

Qualidade microbiológica de silagem de milho produzida na região de Patos de Minas - MG

Microbiological quality of corn silage produced in the Patos de Minas region - MG

GIOVANA GABRIELA SOARES RIBEIRO
Discente do curso de Medicina Veterinária - UNIPAM
E-mail: giovanasoares@unipam.edu.br

DEUSA HELENA GONÇALVES MACHADO
Professora orientadora - UNIPAM
E-mail: deusa@unipam.edu.br

Resumo: O milho é o cereal empregado na alimentação animal. As boas práticas de ensilagem são importante fator para a qualidade do processo, exercendo grande influência sobre a qualidade final do silo. O estudo objetivou avaliar a qualidade microbiológica quanto à identificação dos microrganismos envolvidos na deterioração anaeróbica e aeróbica no processo de silagens. Foram coletadas assepticamente 5 amostras de silagem de milho de silos recém-abertos, localizados em fazendas da região de Patos de Minas, no período de julho de 2021. As amostras foram preparadas e submetidas a diluições seriadas. A partir das diluições, foram realizadas as inoculações em meios de cultura específicos para identificação da contagem dos microrganismos: *Clostridium perfringens*, fungos, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. Os resultados demonstraram que 20% das amostras apresentaram *Clostridium* spp. Em 100% das amostras, verificaram-se elevado crescimento fúngico, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus*. Concluiu-se que as silagens de milho coletadas nas fazendas da região de Patos de Minas – MG apresentaram qualidade microbiológica insatisfatória por deterioração anaeróbia, devido à presença de *Clostridium* encontrada na fazenda E, e por deterioração aeróbia, pela elevada contagem de fungos, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, encontrados nas silagens de milho de todas fazendas.

Palavras-chave: Microrganismos. Qualidade. Silagem de milho.

Abstract: Corn is the cereal used for animal feed. Good silage practices are an essential factor in the quality of the process, exerting significant influence on the final quality of the silo. This study aimed to evaluate the microbiological quality regarding identifying microorganisms involved in anaerobic and aerobic deterioration in the silage process. Five samples of corn silage were aseptically collected from newly opened silos located on farms in the Patos de Minas region in July 2021. The samples were prepared and submitted to serial dilutions. From the dilutions, we performed inoculations in specific culture media to identify the count of microorganisms: *Clostridium perfringens*, fungi, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus*. The results showed that 20% of the samples had *Clostridium* spp. In 100% of the samples, verified high fungal growth, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus*. It was concluded that corn silages collected from farms in the region of Patos de Minas - MG presented unsatisfactory microbiological quality by anaerobic deterioration and aerobic deterioration. The first due to the

presence of *Clostridium* in farm E, and the second due to the high count of fungus, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* found in the corn silages from all farms.

Keywords: Corn silage. Microorganisms. Quality.

1 INTRODUÇÃO

As características morfológicas do milho (*Zea mays* L.) influenciam em seu préstimo, tornando-o um alimento com grande relevância econômica. Dessa forma, o cereal é empregado em diversas áreas, incluindo alimentação animal e dieta humana e detém alto valor energético em sua composição química (PAES, 2006).

São inúmeras as maneiras de o milho ser processado; sendo assim, todos os produtos finais oriundos do cereal são destinados a diferentes áreas de consumo, com destaque ao mercado do consumo animal. A silagem é inserida na alimentação de bovinos leiteiros e de corte, além da utilização em rações para consumo deles (PAES, 2006).

A qualidade da alimentação do rebanho tornou-se uma preocupação constante dos pecuaristas, devido à importância de manter a saúde animal, como também a qualidade dos animais. É notório que, em períodos de veranicos, o uso de silagem, em especial a de milho, é um grande aliado na nutrição animal (CRUZ, 1998). A demanda pela produção da silagem de milho se dá pela presença de características bromatológicas que cumprem com o valor nutritivo destinado aos animais (NUSSIO *et al.*, 2001).

O processo de ensilagem consiste na conservação de alimentos, em ambientes úmidos ou parcialmente secos, de forma anaeróbica, que causa uma redução na respiração celular e consequente favorecimento da proliferação de bactérias lácticas. Essas bactérias produzem ácidos orgânicos, como o ácido láctico, resultando no abaixamento do pH (MACÊDO *et al.*, 2017).

Sendo assim, a proliferação de microrganismos associados à deterioração anaeróbia tem os seus efeitos sobre a qualidade da silagem. Normalmente tais microrganismos ocorrem muito tempo depois de as bactérias ácido-láticas (BAL) pararem de crescer ativamente no silo. Entre os microrganismos que podem causar a deterioração anaeróbia estão as bactérias do gênero *Clostridium*. Estas têm efeito pronunciado na qualidade da silagem se a temperatura for de 43 a 47°C, juntamente com o pH ótimo entre 6,0 a 7,0. Este tipo de fermentação representa significativa perda de matéria seca, pois seus produtos reduzem a aceitabilidade das silagens, decrescendo o consumo de matéria seca (NOVINSKI, 2013).

Quando ocorre a abertura do silo e inicia-se o fornecimento aos animais, o ambiente anaeróbico é substituído pelo aeróbico, rapidamente. Sob essas condições, certos microrganismos que estavam dormentes, na ausência do oxigênio, multiplicam-se, resultando em deterioração aeróbia da silagem (SANTOS, 2016).

Sendo assim, diferentes microrganismos podem causar a deterioração aeróbia, entre eles os fungos são os mais persistentes. Os fungos são microrganismos estritamente aeróbicos, e sua presença na silagem é facilmente detectada pela presença de grandes estruturas filamentosas e esporos coloridos (MOMBACH, 2014). Seu crescimento está associado à penetração de ar durante a fase de armazenamento, mas, principalmente,

durante a fase de abertura do silo, na qual há maior difusão do oxigênio no material ensilado (SANTOS, 2016).

Outros microrganismos isolados em silagens de milho que causam deterioração aeróbia são os *Bacillus* spp. Essas bactérias são aeróbias ou anaeróbias facultativas, produzem esporos e competem com as BAL por substratos fermentescíveis. Estão envolvidas na deterioração inicial da silagem (PAHLOW *et al.*, 2003).

A ocorrência em silagens do gênero *Listeria* spp e de microrganismos aeróbios ou anaeróbios facultativos tem sido associada à deterioração aeróbia (CÂMARA *et al.*, 2014). Para Câmara e seus colaboradores (2014), o crescimento e a sobrevivência de *Listeria* spp. na silagem são determinados pelo grau de anaerobiose e pelo pH dela.

Ainda com relação a essa deterioração, estão envolvidos também os *Staphylococcus*. As boas práticas de ensilagem são importante fator para a qualidade do processo; no entanto, a microbiota abundante da silagem exerce grande influência sobre a qualidade do processo de conservação da forragem. A alteração da qualidade nutricional dos grãos presentes na silagem deve-se a atividades aeróbias de microrganismos oriundas da abertura do material, transformando o açúcar em álcool, danificando as propriedades da forragem (SENGER *et al.*, 2005).

Para obter qualidade na silagem de milho, deve-se levar em consideração características do grão, como também o manejo do cultivo do milho, as características das folhas, das palhas, dos grãos, do colmo e do sabugo, além dos demais componentes do milho (NUSSIO, 1991).

O presente trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica quanto à identificação dos microrganismos envolvidos em deterioração anaeróbica e aeróbica, no processo de silagens de milho da região de Patos de Minas.

2 METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa analítica e descritiva, de cunho quantitativo. A metodologia obedeceu ao disposto pelo método ISO 11290-2:1998 amendment 1:2004. Foram coletadas 5 amostras de silagem em frascos estéreis, a 10 cm de profundidade, em diversos pontos de 5 silos recém-abertos, localizados na região de Patos de Minas, no período de julho de 2021. As amostras coletadas foram identificadas e acondicionadas em recipientes isotérmicos e transportadas ao Laboratório de Microbiologia situado no bloco D, do Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM.

As amostras de silagem de milho foram preparadas e submetidas em diluições seriadas. Foram transferidos asepticamente 25ml de cada amostra para 225 ml de diluente água peptonada tamponada (APT). Homogeneizou-se e obteve-se a diluição (10^{-1}). Posteriormente, foram adicionados 10 ml dessa diluição a um frasco contendo 90 ml de APT e obteve-se a diluição (10^{-2}). Em seguida da diluição (10^{-2}), retiraram-se 10 ml e transferiu-se esse conteúdo para outro frasco contendo 90 ml de APT, obtendo-se a diluição (10^{-3}).

2.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DOS MICRORGANISMOS ASSOCIADOS À DETERIORAÇÃO ANAERÓBIA

2.1.1 Contagem de *Clostridium* spp

A contagem baseou-se na inoculação de 1ml de cada amostra das três diluições seriadas das amostras em superfície de placas, contendo Ágar Triptona Sulfito Cicloserina (TSC), previamente preparadas. Espalhou-se o inóculo com uma alça de drigalski, das placas de maior para menor diluição, até que o excesso do líquido fosse absorvido. Em seguida, adicionou-se uma sobrecamada do mesmo meio. Aguardou-se a solidificação da sobrecamada do meio e incubou-se a 35- 37 °C por 24 h em atmosfera anaeróbia. Houve a contagem das colônias presuntivas: selecionaram-se as placas e contaram-se as colônias típicas de coloração pardas a pretas. Para confirmação, foi realizado o método de coloração de Gram.

2.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DOS MICRORGANISMOS ASSOCIADOS À DETERIORAÇÃO AERÓBIA

2.2.1 Contagem de fungos filamentosos

A contagem baseou-se na inoculação das diluições desejadas das amostras pela técnica de semeadura em profundidade (método de “Pour Plate”). Essa técnica foi utilizada para se determinar a população de bolores e de leveduras, utilizando Ágar batata dextrose (PDA) e incubação a 27° C, por 5 dias.

Inoculou-se, das três diluições seriadas de cada amostra, 1ml da amostra em placas vazias, e foi adicionado o meio de cultura PDA, incubado a 25° C, por 3 dias. A contagem padrão em placas determinou o número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama ou mililitro.

2.2.2 Contagem de *Bacillus* spp

Utilizou-se o preparo das amostras e diluições seriadas para análises em silagem.

Inoculou-se 1 ml das três diluições seriadas de cada amostra na superfície de placas, contendo Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP), previamente preparadas. Espalhou-se o inóculo com uma alça de drigalski, das placas de maior para menor diluição, até que o excesso do líquido tivesse sido absorvido. Incubou-se a 30 - 31 °C por 24 h. Selecionaram-se as placas que apresentaram crescimento para contagem das colônias presuntivas, através da contagem das colônias típicas de coloração rósea com grande halo opaco de precipitação. A confirmação deu-se através de provas bioquímicas e de coloração de Gram.

2.2.3 Contagem de *Listeria spp*

A contagem foi realizada através da inoculação das diluições seriadas em placas com meio de cultura Ágar *Listeria* Ottaviani&Agosti (ALOA) previamente preparadas. Espalhou-se o inóculo com uma alça de drigalski, das placas de maior para menor diluição, até que o excesso do líquido fosse absorvido. Posteriormente incubou-se a $36 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$, por 48 horas.

Após o período de incubação, foi realizada a contagem na diluição possível.

As colônias típicas apresentaram coloração verde-azulada com halo. Foram realizadas provas confirmatórias através da prova positiva da coagulase e coloração de Gram positivo.

2.2.4 Contagem de *Staphylococcus*

A contagem baseou-se na inoculação das diluições seriadas das amostras em placas contendo o meio de cultura ágar Baird-Parker (BP). Inoculou-se 1 ml de cada amostra na superfície de placas, contendo BP, previamente preparadas de cada diluição. Espalhou-se o inóculo com uma alça de drigalski, das placas de maior para menor diluição, até que o excesso do líquido fosse absorvido e incubou-se a $36 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$, por 48 horas. As colônias típicas apresentaram-se negras, brilhantes, de forma redonda, convexa, com bordas regulares, circundadas por dois halos, um opaco e outro transparente, contrastando com o meio. As colônias atípicas apresentaram-se negras ou cinzentas, desprovidas de halo ou com apenas um.

Para as provas confirmatórias, foram realizados os testes de coagulase e catalase positiva e coloração pelo método de Gram.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados foram obtidos por meio da contagem dos microrganismos que estão associados às perdas durante a ensilagem, ocasionadas pela deterioração anaeróbia, os *Clostridium spp.*, e por microrganismos que estavam dormentes. Na ausência do oxigênio e com abertura do silo, transmutou-se o ambiente, favorecendo a presença de fungos filamentosos, *Bacillus spp.*, *Listeria spp.* e *Staphylococcus*, propiciando deterioração aeróbia.

A partir da interpretação dos resultados, demonstrados na Tabela 1, foi possível constatar os microrganismos envolvidos na deterioração anaeróbia nas silagens de milho de cinco fazendas na região de Patos de Minas – MG.

Tabela 1: Contagem dos microrganismos que estão associados deterioração anaeróbia, da silagem de milho da região de Patos de Minas-MG, 2021

FAZENDAS	MICRORGANISMO <i>Clostridium perfringens</i> *VMP: $1,0 \times 10^1$ **UFC/g
Fazenda A	$< 1,0 \times 10^1$ UFC/g
Fazenda B	$< 1,0 \times 10^1$ UFC/g
Fazenda C	$< 1,0 \times 10^1$ UFC/g
Fazenda D	$< 1,0 \times 10^1$ UFC/g
Fazenda E	$3,0 \times 10^2$ UFC/G

* VMP: Valor Máximo Permitido, comparado com estudo de outros autores. ** UFC: Unidade Formadora de Colônias.

Fonte: resultados analíticos da pesquisa.

Foi constatada a presença de $3,0 \times 10^2$ UFC/g de *Clostridium perfringens*, somente na fazenda E. Nas demais fazendas, não foi identificado esse microrganismo, com contagem $< 1,0 \times 10^1$ UFC/g. Resultados semelhantes foram observados nas análises de Jobim *et al.* (2008). Encontraram-se 0,1 UFC/g de Clostrídeos na silagem de espigas de milho e 0,2 log UFC/g na silagem de grãos de milho, valores considerados baixos, seguindo a estimativa para esse gênero. Os aspectos das silagens não são propícios ao desenvolvimento dessas bactérias. Ainda, Jobim *et al.* (2008) mencionam que a baixa contaminação pelo gênero *Clostridium* pode ser explicada pelo alto valor de matéria seca aliado ao pH reduzido das silagens.

Tosi *et al.* (1982), em seus estudos, concluíram que a acidez da silagem impediu a proliferação dos esporos de *Clostridium*. Conforme afirmam Mahanna (1994) e Pedroso (1998), a umidade elevada também influencia no desenvolvimento de Clostrídeos. Além disso, são vulneráveis à pressão osmótica (Woolford, 1972).

Segundo Gonçalves (2011), *Clostridium* spp. são classificadas como bactérias anaeróbicas e possuem potencial para afetar a qualidade da silagem de milho, visto que fermentam açúcares e ácido láctico, resultando em ácido butírico e aminas. Sendo assim, a fermentação reflete expressivamente na perda de matéria seca da silagem, bem como atenua a aceitabilidade das silagens pelos animais, provocando o declínio no consumo de matéria seca. Essas bactérias são dependentes do potencial hidrogeniônico (pH) do meio, desenvolvendo-se em pH 6,0 a 7,0. Em ambientes com pH reduzido, o seu crescimento é inibido (GUIM, 2002).

Os resultados demonstrados na Tabela 2 representam os microrganismos envolvidos na deterioração aeróbia das silagens de milho de cinco fazendas da região de Patos de Minas – MG.

Tabela 2: Contagem dos microrganismos pesquisados que estão associados à deterioração aeróbia da silagem de milho da região de Patos de Minas-MG, 2021

FAZENDAS	MICRORGANISMOS UFC/g			
	Fungos *VMP: 1,0x10 ⁸	<i>Bacillus cereus</i> *VMP: 4,0x10 ²	<i>Listeria monocytogenese</i> *VMP: 1,0x10 ⁴	<i>Staphylococcus aureus</i> *VMP: 1.0x10 ¹²
Fazenda A	>1,0 x 10 ⁸	3,2 x 10 ⁶	>1,0 x 10 ⁴	>1,0 x 10 ¹²
Fazenda B	>1,0 x 10 ⁸	>1,0 x 10 ¹²	>1,0 x 10 ⁴	>1,0 x 10 ¹²
Fazenda C	>1,0 x 10 ⁸	6,2 x 10 ⁶	>1,0 x 10 ⁴	>1,0 x 10 ¹²
Fazenda D	>1,0 x 10 ⁸	>1,0 x 10 ¹²	>1,0 x 10 ⁴	>1,0 x 10 ¹²
Fazenda E	>1,0 x 10 ¹²	1,2 x 10 ⁶	>1,0 x 10 ⁴	>1,0 x 10 ¹²

* VMP: Valor Máximo Permitido, comparado com estudo de outros autores.

Fonte: resultados analíticos da pesquisa.

Das amostras analisadas, verificou-se elevada contagem de fungos em 100% da silagem de milho de todas as fazendas, com valores acima de 1.0×10^{12} UFC/g. Ao se compararem os resultados dessa pesquisa, percebe-se semelhança com o estudo de Eneias *et al.* (2020): ao avaliar 100% das amostras, em 93% foi identificada a presença de fungos. Em Lopes *et al.* (2012), verificaram-se fungos em 100% das amostras analisadas, cerca de 94,4% apresentaram contagem maior que 10^4 UFC/g, 12,71% atingiram 10^8 UFC/g.

No experimento de Jobim (2008), houve crescimento de fungos na silagem de espigas de milho, sendo, em média, maior desenvolvimento de fungos (2,6 log UFC/g) ao se comparar com a silagem de grãos úmidos (1,9 log UFC/g), em razão da maior porosidade encontrada na silagem de espiga. Ashbel e Lisker (1988), em seus estudos, encontraram 6,5 log UFC/g oriundos da planta do milho. Contudo, ao se analisarem outros resultados de estudo posterior ao de Ashbell *et al.* (1991), verificou-se o valor de 9,1 log UFC/g de silagem da planta de milho.

Conforme Bryden (2012), a existência de fungos nas silagens possivelmente está relacionada com o manejo inapropriado no processo de ensilagem, como na compactação, na vedação e no fechamento. Visto que os fungos são microrganismos aeróbios (MOMBACH, 2014), o seu desenvolvimento está correlacionado com o contato de algumas regiões com o oxigênio, na etapa de armazenamento, ou seja, com a má vedação da silagem, como também com o processo de abertura do silo, em que ocorre maior dispersão de ar dentro da massa ensilada (PEREIRA; SANTOS; 2006).

No entanto, antes do processamento da silagem, o milho apresenta chances de ser contaminado por fungos, seja na etapa de plantação, na colheita, no transporte e ainda no armazenamento, desde que a ambiência se encontre favorável para seu desenvolvimento (FRISVAD *et al.*, 2006). A presença desse microrganismo influencia negativamente na qualidade do produto, detendo a capacidade de causar danos à saúde do animal (ENEIAS *et al.*, 2020). Segundo Woolford (1990), existe um consenso a respeito de fungos e leveduras, sendo considerados como os principais microrganismos relacionados à deterioração aeróbia das silagens.

Mediante as análises de *Bacillus cereus* nas silagens de milho, verificou-se que 100% das amostras apresentaram elevada contagem desse microrganismo. Nas fazendas

B e D, os valores ficaram acima de $1,0 \times 10^{12}$ UFC/g.; na fazenda A, constatou-se um crescimento de $3,2 \times 10^6$ UFC/g; na fazenda C, de $6,2 \times 10^6$ UFC/g; na fazenda E, de $1,2 \times 10^6$ UFC/g, sendo esses valores propícios à formação de esporos.

Conforme Bianchet *et al.* (2020), no estudo da silagem de farelo úmido de glúten de milho, verificou-se um crescimento gradativo de *Bacillus cereus* após a abertura da ensilagem entre o 0 e 3º dia, obtendo-se os seguintes valores: 0,6; 1,2; 5,6; 6,9 log UFC.g-1, respectivamente. Segundo o estudo de Santos (2016), a média de microrganismos aeróbios capazes de formar esporos, entre eles *Bacillus cereus*, foi 4,09 log UFC.g-1, oscilando entre 0,00 e 6,19 log UFC.g-1. Além disso, em 64,8% das amostras, a população identificada foi superior a 4,01 log UFC.g-1.

Essas bactérias são gram positivas e possuem habilidade em formar esporos e se desenvolvem em ambientes aeróbios. Entretanto, mesmo que consigam se desenvolver em meios anaeróbios, não manifestam atividade relevante no decorrer do processo de fermentação da silagem (SHINGFIELD *et al.*, 2005).

Shingfield *et al.* (2005) mencionam que, entre as várias espécies encontradas na silagem, o *Bacillus cereus* é considerado o mais alarmante do gênero, em função da sua aptidão em sobreviver à pasteurização do leite; a toxina sintetizada pelo *B. cereus* é capaz de causar intoxicação alimentar em humanos através do consumo de derivados do leite contaminado. Pahlow *et al.* (2003) afirmam que os esporos desses microrganismos sobrevivem durante a passagem pelo sistema digestório dos ruminantes. Além disso, sua presença no leite cru pode estar associada ao elevado número de esporos nas fezes.

Os resultados do estudo, em relação a presença de *Listeria monocytogenes*, apresentaram valores elevados, acima de $1,0 \times 10^4$ UFC/g em 100% das amostras analisadas. No trabalho de Ryser *et al.* (1997), identificou-se a presença de *Listeria spp.* em 83% das amostras de silagem de milho que possuíam alta qualidade, além de pH entre 3,8 e 4,2. Em Lopes *et al.* (2012), identificou-se, em 100%, *L. monocytogenes* no material analisado, contudo, a presença de números acima de 10^4 UFC/g indicam má qualidade da silagem.

Oliveira (2016) constatou a presença desse microrganismo em 46,66% das amostras. Corrot (1998) cita que a presença de *Listeria monocytogenes* nas silagens está diretamente associada ao pH, posto que essa bactéria não evolui nas situações em que o pH se encontra menor que 5,2. Além disso, a eliminação desse microrganismo ocorre em ambiente ácido. Ademais, o crescimento de *L. monocytogenes* ocorre em condições de pH alcalino, exceto quando o teor de matéria seca se encontra aumentado.

Doyle (1988) relata que a temperatura ideal para o crescimento se situa entre 30 °C e 37 °C, porém, segundo Welbourn & Williams Júnior (1999), esse microrganismo está preparado para se desenvolver entre 0 °C e 45 °C, possuindo capacidade de proliferar mesmo em situações de refrigeração.

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se a presença de *Staphylococcus aureus* em 100% das amostras coletadas, com valores acima de $1,0 \times 10^{12}$ UFC/g. Os *Staphylococcus* fazem parte da microbiota normal da pele e mucosas de pessoas saudáveis, é um dos agentes mais comuns e responsáveis por surtos de intoxicação alimentar. É um dos principais agentes causadores de infecções na glândula mamária de vacas produtoras de leite, considerado o microrganismo patogênico mais frequentemente isolado de leite cru e em quadros de mastite (PRADO *et al.*, 2015).

Em virtude da escassez de referencial abordando a presença ou a ausência de *Estafilococos* na silagem de milho, não foi possível realizar a comparação de resultados de autores com o presente estudo.

6 CONCLUSÃO

Concluiu-se que as silagens de milho coletadas nas fazendas da região de Patos de Minas – MG apresentaram qualidade microbiológica insatisfatória por deterioração anaeróbia, devido à presença de *Clostridium* encontrada na silagem da fazenda E, e por deterioração aeróbia, devido à elevada contagem de fungos, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, encontrados nas silagens de milho de todas as fazendas. A presença desses microrganismos inicia-se com a abertura do silo, transmudando o ambiente anaeróbico para aeróbico. Com a presença de oxigênio, os microrganismos que estavam dormentes multiplicam-se, alterando a qualidade da silagem.

REFERÊNCIAS

- ASHBELL, G. *et al.* A simple system to study the aerobic determination of silages. **Canadian Agricultural Engineering**, [S. l.], v. 34, p. 171-175, 1991.
- ASHBELL, G.; LISKER, N. Deterioração aeróbia em silagem de milho armazenada em um silo de bunker em condições de fazenda em um clima subtropical. **Jornal da Ciência da Alimentação e Agricultura**, v. 45, n. 4, p. 307-315, 1988.
- BIANCHET, E. A. *et al.* Estudo quali-quantitativo de microrganismos deteriorantes presentes em silagens produzidas no extremo-oeste catarinense: impacto na qualidade microbiológica. **A pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária 2**, [S. l.], p. 140-149, dez. 2020.
- BRYDEN, W. L. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: implications for animal productivity and feed security. **Anim. Feed Sci. Technol.**, [S. l.], v. 173, p. 134-158, 2012.
- CÂMARA, A. C. L. *et al.* Listeriose em ovinos associada ao consumo de silagem no Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 19-22, 2014.
- CORROT, G. **Qualité bacteriologique de l'enrubannage**: spores butyriques et Listeria. Recolter & Conserver L'herbe aujourd'hui. Paris: Association Française, 1998.
- CRUZ, J. C. Cultivares de milho para silagem. CONGRESSO NACIONAL DOS ESTUDANTES DE ZOOTECNIA, 1998, **Anais [...]** Viçosa, nov. 1998.

DOYLE, M. P. Effects of environmental and processing condition on *Listeria monocytogenes*. **Food Technology**, [S. l.], v. 42, n. 4, p. 169-71, 1988.

ENEIAS, T. G. *et al.* Avaliação microbiológica de silagem de milho. **Zootecnia: nutrição e produção animal**, [S. l.], p. 42-52, 2020.

FRISVAD, J. C. *et al.* Recommendations concerning the chronic problem of identification of species associated with mycotoxigenic fungi in foods and feeds. *In*: HOCKINGS, A. A.; PITT, J. I.; SAMSON, R. A.; THRANE, U. (Eds.). **Advances in food Mycology**. New York: Springer, 2006. p. 33-46.

GONÇALVES, João Arlindo Gouveia. **Silagem de resíduo úmido de fécula de mandioca na alimentação de ruminantes**. 2011. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2011.

GUIM, A. Produção e avaliação de silagem. SIMPÓSIO PRODUÇÃO DE FORRAGEIRAS NATIVAS, 3., 2002. **Anais [...]** Areia: UFPB, 2002. CD-ROM.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 11290-2: 1998**. microbiology of food and animal feeding stuffs: horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*: part 2: enumeration method. Geneva, 2004.

JOBIM, C. C.; REIS, R. A.; SCHOKEN-ITURRINO, R. P.; ROSA, B. Desenvolvimento de microrganismos durante a utilização de silagens de grãos úmidos de milho e de espigas de milho sem brácteas. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [S. l.], v. 21, p. 671-676, 14 jul. 2008.

LOPES, F. C. *et al.* Características químico-bromatológicas e microbiológicas de silagem de milho sob distintos espaçamentos entre linhas e diferentes manejos de plantas daninhas. CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012, Águas de Lindóia. **Anais [...]** Águas de Lindóia, 2012.

MACÊDO, A. J. S.; SANTOS, E. M.; OLIVEIRA, J. S.; PERAZZO, A. F. Microbiologia de silagens: revisão de literatura. **REDVET**, v. 18, n. 9, 2017. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653009020>.

MAHANNA, B. Proper management assures high-quality silage, grains. **Feedstuffs**, [S. l.], v. 10, p. 12-56, 1994.

MOMBACH, M. A. **Silagem de grão de milho triturado e reidratado contendo glicerina bruta e inoculante microbiano**. 2014. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, 2014.

NOVINSKI, C. O. **Composição de micotoxinas e bromatologia de silagens de milho em silos de grande porte utilizando imagens em infravermelho**. 2013. 85 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

NUSSIO, L. G. Cultura de milho para produção de silagem de alto valor alimentício. *In*: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 4., Piracicaba, 1991. **Anais [...]**

Piracicaba: ESALQ, 1991.

NUSSIO, L. G.; Campos, F. P.; Dias, F. N. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, Maringá, 2001. **Anais [...]**

Maringá: UEM/CCA/DZO, 2001.

OLIVEIRA, A. S. **Caracterização de silagens de milho produzidas em Minas Gerais e caracterização metabólica e genotípica de bactérias do ácido láctico isoladas dessa silagens**. 2016. 136 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

PAHLOW, G. *et al.* Microbiology of ensiling. *In*: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. (Eds.). **Silage Science and Technology**. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p. 31-94.

PEDROSO, A. de F. Silagem-princípios básicos-produção-manejo. *In*: CRUZ, G. M. da; MONTEIRO NOVO, A. L. **Resumo das palestras**: curso: produção e manejo de silagem. São Carlos: EMBRAPA-CPPSE, 1998.

PEREIRA, O. G.; SANTOS, E. M. Microbiologia e o processo de fermentação em silagens. SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3., Viçosa, 2006. **Anais [...]** Viçosa: UFV, 2006. p. 393-430.

PRADO, R. R., FREITAS, E. D. A., JUNIOR, E. C. V., COSTA, P. C., SIQUEIRA, M. C., RAMMER, C.; OSTLING, C.; LINGVALL, P.; LINDGREN, S. Ensiling of manured crops: effects on fermentation. **Grass and Forage Science**, [S. l.], v. 49, n. 3, p. 343-351, 2015.

RYSER, E. T.; ARIMI, S. M.; DONNELLY, C. W. Effects of pH on distribution of listeria ribotypes in corn, hay, and grass silage. **Applied Environment Microbiology**, [S. l.], v. 63, n. 9, p. 3695-3697, 1997.

SANTOS, A. de O. dos. **Caracterização de silagens de milho produzidas em minas gerais e caracterização metabólica e genotípica de bactérias do ácido láctico isoladas dessas silagens.** 2016. 136 f. Tese (Doutorado) - Curso de Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

SENGER, C. C. D. *et al.* Composição química e digestibilidade “in vitro” de silagem de milho com distintos teores de umidade e níveis de compactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1393-1399, 2005.

SHINGFIELD, K. J.; SALO-VÄÄNÄNEN, P.; PAHKALA, E. *et al.* Effect of forage conservation method, concentrate level and propylene glycol on the fatty acid composition and vitamin content of cows' milk. **Journal of Dairy Research**, [S. l.], v. 72, p. 349-361, 2005.

TOSI, H.; ITURRINO, R. P. S.; RAVAZZI, J. P. Presença de Clostridium em silagem de milho colhido em diferentes estádios de desenvolvimento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S. l.], v. 17, n. 8, p. 1133-1136, 1982.

WELBOURN, J. L.; WILLIAMS JÚNIOR, J. New Listeria Control measures under consideration. **Scope Technic Bull Siliker Lab**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 1-7, 1999.

WOOLFORD, M. K. A Review: the detrimental effects of air on silage. **J. Appl. Bacteriol.**, [S. l.], v. 68, n. 1, p. 101-116, 1990.

WOOLFORD, M. K. Some aspects of the microbiology and biochemistry of silage making. **Herbage Abstr.**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 105-111, 1972.