDA ¹⁰ , % da MS	0,02	0,01
Pver ¹¹ , % da MS	6,01	7,64
Amido, % da MS	60,36	61,96

¹BAL: Bactéria do ácido láctico; ²CSA: Carboidratos solúveis em água; ³MS: Matéria Seca; ⁴EE: Extrato etéreo; ⁵FDNcp: Fibra em detergente neutro corrigida pra cinzas e proteína; ⁶MM: Matéria mineral; ⁷P: Fósforo inorgânico; ⁸PB: Proteína Bruta; ⁹NNP: Nitrogênio não proteico; ¹⁰PIDA: Proteína insolúvel em detergente ácido. ¹¹Pver: Proteína verdadeira.

5.2 Composição químico-bromatológica das silagens de ração em mistura total

Foi observado efeito ($P < 0,0001$) da interação IxN sobre o teor de matéria seca das silagens (Tabela 3), registrando-se maior e menor valor na silagem de *TMR* com e sem núcleo, respectivamente, na presença de inoculante.

Tabela 3 – Composição química das silagens de ração em mistura total em função de inoculante microbiano e núcleo mineral.

Núcleo ^a	Inoculante ^b		Média	EPM ^c	Valor P		
	Sem	Com			I	N	I x N
	Matéria seca (% MN)			0,25	0.5028	<0,0001	<0,0001
Com	55,61 Ab	57,07 Aa	56,34				
Sem	55,39 Aa	54,27 Bb	54,83				
Média	55,50	55,67					
	EE (% MS)			0,15	0.2404	0.0660	0.5601
Com	4,05	3,88	3,97				
Sem	4,75	4,26	4,50				
Média	4,40	4,07					
	FDNcp (% MS)			0,26	0.6145	0.1055	0.3680
Com	14,40	14,00	14,20				
Sem	14,80	14,15	14,47				
Média	14,60	14,08					
	MM (% MS)			0,27	0.9667	<0,0001	0.2136
Com	4,38	4,30	4,34 A				
Sem	1,95	2,02	1,98 B				
Média	3,16	3,16					
	P (% MS)			0,05	0.2242	0,0044	0.7784
Com	0,70	0,78	0,74 A				
Sem	0,40	0,53	0,46 B				
Média	0,55	0,65					
	PB (% MS)			0,11	0.7339	0.3027	0.1660
Com	11,49	11,24	11,37				
Sem	11,40	11,80	11,60				

Média	11,45	11,52					
	NNP (% MS)			0,14	0,3670	0,9009	0,3823
Com	5,51	5,52	5,51				
Sem	5,22	5,74	5,48				
Média	5,36	5,63					
	PIDA (% MS)			0,0044	0,1435	0,0231	0,0657
Com	0,0488	0,0237	0,0363 B				
Sem	0,0527	0,0558	0,0543 A				
Média	0,0508	0,0398					
	Pver (% MS)			0,09	0,3206	0,1667	0,7623
Com	5,93	5,70	5,81				
Sem	6,13	6,00	5,06				
Média	6,03	5,85					
	Amido (% MS)			1,22	0,0243	0,3392	0,157
Com	54,33	62,70	58,52				
Sem	59,54	61,65	60,59				
Média	56,93 b	62,18 a					

^aNúcleo: Com: ração com núcleo mineral; Sem: ração sem núcleo mineral.

^bInoculante: Sem: sem aplicação de inoculante microbiano; Com: com aplicação de Lalsil® AS (*L. buchneri* CNCM I-4323).

^cEPM = Erro padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste F a 0,05 de probabilidade para o erro tipo I.

Os teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDNcp), extrato etéreo (EE), nitrogênio não proteico (NNP) e proteína verdadeira (Pver) das silagens não foram afetados pelos fatores em estudo, nem pela interação destes (Tabela 3).

No entanto, houve efeito de núcleo mineral sobre o teor de matéria mineral ($P < 0,0001$) e de fósforo inorgânico ($P = 0,0044$), registrando-se maiores valores na silagem com núcleo mineral. Foi registrado também efeito de núcleo mineral sobre o conteúdo de proteína insolúvel em detergente ácido ($P = 0,0231$). porém, registrando-se maior valor na silagem sem núcleo mineral.

Foi observado efeito de inoculante apenas sobre o teor de amido das silagens de *TMR* ($P=0,0243$), registrando-se maior valor nas silagens inoculadas (Tabela 3).

5.3 Perfil fermentativo e perda de matéria seca das silagens de ração em mistura total

Foi observado efeito da interação IxN ($P=0,0094$) sobre a perda de matéria seca, registrando-se menor e maior valor na silagem de *TMR* com e sem núcleo mineral, respectivamente, tratadas com inoculante (Tabela 4).

Tabela 4 – Perfil fermentativo das silagens de ração em mistura total em função de inoculante e núcleo mineral.

Núcleo ^a	Inoculante ^b		Média	EPM ^c	Valor P		
	Sem	Com			I	N	I x N
		pH		0,02	0,1334	<0,0001	0,9174
Com	4,12	4,10	4,11 A				
Sem	3,99	3,97	3,98 B				
Média	4,05	4,04					
	Perda de matéria seca (%)			0,94	0,1483	<0,0001	0,0094
Com	7,60	Ba 4,39	Bb 2,96				
Sem	12,76	Ab 13,79	Aa 11,15				
Média	7,23	6,89					
	Carboidratos solúveis residuais (g/kg MS)			0,63	0,3708	0,4397	0,8756
Com	12,71	10,91	11,49				
Sem	13,50	11,87	12,69				
Média	13,10	11,39					
	N-Amoniacal (% N total)			0,71	0,8452	0,0054	0,6969
Com	10,43	9,72	10,08 B				
Sem	13,82	14,06	13,94 A				
Média	12,13	11,89					

^aNúcleo: Com: ração com núcleo mineral; Sem: ração sem núcleo mineral.

^bInoculante: Sem: sem aplicação de inoculante microbiano; Com: com aplicação de Lalsil® AS (*L. buchneri* CNCM I-4323).

^cEPM = Erro padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste F a 0,05 de probabilidade para o erro tipo I.

Houve efeito de núcleo mineral ($P < 0,0001$) sobre o pH das silagens, registrando-se maior valor na presença do núcleo mineral. Também, foi registrado efeito de núcleo mineral ($P = 0,0054$) sobre o conteúdo de nitrogênio amoniacal, registrando-se maior valor na ausência de núcleo mineral. Quanto ao teor de carboidratos solúveis residuais não foi observado efeito ($P > 0,05$) dos fatores em estudo, nem da interação entre eles (Tabela 4).

5.4 Quantificação das populações microbianas das silagens de ração em mistura total

Houve efeito da interação IxN ($P = 0,0063$) sobre a população de bactérias do ácido láctico (BAL) das silagens, registrando-se, na presença do núcleo mineral, maior população desse grupo bacteriano na silagem inoculada em relação a não tratada (Tabela 5).

Tabela 5 - Populações microbianas das silagens de ração em mistura total em função de inoculante e núcleo mineral.

Núcleo ^a	Inoculante ^b		Média	EPM ^c	Valor P		
	Sem	Com			I	N	I x N
Bactérias do ácido láctico (Log UFC/g)				0,15	0,0043	0,0817	0,0063
Com	6,14 Bb	7,43 Aa	6,79				
Sem	6,39 Ba	6,43 Ba	6,41				
Média	6,27	6,93					
Fungos filamentosos (Log UFC/g)				0,12	0,0416	0,3481	0,8663
Com	3,00	2,49	2,74				
Sem	3,17	2,73	2,95				

Média	3,09 a	2,61 b				
	Leveduras (Log UFC/g)		0,18	0,0060	0,0006	0,0550
Com	3,84	2,63	3,23 B			
Sem	4,35	4,09	4,22 A			
Média	4,09 a	3,36 b				

^aNúcleo: Com: ração com núcleo mineral; Sem: ração sem núcleo mineral.

^bInoculante: Sem: sem aplicação de inoculante microbiano; Com: com aplicação de Lalsil® AS (*L. buchneri* CNCM I-4323).

^cEPM = Erro padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste F a 0,05 de probabilidade para o erro tipo I.

Foi observado efeito de inoculante sobre a população de fungos filamentosos, ($P = 0,0416$), registrando-se menor contagem na silagem inoculada, enquanto que a população de leveduras foi afetada por inoculante ($P = 0,0060$) e núcleo mineral ($P = 0,0006$) (Tabela 5).

5.5 Estabilidade aeróbia das silagens de ração em mistura total

Não houve efeito de núcleo mineral, de inoculante, nem da interação destes ($P > 0,05$) sobre o valor (horas) da estabilidade aeróbia das silagens (Tabela 6).

Tabela 6 – Estabilidade aeróbia, pH, matéria seca e contagens de leveduras e fungos filamentosos em silagens de ração em mistura total em função de inoculante microbiano e núcleo mineral, após sete dias de exposição ao ar.

Núcleo ^a	Inoculante ^b		Média	EPM ^c	Valor P		
	Sem	Com			I	N	I x N
		pH		0,09	0,3179	0,5406	0,3779
Com	4,07	4,09	4,08				
Sem	4,01	4,36	4,19				
Média	4,04	4,23					

	Matéria seca (% MN)			0,38	0,8631	0,0001	0,0019
Com	57,55 Ab	59,27 Aa	58,41				
Sem	56,92 Aa	55,35 Ba	56,14				
Média	57,23	57,31					
	Leveduras (Log UFC/g)			0,27	0,6997	0,0007	0,0726
Com	4,94	4,34	4,64 B				
Sem	5,81	6,71	6,26 A				
Média	5,38	5,53					
	Fungos filamentosos (Log UFC/g)			0,23	0,0008	0,1996	0,0025
Com	2,37 Aa	2,21 Aa	2,29				
Sem	3,04 Aa	0,76 Bb	1,90				
Média	2,71	1,48					
	Estabilidade aeróbia (horas)						
Com	168	168	168				
Sem	168	168	168				
Média	168	168					

^aNúcleo: Com: ração com núcleo mineral; Sem: ração sem núcleo mineral.

^bInoculante: Sem: sem aplicação de inoculante microbiano; Com: com aplicação de Lalsil® AS (*L. buchneri* CNCM I-4323).

^cEPM = Erro padrão da média.

Médias seguidas pela mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste F a 0,05 de probabilidade para o erro tipo I.

Houve efeito da interação IxN (P=0,0019) sobre o teor de matéria seca das silagens expostas ao ensaio de estabilidade aeróbia, registrando-se maior e menor valor na silagem de TMR com e sem núcleo mineral, respectivamente, quando inoculada. Também foi registrado efeito da interação (P=0,0025) sobre a população de fungos filamentosos (Tabela 6).

Houve efeito de núcleo mineral sobre a população de leveduras nas silagens após a exposição ao ar (P=0,0007), registrando-se maior valor na silagem sem núcleo mineral.

6.0 DISCUSSÃO

A diferença no conteúdo de matéria seca das silagens pode estar associada a perdas de matéria seca, aos tipos e quantidade dos ingredientes, e a inoculação. As maiores concentrações encontradas nas silagens de *TMR* com núcleo mineral provavelmente se deve ao fato deste ser um ingrediente não-fermentável, logo menos alterável, resultando em silagens com maiores teores de MS.

Os ingredientes constituintes das rações podem interferir no teor de MS da silagem das respectivas *TMR*, conforme reportado por Ning et al. (2017), que verificaram diferença no teor de matéria seca das silagens, ao final de 28 dias (455 e 443 g/kg MN) e 56 dias (453 e 442 g/kg MN), em função do tipo de feno (*Medicago sativa* vs. *Leymus chinensis*) adicionado à *TMR*. Quanto a inoculação, Yuan et al. (2015) encontraram maior teor de MS em silagens de *TMR* inoculadas, enquanto que Xie et al. (2020) não registraram efeito de inoculante sobre o teor de matéria seca da silagem.

A ausência de efeito dos fatores em estudo sobre os teores de PB, EE e FDNcp indica que a ensilagem de *TMR* contribui para manutenção do valor nutricional dos alimentos. Respostas similares foram reportadas por Miyaji et al. (2017) e Restelatto et al. (2019b) para o teor de proteína bruta das silagens.

O maior teor de amido nas silagens inoculadas sugere que houve interferência do *Lentilactobacillus buchneri* (*LB*) sobre populações de bactérias que produzem amilases, que são em sua maioria pertencentes ao gênero *Bacillus* (NING et al., 2017). No entanto, Miyaji et al. (2017) reportaram decréscimo na concentração de amido devido aos tipos de grãos adicionados à *TMR* e ao período de ensilagem, bem como a presença de inoculante.

O maior teor de matéria mineral (MM), o qual é não fermentável, é o fator responsável pela menor perda de MS das *TMR* com inclusão do núcleo mineral, contudo, a perda de matéria seca foi maior para as amostras inoculadas com *LB*, o que está em consonância com a literatura, por se tratar de uma cepa heterofermentativa que em seu metabolismo energético pode ampliar as perdas por produzir dióxido de carbono (ROOKE; HATFIELD, 2003). No entanto, no presente estudo, na ração com a presença do núcleo mineral houve mais perdas quando não foi inoculada e tal fato pode estar associado a maior população de leveduras nessas silagens (BORREANI et al., 2018).

O teor de proteína verdadeira tende a decrescer com a ensilagem, devido a proteólise (LAZZARI et al, 2021). Esses autores compararam rações com farelo de soja não fermentado, adicionado no momento da alimentação, ou farelo de soja fermentado, previamente ensilado junto a *TMR* e encontraram diferença no teor de proteína solúvel das rações, com médias de 36,5 e 34,3% da PB, respectivamente.

A concentração de fósforo na silagem manteve-se constante em relação ao teor presente nas rações antes da ensilagem, sugerindo que este nutriente não sofre alteração quantitativa significativa devido a exposição ao processo fermentativo, sendo possível a inclusão de núcleo mineral sem que haja desbalanceamento do nutriente.

O teor de proteína insolúvel em detergente ácido do alimento representa o conceito empírico para quantificar a proteína não degradável da parede celular (HENRIQUES et al., 2007). O farelo de milho apresenta em média de 0,62% de PIDA, expresso na MS, segundo o CQBAL 4.0 (VALADARES et al., 2018). Portanto, podemos inferir que a maior concentração de PIDA encontrada na silagem sem núcleo mineral, se deve a maior participação de farelo de milho nessa silagem.

O mais alto valor de pH obtido nas silagens de *TMR* contendo núcleo mineral pode ser explicado pela presença de sais de enxofre (sulfato de cobalto, sulfato de cobre, sulfato de ferro), bem como iodato de cálcio, fosfato bicálcico e cloreto de sódio. Esse aumento está associado ao maior poder tampão proporcionado por esses sais, fato em consonância com o constatado por Tian et al. (2020), que ao adicionarem diferentes doses de carbonato de cálcio (0, 5, 15 e 25 g/kg MN) em silagens de *TMR*, verificaram aumento nos valores de pH.

Os carboidratos solúveis residuais das rações experimentais apresentaram média de 1,2% da MS, valor menor do que o reportado por Yang et al. (2021), que encontraram valor médio de 2,56% da MS, aos 60 dias de fermentação, e também menor do que o encontrado por Chen et al. (2015), que relataram média de 5,62% da MS. O baixo conteúdo de carboidratos solúveis residuais nas silagens é favorável para manter a qualidade da silagem após a abertura devido a restrição de nutrientes disponíveis para os microrganismos indesejáveis (PAHLOW; WEISSBACH, 1996).

O maior teor de nitrogênio amoniacal na silagem sem núcleo mineral (13,94 x 10,08) provavelmente se deve a uma maior proteólise desta. Em silagens úmidas, valores de nitrogênio

amoniacoal em relação ao nitrogênio total, acima de 10%, geralmente decorrem da atividade proteolítica de clostrídios (KUNG et al., 2018). Os teores de nitrogênio amoniacoal nas silagens do presente estudo foram elevados, mesmo se tratando de silagens com alto teor de matéria seca, o que pode ser explicado pela inclusão da ureia nas rações, conforme reportado por Lazzari et al. (2021).

Tanto a fonte de forragem, quanto os concentrados apresentam suas populações microbianas específicas ao serem ensilados (AMARAL et al., 2020; COSTA et al., 2021), o que em parte pode explicar a maior população de BAL na silagem de *TMR* inoculada, contendo núcleo mineral (6,14 x 7,49 Log UFC/g).

A menor população de fungos filamentosos (3,09 x 2,61 Log UFC/g) e de leveduras nas silagens inoculadas (4,09 x 3,36 Log UFC/g), provavelmente se deve a uma produção de ácido acético, inibindo o crescimento desses grupos microbianos, conforme reportado por Kleonschmit e Kung (2006), melhorando assim a qualidade sanitária da silagem *TMR* ofertada aos animais principalmente por reduzir a contaminação com micotoxinas (MCELHINNEY et al., 2016).

Alta estabilidade aeróbia é esperada para silagens com baixo teor de carboidratos solúveis em água residuais e elevado teor de matéria seca (PAHLOW & WEISSBACH, 1996). Os resultados do presente estudo estão em consonância com aqueles reportados por Nishino et al. (2003) para quebra de estabilidade aeróbia de silagens de *TMR*, independente da inoculação, evidenciando a grande estabilidade de silagens *TMR*.

7.0 CONCLUSÃO

A presença do núcleo mineral não afeta o perfil fermentativo, bem como a população de bactérias do ácido láctico em silagens de *TMR*. A inoculação com *L. buchneri* reduz a população de leveduras e fungos filamentosos, o que pode melhorar a qualidade sanitária das silagens de *TMR*, sem, contudo, alterar a estabilidade aeróbia das mesmas. Portanto, recomenda-se a adição do núcleo mineral e do inoculante à base de *L. buchneri* na ensilagem de *TMR*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARUSSI, M.C.N. et al. Effect of Various Strains of *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation Quality and Aerobic Stability of Corn Silage. **Agriculture**, 2022.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). International. Official Methods of Analysis. 15th edition. **AOAC International**. Arlington, VA, USA. 1990.

ARRIOLA, K. G. et al. Effect of *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus buchneri*, or their combination on the fermentation and nutritive value of sorghum silage and corn silage. **Journal of Dairy Science**, 2021a.

ARRIOLA, K. G. et al. Meta-analysis of effects of inoculation with *Lactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 7, p. 7653–7670, 2021b.

ÁVILA, C. L. S. et al. Estabilidade aeróbia de silagens de capim-mombaça tratadas com *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia** [online]. 2009.

ÁVILA, C. L. S. et al. The use of *Lactobacillus* species as starter cultures for enhancing the quality of sugar cane silage. **Journal of Dairy Science**, v.97, n.2, p.940-951, 2014.

BARNETT, A.J.G. Silage fermentation. **Butterworths Sci. Pub.**, London.1954.

BASSO, F. C. Estabilidade aeróbia de silagens de planta e de grãos úmidos de milho. Dissertação. **Repositório Universidade Estadual Paulista**. Jaboticabal, 2010.

BORREANI, G. et al. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3952–3979, 2018.

BUENO, A. V. I. et al. Ensiling total mixed ration for ruminants: A review. **Agronomy**, v. 10, n. 6, 2020.

CHEN, L. et al. The effects of replacement of whole-plant corn with oat and common vetch on the fermentation quality, chemical composition and aerobic stability of total mixed ration silage in Tibet **Animal Science Journal**, v. 86, n. 1, p. 69–76, 2015.

COSTA, D. M. et al. New epiphytic strains of lactic acid bacteria improve the conservation of corn silage harvested at late maturity. **Animal Feed Science and Technology**, v. 274, 1 abr.

2021.

CUFFIA, M. et al. A simplified feeding system did not affect milk production compared with a total mixed ration system in dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**, v. 19, n. 1, p. 887–895, 2020.

DA SILVA, N. C. et al. Fermentation and aerobic stability of rehydrated corn grain silage treated with different doses of *Lactobacillus buchneri* or a combination of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici*. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4158–4167, 2018.

DETMANN, E. et al. Métodos para Análise de Alimentos (1ª Edição). **Editora Suprema**. Visconde do Rio Branco, MG, Brazil. 2012.

FANG, J. et al. Effects of apple pomace proportion levels on the fermentation quality of total mixed ration silage and its digestibility, preference and ruminal fermentation in beef cows. **Animal Science Journal**, v. 87, n. 2, p. 217–223, 2016.

GONÇALVES, M.F. et al. Ionóforos na alimentação de bovinos. **Veterinária Notícias - Vet not**, [S. l.], v. 18, n. 2, 2013.

GUSMÃO, J. O. Silagens de dietas completas contendo o Capim- Elefante como fonte de forragem. **Repositório UFLA**. Dissertação. 2017.

GUSMÃO, J. O. et al. Total mixed ration silage containing elephant grass for small-scale dairy farms. **Grass and Forage Science**, v. 73, n. 3, p. 717–726, 2018.

GUSMÃO, J.O. Effects of hybrid and maturity on the conservation and nutritive value of snaplage, **Animal Feed Science and Technology**, Volume 274, 2021.

HAN, K. J. et al. Bale location effects on nutritive value and fermentation characteristics of annual ryegrass bale stored in in-line Wrapping Silage. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 9, p. 1276–1284, 2014.

HAO, W. et al. Aerobic stability and effects of yeasts during deterioration of non-fermented and fermented total mixed ration with different moisture levels. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, n. 6, p. 816–826, 2015.

HEINL, S. et al. Insights into the completely annotated genome of *Lactobacillus buchneri* CD034, a strain isolated from stable grass silage. **Journal of Biotechnology**, v. 161, n. 2, p. 153-

166, 2012.

HENRIQUES, L.T.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C. et al. Frações dos compostos nitrogenados associados à parede celular em forragens tropicais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, p.258-263, 2007.

HOFFMAN, P. C. et al. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5, p. 2465–2474, 2011.

HU, X. et al. Fermentation characteristics and lactic acid bacteria succession of total mixed ration silages formulated with peach pomace. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, n. 4, p. 502–510, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Agricultura, pecuária e outros. <Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria.html>> Acesso em: junho de 2022.

JOBIM, C. C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia** [online]. 2007.

KLEINSCHMIT, D. H.; KUNG, L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 4005–4013, 2006.

KUNG, L. J. Aerobic Stability of Silage. **Proc. 2010 California Alfalfa and Forage Symposium and Crop/cereal Conference**, 2010.

KUNG, L. et al. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4020–4033, 2018.

LAZZARI, G. Efeitos da fonte de proteína e suplementação lipídica sobre o desempenho de bovinos em terminação alimentados com silagens de ração total misturada. Dissertação. **Repositório UEM**. 2020.

LAZZARI, G. et al. Effects of protein source and lipid supplementation on conservation and feed value of total mixed ration silages for finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, Vol. 99, No.2, 1-13. 2021.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for

- nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science Technology**, v. 57, p. 347–358, 1995.
- MAROCCO, D. H. et al. Use of by-products in a total mixed ration silage. **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 41, n. 6, p. 3473–3480, 2020.
- MCELHINNEY, C. et al. Mycotoxins in farm silages - a 2-year Irish national survey. **Grass and Forage Science**, v. 71, n. 2, p. 339–352, 2016.
- MIYAJI, M.; MATSUYAMA, H.; NONAKA, K. Effect of ensiling process of total mixed ration on fermentation profile, nutrient loss and in situ ruminal degradation characteristics of diet **Animal Science Journal**, v. 88, n. 1, p. 134–139, 2017.
- MIYAJI, M.; NONAKA, K. Effects of altering total mixed ration conservation method when feeding dry-rolled versus steam-flaked hulled rice on lactation and digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 6, p. 5092–5101, 2018.
- MUCK, R.E. Initial bacterial numbers on lucerne prior to ensiling. **Grass Forage Science**. 44: 19- 25. 1989.
- MUCK, R. E. et al. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3980–4000, 2018.
- NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.53, n.7, p.1620-1625, 1987.
- NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. **Biochemistry**, New York, v.153, p.375-380, 1944.
- NING, T. et al. Effects of microbial enzymes on starch and hemicellulose degradation in total mixed ration silages. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 2, p. 171–180, 2017.
- NISHINO, N.; HARADA, H.; SAKAGUCHI, E. Evaluation of fermentation and aerobic stability of wet brewers' grains ensiled alone or in combination with various feeds as a total mixed ration. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 6, p. 557–563, 2003.
- OKUDA, H.; FUGI, S.; KAWASHIMA. A direct colorimetric method for blood ammonia. **Journal of Experimental Medicine**. v.12, p.11-23, 1965.

- PAHLOW, G.; WEISSBACH, F. Effect of numbers of epiphytic lactic acid bacteria (LAB) and of inoculation on the rate of pH-decline in direct cut and wilted grass silages. p. 104-105. In D.I.H. Jones et al. (ed.) **Proc. Int. Silage Conf.**, 11th. Aberystwyth, UK. 8-11. IGER, Aberystwyth, UK. 1996.
- PAHLOW, G. et al. Microbiology of Ensiling. **Silage Science and Technology**, n. 42, p. 31–93, 2003.
- PLAYNE, M. J.; MCDONALD, P. The buffering constituents of herbage and of silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 17, n. 6, p. 264–268, 1966.
- RANGEL, A.H.N. et al. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v.8, n.2, 2008.
- REIS, R. A.; BERNARDES, T. F.; SIQUEIRA, G. R. Forragicultura - Ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros. 1ª edição [s.l.] **Editora: Funep**. 2014.
- RESTELATTO, R. et al. Effects of holes in plastic film on the storage losses in total mixed ration silage in round bales. **Translational Animal Science**, v. 3, n. 4, p. 1543–1549, 2019a.
- RESTELATTO, R. et al. Chemical composition, fermentative losses, and microbial counts of total mixed ration silages inoculated with different *Lactobacillus* species. n. 2, p. 1–27, 2019b.
- REZENDE, E. J. Seleção de inoculantes para capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Repositório UFLA**. Trabalho de conclusão de curso. 2018.
- ROOKE, J. A.; HATFIELD, R. D. Biochemistry of ensiling. **Silage Science and Technology**, n. (Agronomy Series No. 42). D. R. Buxton, R. E. Muck, and H. J. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI, p. 95–139, 2003.
- SANTOS, F. N. S. et al. Fermentation profile, microbial populations, taxonomic diversity and aerobic stability of total mixed ration silages based on Cactus and Gliricidia. **Journal of Agricultural Science**, v. 158, n. 5, p. 396–405, 2020.
- SCHINGOETHE, D. J. A 100-Year Review: Total mixed ration feeding of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10143–10150, 2017.
- SCHMIDT, P. Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar. Piracicaba. 228p. Tese (Doutorado em Agronomia). USP. **Repositório Escola Superior de Agricultura**

Luiz de Queiroz. 2006.

SIEGFRIED, V. R.; RUCKEMANN, H.; STUMPF, G. E. HPLC- Methode zur Bestimmung organischer Säuren in Silagen. **Landwirtsch Forsch**, v. 37, p.298-304, 1984.

SILVA, B. DE C. et al. A suitable enzymatic method for starch quantification in different organic matrices. **MethodsX**, v. 6, p. 2322–2328, 2019.

SILVA, V.P. Bactérias lácticas em silagem de alfafa e desempenho de bovinos de corte alimentados com silagens de estilosantes ou milho, com e sem concentrado proteico. Tese. **Repositório UFV.** 2018.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DA CERVEJA. O setor em números. <Disponível em: <https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros/>> Acesso em: junho de 2022.

THE WORLD BANK | DATA BANK. World Bank Open Data. <Disponível em: <https://data.worldbank.org>> Acesso em: junho de 2022.

TIAN, P. et al. Effects of calcium carbonate on the fermentation quality and aerobic stability of total mixed ration silage. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 29, n. 2, p. 167–174, 2020.

VALADARES FILHO, S.C., LOPES, S.A. et al., CQBAL 4.0. Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Ruminantes. 2018. <Disponível em: www.cqbal.com.br>

VALADARES FILHO, S. C., LOPES, S. A., CHIZZOTTI, M. L. et al. BR-CORTE 4.0. Formulação de dietas, predição de desempenho e análise econômica de zebuínos puros e cruzados. 2020. <Disponível em: www.brcorte.com.br>

WANG, F.; NISHINO, N. Association of *Lactobacillus buchneri* with aerobic stability of total mixed ration containing wet brewers grains preserved as a silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 149, n. 3–4, p. 265–274, 2009.

WEBSTER, J. The Biochemistry of Silage (Second Edition). By P. McDonald, A. R. Henderson and S. J. E. Heron. Marlow, Bucks. UK: **Chalcombe Publications** (1991). **Experimental Agriculture**. (1992) <doi:10.1017/S0014479700023115>

WEINBERG, Z. G. et al. Preservation of total mixed rations for dairy cows in bales wrapped with polyethylene stretch film - A commercial scale experiment. **Animal Feed Science and Technology**, v. 164, n. 1–2, p. 125–129, 2011.

WEISSBACH, F. New developments in crop conservation. p. 11-25. In D.I.H. Jones et al. (ed.) **Proc. Int. Silage Conf.**, 11th. Aberystwyth, UK. 8-11. IGER, Aberystwyth, UK.1996.

WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v. 68, n. 1, p. 1–19, 2013.

XIE, Y. et al. Effects of the application of *Lactobacillus plantarum* inoculant and potassium sorbate on the fermentation quality, in vitro digestibility and aerobic stability of total mixed ration silage based on alfalfa silage. **Animals**, v. 10, n. 12, p. 1–14, 2020.

YANG, H. et al. Improvement of fermentation quality in the fermented total mixed ration with oat silage. **Microorganisms**, v. 9, n. 2, p. 1–12, 2021.

YANG, L.; ZENG, X.; QIAO, S. Advances in research on solid-state fermented feed and its utilization: The pioneer of private customization for intestinal microorganisms. **Animal Nutrition**, v. 7, n. 4, p. 905–916, 2021.

YUAN, X. et al. The effect of different additives on the fermentation quality, in vitro digestibility and aerobic stability of a total mixed ration silage. *Animal Feed Science and Technology*, v. 207, p. 41-50, 2015.

ZHANG, G. et al. Silage fermentation, bacterial community, and aerobic stability of total mixed ration containing wet corn gluten feed and corn stover prepared with different additives. **Animals**, v. 10, n. 10, p. 1–17, 2020.

ZHENG, J. et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2782–2858, 2020.