

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAMILLA MACIEL DE SOUZA



IMPACTO AMBIENTAL DA PRODUÇÃO DE SILAGENS: REVISÃO DA
LITERATURA E AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL EM SILOS LABORATORIAIS

CURITIBA

2015

CAMILLA MACIEL DE SOUZA

IMPACTO AMBIENTAL DA PRODUÇÃO DE SILAGENS: REVISÃO DA
LITERATURA E AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL EM SILOS LABORATORIAIS

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Nutrição e Alimentação Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Patrick Schmidt

CURITIBA

2015

S731 Souza, Camilla Maciel de.
Impacto ambiental da produção de silagens: revisão da literatura
e avaliação experimental em silos laboratoriais. / Camilla Maciel de
Souza. – Curitiba : 2015.
131 f. il.

Orientador: Patrick Schmidt.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias.

1. Ensilagem. 2. Conservação da forragem. 3. Impacto ambiental.
I. Schmidt, Patrick. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de
Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias. III. Título.

CDU 633.3:504

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “**IMPACTO AMBIENTAL DA PRODUÇÃO DE SILAGENS: REVISÃO DE LITERATURA E AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL EM SILOS LABORATORIAIS**” apresentada pela Mestranda **CAMILA MACIEL DE SOUZA** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata APROVADA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 27 de março de 2015


Professor Dr. Patrick Schmidt
Presidente/Orientador


Dr. João Luiz Pratti Daniel
Membro


Professora Dra. Maity Zopollatto
Membro

Ao meu marido Daniel,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter criado este planeta, o milho, a cana-de-açúcar, os capins e o homem, que criou a silagem. Grata a Ele pela oportunidade da existência e por todos os recursos que guiaram minha jornada até agora.

Agradeço ao meu esposo amado Daniel, por ter sido meu anjo aqui na Terra, e ter me amado e apoiado em todas as minhas decisões e loucuras, incondicionalmente. Grata para sempre. Eu te amo!

Agradeço aos meus pais e mães, que têm grande responsabilidade sobre a pessoa que me tornei. Aos meus familiares pelo apoio e compreensão.

Agradeço às minhas irmãs Ana Paula e Letícia, por serem minhas amigas, companheiras e confidentes. Ao meu irmão Luiz Filipe pelo carinho e respeito. Às minhas irmãs-na-lei Loruama e Laisa – que merece uma menção especial por ter ajudado até na adubação do milho! Aos meus sogros pelo carinho e acolhimento de sempre.

Agradeço ao meu Orientador Prof. Patrick, por ser muito mais do que um orientador; por paternalmente acolher, aconselhar, acreditar e reconhecer. Grata.

À minha CPsister Bleine por ser companheira durante esses dois anos, pelas aulas de nutrição (humana!), por ter me convencido a fazer aula de circo, pelas caronas na garupa da bicicleta, pelo carinho e pelo aprendizado sobre a sutil arte da comunicação! Aos membros da família CPFOR: à Maity, pelo carinho, amizade e chazinhos; ao Charles, pela disposição e empolgação que me serviram de inspiração, como um bom irmão mais velho; ao Severino, que foi responsável por 90% das risadas durante o mestrado; à Maryon, abençoada, pela infinita disposição com as análises estatísticas, mesmo com mudanças na última hora; ao Eduardo e à Lucélia, pela ajuda incansável com todo o trabalho dos experimentos; à Jessica Lozovei, que foi nossa estagiária mais empolgada por muito tempo; às outras Jéssicas que também nos ajudaram muito.

À Maria José, por sempre explicar minuciosamente todas as nossas obrigações, e por demonstrar tanta preocupação por nós, alunos. Obrigada pelo carinho!

Às minhas amigas Iza e Ana P., por estarem presentes mesmo quando distantes. Amizades são como as estrelas...

Ao Circo-UFPR, por trazer alegria e pessoas maravilhosas num período em que o sentimento de superação, exaustão e mente livre me fizeram muito bem.

À Quiron (Jeff, Deia, Sílvia e Bruno) por terem proporcionado o ambiente em que esta dissertação veio à luz.

Ao professor José Milton e ao meu amigo Cláudio Oliver por serem responsáveis pela pulga atrás da minha orelha.

Ao Laboratório de Bromatologia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, em especial ao Cesar, João Daniel, Daniel Junges e Greici pela ajuda e pelas análises de COV. Ao Laboratório de Análise de Solos da UFRGS, pelas análises de composição dos gases. Ao Departamento de Química da UFPR, pelas análises de DQO. Ao Laboratório de Nutrição Animal da UFPR, por nos emprestar bancadas, materiais e equipamentos, sempre que precisamos. Ao LAPOC-UFPR, e à Prof. Alda, por nos abrigarem quando ainda não tínhamos nosso espaço, e por efetivamente nos presentear com a casa do lago, que hoje é o CPFOR, e melhora a cada dia.

À Lallemand, por fornecer os aditivos, financiar parte da pesquisa e proporcionar grandes melhoras em nosso laboratório. Ao CNPq, pelo financiamento do projeto. À CAPES, pela bolsa concedida.

Praticamente inofensiva.

Douglas Adams

RESUMO

A ensilagem é a principal técnica de conservação de forragens utilizada para suprir a demanda de alimentos volumosos na nutrição de ruminantes. Porém, a extensão do impacto ambiental causado por essa prática ainda é pouco estudada. Nesta dissertação, objetivou-se fornecer uma visão geral sobre o impacto ambiental da produção de silagens, através de revisão da literatura; e contribuir especificamente com a avaliação de perdas fermentativas em silos laboratoriais, através da realização de quatro ensaios experimentais. Dentre os focos de impacto do processo de ensilagem, estão: uso da terra, sistema de plantio, escolha da espécie forrageira, adubação, uso de herbicidas e pesticidas, uso de maquinário, momento de colheita, teor de matéria seca na ensilagem, tipo de silo e vedação, perdas fermentativas e produção de efluentes. Nos ensaios experimentais, quatro espécies forrageiras (capim-elefante, azevém, cana-de-açúcar e milho) tratadas com aditivos químicos e biológicos foram armazenadas em silos laboratoriais, equipados com dispositivos coletores de gás e de efluente, por cerca de dois meses. O volume de gás produzido foi medido diretamente durante a fermentação, e comparado com a metodologia tradicional de avaliação de perdas por gravimetria. A composição bromatológica, as contagens microbianas, o perfil fermentativo e a estabilidade aeróbia das silagens também foram avaliados. As perdas fermentativas foram baixas nas silagens de capim-elefante, azevém e milho, e expressivas nas silagens de cana-de-açúcar. A correlação entre a metodologia proposta e a metodologia atual de avaliação de perdas foi variável em cada ensaio. No ensaio da cana-de-açúcar, todas as metodologias avaliadas estiveram alinhadas. O efeito benéfico dos aditivos em reduzir as perdas fermentativas foi observado nas silagens de azevém e cana-de-açúcar, e menos evidentes ou ausentes nas silagens de capim-elefante e milho, respectivamente. Boas práticas de manejo devem ser observadas para reduzir o impacto ambiental da produção de silagens. O uso de aditivos com essa finalidade necessita de análise cuidadosa da relação custo-benefício e pode ser considerado como um ajuste final, desde que as condições básicas de manejo sejam atendidas.

Palavras-chave: Compostos orgânicos voláteis. Efluentes. Gases. Perdas fermentativas. Silos laboratoriais.

ABSTRACT

Silage making is the main forage conservation technique to supply the roughage demand in ruminant nutrition. However, the extension of the environmental impact caused by this process is still unknown. We aimed to provide an overview on environmental impact of silage production based on published data; and assess the fermentation losses in lab silos, in four experimental trials. The sources of environmental impact comprise: land usage, tillage system, forage species, soil fertilization, use of pesticides and herbicides, machinery, maturity at harvesting, dry matter content at ensiling, type of silo and sealing, fermentation losses and effluent production. In the trials, four forage species (elephant-grass, ryegrass, sugarcane and corn) treated with different additives were ensiled in lab silos, equipped with gas and effluent collecting devices. Silos were stored for approximately two months. Volume of gas produced during the fermentation was directly measured and compared to gravimetric methodologies of dry matter losses. Silage chemical composition, microbial counts, fermentation profile and aerobic stability were also measured. Fermentation losses were low in all trials, except for sugarcane. The correlation between the proposed and current methodology for measuring gas production varied among trials. In the sugarcane trial, all methodologies were in line with one another. The effect of additives on mitigating fermentation losses was present in ryegrass and sugarcane silages and less evident or absent in elephant-grass and corn silages, respectively. Good management practices must be adopted to reduce environmental impact of silage production. The recommendation of additives for this purpose requires careful cost-benefit analyses and might be considered as a fine tuning improving, once the basic management techniques were met.

Key words: Effluents. Fermentative losses. Gases. Laboratory silos. Volatile organic compounds. Pesticides.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Massa total de grãos, obtida pela diferença entre a massa da espiga e a massa do sabugo (g) para 30 lotes de sementes.....	22
Figura 2.2. Tendências globais na criação de nitrogênio reativo na Terra pela atividade humana, com projeções para 2050.....	24
Figura 2.3. Efeitos documentados dos pesticidas na vida selvagem em diferentes níveis de organização biológica.....	26
Figura 3.1. Esquema do silo com dispositivos coletores de gás (DCG) e efluente (DCE).....	53
Figura 3.2. pH médio das silagens de capim-elefante sem aditivos (C) ou aditivadas com Sil-All 4x4 (R) ou Sil-All Fireguard (F).....	67
Figura 4.1. Volume acumulado de gás produzido por silagens de azevém.....	78
Figura 4.2. pH das silagens de azevém no período de exposição aeróbia.....	85
Figura 5.1. Volume de gás produzido na ensilagem de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N), durante 65 dias de fermentação.....	97
Figura 5.2. pH de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N) após exposição aeróbia.....	102
Figura 6.1. Volume acumulado de gás produzido na ensilagem de milho.....	119
Figura 6.2. Nível de gás residual por silo, sem esvaziamento do reservatório.....	120
Figura 6.3. Composição média dos gases produzidos na ensilagem de milho no 14º dia de fermentação.....	120
Figura 7.1. Volume de gás produzido (Gprod, L kg ⁻¹ MS) e perda por gases estimada por diferença bruta do peso do silo antes e após ensilagem (PGtrad, % MS) em relação à perda de matéria seca corrigida para compostos voláteis (PMScorr, % MS).....	131

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Características do capim-elefante pré-secado antes da ensilagem...	60
Tabela 3.2. Composição química de silagens de capim-elefante tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).....	60
Tabela 3.3. Perdas fermentativas de silagens de capim-elefante tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).....	61
Tabela 3.4. Coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis de perdas, o teor de MS da silagem e a produção de gases (abaixo da diagonal) e correspondentes valores de P^1 (acima da diagonal).....	62
Tabela 3.5. Contagens microbianas ¹ em silagens de capim-elefante tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).....	63
Tabela 3.6. Teste de estabilidade aeróbia em silagens de capim-elefante tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).....	64
Tabela 3.7. Compostos orgânicos voláteis ¹ de silagens de capim-elefante tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).....	65
Tabela 4.1. Características do azevém pré-secado antes da ensilagem.....	76
Tabela 4.2. Composição química de silagens de azevém.....	77
Tabela 4.3. Perdas fermentativas de silagens de azevém.....	77
Tabela 4.4. Composição química e perdas fermentativas de silagens de azevém calculadas com base no teor de MS corrigido para perda de compostos voláteis em estufa.....	80
Tabela 4.5. Contagens microbianas ¹ ($\log \text{ufc g}^{-1}$) em silagens de azevém.....	81
Tabela 4.6. Compostos orgânicos voláteis ¹ de silagens de azevém tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).....	82
Tabela 4.7. Teste de estabilidade aeróbia em silagens de azevém.....	84
Tabela 5.1. Características da cana-de-açúcar antes da ensilagem.....	95
Tabela 5.2. Composição química e pH médios das silagens de cana-de-açúcar.	96
Tabela 5.3. Perdas de matéria seca e por gases (g kg^{-1} MS) e volume de gás produzido (L kg^{-1} MS) na fermentação de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N).....	96
Tabela 5.4. Coeficientes de correlação de Pearson entre variáveis ¹ de perdas de silagens de cana-de-açúcar.....	98
Tabela 5.5. Características do efluente de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N).....	98

Tabela 5.6. Contagens microbianas ($\log \text{ufc g}^{-1}$) em silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N).....	99
Tabela 5.7. Compostos orgânicos voláteis ¹ de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N).....	100
Tabela 5.8. Teste de estabilidade aeróbia em silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N).....	101
Tabela 6.1. Características do milho antes da ensilagem.....	114
Tabela 6.2. Silagem de milho. Variáveis referentes ao silo: efeitos de tratamento (T), condição (C) – com ou sem injeção de ar e interação (T x C).....	115
Tabela 6.3. Silagem de milho. Variáveis referentes ao silo: médias por tratamento.....	116
Tabela 6.4. Silagem de milho. Variáveis referentes ao silo: médias por condição.....	116
Tabela 6.5. Concentração de COV ($\text{mg kg}^{-1} \text{MS}$) e índice homolático em silagens de milho dentro da condição sem ar: médias por tratamento.....	116
Tabela 6.6. Silagem de milho. Variáveis avaliadas nos estratos topo e fundo: efeitos ¹ de tratamento (T), condição – com ou sem injeção de ar (C), extrato (E), interações “T x E” e “C x E”.....	117
Tabela 6.7. Silagem de milho. Variáveis avaliadas nos estratos topo e fundo: médias por tratamento.....	118
Tabela 6.8. Silagem de milho. Variáveis avaliadas nos estratos topo e fundo: médias por extrato.....	118
Tabela 6.9. Desdobramento das interações tratamento (T) x condição (C) para a perda de matéria seca durante a exposição aeróbia (PMSest) e pH da silagem.....	118
Tabela 6.10. Desdobramento das interações significativas para PB ($\text{g kg}^{-1} \text{MS}$): extrato x tratamento e extrato x condição.....	118
Tabela 6.11. Coeficientes de correlação de Pearson entre variáveis ¹ de perdas de silagem de milho.....	121

LISTA DE SIGLAS

ADF	- <i>Acid detergent fiber</i>
AGV	- Ácidos graxos voláteis
BAL	- Bactérias ácido-láticas
CA	- com ar
COV	- Compostos orgânicos voláteis
CP	- <i>Crude protein</i>
DCE	- Dispositivo coletor de efluente
DCG	- Dispositivo coletor de gás
DM	- <i>Dry matter</i>
DQO	- Demanda química de oxigênio
EA	- Estabilidade aeróbia
EPM	- Erro padrão da média
FDN	- Fibra em detergente neutro
FDA	- Fibra em detergente ácido
GEE	- Gases do efeito estufa
Gprod	- Volume de gás produzido na fermentação
IH	- Índice homolático
LAB	- <i>Lactic acid bacteria</i>
LEV	- Leveduras
ME	- Massa específica
MF	- Matéria fresca
MOF	- Mofos
MS	- Matéria seca
MScorr	- MS corrigida para COV
MSeflu	- Teor de MS do efluente
MV	- Matéria verde
N	- Nitrogênio
NDF	- <i>Neutral detergent fiber</i>
PB	- Proteína bruta
PE	- Perda por efluentes
PG	- Perda por gases
PGcorr	- PG calculada com base em MScorr
PGtrad	- Perda por gases calculada pela equação tradicional, por diferença do peso bruto dos silos antes e depois da ensilagem
PMS	- Perda de matéria seca

PMScorr	- PMS calculada com base em MScorr
PMSest	- Perda de matéria seca após exposição aeróbia
RTM	- Ração Total Misturada
SA	- Sem ar
Tmax	- Temperatura máxima
TSS	- Teor de sólidos solúveis
ufc	- Unidades formadoras de colônia
VOC	- <i>Volatile organic compounds</i>

LISTA DE ABREVIATURAS

ca.	- aproximadamente
d	- dias
h	- horas
var.	- variáveis

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 IMPACTO AMBIENTAL DA PRODUÇÃO DE SILAGENS: REVISÃO	18
2.1 ENVIRONMENTAL IMPACT OF SILAGE PRODUCTION: A REVIEW	18
2.2 INTRODUÇÃO	19
2.3 VISÃO GERAL DO PROCESSO	19
2.4 ASPECTOS RELACIONADOS À PREPARAÇÃO E AO PLANTIO.....	20
2.4.1 Impacto da escolha da forrageira	21
2.4.2 Impacto da adubação nitrogenada	23
2.4.3 Impacto do uso de herbicidas e pesticidas	25
2.4.4 Impacto do tipo e do dimensionamento do silo	27
2.5 ASPECTOS RELACIONADOS À COLHEITA, AO ENCHIMENTO E À VEDAÇÃO DO SILO	29
2.5.1 Impacto do uso de maquinário	29
2.5.2 Impacto do momento da colheita.....	30
2.5.3 Impacto do tamanho de partícula	31
2.5.4 Impacto do tempo de enchimento e vedação	32
2.6 ASPECTOS RELACIONADOS À FERMENTAÇÃO E À UTILIZAÇÃO DA SILAGEM	33
2.6.1 Emissão de gases	33
2.6.2 Emissão de compostos orgânicos voláteis.....	34
2.6.3 O problema dos efluentes	35
2.6.4 Perdas após a abertura do silo.....	39
2.6.5 Uso de aditivos para redução de perdas	40
2.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
2.8 REFERÊNCIAS	42
3 PERDAS FERMENTATIVAS NA ENSILAGEM DE CAPIM-ELEFANTE (<i>Pennisetum purpureum</i>) AVALIADAS POR DIFERENTES METODOLOGIAS ...	48
3.1 FERMENTATIVE LOSSES OF ELEPHANT GRASS (<i>Pennisetum purpureum</i>) ASSESSED BY DIFFERENT METHODOLOGIES.....	49
3.2 INTRODUÇÃO	50
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	52
3.3.1 Construção dos silos	52
3.3.2 Ensilagem.....	54
3.3.3 Produção de gases.....	55
3.3.4 Abertura e processamento de amostras.....	55
3.3.5 Avaliação de estabilidade aeróbia	56
3.3.6 Análises bromatológicas.....	57

3.3.7 Estimativas de perdas fermentativas e na estabilidade	57
3.3.8 Análises estatísticas	59
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
3.5 CONCLUSÃO	67
3.6 REFERÊNCIAS	68
4 FERMENTAÇÃO E ESTABILIDADE AERÓBIA DE SILAGENS DE AZEVÉM TRATADAS COM ADITIVOS	71
4.1 FERMENTATION AND AEROBIC STABILITY OF RYEGRASS SILAGES TREATED WITH ADDITIVES	72
4.2 INTRODUÇÃO	73
4.3 MATERIAL E MÉTODOS	74
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4.4.1 Forragem pré-ensilagem	75
4.4.2 Composição química e perdas fermentativas	77
4.4.3 Contagens microbianas e perfil fermentativo	80
4.4.4 Estabilidade aeróbia	84
4.5 CONCLUSÃO	86
4.6 REFERÊNCIAS	86
5 AVALIAÇÃO LABORATORIAL DE PERDAS EM SILAGEM DE CANA-DE- AÇÚCAR TRATADA COM DIFERENTES ADITIVOS	89
5.1 LABORATORY ASSESSMENT OF FERMENTATION LOSSES IN SUGARCANE SILAGES TREATED WITH DIFFERENT ADDITIVES	90
5.2 INTRODUÇÃO	91
5.3 MATERIAL E MÉTODOS	93
5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
5.5 CONCLUSÃO	103
5.6 REFERÊNCIAS	103
6 EFEITOS DO INFLUXO DE AR NA FERMENTAÇÃO E NA ESTABILIDADE AERÓBIA DE SILAGENS DE MILHO ADITIVADAS OU NÃO COM NATAMICINA	107
6.1 EFFECT OF AIR INFLUX AND ADDITION OF NATAMYCIN ON CORN SILAGE FERMENTATION AND AEROBIC STABILITY	108
6.2 INTRODUÇÃO	108
6.3 MATERIAL E MÉTODOS	111
6.4 RESULTADOS	114
6.5 DISCUSSÃO	121
6.5.1 Composição química da forragem	121
6.5.2 Composição química da silagem	121
6.5.3 Produtos da fermentação	123
6.5.4 Perdas fermentativas, produção e composição de gases	124

6.5.5 Estabilidade aeróbia	125
6.6 CONCLUSÃO.....	126
6.7 REFERÊNCIAS	127
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	130

1 INTRODUÇÃO

A ensilagem é a principal técnica de conservação de forragens utilizada para suprir a demanda de alimentos volumosos na nutrição de ruminantes em épocas de escassez, como suplemento em sistemas de pastejo ou como fonte exclusiva de forragem em confinamentos. No entanto, a extensão do impacto ambiental provocado por essa prática ainda é pouco estudada.

Com a finalidade de proporcionar uma visão geral sobre o impacto ambiental da produção de silagens, o capítulo 2 apresenta uma revisão da literatura, que tem por objetivo apresentar as diversas fontes de impacto ambiental durante todo o processo de produção da silagem. Uma das principais estratégias para redução do impacto é a minimização das perdas – prática que também é favorável economicamente.

Reconhecendo a abrangência do tema “impacto ambiental da produção de silagens”, o recorte utilizado no presente trabalho compreende a avaliação laboratorial de perdas fermentativas, e a possibilidade de mitigação dessas perdas pelo uso de aditivos na ensilagem de diferentes espécies forrageiras. As forragens utilizadas nos ensaios descritos nos capítulos 3 a 6 (capim-elefante, azevém, cana-de-açúcar e milho) englobam os principais grupos de gramíneas conservadas como silagem no Brasil. Esses capítulos fornecem dados para compor a avaliação do impacto potencial da conservação dessas forragens como silagem.

Dada a diversidade de metodologias utilizadas na avaliação de perdas fermentativas, objetivou-se comparar as metodologias existentes e propor uma metodologia adicional de avaliação direta do volume de gás produzido durante a fermentação. Essa nova metodologia é abordada em detalhes no capítulo 3, e é também utilizada nos ensaios descritos nos capítulos seguintes. Adicionalmente, foi avaliado o efeito potencial de mitigação do impacto ambiental através do uso de aditivos na ensilagem.

2 IMPACTO AMBIENTAL DA PRODUÇÃO DE SILAGENS: REVISÃO

Resumo: A produção de silagens, como qualquer atividade humana, impacta o ambiente. O objetivo desta revisão é perscrutar o impacto potencial dessa atividade e sugerir estratégias de mitigação. O uso da terra para cultivo da planta a ser ensilada impacta o ambiente de diferentes formas, especialmente em sistemas de monocultura. O sistema de plantio direto tem menor impacto que o plantio convencional. O uso de espécies melhoradas em detrimento de espécies crioulas pode provocar erosão genética, mas a alta produtividade daquelas é benéfica para o melhor aproveitamento dos outros recursos utilizados. A adubação nitrogenada artificial é responsável por poluição generalizada permanente na ecosfera. O uso de herbicidas e pesticidas impacta a saúde humana, a flora e a fauna silvestre e suas inter-relações. O uso de maquinário tem efeito deletério no solo, e ainda impacta o ambiente durante sua fabricação, uso e descarte. A escolha do momento de colheita e o tamanho de partícula influenciam a qualidade, a compactação e a produção de efluentes, que têm alto potencial poluidor. Muitas práticas de manejo que reduzem o impacto ambiental também são favoráveis economicamente, o que facilita sua adoção.

Palavras-chave: ambiente, efluentes, milho, nitrogênio, pesticidas

2.1 ENVIRONMENTAL IMPACT OF SILAGE PRODUCTION: A REVIEW

Abstract: Silage production causes environmental impact, like any other human activity. This review aimed to evaluate the potential impact of silage production and suggest strategies of mitigation. The use of land, mainly through monoculture, impacts the environment. The use of cultivars instead of landraces may cause genetic erosion, but the high yields of the former make the use of other resources more efficient. Artificial nitrogen fertilization provokes generalized irreversible pollution in the ecosphere. The use of herbicides and pesticides impacts human health, wildlife populations and its interrelations. The use of machinery not only impacts the soil but also impacts the environment during manufacturing, usage and disposal after its life cycle. Harvest time and particle size influence silage quality, bulk density and effluent production, which is a strong pollutant. Several management

practices for reducing environmental impact are also economically favorable, which facilitates its adoption.

Key words: corn, effluents, environment, nitrogen, pesticides

2.2 INTRODUÇÃO

A ensilagem é a prática mais comum para conservação de forragens e outros alimentos destinados à nutrição de ruminantes. Assim como qualquer atividade humana, a produção de silagem gera impacto ambiental, que pode ser maior ou menor, dependendo das práticas de manejo adotadas. Segundo a resolução do CONAMA (BRASIL, 1986), o impacto ambiental pode ser definido como:

[...] qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente, causada por qualquer forma de matéria ou energia resultante das atividades humanas que, direta ou indiretamente, afetam: I - a saúde, a segurança e o bem-estar da população; II - as atividades sociais e econômicas; III - a biota; IV - as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente; V - a qualidade dos recursos ambientais.”

Sabendo que o impacto da produção de silagens sempre existirá, podemos analisar o impacto ambiental relativo às recuperações de matéria seca (MS) da silagem, de nutrientes ou ainda de energia (bruta, digestível, metabolizável ou líquida), de forma a buscar a forma mais eficiente (portanto, com menor impacto relativo) de conduzir o processo.

O objetivo desta revisão é perscrutar o impacto ambiental potencial do processo de ensilagem com base na literatura existente e tecer recomendações, sempre que possível, em vista de reduzir o impacto dessa atividade.

2.3 VISÃO GERAL DO PROCESSO

A ensilagem de forragens ou outro alimento consiste no processo de fermentação, através do qual carboidratos solúveis são fermentados a ácido láctico (Weinberg et al., 2007), reduzindo o pH do material e protegendo o material contra a degradação microbiana. O fator mais importante que influencia a eficiência desse processo de conservação é o grau de anaerobiose obtido em todo o silo, em todas as fases do processo (Woolford, 1990). Durante todas as etapas do processo de

ensilagem, existem perdas. O aumento das perdas reflete diretamente no aumento do impacto ambiental relativo, pois o mesmo impacto total será dividido por uma menor quantidade ou qualidade de alimento no final da cadeia. A qualidade do material ensilado depende diretamente da qualidade inicial da forragem, mas também da eficácia do processo. Para avaliar o impacto ambiental da produção de silagem, toda a cadeia produtiva deve ser levada em conta. Na abordagem dos focos de impacto no processo de ensilagem, seguiremos a sequência do processo produtivo. Consideremos como ponto de partida o uso e o preparo da terra para a cultura da forragem a ser ensilada.

2.4 ASPECTOS RELACIONADOS À PREPARAÇÃO E AO PLANTIO

O uso de uma grande área com uma única cultura (monocultura) tem conhecidas implicações na biodiversidade da fauna, flora, e microbiota do solo. Altieri (1999) revisou o impacto da monocultura na biodiversidade, e questionou a sustentabilidade de sistemas que são de alta produtividade, porém totalmente dependentes da intervenção humana (plantadeiras, pesticidas químicos, manipulação genética, fertilizantes) em substituição a processos naturais (dispersão natural de sementes; controle natural de populações de sementes, insetos e patógenos; seleção natural; reciclagem de nutrientes). O autor aponta também os riscos à saúde humana e segurança alimentar, devido ao uso de agrotóxicos; e o risco proporcionado pela uniformidade genética da cultura, pois uma praga a que uma planta é suscetível pode dizimar toda a plantação. Horn et al. (1995) apontam que a interferência humana nos ambientes naturais, embora bem intencionada, causa mudanças que podem ser desfavoráveis tanto para a economia das fazendas como para o meio ambiente. Com a finalidade de reduzir os efeitos negativos da monocultura, Altieri (1999) sugere que sejam utilizados corredores de mata nativa ao redor de canteiros de monocultura, para que a flora e fauna nativas possam desempenhar o papel de controle biológico de pragas, e para que o habitat das espécies não seja totalmente destruído, a ponto de causar desequilíbrio ambiental.

O impacto ambiental causado pela atividade agrícola em si depende de vários fatores, como nível de adubação, grau de mecanização, status hídrico do solo durante as operações de campo, tecnologias de cultivo e colheita etc. (Domizal e Hodara, 1990; Domizal et al., 1991 apud Horn et al., 1995). A preparação do solo

pode ser feita da forma convencional ou utilizando o sistema de plantio direto. O plantio convencional tem maior impacto devido à etapa de revolvimento, que expõe o solo sem a presença de cobertura vegetal, aumentando a possibilidade de degradação física e química do solo, com danos ao meio ambiente (Andrioli e Prado, 2012). O sistema de plantio direto, uma prática conservacionista, perturba o solo somente na linha de plantio, e proporciona uma camada de forragem seca que protege o solo da chuva, reduzindo a erosão e a lixiviação de matéria orgânica e nutrientes. A redução de etapas mecanizadas tem efeitos benéficos na redução de custos (Duarte Jr. et al., 2008) e na menor compactação do solo.

2.4.1 Impacto da escolha da forrageira

O impacto da escolha da planta a ser utilizada para ensilagem pode ser analisado sob dois aspectos: a erosão genética e a produtividade. A erosão genética é a perda de diversidade genética em determinado local em relação às espécies crioulas (Frankel e Bennett, 1970 apud Heerwaarden et al., 2009). A erosão genética pode representar perdas de populações inteiras de um grupo geneticamente diferenciado, ou redução da frequência de determinados alelos dentro de uma população ou espécie como um todo (Rogers, 2004). Segundo Smale (1997), a pressuposição de que a Revolução Verde causou erosão genética no cultivo de plantas tornou-se comum na literatura, porém, no cultivo do trigo, não foi possível estabelecer uma relação causal entre esses dois eventos, devido às dificuldades de mensurar a erosão genética e de demonstrar a relação de causalidade.

Heerwaarden et al. (2009) estudaram a erosão genética do milho, avaliando o suprimento de sementes de pequenos agricultores no sul do México. Apesar da predominância das sementes comerciais, o sistema informal de sementes ainda persistia. As variedades verdadeiramente crioulas foram raras, e a maior parte das sementes comercializadas no sistema informal era derivada de variedades modernas (crioulizadas), que apresentavam menor diversidade genética que as variedades crioulas. Os autores consideraram a erosão genética como moderada, devido às diferentes características oferecidas pelas variedades modernas. A discussão sobre erosão genética tende para um lado mais ideológico do que prático, uma vez que a realidade atual do melhoramento genético (seja pela seleção de

híbridos ou pela engenharia genética) indica que este possa ser um caminho de difícil reversão, com cujas consequências haveremos de conviver.

O outro aspecto de teor mais prático do impacto ambiental da escolha da variedade de planta a ser utilizada diz respeito à produtividade e à qualidade do cultivar. Embora o melhoramento genético possa ter causado perda de diversidade genética, certamente houve melhorias significativas das características de interesse, fato que não pode ser desconsiderado. Observa-se que a produtividade de grãos tende a ser muito maior nos híbridos de milho do que nas variedades crioulas, como ilustrado na Figura 2.1.

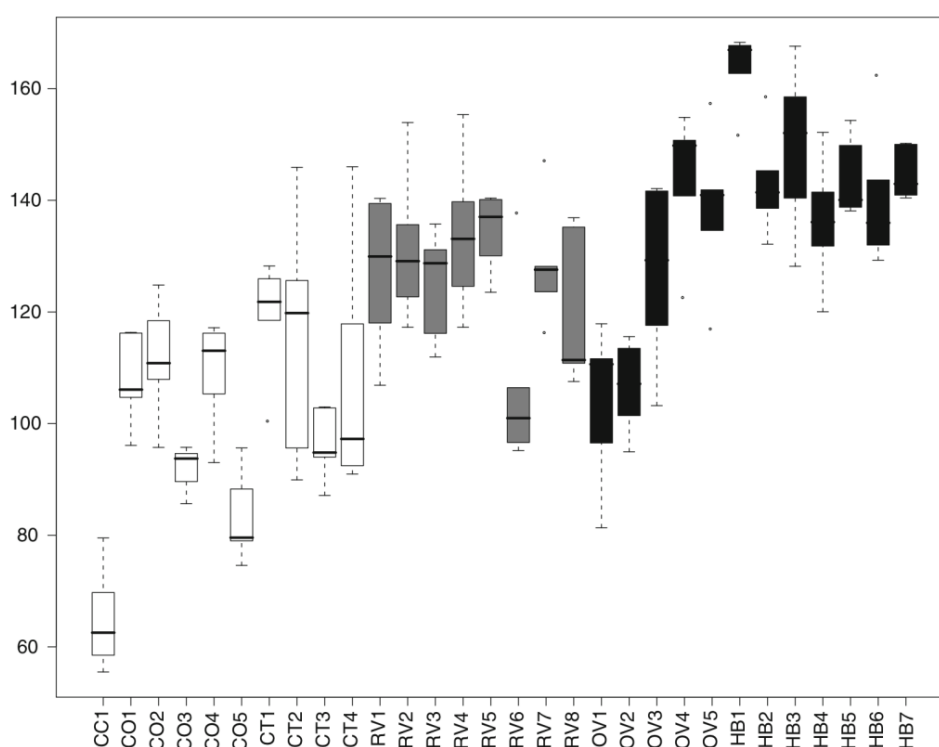


Figura 2.1. Massa total de grãos, obtida pela diferença entre a massa da espiga e a massa do sabugo (g) para 30 lotes de sementes. Variedades crioulas estão apresentadas em branco, variedades crioulizadas (RV) em cinza, híbridos (HB) e variedades de polinização aberta (OV) em preto. Fonte: Heerwaarden et al. (2009).

Zopollatto e Sarturi (2009) argumentam que a escolha do cultivar deve ser baseada no desempenho do híbrido em diferentes locais ou em vários anos na mesma localidade. Características agrônômicas como produtividade, maturidade e composição morfológica devem ser observadas. Os autores recomendam a observação da produção de MS digestível como um bom parâmetro de escolha do híbrido, já que engloba características de produtividade total e digestibilidade de várias frações da planta. Se considerarmos todo o impacto ambiental causado

durante todo o processo produtivo da silagem, não faz sentido desprezar a alta produtividade e qualidade de híbridos selecionados. A escolha de melhores híbridos, portanto, leva a um menor impacto ambiental relativo.

2.4.2 Impacto da adubação nitrogenada

Segundo De Jong et al. (2009), a utilização de adubação nitrogenada tem crescido em vistas de otimizar a produtividade e atender a demanda crescente por alimentos e energia; por isso, faz-se necessário um balanço preciso entre as exigências de nitrogênio (N) e a eficiência do seu uso, de forma a minimizar as perdas de N dos sistemas agropecuários. É certo que, dentro do sistema tradicional de produção, evitar o uso excessivo de fertilizantes é um recurso possível e necessário para reduzir o impacto ambiental da atividade. Porém, o uso de fertilizantes químicos em si tem provocado um dos maiores impactos da atividade humana no planeta. Segundo o relatório do *Millenium Ecosystem Assessment* (2005), a quantidade de nitrogênio reativo produzido pela atividade humana aumentou nove vezes entre 1890 e 1990, e a maior parte desse aumento aconteceu na segunda metade do século vinte (Figura 2.2).

Em artigo publicado na seção *News Focus* da revista *Science*, Kaiser (2001) relata os principais assuntos discutidos na Segunda Conferência Internacional sobre Nitrogênio (*Second International Nitrogen Conference*, 14 – 18/10/2001). A autora ressalta que, segundo os especialistas, a poluição por nitrogênio se iguala à provocada pelos gases do efeito estufa em termos de ameaça ambiental. Ela explica que a principal fonte é a produção de fertilizantes químicos pelo processo de Haber-Bosch, descoberto em 1913, que faz reagir o N_2 inerte da atmosfera com hidrogênio resultando em amônia, que pode ser utilizada pelas plantas. Ressalta ainda que quando o nitrogênio é convertido em nitrogênio reativo, ele passa de uma para outra forma de poluição, desde ácido nítrico (causadores de chuva ácida), nitratos (responsáveis por eutrofização de cursos de água) até o óxido nitroso (potente gás do efeito estufa). Independentemente de qual for a fonte sintética de nitrogênio (petróleo ou síntese química), em ambos os casos o nitrogênio foi retirado de um estado latente ou inerte, e a desnitrificação bacteriana natural nunca vai contrabalancear esse desequilíbrio.

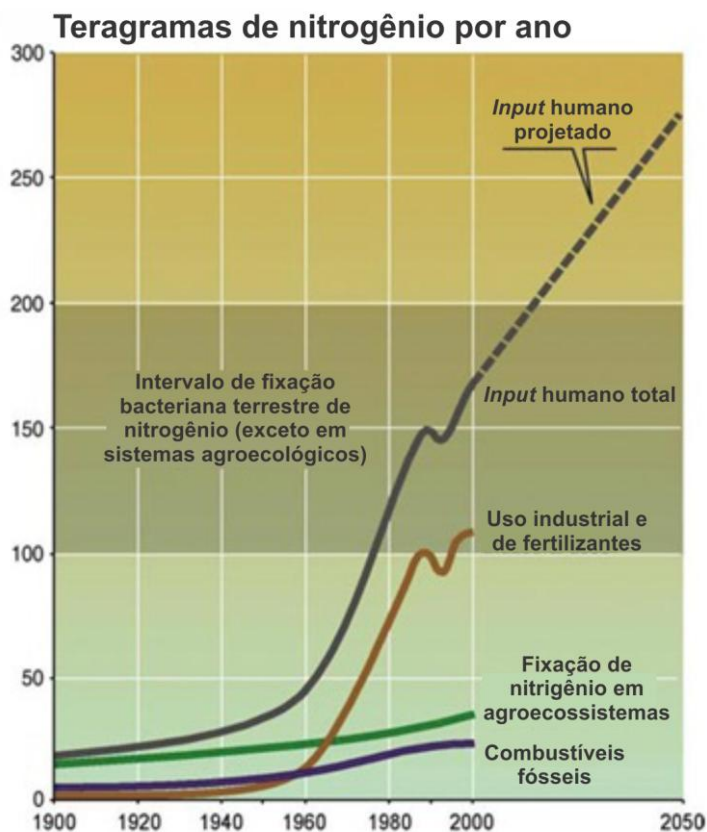


Figura 2.2. Tendências globais na criação de nitrogênio reativo na Terra pela atividade humana, com projeções para 2050. A maior parte do nitrogênio reativo produzido pelos seres humanos provém da produção de nitrogênio para fertilizantes químicos e uso industrial. O nitrogênio reativo também é criado como um subproduto da combustão de combustíveis fósseis e por algumas plantas fixadoras de nitrogênio em sistemas agroecológicos. A extensão da taxa natural de fixação bacteriana de nitrogênio em ecossistemas terrestres (excluindo a fixação em sistemas agroecológicos) é mostrada para comparação. A atividade humana produz agora aproximadamente tanto nitrogênio reativo quanto os processos naturais o fazem nos continentes. Fonte: Traduzido de Millennium Ecosystem Assessment (2005).

Pimentel et al. (1973) propuseram o uso de fontes alternativas de maior eficiência energética para suprir a demanda de N na cultura de milho, como a aplicação de esterco e a utilização de adubação verde pela rotação de culturas com leguminosas, como o trevo doce ou a ervilhaca, economizando de 2,7 a 3,7 milhões de kcal ha⁻¹ em relação à utilização de fertilizante nitrogenado comercial.

2.4.3 Impacto do uso de herbicidas e pesticidas

Em muitos sistemas, os pesticidas são usados em substituição aos controles de pragas promovidos pelos inimigos naturais (Millennium Ecosystem Assessment, 2005). A utilização de herbicidas e pesticidas químicos impacta a flora e fauna local, e resulta em risco de resíduo nos produtos finais da cadeia, que serão consumidos por seres humanos. O risco de contaminação de alimentos de origem animal, como carnes, ovos, leite e vísceras, por substâncias tóxicas presentes na alimentação animal foi extensamente revisado por Kan e Meijer (2007). Dentre as substâncias abordadas, os pesticidas químicos e as micotoxinas representam possíveis fontes de impacto na produção de silagens, devido ao risco à saúde humana que seus resíduos podem oferecer.

Os efeitos tóxicos dos pesticidas nos ecossistemas foram revisados por Köhler e Triebkorn (2013). Os autores apontam a necessidade de direcionar o foco da pesquisa não somente para os efeitos em nível molecular, celular, fisiológico, individual ou populacional, mas também para os efeitos indiretos nas interações bióticas e nas comunidades. Os principais efeitos indiretos estudados envolveram aspectos das interações parasita-hospedeiro, presa-predador e polinização. Os autores ilustraram os efeitos de pesticidas na vida selvagem reportados na literatura em diferentes níveis de organização biológica (Figura 2.3).

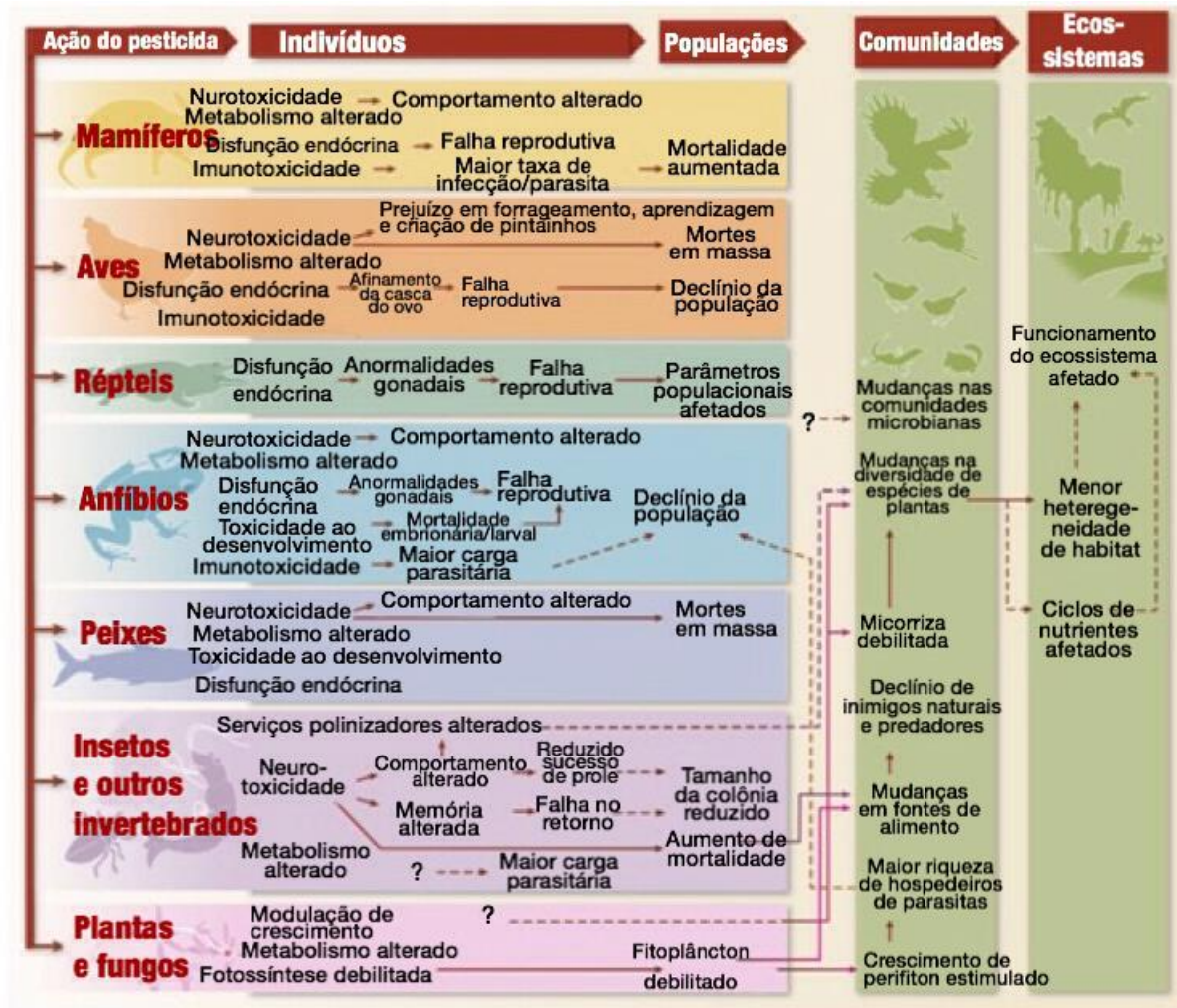


Figura 2.3. Efeitos documentados dos pesticidas na vida selvagem em diferentes níveis de organização biológica. Setas sólidas representam inter-relações conhecidas; setas tracejadas representam antecipações baseadas em evidências. Fonte: Traduzido de Köhler e Triebkorn (2013).

Segundo Pimentel et al. (1973), a aplicação de herbicidas também representa maior input energético que reduz a eficiência da produção de milho. Os autores sugerem que a aplicação por implementos agrícolas seja substituída pela aplicação localizada por mão de obra humana, embora reconheçam que essa prática possa aumentar o custo da operação, devido ao custo do combustível e ao preço da diária do trabalhador da época – quadro que pode se reverter quando a escassez de petróleo provocar aumento nos preços. O uso de plantas com genes de resistência a pragas pode ser um recurso para redução do uso de pesticidas (Millennium Ecosystem Assessment, 2005).

2.4.4 Impacto do tipo e do dimensionamento do silo

A escolha do tipo de silo também influencia o impacto no ambiente. Antigamente, o silo torre era considerado a forma mais efetiva de conservar forragem na forma de silagem, devido à pequena área do silo exposta ao oxigênio e à alta compactação obtida nesses silos (McDonald et al., 1991). Com o advento da lona plástica e a popularização dos tratores, o silo em torre caiu em desuso. Hoje, os silos mais usuais são: silo de superfície, silo trincheira, silo de fardo embalado e silo tipo *bag*. Segundo levantamento recente realizado por Bernardes e Rêgo (2014) em 260 fazendas leiteiras no Brasil, os silos em trincheira foram os mais comuns, presentes em 60,4% das fazendas. Os silos em superfície estiveram presentes em 38,1% das propriedades, e os silos em *bag* em apenas 1,5%.

Os silos em *bag* e em fardos embalados são constituídos de camadas sobrepostas de filme plástico, material que não é reutilizado, embora exista a possibilidade de reciclagem. Os silos de superfície, que nada mais são que uma pilha de forragem compactada, podem ser montados sobre lona plástica ou diretamente sobre a terra, e revestidos com lona plástica, enterrada nas laterais. Os silos trincheira são normalmente construídos aproveitando a declividade natural do terreno, e podem ser utilizados sem revestimento (mantendo a silagem em contato com a terra) ou revestidos de vários materiais, como lona, madeira ou concreto. Sempre são cobertos com lona plástica para vedação do material. Silos revestidos de concreto são mais duráveis que silos revestidos de terra ou madeira; em contrapartida, o resíduo gerado ao fim da vida-útil do mesmo é de difícil reincorporação ao meio ambiente. Algumas silagens podem produzir grande quantidade de efluente, que é altamente corrosivo ao concreto (O'Donnell et al., 1995), reduzindo a vida útil dos silos (Barbhuiya et al., 2010). Além de elevar os custos para substituição dos silos, esse fato representa fonte de impacto ambiental, proporcionada pelos resíduos da construção antiga e pela matéria-prima e energia envolvidas na nova construção. O'Donnell et al. (1995) avaliaram o efeito do efluente de silagem na corrosão do concreto e perceberam uma propriedade muito interessante: a silagem próxima (<3 mm) do concreto foi submetida a uma neutralização de pH por ação do concreto, que levou à fermentação secundária por ação de clostrídios. O fluido da silagem próxima ao concreto apresentou maiores pH e concentração de ácido butírico e menores concentrações de ácido láctico e acidez

titulável. Estas características foram responsáveis por menor corrosão do concreto coberto por silagem, quando comparado ao concreto que recebeu fluxo de efluente sem contato direto com a silagem. Os autores sugerem que esta propriedade seja aproveitada para aumentar a durabilidade dos silos de concreto, mas observam que este efeito só é possível quando existe condição para desenvolvimento clostrídico (anaerobiose e talvez alguma neutralização inicial de acidez) e quando cessa o fluxo de efluente no chão do silo. Para que se reduzam as chances de corrosão do concreto, silos tipo “bunker” podem ser projetados de forma que a face de abertura esteja localizada na parte mais alta; desta forma, o efluente será drenado para a parte de trás do silo, que ainda contém silagem para proteger o concreto. Barbhuiya et al. (2010) avaliaram o efeito sobre a resistência do concreto ao efluente de silagem proporcionado pela substituição de parte da areia utilizada na preparação do concreto por resíduo da refinaria da bauxita. Seu estudo mostrou que a adição do resíduo na proporção de 10% da massa de cimento proporcionou maior resistência do concreto tanto à exposição prolongada ao efluente de silagem como ao ataque sulfúrico.

O dimensionamento do silo é uma etapa importantíssima, e muitas vezes negligenciada pelos produtores. É comum, em pequenas propriedades, que a área da face do silo seja muito grande para o número de animais consumindo silagem, fazendo com que a taxa de remoção diária (ou seja, a espessura média da fatia retirada do silo por dia) seja muito pequena. A consequência disso é que o ar atmosférico, que contém oxigênio, penetra pela face exposta do silo mais rapidamente do que a silagem é retirada, causando degradação aeróbia do material, com perdas em quantidade e qualidade. Quando se perde em qualidade ou quantidade, o impacto ambiental acontece por duas vias: pela geração de resíduos da perda (gases) e por redução na eficiência do processo, com aumento do impacto relativo. Desta forma, o silo deve ter máxima área de secção transversal que permita taxa de remoção diária de, no mínimo, 15 cm (Pitt e Muck, 1993). Este tamanho é determinado pelo consumo diário de silagem na propriedade. Se a área da face do silo for muito menor do que este tamanho máximo, o impacto relativo à massa de silagem também aumenta, pois em um painel de pequena área, a silagem próxima à lona e às bordas que precisa ser descartada representa uma maior porcentagem em relação ao todo, se comparado a silos com painéis maiores. A recomendação de 20 a 30 cm pressupõe condições ideais de compactação, pois, se esta for insuficiente,

o ar atmosférico penetrará a uma maior velocidade no silo, aumentando a fatia mínima que deve ser retirada por dia.

2.5 ASPECTOS RELACIONADOS À COLHEITA, AO ENCHIMENTO E À VEDAÇÃO DO SILO

2.5.1 Impacto do uso de maquinário

A utilização de maquinário, apesar de não ser normalmente mencionada, deve ser computada dentre as fontes de impacto da produção de silagens. Além das operações mecanizadas da preparação da terra, plantio e manejo da cultura, as silagens pré-secadas enfardadas contam com mais oito operações mecanizadas (ceifa, três reviragens, enleiramento, enfardamento, embalagem e recolhimento dos fardos); enquanto que silagens de milho e cana em silos de grande porte, por não necessitarem de pré-secagem, requerem apenas mais duas operações (colheita e picagem com ensiladeira e compactação no silo com trator). Uma máquina agrícola, assim como um veículo, impacta o ambiente em três fases: fabricação (desde a extração da matéria prima até o gasto de água, energia e materiais no processo de fabricação da máquina), vida útil (que inclui o uso de combustível, fluídos de motor e material de manutenção) e sucata (após a vida útil da máquina, as peças que a compõe tornam-se resíduos). Mikkola e Ahokas (2010) classificaram o “input” de energia do maquinário agrícola em direto (combustível e eletricidade durante o uso) e indireto (energia utilizada em fabricação, entrega, armazenamento, reparo e manutenção). Os autores apontam que o “input” de energia direto é fácil de identificar e mensurar, enquanto que o indireto é também relativamente fácil de identificar, porém, mais difícil de analisar. Com base em dados da literatura, os autores estimaram que o “input” indireto de energia equivale a 30% do “input” total de energia durante a vida útil de um trator. Romanelli e Milan (2010) utilizaram linguagem de diagrama para determinar o fluxo de materiais direta e indiretamente aplicados em operações mecanizadas na agricultura. Os autores apontam que a análise de fluxo de materiais permite avaliar o impacto econômico e ambiental de diferentes operações da ensilagem, provendo mais recursos para a tomada de decisões.

Os equipamentos de colheita disponíveis para a ensilagem de plantas eretas de grande porte são colhedoras acopladas ao trator ou autopropelidas. Normalmente, as ensiladeiras acopladas são de propriedade do produtor, enquanto que as autopropelidas pertencem a uma empresa prestadora de serviço. Apesar de a ensiladeira automotriz ser uma máquina muito maior, ela trabalha colhendo mais toneladas de forragem por hora e por ano em relação a uma ensiladeira acoplada. Além dessa diferença de eficiência, a maior velocidade de enchimento do silo proporcionada pela colheita com a ensiladeira automotriz reduz muito as perdas ocasionadas pela respiração da planta e ação de microrganismos aeróbios antes da vedação do silo. Outras vantagens da ensiladeira autopropelida são a maior precisão de picagem e a possibilidade de processamento dos grãos, o que aumenta a eficiência de utilização do amido pelos animais.

2.5.2 Impacto do momento da colheita

A decisão sobre o momento da colheita para silagem é um dos pontos críticos do processo, uma vez que erros aparentemente pequenos podem aumentar as perdas de MS e reduzir a qualidade da silagem de forma drástica. De forma geral, observa-se que para qualquer forragem, a fermentação ótima ocorre quando o teor de MS está compreendido entre 30 e 35%. Forragens mais úmidas tendem a apresentar maior perda de matéria seca por efluentes, apesar de o teor de MS certamente não ser o único fator que influencia a produção de efluentes (Jones e Jones, 1995). O milho, o sorgo e a cana-de-açúcar chegam naturalmente ao teor de matéria seca ideal para ensilagem com boa qualidade nutricional, bastando que, para isso, o momento da colheita seja preciso. Entretanto, os capins tropicais e de clima temperado apresentam alto teor de umidade no momento ótimo de colheita, necessitando, portanto de alguma prática de manejo para elevar o teor de MS do material, tal como a pré-secagem ou a utilização de um aditivo absorvente de umidade (Schmidt et al., 2014). O monitoramento do teor de matéria seca pode ser feito da forma tradicional, por secagem de amostra em estufa, ou por secagem em micro-ondas, com a vantagem da rapidez deste último método, apesar da menor precisão.

Johnson et al. (2002) fizeram seis experimentos em arranjo fatorial para determinar a influência da maturidade e do processamento mecânico na estabilidade

aeróbia da silagem de milho e na densidade de compactação dos silos. Os autores concluíram que tamanho de partícula, densidade de compactação e estabilidade aeróbia são variáveis inter-relacionadas. A densidade de compactação tende a aumentar quando o tamanho de partícula diminui. Os autores concordaram que a maior densidade de compactação faz com que menos oxigênio penetre na silagem durante o armazenamento, o que proporciona maior estabilidade aeróbia durante o descarregamento da silagem, provavelmente pelo menor desenvolvimento de microrganismos aeróbicos espoliadores na fase de armazenamento. Os autores também encontraram menor densidade de compactação à medida que o estágio de maturação do milho avançava (parcialmente devido ao aumento no teor de MS e parcialmente porque a planta fica mais fibrosa com o avanço da maturidade).

2.5.3 Impacto do tamanho de partícula

Associado ao teor de MS no momento da colheita, o tamanho de partícula é outro fator a ser considerado. Forragens mais secas e grosseiramente picadas apresentam dificuldade de compactação, pois as estruturas fibrosas tendem a reassumir a posição inicial após a passagem do trator. A compactação deficiente, além de aumentar a quantidade de ar residual no silo, reduz a capacidade de armazenamento do mesmo, o que é econômica e ambientalmente inviável. Silos mal compactados apresentam maior porosidade, o que aumenta a taxa de infiltração de ar atmosférico pela face exposta do silo resultando em maiores perdas de MS durante a fase de descarregamento (Pitt, 1986), e também durante o armazenamento, uma vez que a lona plástica é permeável ao oxigênio. Se, por outro lado, a forragem for picada em partículas muito pequenas (<10 mm), o principal ponto de perda é no âmbito nutricional, principalmente se a silagem for a única fonte de fibra longa da dieta dos ruminantes. O tamanho reduzido diminui a efetividade da fibra, reduzindo a ruminação, o que leva à acidose e queda no teor de gordura do leite (Mertens, 1997).

2.5.4 Impacto do tempo de enchimento e vedação

O tempo de enchimento do silo deve ser o menor possível, preferencialmente não ultrapassando 1 ou 2 dias. A vedação deve ser realizada logo após o enchimento, pois o atraso prolongado (>10 h) na vedação causa conhecidos efeitos deletérios na qualidade da silagem (Kim e Adesogan, 2006). A lona utilizada na vedação e/ou revestimento do silo (normalmente constituída de polietileno ou outro polímero) é fonte importante de resíduo, pois são materiais provenientes de petróleo, de longo período de decomposição, pequena durabilidade e normalmente não são reaproveitados mais que uma vez. A qualidade da lona tem importância fundamental na preservação da silagem, pois lonas pretas comuns podem rachar devido à incidência de raios solares, expondo o material à deterioração aeróbia. Lonas dupla-face com proteção contra raios ultravioleta são de maior qualidade, e são usadas por 77,7% das fazendas de leite no Brasil, enquanto que 18,8% ainda utilizam a lona preta comum (Bernardes e do Rêgo, 2014). Uma lona de poliamida, com permeabilidade ao oxigênio dez vezes menor que a lona comum, foi avaliada por Borreani et al. (2007) em dois silos de fazendas diferentes: um silo com silagem de milho não aditivada, com taxa de remoção de silagem de 19 cm dia⁻¹; e um silo com silagem de milho aditivada com *Lactobacillus buchneri*, com taxa de remoção de 33 cm dia⁻¹. Na primeira fazenda (considerada como uma situação de desafio), a lona barreira de oxigênio reduziu drasticamente as perdas de MS da silagem próxima à lona. Já na segunda fazenda, não houve diferença entre lonas, mas as perdas em geral foram pequenas. Isso mostra que o bom manejo ainda é o melhor investimento. Lonas de baixa permeabilidade ao oxigênio estão disponíveis no Brasil, e seu uso pode ser considerado, embora o preço possa ser restritivo.

Considerando o impacto ambiental das lonas de polietileno como resíduos não-degradáveis e de difícil reciclagem, Borreani e Tabacco (2015) avaliaram duas lonas de origem vegetal, completamente biodegradáveis, obtendo resultados promissores na ensilagem de milho em ensaio laboratorial durante até 6 meses de armazenamento. No entanto, são necessários estudos de campo para avaliar a durabilidade dessas lonas quando expostas a intempéries climáticas. Com o avanço da pesquisa, lonas biodegradáveis devem gradualmente substituir as lonas derivadas do petróleo, na medida em que o custo permitir.

Além de utilizar uma lona de qualidade, deve-se prezar pela integridade da mesma até o término do uso da silagem, protegendo a superfície do silo de animais (tanto pequenos animais selvagens como as próprias vacas) através de cercamento da área em que se encontra o silo. Convém utilizar algum material sobre a lona, como terra ou sacos de areia, para evitar a entrada e propagação do ar pela superfície do silo.

2.6 ASPECTOS RELACIONADOS À FERMENTAÇÃO E À UTILIZAÇÃO DA SILAGEM

Logo após a vedação do silo, inicia-se uma nova fase no processo de ensilagem. O oxigênio remanescente entre as partículas de forragem é consumido por enzimas respiratórias da planta e por microrganismos aeróbios, tornando o ambiente dentro do silo livre de oxigênio. Neste momento inicia-se a fermentação, processo em que bactérias anaeróbias consomem substratos da planta (principalmente carboidratos solúveis) e produzem ácidos orgânicos, sendo o ácido láctico o mais importante. Estes ácidos levam à redução de pH no meio, até que a concentração de ácido iniba o crescimento de todas as bactérias, inclusive as bactérias ácido-láticas (BAL), que o produzem.

A fermentação dos carboidratos não é um processo 100% eficiente, ou seja, ele gera perdas. As perdas fermentativas ocorrem principalmente na forma de gases e efluentes, mas também na forma de compostos orgânicos voláteis (COV). Os efluentes produzidos durante o processo estão entre os resíduos da agricultura mais poluentes e mais estudados, de forma que serão abordados com mais detalhes na seção 2.6.3. Da mesma forma que qualquer perda durante todo o processo, as perdas fermentativas aumentam o impacto ambiental relativo, já que uma menor quantidade de matéria seca permanece no silo; com a implicação de que os “produtos perdidos” também podem oferecer impacto ao meio. O impacto da perda de MS será discutido nos capítulos 3 a 6 desta dissertação.

2.6.1 Emissão de gases

Dentre os gases liberados durante o processo fermentativo, o metano e o óxido nitroso são gases do efeito estufa (GEE) e apresentam potencial de

aquecimento global de 21 e 310 vezes o do gás carbônico (MCT, 2013). Porém, estão presentes em quantidade insignificante quando comparados ao gás carbônico (capítulo 6, vide Tabela 6.2). Como todo o carbono presente na silagem é proveniente da fixação por fotossíntese na planta, o gás carbônico liberado na fermentação não agrava o efeito estufa.

2.6.2 Emissão de compostos orgânicos voláteis

O ozônio, quando na ozonoesfera, tem função de proteger a terra de raios solares prejudiciais; mas, quando presente no nível do chão, é um dos principais componentes da poluição do ar (EPA). Alguns compostos orgânicos voláteis (COV) reativos podem formar ozônio através de reações fotoquímicas (CARB, 2006). Segundo Alanis et al. (2010), os compostos orgânicos voláteis emitidos pelas silagens parecem ser pouco reativos na atmosfera, mas em grandes fluxos podem impactar os níveis de ozônio regionais. Essa preocupação motivou pesquisadores a avaliarem o potencial poluente da silagem no que tange à emissão de compostos voláteis. Alanis et al. (2008) avaliaram as emissões de COV em um confinamento de gado leiteiro na Califórnia (EUA) e constataram que o maior volume de emissões provém da silagem, seguida pela ração total misturada (RTM), que é composta predominantemente por silagem. As emissões provenientes de dejetos dos animais foram substancialmente menores do que as emissões provenientes dos alimentos. Nesse estudo, o ácido acético foi o COV predominante, presente em concentrações de uma a duas ordens de grandeza superior às dos demais compostos avaliados (ácidos propanóico, butanóico, pentanóico, hexanóico e 3-metil butanóico).

O mesmo padrão de resultados foi confirmado em estudo posterior envolvendo seis instalações de gado leiteiro (Alanis et al., 2010), porém, a magnitude média das emissões foi menor. Nesse último estudo, os autores também avaliaram por análise multivariada o efeito de cinco parâmetros do alimento (silagem ou RTM) em relação à emissão de ácido acético: teor de ácido acético, teor de nitrogênio amoniacal, umidade, pH e temperatura da amostra. Em ambos os alimentos, a emissão de ácido acético esteve positivamente correlacionada ao teor de ácido acético e à temperatura da amostra. Quando os dados de RTM foram analisados isoladamente, o fluxo de emissão também se correlacionou negativamente com teor de nitrogênio amoniacal, umidade e pH. Baseados nas

correlações de teor de ácido acético e temperatura, os autores elaboraram uma equação de predição do fluxo de emissão de ácido acético, mas reconheceram que a equação não capta todas as fontes de variação, como a incidência de radiação solar e a velocidade do vento.

Hafner et al. (2013) revisaram 35 estudos, publicados no período de 1974 a 2012, que avaliaram teores de COV em silagens. Com o objetivo de avaliar quais COV são mais importantes para a formação de ozônio, foram calculados quatro índices para cada composto avaliado em cada silagem: I_1 – concentração do COV em base seca; I_2 – produto normalizado da concentração e da volatilidade do COV; I_3 – produto da concentração e da reatividade do COV e I_4 – produto normalizado da concentração, volatilidade e reatividade do COV. A reatividade representa a capacidade de o composto gerar ozônio em reação na atmosfera. Os índices que contêm o fator volatilidade (I_2 e I_4) são condizentes com um cenário em que a silagem fica pouco tempo exposta, de forma que a depleção do COV não limite a emissão. Já os outros dois índices são condizentes com um cenário de longa exposição da silagem, até a depleção completa do COV (caso em que a volatilidade não alteraria a emissão). Os autores apontam que, na maioria dos casos, o cenário real é intermediário a esses dois extremos. De forma geral, os alcoóis foram identificados como o grupo que mais contribui para a emissão de COV e subsequente formação de ozônio. Aldeídos e ésteres, embora mais voláteis que os alcoóis, estão presentes em concentrações muito baixas na silagem, o que reduz seu potencial na formação de ozônio. Os ácidos, por terem menor volatilidade que os alcoóis, e esta depender do pH, foram identificados como improváveis contribuintes significativos para a formação de ozônio. Os autores sugerem que uma combinação de aditivo químico para inibir o crescimento de leveduras em combinação com um aditivo homolático para reduzir a produção de etanol e ácido acético parecer ser uma abordagem promissora para a redução da emissão de COV.

2.6.3 O problema dos efluentes

A produção de efluentes na produção de silagens foi bastante estudada no passado, principalmente na ensilagem de capins, em que há maior potencial de produção desse resíduo. Há muito tempo, o efluente de silagem é considerado uma

das fontes mais perigosas de poluição de cursos de água (Barry e Colleran, 1984). Sabe-se que o volume de efluente produzido está inversamente relacionado ao teor de MS da forragem ensilada (Foy et al., 1994). Estes pesquisadores fizeram análise de correlação entre diversas variáveis e a taxa de incidentes de poluição por silagem. O teor de MS esteve correlacionado ($R^2 = 0,29$) com a redução dos incidentes, sendo que cada ponto percentual de aumento de MS esteve associado à redução de incidentes de contaminação (menos 9,5 incidentes por megatonelada de silagem). As perdas por efluente normalmente são poucas quando o teor de MS excede 25%, mas podem chegar a mais de 200 L t⁻¹ de capim ensilado quando o teor de MS é menor que 15% (Bastiman, 1976 apud Foy et al., 1994).

O parâmetro mais usual para avaliar o potencial poluente de efluentes é a demanda química de oxigênio (DQO). A DQO é uma estimativa da quantidade de compostos orgânicos presentes no líquido, expressa em miligramas de O₂ necessários para oxidar completamente a gás carbônico e água 1 L da solução (Gutiérrez-Capitán et al., 2015). Galanos et al. (1995) encontraram valores de DQO para efluentes de silagens de capim entre 54.600 e 72.500 mg L⁻¹, mas sabe-se que este valor pode ultrapassar 80.000 mg L⁻¹ (Foy et al., 1994; Arnold et al, 2000). Em efluentes de cana-de-açúcar, foi encontrado DQO médio de 568.000 mg L⁻¹ (Novinski et al., 2011), valor 1000 vezes superior ao encontrado em esgoto doméstico por Peralta-Zamora et al. (2005). Foi estimado que um silo de 200 t de silagem de capim pode produzir uma carga de poluição equivalente à poluição diária de uma cidade de 75 mil habitantes (National Rivers Authority, 1993 apud Stephens et al., 1997). Uma forma de determinar o potencial de contaminação por efluentes é através do uso das reações de glicose oxidase e lactato oxidase para detectar a presença de glicose e lactato (provenientes de efluentes de silagens) em água fluvial. O sensor de lactato foi capaz de detectar efluente de silagens maduras em diluições de 1/1000, enquanto que o sensor de glicose foi mais eficiente para detectar efluentes de materiais recém ensilados, que apresentam maior concentração de glicose que efluentes de silagens estocadas por mais tempo (Stephens et al., 1997).

Razak et al. (2012) analisaram uma série de experimentos com silagens de sub-produtos com alto teor de umidade com ou sem absorventes de umidade. Através de análise de regressão, determinaram valores teóricos para que a produção de efluente fosse zerada: 61,9% de umidade e capacidade potencial de

retenção de água de 82,9 g 100 g⁻¹ de MF. Apesar disso, Deans e Svoboda (1992) argumentam que, na prática, não é possível evitar completamente a produção de efluente, devendo-se, portanto, proceder com coleta deste resíduo para prevenir a poluição de cursos de água locais.

Vários pesquisadores avaliaram possíveis destinações e até mesmo utilidades para os efluentes, que são ricos em nutrientes, motivo pelo qual são tão poluentes. Um dos possíveis destinos que se pode dar ao efluente produzido na silagem é a fertirrigação. Apesar de esta prática necessitar de monitoramento ambiental, o impacto certamente é menor do que simplesmente deixar que o efluente seja levado por águas de chuva até os cursos de água ou lençóis freáticos superficiais. Espalhar o efluente no solo tem, porém, suas limitações, pois pode ocorrer queima das folhas da pastagem ou de outras culturas (Burford, 1976, apud Arnold et al., 2000). Além disso, havia a preocupação de que a alta demanda biológica de oxigênio (DBO) dos efluentes pudesse causar depleção de oxigênio a ponto de prejudicar a microbiota aeróbia do solo. A fim de investigar essa hipótese, Bardgett et al. (1995) realizaram um ensaio laboratorial para avaliar o efeito de diferentes taxas de aplicação de efluente na microbiota do solo. A avaliação periódica de até 32 dias pós-aplicação mostrou que o tratamento do solo com efluente proporcionou aumento temporário (observado apenas nos dias 2 e 4 após aplicação) na biomassa microbiana e na atividade microbiana mensurada por produção de CO₂. Este aumento pode estar associado à imobilização biológica temporária de N e P provenientes do efluente, reduzindo os riscos de lixiviação desses nutrientes. Esta pesquisa indica que, em taxas de aplicação de até 5 L m⁻², o efluente de silagem não parece ter atividade inibitória, ou esta é superada pelo grande aporte de nutrientes proporcionado pela aplicação desse resíduo. Patterson e Walker (1979) estudaram a possibilidade de inclusão de efluente na dieta de porcos em terminação, e concluíram que 10% MS de inclusão supriria praticamente todos os requerimentos protéicos e minerais estabelecidos pelo NRC.

Leidmann et al. (1994) avaliaram o potencial de remoção de metais pesados de solos contaminados através de lixiviação por efluente de silagem de capim. Os testes, feitos em coluna e em batelada, mostraram taxas variadas de remoção para cada metal pesado avaliado (Cd 74,7%; Zn 55,7%; Cu 53,5%; Ni 38,9%, Cr 12,7% e Pb 8,9%). Vale observar, no entanto, que a dita remoção não faz desaparecer esses

metais pesados; apenas os muda de lugar. O destino do efluente “carreador” ainda seria um problema.

Além da possibilidade de uso ou destinação alternativa dos efluentes, alguns pesquisadores avaliaram seu tratamento, em vistas de reduzir o potencial poluente e facilitar seu descarte. Arnold et al. (2000) investigaram a habilidade das leveduras em purificar efluentes de silagens. Nesse estudo foram avaliados diferentes efluentes, diluídos em água a 50 e 25%, com duas espécies de leveduras (*Candida utilis* e *Galactomyces geotrichum*). O tratamento com leveduras proporcionou altas taxas de remoção de carbono orgânico total (60 a 87%), DQO (74 a 95%), ácido láctico (50 a 100%), AGV (90 a 100%) e fosfato (82 a 99%), proporcionando notável grau de purificação dos efluentes. A produção de biomassa no efluente tratado chegou a 8,6 g L⁻¹ para o *G. geotrichum* em 50% de diluição. A remoção de componentes não foi suficiente para que o efluente fosse dispensado com segurança diretamente nos cursos de água, mas reduziu fortemente os riscos de espalhar o efluente no solo. A biomassa produzida provavelmente não seria segura para ser utilizada na alimentação animal, mas os autores consideram sua utilização como fertilizante e condicionadores de solo. Deans e Svoboda (1992) avaliaram o tratamento aeróbico de efluentes não diluídos em reatores laboratoriais. Os efluentes tratados tiveram 50% de redução na DQO e os sobrenadantes dos efluentes tratados tiveram mais de 90% de remoção de DQO em relação ao efluente não tratado. O custo da aeração foi estimado pelos autores e representou ca. 1% do valor de 100 t de silagem, desconsiderando-se o investimento inicial em reator e aerador.

Sistemas de tratamento vegetal foram avaliados para o tratamento efluentes de silagem. Faulkner et al. (2011) avaliaram a remoção de nutrientes do efluente da silagem em três áreas de tratamento vegetal em solos glaciais com camada restritiva (fraguipã) através de balanço de massa. A remoção de massa atingida foi bem variada: amônio 63 a 79%; nitrato 0% ou 86% de remoção ou aumento de 200%; fósforo solúvel reativo 39 ou 88% de remoção ou aumento de 533%. Não foi detectada contaminação nas águas subterrâneas a 1,65 m de profundidade.

A gama de possibilidade de destinos e tratamentos para os efluentes gerados na produção de silagens é grande. O problema ainda permanece na realidade de campo. Mesmo que algumas medidas de tratamento apresentem ótimos resultados em escala laboratorial, normalmente as estações de tratamento

requerem plantas complexas de custo elevado. Deans e Svoboda (1992) apontam que, apesar da sazonalidade na produção de efluentes (o que deixaria a planta inativa, aumentando os custos), as estações de tratamento poderiam ser adaptadas para outros resíduos, como dejetos do gado. A sazonalidade também representa um problema na destinação dos efluentes para outros fins, uma vez que o armazenamento dos mesmos nem sempre é higiênico ou viável. Dessa forma, operações de manejo que visem reduzir ao máximo as perdas de matéria seca e produção de efluentes ainda são a melhor opção, considerando que podem ser implementadas no tempo presente, sem depender de grandes investimentos ou de medidas impostas pela legislação.

2.6.4 Perdas após a abertura do silo

Quando o silo é aberto para utilização da silagem, o contato com o ar atmosférico promove a multiplicação de microrganismos aeróbicos que até então estavam dormentes, causando a deterioração da silagem (McDonald et al., 1991). As leveduras, juntamente com bactérias aeróbicas, são os microrganismos que iniciam o processo de degradação aeróbia (McDonald et al., 1991), pois já estão presentes na forragem. Elas permanecem vivas, mas normalmente com baixa atividade durante a fermentação e, ao entrar novamente em contato com o oxigênio, multiplicam-se consumindo o ácido lático produzido na fermentação. O consumo do ácido eleva o pH, o que proporciona um meio favorável para a multiplicação de diversos outros microrganismos aeróbios, que deterioram o material. As reduções na qualidade e na quantidade de silagem (no caso de descarte de material podre) são as principais fontes de impacto dessa etapa.

Estabilidade aeróbia é a resistência de um material à degradação microbiana na presença de oxigênio (Jobim et al., 2007). Como a atividade microbiana libera calor, a temperatura é normalmente utilizada como indicativo de degradação. A maioria dos pesquisadores considera que houve quebra de estabilidade quando a temperatura da silagem é elevada em 2°C em relação à temperatura ambiente (e.g. Ranjit e Kung Jr., 2000; Kung et al., 2007; Wang e Nishino, 2009; Novinski et al, 2012). Essa metodologia foi validada por Moran et al. (1996).

A fermentação homolática no processo de ensilagem é a via de maior eficiência, já que converte um açúcar de seis carbonos em duas moléculas de ácido

lático, com três carbonos cada, isto é, não há perda de carbono na forma de CO₂ (McDonald et al., 1991). Apesar disso, silagens resultantes de fermentação predominantemente homolática apresentam tendência de serem menos estáveis na presença de oxigênio. O padrão de fermentação heterolático, por sua vez, teoricamente é menos eficiente, pois envolve perda de carbono na forma de gás carbônico (McDonald et al., 1991). Porém, os produtos desse tipo de fermentação, além do ácido lático, incluem outros ácidos, como o acético, propiônico e butírico, que promovem aumento na estabilidade aeróbia da silagem, devido à sua propriedade fungicida (Woolford, 1990). Utilizando este mecanismo, aditivos microbianos são adotados com o objetivo de direcionar a rota fermentativa por uma dessas vias: homolática ou heterolática, e podem apresentar efeito positivo, negativo ou neutro sobre a estabilidade aeróbia.

O método de descarregamento do silo e o capricho durante a execução dessa tarefa diária também influencia as perdas após a abertura do silo. Silos descarregados com garfo manual, fresa ou serra de blocos tendem a manter um painel bem estruturado. Já os silos descarregados com concha de trator tendem a ter um painel mais irregular, com prejuízo à uniformidade do silo. O tipo de silo também influencia a qualidade do painel, pois silos de superfície tendem a ser mais instáveis do que silos de trincheira.

2.6.5 Uso de aditivos para redução de perdas

Diversos pesquisadores buscam estudar os fatores que podem interferir em recuperação de MS, nutrientes, energia, qualidade e estabilidade aeróbia das silagens. O uso de aditivos tem sido o recurso mais estudado nas últimas décadas, mas variáveis como híbridos, maturidade e teor de MS continuam a ser avaliadas. Rabelo et al. (2012) avaliaram cinco estádios de maturidade na ensilagem de milho com ou sem inoculantes bacterianos. A inoculação reduziu as perdas de MS em 1,7 pontos percentuais, porém, a variação maior foi entre estádios de maturação: as silagens feitas de milho nos estádios “leitoso”, “1/3 da linha do leite” e “1/2 da linha do leite” apresentaram quase o dobro (8,96; 8,17; 7,56%, respectivamente) das perdas de MS observadas nas silagens das plantas colhidas nos estádios “2/3 da linha do leite” ou “camada negra” (4,86; 4,31%, respectivamente). Estes dois últimos estádios de maturação também proporcionaram menores perdas por efluentes (3,37

e 1,64 kg t⁻¹ MV) do que os três estádios menos maduros (26,1; 22,3; 11,6 kg t⁻¹ MV). Jones e Jones (1996) revisaram o efeito dos absorventes de umidade na produção de efluentes. Os autores encontraram o uso dos mais diversos materiais absorventes em inclusão de 20 a 80 kg t⁻¹, normalmente resultando em redução de 20 a 85% da produção total de efluentes. Os autores dão destaque para o uso de aditivos que também fornecem substratos de fermentação, como a polpa de beterraba (no Brasil, este subproduto não é comum, mas pode ser comparado à polpa cítrica), pois possuem efeitos adicionais de melhoria na fermentação e redução de perdas totais. Apesar dos benefícios da utilização de absorventes de umidade, as dificuldades devido à mão de obra, recursos e requerimento de espaço no silo também foram apontadas.

Recentemente Schmidt et al. (2014) revisaram a literatura publicada nos últimos 10 anos a fim de discorrer sobre o uso estratégico de aditivos em silagens. Nessa revisão, ficou evidente que, na maioria dos trabalhos, os aditivos não proporcionaram resultados positivos expressivos, de forma que plantas como o milho e o sorgo, por apresentarem características adequadas para fermentação, possam dispensar o uso de aditivos, se bem manejadas. O uso de aditivos na ensilagem de cana-de-açúcar, por outro lado, foi considerado obrigatório devido à grande perda de MS observada em silagens em que não se buscou um controle da população de leveduras. Esses microrganismos são responsáveis pela fermentação de açúcares e ácido láctico a etanol e gás carbônico, ambos produtos indesejáveis e causadores de perdas em forma de gases e volatilização de compostos orgânicos. Segundo revisão de Schmidt (2009), na ensilagem de cana-de-açúcar, essas perdas podem chegar a 30% do total de MS ensilada.

2.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitas medidas aqui discutidas, principalmente as relativas ao manejo, apresentam benefício tanto econômico como ambiental. Essa característica aumenta as possibilidades de que as silagens sejam produzidas com menor impacto relativo. A redução de perdas de campo, mecânicas e fermentativas, bem como a produção de efluentes devem ser minimizadas através de boas práticas de manejo. A rapidez entre a colheita e a vedação do silo; o cuidado na colheita e transporte para evitar perdas mecânicas; a ensilagem com teor de MS adequando e não inferior a 25%; a

manutenção da anaerobiose durante todo o período de armazenamento e o uso de aditivos que comprovadamente reduzem perdas fermentativas ou melhoram a estabilidade aeróbia são algumas dessas práticas que devem ser adotadas.

A sustentabilidade da produção de silagens, no sentido de possibilidade de continuidade, hoje está condicionada à disponibilidade de petróleo, assim como praticamente toda a produção agropecuária do mundo. A questão a ser considerada no momento presente é: qual é a alternativa ao uso da silagem? Se a silagem for usada para reduzir a inclusão de concentrado na dieta de animais de alta produção, tanto melhor. Porém, se a região e a lotação da propriedade permitem o cultivo de culturas de verão e inverno para pastejo, mantendo produtividade aceitável, o uso de silagem certamente não seria a opção de menor impacto. Alternativas sustentáveis para alimentação animal são mais restritas em grandes propriedades, devido à grande quantidade de alimento necessária e à alta produtividade exigida.

2.8 REFERÊNCIAS

ALANIS, P.; ASHKAN, S.; KRAUTER, C.; CAMPBELL, S. ; HASSON, A. S. Emissions of volatile fatty acids from feed at dairy facilities. **Atmospheric Environment**, v. 44, p. 5084-5092, 2010.

ALANIS, P.; SORENSON, M.; BEENE, M.; KRAUTER, C.; SHAMP, B.; HASSON, A. S. Measurement of non-enteric emission fluxes of volatile fatty acids from a California dairy by solid phase micro-extraction with gas chromatography/mass spectrometry. **Atmospheric Environment**, v. 42, p. 6417-6424, 2008.

ALTIERI, M. A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 74, p. 19-31, 1999.

ANDRIOLI, I.; PRADO, R. M. Plantas de cobertura em pré-safra e adubação nitrogenada na fertilidade do solo em diferentes camadas, cultivado com milho em sistema de plantio direto e convencional. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 963-978, 2012.

ARNOLD, J. L.; KNAPP, J. S.; JOHNSON, C. L. The use of yeasts to reduce the polluting potential of silage effluent. **Water Research**, v. 34, p. 3699-3708, 2000.

BARBHUIYA, S. A.; BASHEER, P. A. M.; CLARK, M. W. et al. An investigation into the behavior of concrete containing sweater-neutralized bauxite refinery residues in silage effluent. **Biosystems Engineering**, v. 106, p. 433-439, 2010.

BARDGETT, R. D.; JAMES, L.; LEEMANS, D. K. Microbial biomass and activity in a grassland soil amended with different application rates of silage effluent – a laboratory study. **Bioresource Technology**, v. 52, p. 175-180, 1995.

BARRY, M.; COLLERAN, E. Silage effluent digestion by an upflow anaerobic filter. **Water Research**, v. 18, p. 827-832, 1984.

BERNAREDES, T. F.; DO RÊGO, A. C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 1-10, 2014.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN, L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4701-4706, 2007.

BORREANI, G.; TABACCO, E. Bio-based biodegradable film to replace the standard polyethylene cover for silage conservation. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 386-394, 2015.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – IBAMA. Resolução nº 1 de 23 de janeiro de 1986. **Diário Oficial da União**, Brasília, 17 fev. 1986.

CARB – CALIFORNIA ALMANAC OF EMISSIONS AND AIR QUALITY, 2006. Disponível em: <<http://www.arb.ca.gov/aqd/almanac/almanac06/chap206.htm>>. Acesso em 10/06/2015.

DE JONG, R.; DRURY, C. F.; YANG, J. Y. et al. Risk of water contamination by nitrogen in Canada as estimated by the IROWC-N model. **Journal of Environmental Management**, v. 90, p. 3169-3181, 2009.

DEANS, E. A.; SVOBODA, I. F. Aerobic treatment of silage effluent – laboratory experiments. **Bioresource Technology**, v. 40, p. 23-27, 1992.

DUARTE JR., J. B.; GARCIA, R. F.; COELHO, F. C.; AMIM, T. Desempenho de trator-implemento na cana-de-açúcar em sistemas de plantio direto e convencional. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, p. 653-658, 2008.

EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Ground-level ozone: Basic information. Disponível em: <<http://www.epa.gov/airquality/ozonepollution/basic.html>>. Acesso em: 10/06/2015.

FAULKNER, J. W.; ZHANG, W.; GEOHRING, L. D. et al. Nutrient transport within three vegetative treatment areas receiving silage bunker runoff. **Journal of Environmental Management**, v. 92, p. 587-595, 2011.

FOY, R. H.; SMITH, R. V.; LENNOX, S. D. et al. The impact of climatic and agricultural variables on the frequency of silage pollution incidents. **Journal of Environmental Management**, v. 41, p. 105-121, 1994.

GALANOS, E.; GRAY, K. R.; BIDDLESTONE, A. J. et al. The aerobic treatment of silage effluent: effluent characterization and fermentation. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 62, p. 271-279, 1995.

GUTIÉRREZ-CAPITÁN, M.; BALDI, A.; GÓMEZ, R.; GARCÍA, V.; JIMÉNEZ-JORQUERA, C.; FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, C. Electrochemical nanocomposite-derived sensor for the analysis of chemical oxygen demand in urban wastewaters. **Analytical Chemistry**, v. 87, p. 2152-2160, 2015.

HAFNER, S. D.; HOWARD, C.; MUCK, R. E.; FRANCO, R. B.; MONTES, F.; GREEN, P. G.; MITLOENHNER, F.; TRABUE, S. L.; ROTZ, C. A. Emission of volatile organic compounds from silage: Compounds, sources, and implications. **Atmospheric Environment**, v. 77, p. 827-839, 2013.

HEERWAARDEN, J.; HELLIN, J.; VISSER, R. F. et al. Estimating maize genetic erosion in modernized smallholder agriculture. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 119, p. 875-888, 2009.

HORN, R.; DOMIZAL, H.; SLOWINSKA-JURIKIEWICZ, A. et al. Soil compaction processes and their effects on the structure of arable soils and the environment. **Soil & Tillage Research**, v. 35, p. 23-36, 1995.

JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, suplemento especial, p. 101-119, 2007.

JOHNSON, L.M.; HARRISON, J.H.; DAVIDSON, D. et al. Corn silage management: effects of maturity, inoculation and mechanical processing on pack density and aerobic stability. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 434-444, 2002.

JONES, D. I. H.; JONES, R. The effect of crop characteristics and ensiling methodology on grass silage effluent production. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 60, p. 73-81, 1995.

JONES, R.; JONES, D. I. H. The effect of in-silo effluent absorbents on effluent production and silage quality. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 64, p. 173-186, 1996.

KAISER, J. The other global pollutant: nitrogen proves tough to curb. **Science**, v. 294, p. 1268-1269, 2001.

KAN, C. A.; MEIJER, G. A. L. The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed. **Animal Feed Science and Technology**, v. 133, p. 84-108, 2007.

KIM, S. C.; ADESOGAN, A. T. Influence of ensiling temperature, simulated rainfall, and delayed sealing on fermentation characteristics and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 3122-3132, 2006.

KÖHLER, H.; TRIEBSKORN, R. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? **Science**, v. 341, p. 759-765, 2013.

KUNG JR., L.; SCHMIDT, R. J.; EBLING, T. E.; HU, W. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of ground and whole high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 2309-2314, 2007.

LEIDMANN, P.; FISHER, K.; BIENIEK, D. et al. Removal of heavy metals from polluted soil with grass silage juice. **Chemosphere**, v. 28, p. 383-390, 1994.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991.

MCT – Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Estimativas anuais de emissões de gases do efeito estufa no Brasil. 2013. Disponível em: <http://www.mct.gov.br/upd_blob/0226/226591.pdf>. Acesso em: 19/09/2013.

MERTENS, D. R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1463-1481, 1997.

MIKKOLA, H. J.; AHOKAS, J. Indirect energy input of agricultural machinery in bioenergy production. **Renewable Energy**, v. 35, p. 23-28, 2010.

MILLENNIUM Ecosystem Assessment. Washington: Island Press, 2005. 141 p. Ecosystems and Human Well-Being: Synthesis. Disponível em: <<http://www.millenniumassessment.org/documents/document.356.aspx.pdf>>. Acesso em 24/05/2014.

MORAN, J. P.; WEINBERG, Z. G.; ASHBELL, G.; HEN, Y.; OWEN, T. R.; A comparison of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage. In: XI International Silage Conference, 1996, Aberystwyth, Reino Unido. **Proceedings...** p. 162-163.

NOVINSKI, C. O.; JUNGES, D.; SCHMIDT, P. et al. Methods of lab silos sealing and fermentation characteristics and aerobic stability of sugarcane silage treated with microbial additive. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 264-270, 2012.

NOVINSKI, C. O.; SCHMIDT, P.; PERALTA-ZAMORA, P.; JUNGES, D.; WARPECHOWISKI, M. B.; SANTOS, M. C. Characterization of the sugarcane silage effluent and the potential of environmental pollution. In: II International Symposium on Forage Quality and Conservation, 2011, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2011. CD-ROM.

O'DONNELL, C.; O'KIELY, P.; DODD, V. A. et al. A study of the effects of silage effluent on concrete: part 2, significance of environmental factors. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 60, p. 93-97, 1995.

PATTERSON, D. C.; WALKER, N. The use of effluent from grass silage in the diet of finishing pigs. I. Variation in composition of effluents. **Animal Feed Science and Technology**, v. 4, p. 263-274, 1979.

PERALTA-ZAMORA, P.; CORDEIRO, G.A.; NAGATA, N. Utilização de regressão multivariada para avaliação espectrofotométrica da demanda química de oxigênio em amostras de relevância ambiental. **Química Nova**, v. 28, p. 838-841, 2005.

PIMENTEL, D.; HURD, L. E.; BELLOTTI, A. C.; FORSTER, M. J.; OKA, I. N.; SHOLES, O. D.; WHITMAN, R. J. Food production and the energy crisis. **Science**, v. 182, p. 443-449, 1973.

PITT, R. E. Dry matter losses due to oxygen infiltration in silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 35, p. 193-205, 1986.

PITT, R. E.; MUCK, R. E. Diffusion model of aerobic deterioration at the exposed face of bunker silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 55, p. 11-26, 1993.

RABELO, C. H. S.; REZENDE, A. V.; NOGUEIRA, D. A. et al. Perdas fermentativas e estabilidade aeróbia de silagens de milho inoculadas com bactérias ácido-láticas em diferentes estádios de maturidade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, p. 656-668, 2012.

RANJIT, N. K.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 526-535, 2000.

RAZAK, O. A.; MASAACKI, H.; YIMAMU, A.; MEIJI, O. Potential water retention capacity as a factor in silage effluent control: experiments with high moisture by-products feedstuffs. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 25, p. 471-478, 2012.

ROGERS, D. L. Genetic erosion: no longer just an agricultural issue. **Native Plants Journal**, v. 5, p. 112-122, 2004.

ROMANELLI, T. L.; MILAN, M. Material flow determination through agricultural machinery management. **Scientia Agricola**, v. 67, p. 375-383, 2010.

SCHMIDT, P. Improved efficiency of sugarcane ensiling for ruminant supplementation. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 1., 2009, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2009. p.47-72.

SCHMIDT, P.; SOUZA, C. M.; BACH, B. C. Uso estratégico de aditivos em silagens: quando e como usar? In: Simpósio: Produção e Utilização de Forragens Conservadas, 5., 2014, Maringá. **Anais...** Maringá: Nova Sthampa, 2014. p. 243-264.

SMALE, M. The Green Revolution and wheat genetic diversity: some unfounded assumptions. **World Development**, v. 25, p. 1257-1269, 1997.

STEPHENS, S. K.; TOTHILL, I. E.; WARNER, P. J. et al. Detection of silage effluent pollution in river water using biosensors. **Water Research**, v. 31, p. 41-48, 1997.

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, p. 265-274, 2009.

WEINBERG, Z. G.; SHATZ, O.; CHEN, Y. et al. Effect of lactic acid bacteria inoculants on in vitro digestibility of wheat and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4754-4762, 2007.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effect of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 68, p. 101-116, 1990.

ZOPOLLATTO, M.; SARTURI, J. O. Optimization of the animal production system based on the selection of corn cultivars for silage. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 1., 2009, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2009. p. 73-90.

3 PERDAS FERMENTATIVAS NA ENSILAGEM DE CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum*) AVALIADAS POR DIFERENTES METODOLOGIAS

Resumo: A metodologia convencional de avaliação de perdas fermentativas por estimativa em silos laboratoriais foi comparada com uma nova metodologia de avaliação direta da produção de gases e de efluentes na fermentação. Cada silo de PVC (50 cm comprimento x 15 cm diâmetro) foi equipado com dispositivo coletor de efluente (DCE) e dispositivo coletor de gases (DCG). Quinze silos foram confeccionados com $4,48 \pm 0,34$ kg de capim-elefante pré-secado e alocados em um dentre os tratamentos: C – controle, R – inoculante à base de bactérias homofermentativas ou F – aditivo composto de bactérias homofermentativas e benzoato de sódio. O volume de gás produzido (Gprod) foi avaliado durante o período de 65 dias de armazenamento. O teor de matéria seca (MS), a composição bromatológica, o pH e a concentração de compostos orgânicos voláteis (COV) das silagens foram determinados. As perdas de MS (PMS) e as perdas por gases (PG) foram calculadas com base no teor de MS em estufa e no teor de MS corrigido para voláteis (MScorr). A perda por gases calculada por diferença bruta do peso do silo e a produção de efluente (PE) foram calculadas pela metodologia convencional. Todas as variáveis foram relacionadas por correlação de Pearson. A PE foi desprezível, tornando as variáveis PMS e PG próximas e fortemente correlacionadas. Gprod não se correlacionou com PG ou PMS, mas esteve correlacionada com massa específica (-0,69) e pH (0,56). Diferença entre tratamentos foi observada para Gprod, mas não para PMS, PG e PE. O tratamento F reduziu o volume de gás produzido em relação ao controle. Ambos os aditivos reduziram as concentrações de leveduras e aumentaram a estabilidade aeróbia das silagens.

Palavras-chave: compostos orgânicos voláteis, efluente, gases, perda de matéria seca, silagem

3.1 FERMENTATIVE LOSSES OF ELEPHANT GRASS (*Pennisetum purpureum*) ASSESSED BY DIFFERENT METHODOLOGIES

Abstract: The conventional methodology of estimating fermentative losses in lab silos was compared with a new method of gas production assessment. Fifteen PVC silos (50-cm length x 15-cm diameter) equipped with effluent and gas collection device (ECD and GCD) were filled up with 4.48 ± 0.34 kg of wilted elephant grass with no additive (C), a inoculant composed by homofermentative lactic acid bacteria (LAB) (R) or a mixed additive composed by homofermentative LAB and sodium benzoate. Gas production (Gprod) was recorded during the 65-day storage period, after which silage pH, dry matter content (DM), chemical composition, fermentation end-products, and aerobic stability were measured. The DM losses (DML) and gas losses (GL) were calculated through oven DM content as well as through DM content corrected for volatile compounds losses (DMcorr). Effluent production (EP) and gas losses calculated by difference between silo weights (PGtrad) were estimated through traditional methodologies. All variables were related by Pearson correlation. Treatments were compared by Tukey test (0.05). The EP was negligible, whereas DML and GL were close and strongly correlated. The Gprod had no correlation with GP or DML, but correlated with bulk density (-0.68) and pH (0.55). Treatments differed for Gprod but not for DML, GL and EP. The F treatment reduced Gprod when compared to control. Both additives reduced yeasts counts and improved aerobic stability of elephant-grass silages.

Key words: effluent, gas, dry matter losses, silage, volatile organic compounds

3.2 INTRODUÇÃO

A avaliação de perdas fermentativas no processo de ensilagem é foco da pesquisa na conservação de forragens. Quando o objetivo da pesquisa é comparar tratamentos, os silos laboratoriais são técnica de escolha, pois permitem que os efeitos aleatórios de ambiente sejam minimizados. As avaliações em silos laboratoriais são vantajosas também por serem mais baratas e de fácil execução, permitindo ao pesquisador avaliar um maior número de tratamentos, com mais repetições, do que o que seria viável em silos de grande escala. A desvantagem desta metodologia é que os resultados por ela obtidos não são necessariamente extrapoláveis para silos de grande escala, já que, em condições de campo, os efeitos aleatórios dificultam a observação de diferença estatística entre tratamentos. Rodrigues et al. (2002) compararam diferentes silos experimentais com um silo em trincheira na ensilagem de capim-elefante sem aditivos, concluindo que silos em balde ou saco plástico proporcionam maior qualidade fermentativa que o silo em trincheira. No entanto, a metodologia em silos laboratoriais pode ser considerada um bom método de triagem, que permite aos pesquisadores selecionar tratamentos para ensaios de grande escala.

As metodologias de pesquisa estão em constante aperfeiçoamento. No intuito de padronizar as avaliações de silagem, Jobim et al. (2007) revisaram as principais metodologias utilizadas para avaliação de perdas em silagens. Todas as equações descritas pelos autores prevêm o cálculo de perdas por diferença ou relação, caracterizando uma estimativa. As perdas totais durante a fermentação da silagem podem ser divididas em duas categorias: perdas por efluentes e perdas por gases. Weinberg et al. (1988) estimaram a perda por gases pela diferença de peso entre a perda total de peso do silo e o peso do efluente produzido. Uma das formas mais comumente utilizadas para estimativa de perdas por gases é a diferença do peso bruto do silo na ensilagem e na abertura – equação (4), seção 3.3.7 (e.g. Andrade et al., 2010; Mota et al., 2011). Esse método “tradicional” desconsidera variações no teor de matéria seca (MS) da forragem durante a fermentação, considerando que toda a diferença de peso corresponde à produção de gás. Schmidt (2006) demonstrou que este método subestima a perda por gases, e propôs outra equação para determinação dessa variável, levando em consideração o teor de MS da forragem (vide equação (2); seção 3.3.7).

As medidas indiretas de perdas fermentativas são dependentes de amostragem e determinação de teor de MS em estufa. A amostragem pode ser fonte de erro, se mal executada; mas a secagem da silagem em estufa provoca um erro intrínseco devido à perda por volatilização de compostos orgânicos voláteis (COV). Esse efeito já é conhecido há muito tempo. Em artigo publicado na revista *Analyst* há mais de 70 anos, Burns e Smith (1943) relataram que o procedimento laboratorial normal de pré-secagem das amostras em estufa causa a perda de matéria volátil. A determinação do teor de MS pelo método do tolueno foi uma opção para controlar esse problema, mas, por ser este um reagente carcinogênico, esse método não é mais tão utilizado. Deste modo, a maioria dos pesquisadores continua a utilizar a secagem em estufa sem qualquer correção, subestimando o teor de MS da silagem (mas não da forragem fresca), conseqüentemente superestimando as perdas fermentativas. Este erro pode ser ainda mais problemático quando o objetivo do experimento é avaliar bactérias ácido-láticas como inoculantes. Um aditivo microbiano eficiente promoverá maior conversão de carboidratos solúveis em ácidos, como produtos da fermentação. Com a volatilização dos ácidos na estufa, o tratamento com aditivo poderá aparentar menor recuperação de MS, embora seu efeito tenha sido positivo.

Weissbach (2009) propôs um método de correção do teor de MS determinado em estufa, baseado na concentração e na taxa de volatilização dos COV analisados (vide equação (5); seção 3.3.7). A necessidade de avaliação dos COV é uma limitação no Brasil para uso dessa correção, pois poucos laboratórios estão preparados para realizar essas análises, que também possuem alto custo.

A produção de CO₂ já foi avaliada de forma específica, ainda que indireta, por uma metodologia que posiciona o silo experimental virado para baixo, fechado com rolha porosa imersa em um becker com 100 mL de solução KOH 20%. O CO₂ produzido durante o armazenamento é fixado na solução básica, e a determinação da perda por CO₂ é feita por titulação de uma alíquota diluída daquela solução (Weinberg e Chen, 2013).

Em vista das conhecidas falhas da metodologia convencional, faz-se necessário o desenvolvimento de metodologias complementares ou alternativas, em busca de exatidão e confiabilidade dos resultados obtidos. Nossa proposta é a avaliação direta do volume de gás produzido no silo como um recurso de

comparação de tratamentos em escala laboratorial. Essa avaliação, por ser direta, não está sujeita ao acúmulo de erros que ocorre nas etapas da avaliação indireta.

O objetivo neste estudo foi comparar as metodologias de avaliação de perdas na fermentação de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) em silos laboratoriais; e avaliar o efeito de tratamento com aditivos químico e biológico sobre a qualidade, fermentação e estabilidade aeróbia das silagens.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Construção dos silos

Os silos foram construídos a partir de tubos de PVC (150 mm diâmetro x 50 cm comprimento) colados à tampa de fundo com adesivo de PVC. As tampas superiores de cada silo foram perfuradas na região central, onde foi acoplado um pino metálico vazado (4 mm de diâmetro) para fixação de um segmento de 10 cm de mangueira de silicone acoplada em uma torneira de três vias na outra extremidade.

O dispositivo coletor de gases (DCG) foi construído a partir de uma proveta graduada (1000 mL) de polietileno de baixa densidade conectada a uma mangueira de silicone (70 cm) pelo fundo (mediante pino metálico) e acoplada à torneira de três vias na outra extremidade. Esta proveta foi mantida com a abertura voltada para baixo, imersa em água dentro de outro tubo de PVC (100 mm diâmetro), para evitar o escape de gases (Figura 3.1).

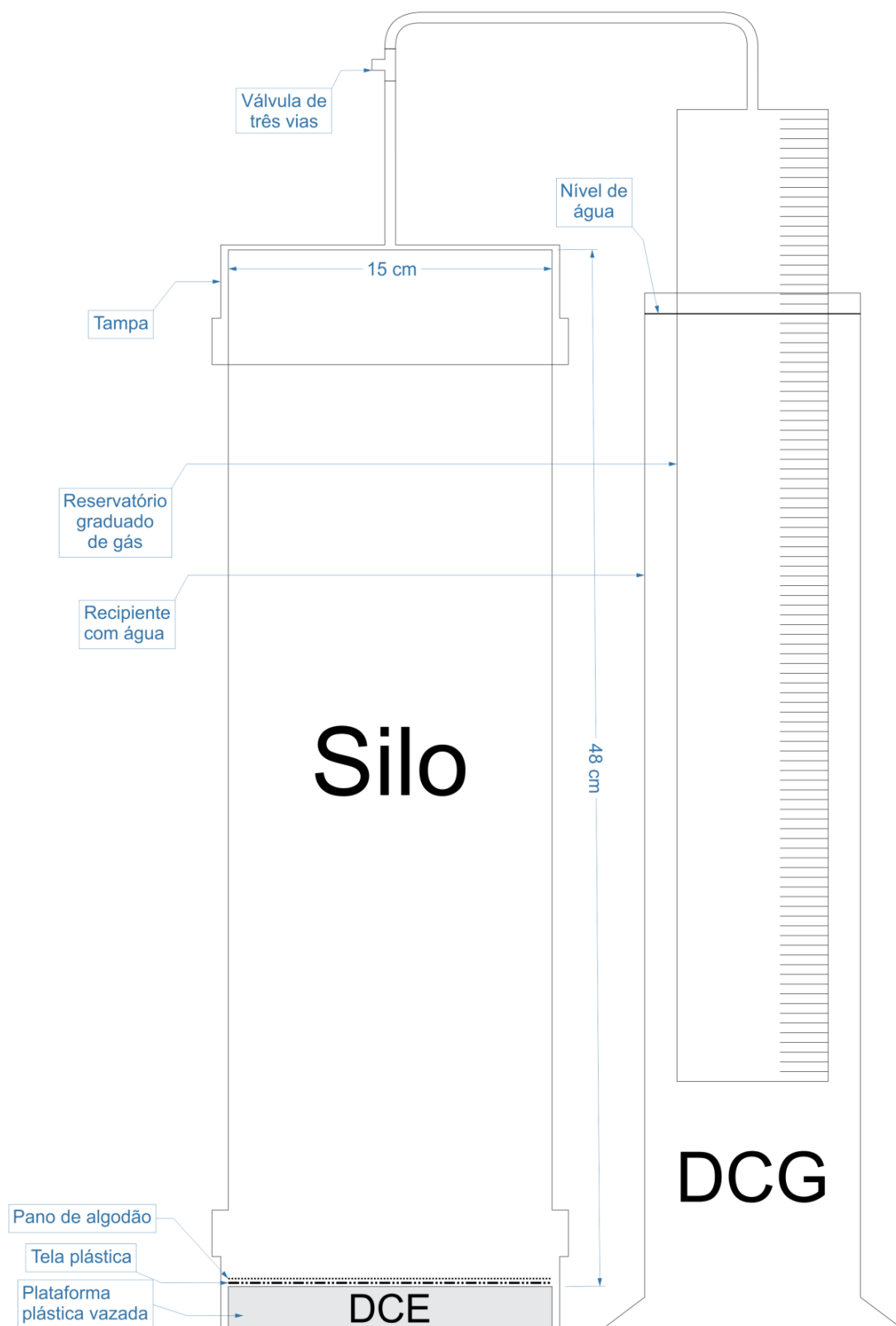


Figura 3.1. Esquema do silo com dispositivos coletores de gás (DCG) e efluente (DCE).

O dispositivo coletor de efluente (DCE), constituído de uma plataforma plástica vazada (2 cm altura) sobreposta com uma tela plástica e um pano de algodão, foi posicionado no fundo de cada silo, proporcionando um espaço interno para armazenamento do efluente produzido. O volume útil do silo para armazenamento da forragem foi de 8,48 L.

A fixação dos pinos metálicos nos orifícios foi feita com adesivo selante elástico, e todas as conexões das mangueiras foram fixadas com abraçadeiras plásticas. Os conjuntos vazios (silo + tampa completa + DCE) foram identificados e pesados. Cada silo foi acoplado ao seu DCG somente após o enchimento e a vedação.

3.3.2 Ensilagem

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) foi colhido manualmente na Fazenda Experimental Canguiri da Universidade Federal do Paraná em 28/01/2014, com idade de rebrota de 90 dias, aproximadamente. Após um período de pré-secagem de 24 h em galpão coberto, a forragem foi picada em ensiladeira acoplada ao trator e separada em três pilhas sobre lonas de polietileno. Cada pilha de forragem foi alocada em um dentre os tratamentos: controle – sem aditivos (C), Sil-All 4x4 a 10 g t⁻¹ MV (R) ou Sil-All Fireguard a 150 g t⁻¹ MV (F). Os aditivos apresentam a seguinte composição: R – *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus faecium* (concentração teórica total de 2 x 10⁵ ufc g⁻¹ forragem) e enzimas amilase, celulase, hemicelulase e xilanase; F – *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* (concentração teórica total de 1 x 10⁵ ufc g⁻¹ forragem) benzoato de sódio e enzimas amilase, xilanase e beta-glucanase. As proporções dos componentes dos aditivos estão protegidas por segredo comercial. Todos os tratamentos foram diluídos em 1 L de água não clorada t⁻¹ MV. Os tratamentos foram aplicados uniformemente sobre a forragem espalhada por meio de borrifadores manuais. A forragem tratada foi homogeneizada e foram coletadas duas amostras por tratamento para determinação do teor de MS, composição química e pH (processamento igual ao da silagem, descrito nas próximas seções). Todo material que entrou em contato com a silagem foi descartado ou desinfetado entre tratamentos, para evitar a contaminação

cruzada. Quinze silos (cinco por tratamento) foram enchidos manualmente com $4,48 \pm 0,34$ kg de forragem, compactados com auxílio de pilão de madeira com capa plástica descartável. Os silos foram hermeticamente fechados com as respectivas tampas, pesados, vedados com adesivo selante elástico e acoplados aos respectivos DCG.

3.3.3 Produção de gases

A produção de gases (Gprod) foi aferida e registrada manualmente durante todo o período de armazenamento (65 d), à temperatura ambiente média de $29,2 \pm 2,0^\circ\text{C}$. O reservatório de gás era esvaziado após as leituras, conforme a necessidade. A torneira de três vias possibilitou a remoção de gás do reservatório sem entrada de ar atmosférico nos silos. Para comparação com as estimativas de perdas, a produção total de gás no período de armazenamento foi expressa em L de gás kg^{-1} MS ensilada.

3.3.4 Abertura e processamento de amostras

Após o período de armazenamento de 65 dias, os silos foram pesados e abertos para remoção da silagem e pesagem do conjunto vazio úmido (para estimativa de efluentes). A silagem removida foi homogeneizada em sacos plásticos. Foram coletadas duas amostras (ca. 250g) por silo para secagem em estufa de circulação forçada a 65°C por 72 horas, e três amostras de ca. 50 g para determinação de pH, concentração de compostos orgânicos voláteis (COV) e contagem microbiológica.

As amostras para avaliação de pH foram mantidas refrigeradas para processamento no mesmo dia (25 g de silagem com 225 mL de água destilada, leitura com pHmetro digital (PG 1400, Gehaka, Brasil) após 1 minuto), e as amostras para análise de COV foram imediatamente congeladas para processamento posterior por extrato aquoso. Os extratos foram obtidos pela adição de 25 g de silagem a 225 mL de água destilada, homogeneização em liquidificador por 1 minuto e posterior filtragem em gaze e em filtro Wattman 54. Estes extratos foram armazenados em “eppendorfs” e congelados para envio ao Laboratório de

Bromatologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo. Neste laboratório, as amostras foram novamente filtradas (Minisart RC25; 0,45 µm, Sartorius ®) e analisadas para 18 COV conforme a metodologia utilizada por Daniel et al. (2013)

Para contagem microbiológica, os extratos foram preparados pela adição de 25 g de silagem a 225 mL de solução Ringer estéril em saco plástico para homogeneização em homogeneizador de amostras tipo Stomacher (MA440/CF, Marconi, Brasil). Cada amostra foi homogeneizada por 4 minutos a 150 RPM e filtrada em três camadas de gaze. A partir do extrato, foram feitas diluições sequenciais de base 10 em solução Ringer para contagem de leveduras e mofos e em caldo MRS (MRS Broth ACC – Rogosa e Sharpe, Merck, Alemanha) para contagem de bactérias ácido-láticas (BAL). As diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} em solução Ringer foram plaqueadas em Petrifilm para contagem de mofos e leveduras (YM, 3M, EUA). As placas foram armazenadas em estufa de cultura (MA415/mini, Marconi, Brasil) à temperatura média de 23,5°C. As contagens de leveduras e mofos foram realizadas após 72 e 120 h de incubação, respectivamente. As diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} em caldo MRS foram plaqueadas em Petrifilm (AC, 3M, EUA). As placas foram armazenadas em jarra de anaerobiose contendo disco gerador de anaerobiose (Anaerobac, Probac, Brasil). A jarra foi armazenada em estufa entre 30 e 35°C, e a contagem foi realizada após 48 h de incubação.

3.3.5 Avaliação de estabilidade aeróbia

Após a coleta de amostras, 3 kg de silagem foram acondicionados em baldes plásticos sem compactação, e um data-logger (EL-USB, Lascar, Inglaterra) foi posicionado no centro geométrico da massa em cada balde. A temperatura foi aferida a cada cinco minutos durante o período de 120 horas, em ambiente de temperatura controlada ($24,8 \pm 0,7^\circ\text{C}$). A estabilidade aeróbia (EA) foi calculada como o tempo necessário para a temperatura da silagem superar em 2°C a temperatura ambiente (Moran et al., 1996). A temperatura acumulada (Tac) foi calculada pela soma das diferenças positivas entre a temperatura da silagem e a temperatura ambiente (O’Kiely, 1993). A temperatura máxima (Tmax) da silagem durante o período de avaliação também foi registrada.

No mesmo ambiente foram mantidos recipientes com o restante da silagem de cada unidade experimental para amostragem e avaliação de pH nos dias 0, 2, 4 e 5 após a abertura.

3.3.6 Análises bromatológicas

As amostras pré-secas a 65°C foram moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm. As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da USP.

O teor de MS definitivo foi determinado por secagem de 2 g de amostra em estufa de 105°C durante 12 h. Os teores de fibra em detergente neutro com sulfito de sódio (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados pelo método seqüencial ANKON. O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pela multiplicação do fator 6,25 pelo teor de nitrogênio (N) da amostra, determinado pelo método de DUMAS em analisador de nitrogênio (FP-528, Leco, EUA)

3.3.7 Estimativas de perdas fermentativas e na estabilidade

Para os cálculos de perdas durante a fermentação, foram utilizados os valores de MS definitivos, após a secagem a 105°C. A perda de MS durante a exposição aeróbia (PMSest) foi calculada com base no teor de MS obtido em estufa a 65°C. As estimativas de perda total de MS (PMS), perda por gases (PG) e produção de efluentes (PE) foram realizadas conforme descrito por Jobim et al. (2007).

A equação (1) foi utilizada para estimativa de PMS (% MS).

$$PMS = \frac{[(SCen - Cen) \times MSen] - [(SCab - Cab) \times MSab]}{[(SCen - Cen) \times MSen]} \times 100\% \quad (1)$$

em que: SCen e SCab = massa (kg) do silo cheio na ensilagem e na abertura, respectivamente; Cen = massa (kg) do conjunto vazio (silo + DCE + tampa) na ensilagem; MSen e MSab = teor de MS (%) da forragem na ensilagem e da silagem na abertura, respectivamente; Cab = massa (kg) do conjunto úmido na abertura, após a retirada da silagem (silo + DCE + tampa + efluente).

A equação (2) foi utilizada para estimativa de PG (% MS).

$$PG = \frac{[(SCen - Cen) \times MSen] - [(SCab - Cen) \times MSab]}{[(SCen - Cen) \times MSen]} \times 100\% \quad (2)$$

em que: SCen e SCab = massa (kg) do silo cheio na ensilagem e na abertura, respectivamente; Cen = massa (kg) do conjunto vazio (silo + DCE + tampa) na ensilagem; MSen e MSab = teor de MS (%) da forragem na ensilagem e da silagem na abertura, respectivamente.

A equação (3) foi utilizada para estimativa de PE (kg t⁻¹ MV).

$$PE = \frac{Cab - Cen}{SCen - Cen} \times 100\% \quad (3)$$

em que: SCen = massa (kg) do silo cheio na ensilagem; Cen = massa (kg) do conjunto vazio (silo + DCE + tampa) na ensilagem; Cab = massa (kg) do conjunto úmido na abertura, após a retirada da silagem (silo + DCE + tampa + efluente).

Para efeito de comparação, foi utilizada a fórmula “tradicional” para estimativa de perdas por gases, mostrada na equação (4).

$$PG_{trad} = \frac{SCab - SCen}{(SCen - Cen) \times MSen} \times 100\% \quad (4)$$

As equações (1) e (2) foram utilizadas para calcular as perdas com base no teor de MS obtido por secagem em estufa, mas também foram aplicadas ao teor de MS corrigido para compostos voláteis (MScorr) de acordo com a equação (5) proposta por Weissbach (2009) para silagens de capins:

$$MS_{corr} = MS + (1,05 - 0,059 \text{ pH})AGV + 0,08 AL + 0,77 PD + 0,87 BD + 1,00 OC \quad (5)$$

em que: MS = teor de matéria seca obtido em estufa (% MV); pH = pH da silagem; AGV = soma das concentrações dos ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico e isovalérico (% MV); AL = concentração de ácido láctico (% MV); PD = concentração de 1,2-propanodiol (% MV); BD = concentração de 2,3-butanodiol (% MV); OC = soma das concentrações de acetona, acetato de etila, acetato de propila, lactato de etila, metanol, etanol, 1-propanol, 2-butanol, álcool isopropílico (% MV).

A perda de MS após 120 horas de exposição da silagem ao ar atmosférico (PMS_{est}, % MS) foi estimada através da equação (6):

$$PMS_{est} = \frac{(B_F - T) \times MS_F - (B_I - T) \times MS_I}{(B - T) \times MS} \times 100\% \quad (6)$$

em que: B_I e B_F = massa (kg) do balde de silagem no início e ao final do período de exposição ao ar, respectivamente; T = tara do balde (kg); MS_I e MS_F = teor de MS da silagem no início e ao final do período de exposição ao ar. Todas as amostras foram coletadas após homogeneização de todo o conteúdo do silo ou balde em saco plástico.

3.3.8 Análises estatísticas

A normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e a homogeneidade de variância foi avaliada e corrigida pela metodologia de Box-Cox, utilizando-se transformações e soma de unidade quando necessário (PROC TRANSREG). As variáveis que apresentaram diferença significativa a 5% na análise de variância (ANOVA) foram submetidas ao teste de Tukey para comparação de médias (PROC GLM). Diferenças foram consideradas significativas quando P < 0,05.

Todas as variáveis foram relacionadas pelo coeficiente de correlação de Pearson (PROC CORR). As correlações foram consideradas significativas quando P < 0,05.

As análises estatísticas foram realizadas através do programa SAS 9.3.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH, o teor de MS e a composição química da forragem pré-secada estão apresentados na Tabela 3.1. A composição química foi semelhante à obtida por Carvalho et al. (2007) em capim-elefante emurchecido. Em estágios de maturação mais avançada, como no caso do presente experimento, os teores de fibra se elevam e o teor de proteína diminui.

Tabela 3.1. Características do capim-elefante pré-secado antes da ensilagem.

Variável ¹	Média	DP	Mínimo	Máximo	EPM ²
pH	6,19	0,02	6,19	6,21	0,01
MS (g kg ⁻¹)	228	4,3	222,1	234,7	1,8
Cinzas (g kg ⁻¹ MS)	107	1,6	104,9	109,3	0,7
FDN (g kg ⁻¹ MS)	693	7,1	682,1	702,1	2,9
FDA (g kg ⁻¹ MS)	405	7,9	393,0	416,7	3,2
PB (g kg ⁻¹ MS)	85,8	6,0	78,4	95,1	2,4

¹ MS = teor de matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta. ² Erro padrão da média.

Os teores de MS obtidos em estufa e corrigidos para a perdas de compostos orgânicos voláteis, a composição química e o pH das silagens após 65 dias de fermentação estão apresentados na Tabela 3.2. O pH encontrado indica que as silagens fermentaram adequadamente, mesmo com o teor de MS da forragem abaixo da faixa normalmente recomendada de 30 a 35%. Os aditivos não alteraram significativamente a composição química ou o pH das silagens.

As perdas de matéria seca (PMS), perdas por gases (PG), perdas por efluente (PE) e volume de gás produzido (Gprod) estão apresentados na Tabela 3.3.

Tabela 3.2. Composição química de silagens de capim-elefante tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).

Variável ¹	C	R	F	EPM ²
pH	4,35	4,34	4,31	0,02
MS (g kg ⁻¹)	225	227	226	1,1
MScorr (g kg ⁻¹)	229	231	230	1,1
Cinzas (g kg ⁻¹ MS)	111	112	111	0,5
FDN (g kg ⁻¹ MS)	691	683	688	2,2
FDA (g kg ⁻¹ MS)	423	415	412	2,5
PB (g kg ⁻¹ MS)	76,1	76,5	72,0	1,3

¹ MS = teor de matéria seca; MScorr = MS corrigida para perda de compostos voláteis em estufa; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta. ² EPM = erro padrão da média. As médias dos tratamentos não diferiram pelo teste de Tukey (P>0,05).

As perdas de forma geral foram muito baixas, o que pode estar relacionado à compactação suficiente e à vedação adequada obtida em todos os silos. Sabe-se que o teor de MS da forragem está negativamente relacionado à perda por efluentes, apesar de esta relação ser influenciada por outros fatores relacionados à planta e ao processo de ensilagem (Jones e Jones, 1995). Na ensilagem de capim-elefante (MS = 19,8%) aditivado ou não com BAL, Ferreira et al. (2013) encontraram PMS de 6,1 a 19,4%, PG de 3,0 a 5,7% da MS e PE de 53,2 a 64,5 kg t⁻¹ MV, sendo

as maiores perdas encontradas no tratamento controle. Na ensilagem de capim tifton 85 (*Cynodon* spp.) sem aditivo, com teores de MS de 22,0 e 30,5%, respectivamente, foram encontradas PMS de 13,3 (Adesogan et al., 2004) e 8,65% MS (Dean et al., 2005). Perdas de MS desprezíveis (0,32% MS) foram encontradas em silagens de capim-elefante com 35,0% de MS, fortemente compactadas (950 kg MV m⁻³) (Itavo et al., 2010).

Tabela 3.3. Perdas fermentativas de silagens de capim-elefante tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).

Variável ¹	C	R	F	EPM ²
PMS (g kg ⁻¹ MS)	12,8	4,0	7,2	4,6
PMScorr (g kg ⁻¹ MS)	-6,0	-14,4	-11,4	4,6
PG (g kg ⁻¹ MS)	11,5	2,5	5,9	4,6
PGcorr (g kg ⁻¹ MS)	-7,4	-16,0	-12,8	4,6
PGtrad (g kg ⁻¹ MS)	-23,0	-31,3	10,8	10,3
PE (kg t ⁻¹ forage)	1,34	1,55	1,35	0,12
GProd (L kg ⁻¹ MS)	5,87 ^a	4,91 ^{ab}	4,14 ^b	0,26

¹ PMS = perda de matéria seca; PMScorr = PMS calculada com base no teor de MScorr; PG = perda por gases; PGcorr = PG calculada com base no teor de MScorr; PGtrad = perda por gases calculada pela equação “tradicional”; PE = perda por efluente; GProd = gás produzido durante o armazenamento. ² EPM = erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

A produção de efluentes (PE) em silagens de capim-elefante pode ser muito grande, principalmente quando a forragem apresenta baixo teor de matéria seca. Andrade et al. (2010) e Faria et al. (2010) obtiveram PE de 145 kg t⁻¹ MV e 243,1 L t⁻¹ MV em silagens não aditivadas, com teores de MS de 15,9% e 12,7%, respectivamente. Essa perda de grande magnitude pela produção de efluentes normalmente é reduzida pela adição de um material absorvente de umidade no momento da ensilagem, como a casca de café (Faria et al., 2010), ou pela pré-secagem do capim até a obtenção de teores de MS mais altos. Esta prática foi avaliada por Loures et al. (2005), que aumentaram o teor de MS do capim-tanzânia de 16,75 para 25,73, obtendo uma redução na produção de efluentes de 250 para 3 L t⁻¹ MV. No presente ensaio, a PE foi desprezível em todas as unidades experimentais, de forma que esta variável não apresentou correlação significativa com nenhuma outra. Devido a esta produção reduzida, as estimativas de perdas por gases foram muito próximas às de perdas totais de MS. Todas as correlações entre as variáveis PMS, PMScorr, PG e PGcorr foram positivas e fortes (0,99 a 1,00).

A correção do teor de MS (calculada pela equação (5), seção 3.3.7) elevou em média 4,3 g kg⁻¹. Como as perdas de MS estimadas foram pequenas, essa

correção aumentou a incidência de valores negativos para a estimativa de perdas. A perda negativa (ganho de MS), embora seja frequente, normalmente é considerada erro experimental e excluída dos dados. Optamos por manter os valores negativos, já que o objetivo principal é comparar os resultados obtidos por cada uma das metodologias. Um fato interessante, observado neste e em outros ensaios realizados por nosso grupo é que, ao período de produção de gases (primeiros 3 a 7 dias), sucede-se uma fase de absorção de gás pelo silo, que parece durar ou estabilizar, formando uma pressão negativa que pode ser percebida até o momento da abertura dos silos. Ainda não sabemos a magnitude dessa pressão negativa, nem o processo (químico ou biológico) que a produz. Existe a possibilidade de haver um microrganismo na silagem capaz de fixar algum elemento gasoso, seja carbono, nitrogênio ou outro. Nesse caso, a “perda negativa”, ou seja, o ganho de MS não seria tão absurdo como parece. Mas, por enquanto, isso é apenas especulação científica.

Tabela 3.4. Coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis de perdas, o teor de MS da silagem e a produção de gases (abaixo da diagonal) e correspondentes valores de P¹ (acima da diagonal).

Var. ²	MS	PMS	PMScor	PG	PGtrad	PE	Gprod
MS		<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,38	0,74	0,26
PMS	-0,90		<0,0001	<0,0001	0,61	0,74	0,47
PMScor	-0,88	0,99		<0,0001	0,52	0,80	0,52
PG	-0,90	0,99	0,99		0,61	0,81	0,46
PGtrad	0,24	0,14	0,18	0,15		0,68	0,09
PE	-0,09	0,09	0,07	0,07	-0,12		0,57
Gprod	-0,31	0,20	0,18	0,21	-0,45	-0,16	

¹ Valores negritos ressaltam correlações significativas; NS = não significativo (P>0,05). ² MS = teor de matéria seca da silagem; PMS = perda de MS; PMScor = PMS calculada com base no teor de MS corrigido da silagem; PG = perda por gases; PGtrad = perda por gases calculada pela equação “tradicional”; PE = perda por efluente; Gprod = gás produzido durante o armazenamento.

As correlações de Pearson entre o teor de MS das silagens, as variáveis de perdas e a produção de gases estão apresentadas na Tabela 3.4. Os teores de MS (corrigido ou não) estiveram negativamente correlacionados com as estimativas de perdas totais (PMS) e por gases (PG), mas não se correlacionaram com produção de gases (Gprod), perda por efluentes (PE) ou pH da silagem. Todo o gás quantificado neste ensaio foi produzido nos primeiros três dias após a ensilagem. Ao contrário do esperado, Gprod não esteve correlacionado com PMS, PG ou perda de gases calculada pela equação “tradicional” (PGtrad). Ao invés disso, Gprod

correlacionou-se negativamente com a massa específica (ME; -0,69) e com a estabilidade aeróbia (EA; -0,88); e positivamente com a perda de MS na estabilidade (PMSest; 0,75), com a temperatura máxima na estabilidade (Tmax; 0,77), com as concentrações de BAL e leveduras (0,86 e 0,77, respectivamente), com o pH da silagem nos dias 0, 2, 4 e 5 pós abertura (0,56; 0,68; 0,82 e 0,82, respectivamente) e com os teores de FDN e FDA (0,52 e 0,60, respectivamente). Dentre os compostos voláteis, Gprod ainda correlacionou-se significativamente com álcool isopropílico (-0,60), etanol (0,93), butanol (0,89) e 2,3-butanodiol (0,76). De forma geral, os silos que tiveram maior produção de gases durante o período de fermentação estiveram associados a uma maior degradação aeróbia.

A massa específica não se correlacionou significativamente com as estimativas de perdas, mas esteve correlacionada com Gprod (-0,69); pH (-0,66); EA (0,57); Tmax (-0,59) e concentrações de ácido láctico (0,76), acetato de etila (-0,57), etanol (-0,61), butanol (-0,57), BAL (-0,58) e FDN (-0,55). A redução do ar aprisionado nos poros das silagens mais compactadas favoreceu a fermentação homolática, preservando a qualidade das silagens, e possivelmente limitando a multiplicação de microrganismos aeróbicos deterioradores, o que resultou em maior estabilidade aeróbia.

Tabela 3.5. Contagens microbianas¹ em silagens de capim-elefante tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).

Variável	C	R	F	EPM ³
BAL ² (log ufc g ⁻¹)	7,55	7,49	7,67	0,29
Leveduras (log ufc g ⁻¹)	3,35 ^a	1,76 ^b	1,82 ^b	0,32
Mofos (log ufc g ⁻¹)	1,76	1,70	1,70	0,02

¹ Às unidades experimentais que apresentaram contagem nula em todas as diluições, foi atribuído o valor referente à metade da contagem mínima detectável. ² BAL = bactérias ácido-láticas. ³ EPM = erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P>0,05).

Ambos os aditivos reduziram a concentração de leveduras nas silagens quando comparadas às silagens não aditivadas, porém, não alteraram a concentração de mofos ou bactérias ácido-láticas (Tabela 3.5). A redução da concentração de leveduras promovida pelo tratamento F foi coerente devido à presença de benzoato de sódio nesse tratamento; porém a redução de leveduras no tratamento R foi inesperada, já que a inoculação com BAL homofermentativas normalmente aumentam a concentração de leveduras. Não foi encontrada explicação para esse efeito. A menor concentração de leveduras promoveu maior

estabilidade aeróbia das silagens aditivadas, e menores perdas no período de exposição aeróbia (Tabela 3.6). É consensual a opinião de que as leveduras possuem papel principal na degradação aeróbia das silagens (Woolford, 1990). Nenhuma repetição dentre as silagens aditivadas, e apenas duas repetições dentre as silagens controle, ultrapassaram 2°C em relação à temperatura ambiente, de forma que foram atribuídos valores próximos ao período de exposição (120 h) para a variável estabilidade aeróbia. A grande variabilidade entre repetições fez com que não fosse detectada diferença estatística para a temperatura acumulada (Tac). Alguns autores realizam a avaliação de EA por quanto tempo for necessário até a quebra de estabilidade ocorrer em todas as unidades experimentais. Esse foi o caso de Guo et al. (2013), que avaliaram a EA de silagens de festuca pré-secadas a quatro teores de MS, em dois cortes diferentes. A EA variou de 242 a 523 horas (10 a ca. 22 dias), e foi maior nas silagens aditivadas com *L. plantarum* sozinho ou combinado com *L. buchneri* quando comparada às silagens controle.

Tabela 3.6. Teste de estabilidade aeróbia em silagens de capim-elefante tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).

Variável ¹	C	R	F	EPM ²
Pea	3/5	0/5	0/5	-
EAt(h)	50,4	-	-	13,4
EA (h)	78,3 ^b	120,0 ^a	120,0 ^a	7,8
Tac (°C)	1085	22,1	23,5	2206
Tmax (°C)	27,9	23,4	23,7	0,9
PMSest (g kg ⁻¹ MS)	40,6 ^a	-3,2 ^b	-0,5 ^b	6,7

¹ Pea = Proporção de silos em que houve quebra de estabilidade aeróbia no período de 120 h; EAt = estabilidade aeróbia média, considerando apenas os silos em que houve quebra de estabilidade no período de 120 h; EA = estabilidade aeróbia média, considerando valor de 120 h para os silos em que não houve quebra de estabilidade; Tac = temperatura acumulada excedida à temperatura ambiente; Tmax = temperatura máxima alcançada na silagem no período de 120 h de exposição aeróbia; PMSest = perda de matéria seca após 120 h de exposição aeróbia. ² EPM = Erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

O pH da silagem esteve positivamente correlacionado às concentrações de BAL (0,60) e leveduras (0,52) e negativamente correlacionado à concentração de ácido láctico (-0,63). Correlações semelhantes foram encontradas por Borreani e Tabacco (2010) em silagens de milho da face exposta do silo. Silagens com maior pH também estiveram associadas a menor EA (-0,52) e maior Tmax (0,71). Silagens menos ácidas são mais suscetíveis à deterioração quando contaminadas com microrganismos indesejáveis (Nishino e Shinde, 2013). A perda de MS durante a

exposição aeróbia (PMSest) esteve positivamente correlacionada ao pH nos dias 2, 4 e 5 (0,74; 0,74 e 0,77; respectivamente); à Tmax (0,71); às contagens de BAL (0,78), leveduras (0,80) e mofos (0,56) e às concentrações dos alcoóis etanol (0,81), butanol (0,85) e propanol (0,55); e inversamente correlacionadas à concentração de acetona (-0,54) e à EA (-0,77). Todas essas correlações estão alinhadas: durante a exposição aeróbia, a atividade das leveduras eleva o pH da silagem pela conversão de ácido láctico em alcoóis e gás carbônico, promovendo perda de MS e aquecimento da silagem.

Tabela 3.7. Compostos orgânicos voláteis¹ de silagens de capim-elefante tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).

Variável	C	R	F	Média	EPM ²
g kg ⁻¹ MScorr					
Ácido láctico	52,5	48,7	52,5	51,2	1,4
Ácido acético	11,9	12,7	13,4	12,7	0,3
2,3-Butanodiol	2,3 ^a	2,3 ^a	1,4 ^b	2,0	0,2
Etanol	2,0 ^a	1,7 ^{ab}	1,5 ^b	1,7	0,1
mg kg ⁻¹ MScorr					
Ácido propiônico	368 ^a	207 ^b	348 ^{ab}	308	28
Ácido butírico	214	90	200	168	25
2-Butanol	292 ^a	78 ^b	106 ^b	159	34
1,2-Propanodiol	133 ^a	50 ^b	77 ^{ab}	87	15
1-Propanol	62 ^a	19 ^b	50 ^a	44	6
Ácido valérico	32 ^{ab}	13 ^b	35 ^a	27	5
Ácido isovalérico	33 ^a	12 ^b	32 ^a	26	5
Álcool isopropílico	17	28	31	25	3
Lactato de etila	29	13	13	18	5
Acetona	11 ^c	23 ^a	17 ^b	17	2
Ácido isobutírico	23	10	17	17	4
Acetato de etila	5	4	5	4	1

¹ As concentrações de acetato de propila estiveram abaixo do limite de detecção. Médias com letras sobrescritas diferentes mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

As médias e concentrações de compostos orgânicos voláteis por tratamento estão apresentadas na Tabela 3.7. Em comparação às médias observadas por Kasmaei et al. (2013) em meta-análise envolvendo 52 artigos que avaliaram silagens de gramíneas, leguminosas ou misturas destas, as concentrações de etanol, ácidos butírico e propiônico e 2,3-butanodiol no presente ensaio foram baixas e próximas ao limite inferior do intervalo observado na meta-análise. As concentrações de ácido acético estiveram próximas da média, e as concentrações de ácido láctico foram maiores, mais ainda distantes do limite superior do intervalo observado pelos autores. Concentrações similares de ácido láctico em silagens de capim-elefante

foram observadas por Rodrigues et al. (2002) em silos laboratoriais tipo balde (600 kg m⁻³) e por Ferreira et al. (2013) também em silos laboratoriais.

Os aditivos não afetaram significativamente os teores dos ácidos de maior concentração das silagens (lático e acético), mas influenciaram grande parte dos demais compostos voláteis. O tratamento F em relação controle reduziu as concentrações de 2,3-butanodiol, etanol e 2-butanol e aumentou a concentração de acetona. O tratamento R em relação ao controle também aumentou a concentração de acetona e reduziu as concentrações de ácido propiônico, 2-butanol, 1,2-propanodiol, 1-propanol e ácido isovalérico. Embora não significativa a 5%, a redução de ácido butírico no tratamento R (P = 0,069) pode indicar redução na atividade clostrídica.

Os valores médios de pH das silagens nos dias 0, 2, 4 e 5 após a abertura estão representados na Figura 3.2. O aumento do pH médio do tratamento controle no período pós-abertura é coerente com a maior PMSest observada neste tratamento, pois os microrganismos envolvidos na deterioração de silagens sem aditivos e bem preservadas consomem principalmente o ácido lático para obtenção de energia (McDonald et al., 1991). O consumo do ácido lático, que apresenta o menor pKa dentre os ácidos presentes na silagem (com exceção do ácido fórmico), provoca redução na acidez, ou seja, aumento do pH, indicando que houve degradação do material. A atividade de microrganismos deterioradores também provoca aumento na temperatura da silagem, observado em três das cinco repetições do tratamento controle (Tabela 3.6). Silagens mais úmidas não aquecem com tanta facilidade devido à alta capacidade térmica da água, ou seja, mais calor é necessário para aquecer a água do que seria necessário para aquecer uma forragem mais seca (Woolford, 1990).

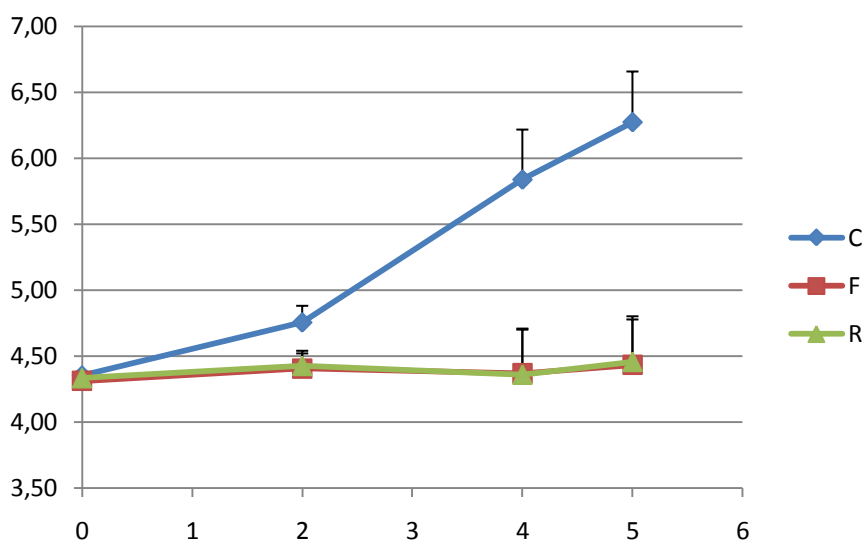


Figura 3.2. pH médio das silagens de capim-elefante sem aditivos (C) ou aditivadas com Sil-All 4x4 (R) ou Sil-All Fireguard (F). Barras verticais equivalem a um erro padrão.

A análise geral dos dados indica que os aditivos avaliados foram eficientes em melhorar o perfil fermentativo das silagens, quando comparados ao tratamento controle. Os benefícios, evidenciados pelas menores contagens de leveduras, redução no teor de etanol das silagens e tendência de maior estabilidade em aerobiose, são fatores positivos e que podem ser considerados na opção pela aplicação de aditivos na produção de silagens em fazendas.

3.5 CONCLUSÃO

O novo modelo proposto para avaliação de produção de gases foi eficiente em detectar diferença entre tratamentos enquanto que o modelo tradicional não o foi, indicando maior sensibilidade do método proposto. O tratamento com aditivo misto (benzoato de sódio + BAL homofermentativas + enzimas) reduziu o volume de gás produzido. Não houve correlação significativa entre o volume de gás produzido e as perdas estimadas pelos métodos tradicionais.

Os aditivos não alteraram a composição química, o pH e as perdas gravimétricas, mas reduziram as contagens de leveduras e aumentaram a estabilidade aeróbia das silagens. O inoculante homofermentativo reduziu as concentrações dos produtos da fermentação heterolática.

3.6 REFERÊNCIAS

- ADESOGAN, A. T.; KRUEGER, N.; SALAWU, M. B.; DEAN, D. B.; STAPLES, C. R. The influence of treatment with duas purpose bacterial inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of bermudagrass. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3407-3416, 2004.
- ANDRADE, I. V. O.; PIRES, A. J. V.; CARVALHO, VELOSO, C. M; BONOMO, P. Perdas, características fermentativas e valor nutritivo da silagem de capim-elefante contendo subprodutos agrícolas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 2578-2588, 2010.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2620-2629, 2010.
- BURNS, A. C.; SMITH, J. Midland Agricultural College: Chemistry Department – Silage composition. **Analyst**, v. 68, p. 333-335, 1943.
- CARVALHO, G. G. P; GARCIA, R.; PIRES, A. J. V.; PEREIRA, O. G.; AZEVÊDO, J. A. G; CARVALHO, B. M. A.; CAVALI, J. Valor nutritivo de silagens de capim-elefante emurcheado ou com adição de farelo de cacau. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 1495-1501, 2007.
- DANIEL, J. L. P.; WEIß, K.; CUSTÓDIO, L.; SÁ NETO, A.; SANTOS, M. C.; ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L. G. Occurrence of volatile organic compounds in sugarcane silages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 185, p. 101-105, 2013.
- DEAN, D. B.; ADESOGAN, A. T.; KRUEGER, N.; LITTELL, R. C. Effect of fibrolytic enzymes on the fermentation characteristics, aerobic stability, and digestibility of bermudagrass silage. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 994-1003, 2005.
- FARIA, D. J. G.; GARCIA, R.; TONICCI, R. G.; TAVARES, V. B.; PEREIRA, O. G.; FONSECA, D. M. Produção e composição do efluente da silagem de capim-elefante com casca de café. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 471-478, 2010.
- FERREIRA, D. J.; LANA, R. P.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M.; VELOSE, C. M.; RIBEIRO, G. A. Silage fermentation and chemical composition of elephant grass inoculated with rumen strains os *Streptococcus bovis*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 183, p. 22-28, 2013.
- GUO, X. S.; UNDERSANDER, D. J.; COMBS, D. K. Effect of *Lactobacillus* inoculants and forage dry matter on the fermentation and aerobic stability of ensiled mixed-crop tall fescue and meadow fescue. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 1735-1744, 2013.
- ITAVO, L. C. V.; ITAVO, C. C. B. F.; MORAIS, M. G.; DIAS, A. M.; COELHO, E. M.; JELLER, H.; SOUZA, A. D. V. Composição química e parâmetros fermentativos de

silagens de capim-elefante e cana-de-açúcar tratadas com aditivos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, p. 606-617, 2010.

JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, suplemento especial, p. 101-119, 2007.

JONES, D. I. H.; JONES, R. The effect of crop characteristics and ensiling methodology on grass silage effluent production. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 60, p. 73-81, 1995.

KASMAEI, K. M.; RUSTAS, B. –O.; SPÖRNDLY, R.; UDÉN, P. Prediction models of silage fermentation products on crop composition under strict anaerobic conditions: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 6644-6649, 2013.

LOURES, A. R. S.; NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. F.; PEDROSO, A. F.; MARI, L. J.; RIBEIRO, J. L.; ZOPOLLATO, M.; SCHMIDT, P.; JUNQUEIRA, M. C.; PACKER, I. U.; CAMPOS, F. P. Composição bromatológica e produção de efluente de silagens de capim-tanzânia sob efeitos do emurchecimento, do tamanho de partícula e do uso de aditivos biológicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 726-735, 2005.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991.

MORAN, J. P.; WEINBERG, Z. G.; ASHBELL, G.; HEN, Y.; OWEN, T. R.; A comparison of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage. In: XI International Silage Conference, 1996, Aberystwyth, Reino Unido. **Proceedings...** p. 162-163.

MOTA, A. D. S.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; SOUZA, A. S.; REIS, S. T.; TOMICH, T. R.; CALDEIRA, L. A.; MENEZES, G. C. C.; COSTA, M. D. Perfil de fermentação e perdas na ensilagem de diferentes frações da parte aérea de quatro variedades de mandioca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 1466-1473, 2011.

NISHINO, N.; SHINDE, S. Ethanol and 2,3-butanediol production in whole-crop rice silage. **Grassland Science**, v. 53, p. 196-198, 2007.

O'KIELY, P. Influence of a partially-neutralised blend of aliphatic organic acids on fermentation, effluent production and aerobic stability of autumn-grass silage. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 32, p. 13-26, 1993.

RODRIGUES, P. H. M.; PEDROSO, S. B. G.; MELOTTI, L.; ANDRADE, S. J. T.; LIMA, F. R. Composição bromatológica e perfil fermentativo da silagem de capim-elefante obtida em diferentes tipos de silos experimentais e no silo tipo trincheira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 2386-2392, 2002.

SCHMIDT, P. **Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-se-açúcar**. 228 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de

Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2006.
Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11139/tde-06102006-170541/publico/PatrickSchmidt.pdf>>. Acesso em: 04/05/2014.

WEINBERG, Z. G.; CHEN, Y. Effects of storage period on the composition of whole crop wheat and corn silages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 185, p. 196-200, 2013.

WEINBERG, Z., G.; PAHLOW, G.; DINTER, B.; ASHBELL, G. The effect of treatment with urea, sorbic acid or dehydration on orange peel silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 20, p. 334-342, 1988.

WEISSBACH, F. Correction of dry matter content of silages used as substrate for biogas production. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison: University of Wisconsin-Madison, p. 483-484.

WOOLFORD, M. K. A Review: The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 68, p. 101-116, 1990.

4 FERMENTAÇÃO E ESTABILIDADE AERÓBIA DE SILAGENS DE AZEVÉM TRATADAS COM ADITIVOS

Resumo: Neste estudo, objetivou-se avaliar a fermentação, a estabilidade aeróbia e as perdas fermentativas avaliadas por diferentes metodologias de silagens pré-secadas de azevém tratadas ou não com aditivos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições e três tratamentos: controle (C; sem aditivo); inoculante composto por BAL homofermentativas (R) e aditivo químico-biológico contendo benzoato de sódio e BAL homofermentativas (F). O azevém foi colhido e pré-secado por 72 horas, atingindo o teor de matéria seca (MS) médio de $289 \pm 5,0 \text{ g kg}^{-1}$. Após a aplicação dos tratamentos, 15 silos experimentais equipados com dispositivos coletores de gases e de efluentes foram compactados manualmente e armazenados por 62 dias. O tratamento R, comparado ao controle, reduziu ($P < 0,05$) pH, cinzas, FDN, FDA, perda por gás estimada por diferença de peso bruto (PGtrad), volume de gás produzido na fermentação (Gprod), concentração de bactérias ácido-láticas (BAL) e produtos da fermentação heterolática; e aumentou ($P < 0,05$) a concentração de ácido láctico, promovendo fermentação mais homolática. O tratamento F produziu efeitos similares (menos intensos) aos do tratamento R sobre perdas fermentativas e qualidade das silagens; porém apresentou perfil fermentativo e pH semelhantes aos das silagens controle, com concentrações reduzidas de alguns produtos da fermentação. A estabilidade aeróbia não foi significativamente alterada pelos tratamentos, mas o tratamento R manteve o pH mais baixo que o tratamento controle ao longo do período de exposição aeróbia. O inoculante homofermentativo foi o aditivo mais eficiente em reduzir perdas e melhorar a qualidade e estabilidade de silagens pré-secadas de azevém. A metodologia de avaliação do volume de gás produzido na fermentação foi consistente com os demais resultados.

Palavras-chave: ácido láctico, BAL homofermentativas, benzoato de sódio, gás

4.1 FERMENTATION AND AEROBIC STABILITY OF RYEGRASS SILAGES TREATED WITH ADDITIVES

Abstract: In the present study, we aimed to evaluate the fermentation, aerobic stability, and fermentation losses of ryegrass silage assessed by different methodologies. In a completely randomized experimental design with five replicates, two additives (R and F) and one control (C) treatment were compared. Treatments R and F were composed, respectively, by homofermentative lactic acid bacteria (LAB) and by a mixture of sodium benzoate and homofermentative LAB. Ryegrass was mowed and wilted for 72 hours, after which dry matter (DM) content averaged $289 \pm 5.0 \text{ g kg}^{-1}$. Treatments were applied and homogenized at a rate of 2 L t^{-1} to three piles of non-chopped wilted forage. For each treatment, five 8.5 liter-silos equipped with gas and effluent collection devices were manually filled and stored for 62 d. When compared to control silages, R treatment had lower ($P < 0.05$) pH; ash, NDF and ADF contents; estimated gas losses; gas volume directly measured during fermentation; LAB concentration; and heterolactic fermentation end-products. The R treatment also increased ($P < 0.05$) lactic acid content and the homolactic index, which indicate a shift towards homolactic fermentation. The effects of F treatment on silage quality and fermentation losses were similar to those of R treatment, but less pronounced. However, fermentation profile of F-treated silages was closer to those of control silages, with lower concentrations of some of the fermentation end products. Aerobic stability was not affected by the additives, but R treatment kept silage pH lower than control treatment during the 140 hour-aerobic exposure period. The homofermentative additive was the most effective on reducing fermentation losses and improving the quality of ryegrass silage. Direct measurement of gas volume methodology was in line with the fermentation profiles of the silages.

Key words: gas, homofermentative LAB, lactic acid, sodium benzoate

4.2 INTRODUÇÃO

As três características de uma forragem ideal para ensilagem, segundo McDonald et al. (1991) são: concentração adequada de carboidratos solúveis, baixa capacidade tampão e teor de matéria seca (MS) acima de 200 g kg⁻¹, embora seja comum a recomendação prática de 300 a 350 g kg⁻¹. Obviamente, grande parte das forragens utilizadas na ensilagem não cumpre esses pré-requisitos. Os capins, de forma geral, normalmente não apresentam o teor de MS adequado nos estágios de maturação de maior qualidade, tornando necessário o emurchecimento da forragem (McDonald et al., 1991) ou a adição de sequestrantes de umidade.

O desenvolvimento microbiano no início do processo de fermentação das silagens é crítico para a qualidade do produto final. A fermentação láctica, promovida pelas bactérias ácido-láticas (BAL), é responsável pela redução rápida do pH, o que inibe microrganismos indesejáveis, como clostrídios e enterobactérias (McDonald et al., 1991). No azevém, nem sempre a concentração de BAL epifíticas é suficiente para dominar a fermentação, resultando em silagens com altas concentrações de etanol, 2,3-butanodiol e outros compostos que não contribuem para a preservação da forragem (Li e Nishino, 2011; 2013a,b).

Com o intuito de contornar essa limitação, aditivos compostos de BAL homofermentativas podem ser utilizados, visando à fermentação de carboidratos solúveis a ácido láctico. Por outro lado, a inoculação com BAL homofermentativas pode reduzir a estabilidade aeróbia das silagens, como observado por Conaghan et al. (2010), devido ao baixo efeito fungicida desse ácido, quando comparado aos ácidos produzidos na fermentação heteroláctica (e.g. acético, propiônico, butírico).

Aditivos químicos também podem ser usados como inibidores da fermentação. O ácido benzóico, liberado da dissociação do benzoato de sódio, apresenta efeitos antimicrobianos contra leveduras; mas essa ação é dependente do pH do meio, sendo mais efetiva em meios mais ácidos (Warth, 1988).

Os objetivos neste estudo foram avaliar perdas fermentativas, volume de gás produzido na ensilagem, composição química, produtos da fermentação, contagem microbiológica e estabilidade aeróbia de silagens pré-secadas de azevém tratadas com dois aditivos homofermentativos, sendo um deles composto também de benzoato de sódio; e comparar diferentes metodologias de avaliação de perdas fermentativas.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

Quinze silos com dispositivos coletores de gases e de efluentes (DCG e DCE) foram construídos conforme descrito na seção 3.3.1. O azevém (teor de MS = 156 g kg⁻¹) foi segado com roçadeira costal e alfanje, recolhido manualmente e espalhado sobre lona de polietileno para pré-secagem durante 72 h. Durante a pré-secagem, a forragem foi deixada ao ar livre durante o dia e em galpão fechado durante a noite ou em caso de chuva.

A forragem pré-secada foi amostrada em duplicata para determinação da concentração de BAL e separada em três tratamentos: controle (C), aditivo Sil-All 4x4 a 10 g t⁻¹ MV (R) e aditivo Sil-All Fireguard a 150 g t⁻¹ MV (F). Os aditivos apresentam a seguinte composição: R – *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus faecium* e enzimas amilase, celulase, hemicelulase e xilanase; F – *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, benzoato de sódio e enzimas amilase, xilanase e beta-glucanase. As doses dos aditivos R e F foram suficientes para promover concentrações teóricas de 2 x 10⁵ e 1 x 10⁵ ufc g⁻¹ forragem fresca, respectivamente. As proporções estão protegidas por sigilo comercial. Na forragem do tratamento C foram aspergidos 2 L t⁻¹ de água não clorada. O mesmo volume foi utilizado para diluição e aspersion dos aditivos. Os tratamentos foram aplicados à forragem espalhada sobre lonas de polietileno por meio de borrifadores manuais. Todo o material que entrou em contato com a forragem foi previamente limpo e desinfetado com álcool 70° INPM para evitar contaminação. O manuseio da forragem foi feito com luvas e botas descartáveis.

Após a aplicação dos tratamentos, a forragem foi homogeneizada, amostrada para determinação de pH e composição bromatológica, e pesada para confecção de cinco silos por tratamento (3,90 ± 0,41 kg MV por silo). Foi coletada uma amostra de aproximadamente 250 g por silo para determinação do teor de MS. Os silos foram compactados manualmente com auxílio de soquetes de madeira protegidos por capa plástica descartável. Após o enchimento, os silos foram fechados, pesados e vedados com adesivo selante elástico e acoplados aos respectivos DCG. A produção de gases foi aferida conforme descrito na seção 3.3.3, à temperatura ambiente média de 18,9 ± 1,2°C.

Passado o período de armazenamento de 62 dias, a abertura dos silos e o processamento das amostras para determinação de pH, contagem microbiológica, concentração de compostos orgânicos voláteis (COV) e análises bromatológicas foram realizados como descrito previamente (seções 3.3.4 e 3.3.6).

Para o ensaio de estabilidade aeróbia, 2 kg de silagem foram acondicionados em baldes plásticos sem tampa, com um data-logger (EL-USB, Lascar, Inglaterra) posicionado no centro da massa. A temperatura da silagem foi aferida a cada cinco minutos durante 140 h em sala de temperatura controlada ($23,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$). A quebra de estabilidade aeróbia foi considerada como a elevação da temperatura da silagem em 2°C em relação à temperatura ambiente. A variável estabilidade aeróbia (EA) foi calculada como o tempo necessário para quebra de estabilidade. A temperatura acumulada (T_{ac}) foi calculada pela soma das diferenças positivas entre a temperatura da silagem e a temperatura ambiente. A temperatura máxima da silagem durante o período (T_{max}) também foi avaliada. Para determinação do pH ao longo do período de exposição aeróbia, cerca de 650 g de silagem foram acondicionados em outro recipiente plástico. Estes recipientes foram mantidos na mesma sala de temperatura controlada. O pH foi determinado nos dias 0, 2, 4 e 6 pós abertura.

As estimativas de perdas e análises estatísticas foram feitas conforme descrito nas seções 3.3.7 e 3.3.8, respectivamente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos (dois aditivos e um controle) e cinco repetições.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 Forragem pré-ensilagem

As características da forragem pré-secada logo antes da ensilagem estão apresentadas na Tabela 4.1. As concentrações de FDN, FDA e PB estão próximos aos obtidos por Conaghan et al. (2010) em três cortes sucessivos de dois cultivares de azevém pré-secado por 24 horas. Os teores de cinzas obtidos por esses autores foram superiores aos deste experimento.

A massa específica média foi de $460 \pm 48,9 \text{ kg MV m}^{-3}$ e não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$). Esse valor foi menor que o desejável devido à dificuldade de compactação da forragem pré-secada não picada, mas está dentro da faixa observada por Sun et al. (2010) em fardos embalados de capim pré-secado (entre 400 e 492 kg m^{-3}). Em base seca, a massa específica média foi de $130 \pm 16,1 \text{ kg MS m}^{-3}$, sem diferença significativa entre tratamentos. A massa específica expressa em kg MF m^{-3} esteve correlacionada apenas com a massa específica expressa em kg MS m^{-3} ($0,57$). Esta, porém, esteve negativamente correlacionada com PMS ($-0,57$), PG ($-0,54$) PGtrad ($-0,58$) e PB ($-0,55$). Essa correlação pode significar que maior compactação (em kg MS m^{-3}) resulta em menores perdas fermentativas. Amaral et al. (2007) observaram redução nas perdas de MS e perdas por gases (calculadas pela fórmula “tradicional”) ao aumentar de 120 para 140 ou 160 kg MS m^{-3} a compactação de silagens de capim-marandu. No presente ensaio, foi objetivada a uniformização de compactação, sendo este o principal motivo da ausência de correlação da massa específica (em kg MF m^{-3}) com as demais variáveis.

A concentração média de BAL na forragem pré-secada foi $3,84 \text{ log ufc g}^{-1}$ forragem. Este valor é menor do que a concentração teórica de BAL aditivadas, e maior do que os descritos por Li e Nishino (2011; 2013a,b), que encontraram concentrações de BAL menores que o limite de detecção de 2 log ufc g^{-1} forragem em azevém pré-secado ou não.

Tabela 4.1. Características do azevém pré-secado antes da ensilagem.

Variável ¹	Média	DP	Mínimo	Máximo	EPM ²
pH	7,64	0,16	7,49	7,80	0,09
MS (g kg^{-1})	288,6	5,0	285,1	294,4	2,9
Cinzas (g kg^{-1} MS)	92,7	1,0	91,2	94,2	0,4
FDN (g kg^{-1} MS)	478,6	9,3	461,0	486,6	3,8
FDA (g kg^{-1} MS)	268,1	4,1	262,9	274,5	1,7
PB (g kg^{-1} MS)	196,4	2,6	193,8	200,2	1,1
BAL (log ufc g^{-1} MV)	3,84	0,10	3,77	3,91	0,07

¹ MS = teor de matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta; BAL = contagem de bactérias ácido-láticas.

4.4.2 Composição química e perdas fermentativas

Tabela 4.2. Composição química de silagens de azevém.

Variável ¹	C	R	F	EPM ²
pH	4.64 ^a	4.22 ^b	4.63 ^a	0.06
MS (g kg ⁻¹)	271,2 ^a	285,6 ^a	287,5 ^a	3,1
Cinzas (g kg ⁻¹ MS)	106,8 ^a	100,0 ^b	103,4 ^{ab}	0,9
FDN (g kg ⁻¹ MS)	481,6 ^a	460,6 ^b	455,2 ^b	3,8
FDA (g kg ⁻¹ MS)	290,3 ^a	274,0 ^b	272,7 ^b	2,6
PB (g kg ⁻¹ MS)	198,0 ^a	195,4 ^{ab}	190,8 ^b	1,1

¹ MS = teor de matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta. ² EPM = erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas iguais na mesma linha não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05).

O pH, o teor de MS e a composição química das silagens estão apresentados na Tabela 4.2. As perdas estimadas (calculadas com base no teor de MS em estufa) e a produção de gases mensurada são mostradas na Tabela 4.3. As perdas de forma geral foram baixas e a produção de efluentes foi irrisória. Em ensaio com ensilagem de azevém perene em diferentes intensidades de pré-secagem (teores de MS de 18,4 a 44,4%), Krawutschke et al. (2013) encontraram perdas de MS de 5,0 a 11,9% MS, sendo que a menor perda foi observada nas silagens de maior teor de MS e vice versa. No referido estudo, a forragem de menor teor de MS foi colhida em condições de clima úmido, e a inoculação com BAL homofermentativas foi efetiva, nesse caso particular, em reduzir a PMS para 10,9%.

Tabela 4.3. Perdas fermentativas de silagens de azevém.

Variável ¹	C	R	F	EPM ²
PMS (g kg ⁻¹ MS)	66.6 ^a	37.3 ^{ab}	2.5 ^b	11.2
PG (g kg ⁻¹ MS)	65.9 ^a	36.9 ^{ab}	2.3 ^b	11.1
PGtrad (g kg ⁻¹ MS)	47,6 ^a	25,0 ^c	37,4 ^b	2,8
PE (kg t ⁻¹ MV)	0.77 ^a	0.49 ^a	0.22 ^a	0.16
Gprod (L kg ⁻¹ MS)	9.14 ^a	3.85 ^b	4.72 ^b	0.79

¹ PMS = perda de matéria seca; PG = perda por gases; PE = perda por efluente; GProd = gás produzido durante o armazenamento. ² EPM = erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas iguais na mesma linha não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05).

Houve tendência de maior teor de MS nas silagens aditivadas (P = 0,056). O aditivo químico-biológico (F) reduziu as perdas de matéria seca e por gases, bem como o volume de gás produzido (GProd). A redução das perdas indica que provavelmente houve maior preservação de carboidratos solúveis, demonstrada pelas menores concentrações de FDN, FDA e PB nas silagens desse tratamento.

Foram encontradas correlações positivas entre os teores de fibra e as variáveis de perdas fermentativas, variando de 0,55 a 0,65 ($P < 0,05$). Os menores teores de fibra também podem estar associados à presença de enzimas fibrolíticas nos aditivos utilizados. O tratamento R não reduziu significativamente as perdas estimadas em relação ao tratamento controle; mas ambos os aditivos reduziram o Gprod ($P < 0,05$), sendo que o tratamento R, numericamente, proporcionou o menor volume de gás. A produção de gás por silo esteve concentrada nas primeiras 200 horas pós-vedação, mas ainda ocorreu até o 25º dia de armazenamento (Figura 4.1).

As perdas por efluentes (PE) foram desprezíveis em todos os tratamentos, mostrando que a pré-secagem do capim foi suficiente para eliminar esse problema. Conaghan et al. (2012) ensilaram azevém com teores baixos de MS (107 a 132 g kg^{-1}) e encontraram PE de até 404 kg t^{-1} forragem ensilada. Segundo Jones e Jones (1995), existe inconsistência entre a produção de efluentes observada em silos laboratoriais e de grande porte, provavelmente por diferenças na drenagem do efluente e na consolidação dos silos. McDonald et al. (1991) apresentam equações de regressão que prevêem volume ou massa de efluente em função do teor de MS da forragem. Essas equações indicam que teores de MS de 290 a 307 g kg^{-1} são suficientes para zerar a produção de efluente. O teor de MS da forragem utilizada no presente ensaio está próximo dessa faixa.

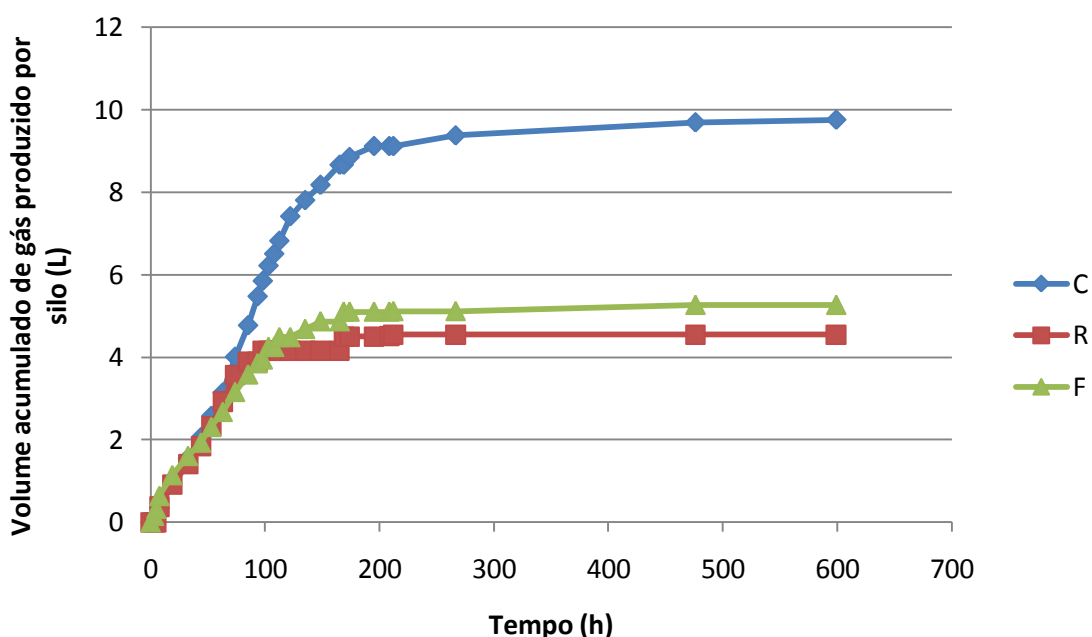


Figura 4.1. Volume acumulado de gás produzido por silagens de azevém. C = controle; R = Sil-All 4x4; F = Sil-All Fireguard.

Devido à produção de efluentes quase nula, essa variável não esteve significativamente correlacionada com nenhuma outra. Dessa forma, as perdas de MS e perdas por gases (PG) apresentaram correlação próxima da unidade (0,999). O teor de MS esteve negativamente correlacionado com as perdas estimadas (-0,96) e com Gprod (-0,58), indicando que maiores perdas na fermentação produziram silagens de menor teor de MS. A PGtrad e o Gprod estiveram correlacionados entre si (0,70), mas nenhuma destas variáveis esteve correlacionada com PMS e PG. Estas correlações diferem das obtidas em silagens de capim-elefante (seção 3.4), mostrando que a relação entre as diferentes metodologias de avaliação de perdas é inconsistente e precisa ser mais estudada.

O teor de MS corrigido para a perda de compostos voláteis em estufa (MScorr; equação (5) da seção 3.3.7), a composição química e as perdas fermentativas calculadas com base no teor de MScorr estão apresentados na Tabela 4.4. A elevação proporcionada pela correção do teor de MS foi numericamente maior no tratamento controle (16,2 g kg⁻¹) do que nos tratamentos F (11,9 g kg⁻¹) e R (10,1 g kg⁻¹). Essa diferença provavelmente se deve à maior concentração total de COV nas silagens controle. A elevação do teor de MS proporcionado pela correção aumentou a incidência de valores negativos das perdas estimadas, incorrendo em médias negativas para PMScorr e PGcorr no tratamento F. Esses valores negativos associados à alta variabilidade dos dados fizeram que não fosse detectada diferença significativa a 5% nessas variáveis (P = 0,09); mas elevando o nível de significância para 10%, o tratamento F teria proporcionado as menores perdas corrigidas.

Podemos agrupar as diferentes metodologias de avaliação de perdas por semelhança na comparação entre os tratamentos da seguinte forma: (i) PMS e PG estimadas com base no teor de MS em estufa; (ii) PMScorr e PGcorr estimadas com base no teor de MScorr e (iii) PGtrad, estimada por diferença bruta do peso do silo antes e depois da ensilagem e Gprod, medido diretamente durante a fermentação. O primeiro grupo de variáveis indica que as perdas no tratamento F foram menores que as do tratamento controle, e que o tratamento R apresentou perdas intermediárias. O segundo grupo indica que não houve diferença entre tratamentos, mas se comporta numericamente de maneira semelhante ao primeiro grupo. O terceiro grupo indica que as perdas foram menores no tratamento R do que no tratamento controle e que o tratamento F apresentou perdas menores que o

controle, semelhantes a ou maiores que as do tratamento R. Como discutido no capítulo anterior, o teor de MS corrigido supostamente representa um valor mais próximo do verdadeiro, já que a perda de compostos voláteis em estufa é um fato conhecido e muitas vezes desconsiderado. Porém, o perfil fermentativo das silagens (apresentados a seguir) nos leva a acreditar que as variáveis do terceiro grupo acima mencionado são as que representam melhor a diferença real entre os tratamentos. A composição química em relação ao teor de MS obtido em estufa (Tabela 4.2) está mais alinhada aos demais resultados apresentados do que a composição apresentada na Tabela 4.4.

Tabela 4.4. Composição química e perdas fermentativas de silagens de azevém calculadas com base no teor de MS corrigido para perda de compostos voláteis em estufa.

Variável ¹	C	R	F	EPM ²
MScorr (g kg ⁻¹)	287	296	299	2,7
Cinzas (g kg ⁻¹ MScorr)	101	96,6	99,3	1,0
FDN (g kg ⁻¹ MScorr)	454	445	437	3,8
FDA (g kg ⁻¹ MScorr)	274	265	262	2,4
PB (g kg ⁻¹ MScorr)	187	189	183	1,6
PMScorr (g kg ⁻¹ MS)	11,0	3,44	-38,9	10,3
PGcorr (g kg ⁻¹ MS)	10,2	2,95	-39,2	10,2

¹ MScorr = teor de matéria seca corrigido para perda de compostos voláteis em estufa; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta; PMScorr = perda de MS calculada com base em MScorr; PGcorr = perda por gases calculada com base no teor de MScorr. ² EPM = erro padrão da média. As médias por tratamento não diferiram pelo teste de Tukey (P>0,05).

4.4.3 Contagens microbianas e perfil fermentativo

As contagens de bactérias ácido-láticas (BAL), leveduras e mofos nas silagens estão apresentadas na Tabela 4.5. A menor concentração de BAL no tratamento R esteve associada à fermentação homolática, como evidenciado pelas correlações significativas entre BAL e pH (0,85), concentração de ácido láctico (-0,74), índice homolático (-0,94) e proporção ácido láctico:produtos da fermentação (-0,92). A competição por substrato entre as BAL inoculadas e epifíticas, bem como a produção de substâncias inibitórias pelas BAL inoculadas podem justificar a menor concentração de BAL no tratamento R, já que as bacteriocinas normalmente inibem bactérias similares àquelas que a produziram (Klaenhammer, 1988). A contagem de BAL também esteve positivamente correlacionada com as concentrações de

acetona, acetato de etila, metanol, etanol, 2-butanol, 1-propanol, ácido acético, ácido fórmico, ácido propiônico, ácido butírico, ácido isobutírico, 1,2-propanodiol e 2,3-butanodiol.

Houve redução numérica não significativa das contagens de leveduras nas silagens aditivadas. A concentração média de leveduras foi aproximadamente 20.000 vezes menor que a concentração de BAL, indicando que a participação daquelas na fermentação foi modesta.

Tabela 4.5. Contagens microbianas¹ (log ufc g⁻¹) em silagens de azevém.

Variável	C	R	F	Média	EPM ³
BAL ²	8.09 ^a	7.31 ^b	7,97 ^a	7,79	0.10
Leveduras	3.97	3.00	3.42	3,46	0.29
Mofos	2.28	2.20	2.24	2,24	0.15

¹ As unidades experimentais que apresentaram contagem nula em todas as diluições, foi atribuído o valor referente à metade da contagem mínima detectável. ² BAL = bactérias ácido-láticas. ³ EPM = erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

O perfil fermentativo das silagens está apresentado na Tabela 4.6. Conaghan et al. (2010) utilizam um sistema de classificação para avaliar o padrão de fermentação de silagens pré-secadas de azevém: 1 – muito ruim; 2 – ruim ; 3 – médio; 4 – bom e 5 – excelente. Essa classificação é baseada na proporção de ácido láctico em relação à soma dos produtos da fermentação (AL:PF; g g⁻¹). Silagens com AL:PF ≤0,50 e concentração de ácido butírico ≥25 g kg⁻¹ MS recebem escore 1; silagens com AL:PF ≤0,50 e concentração de ácido butírico <25 g kg⁻¹ MS recebem escore 2; silagens com AL:PF entre 0,50 e 0,60 recebem escore 3; silagens com AL:PF entre 0,61 e 0,70 recebem escore 4 e silagens com AL:PF >0,70 recebem escore 5. De acordo com essa classificação, o tratamento controle produziu silagens com padrão de fermentação médio (n = 4) a bom (n = 1); o tratamento F produziu silagens com padrão de fermentação médio (n = 5) e o tratamento R produziu silagens com padrão de fermentação excelente (n = 5).

O inoculante homofermentativo (R) aumentou a concentração de ácido láctico e reduziu as concentrações de etanol e ácido acético, resultando em fermentação mais homolática, como demonstrado pelo maior índice homolático (Tabela 4.6) e pelo menor pH (Tabela 4.2). As concentrações de ácido butírico podem ser consideradas baixas em todos os tratamentos, mas a redução promovida pelo tratamento R foi marcante, indicando redução na atividade clostrídica. As

bactérias homofermentativas inoculadas (tratamento R) foram capazes de dominar a fermentação, superando a população epifítica da forragem. Rooke et al. (1985) avaliaram doses crescentes (de 2×10^4 a 1×10^7 ufc g^{-1} forragem) de *Lactobacillus plantarum* na inoculação de azevém pré-secado. Os autores observaram efeitos dose dependentes no aumento das concentrações dos ácidos láctico e fórmico e da concentração de carboidratos solúveis, e na redução das concentrações de ácido acético. No presente ensaio, a concentração de ácido fórmico foi reduzida pelo inoculante homolático. Selwet (2008) obteve aumento das concentrações dos ácidos láctico e acético (embora em pequena magnitude) e redução das concentrações de ácido butírico e etanol em silagens mistas de alfafa e azevém (1:1) inoculadas com mistura de bactérias ácido-láticas homofermentativas.

Tabela 4.6. Compostos orgânicos voláteis¹ de silagens de azevém tratadas com Sil-All 4x4 (R) e Sil-All Fireguard (F).

Variável	C	R	F	Média	EPM
g kg^{-1} MScorr					
Ácido láctico	73,4 ^b	91,7 ^a	61,1 ^c	75,4	3,6
Ácido acético	25,6 ^a	15,8 ^b	26,3 ^a	22,6	1,4
2,3-Butanodiol	15,0 ^a	2,0 ^b	9,9 ^a	9,0	1,6
Etanol	7,8 ^a	3,4 ^b	5,3 ^{ab}	5,5	0,6
Ácido fórmico	3,4 ^a	0,9 ^b	2,0 ^{ab}	2,1	0,4
mg kg^{-1} MScorr					
1,2-Propanodiol	1564 ^a	205 ^b	1442 ^a	1069	192
Ácido propiônico	1353 ^a	516 ^b	778 ^{ab}	883	133
Ácido butírico	1276 ^a	216 ^b	532 ^a	675	161
Ácido valérico	833 ^a	91 ^c	231 ^b	385	115
Metanol	382	329	371	361	11
Ácido isovalérico	711 ^a	114 ^b	227 ^b	351	95
Ácido isobutírico	690 ^a	69 ^c	241 ^b	333	89
Acetona	64	46	73	61	5
1-Propanol	91 ^a	19 ^b	55 ^{ab}	55	11
Acetato de etila	75 ^a	18 ^b	54 ^a	49	7
Lactato de etila	34 ^b	47 ^a	25 ^b	36	3
2-Butanol	82 ^a	0 ^b	21 ^b	34	11
Álcool isopropílico	7 ^a	6 ^a	7 ^a	7	1
ÍH ²	2,24 ^b	4,86 ^a	1,93 ^b	3,01	0,37

¹ As concentrações de acetato de propila estiveram abaixo do limite de detecção. ² IH = Índice Homolático, calculado pela razão entre a concentração de ácido láctico e a soma das concentrações de etanol e ácido acético. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

A redução pronunciada da concentração de 2,3-butanodiol promovida pelo tratamento R pode indicar que a população de enterobactérias e de clostrídios foi

limitada pela rápida queda de pH promovida pelo inoculante. Uma das vias de produção desse álcool é a fermentação de duas moléculas de ácido pirúvico a acetoina, posteriormente reduzida a 2,3-butanodiol, com liberação de duas moléculas de CO₂ (McDonald et al., 1991). A redução da concentração de ácido acético indica que houve inibição de outras vias heteroláticas, que também liberam CO₂ a partir da fermentação de hexoses. A inibição das vias heteroláticas de fermentação promovida pelo aditivo R foram consistentes com os menores Gprod e PGtrad desse tratamento.

O aditivo químico-biológico (F), cuja composição microbiológica é semelhante à do aditivo R, não apresentou o mesmo efeito sobre a fermentação. As silagens desse tratamento apresentaram menores concentrações dos ácidos láctico, valérico, isovalérico e isobutírico e de 2-butanol em relação às silagens controle. A diferença de efeito pode ter sido ocasionada pela menor concentração de unidades formadoras de colônias por grama de forragem no aditivo F (correspondente à metade da concentração proporcionada pelo tratamento R), ou por interferência do benzoato de sódio. O ácido benzóico (liberado na dissolução do sal de sódio) tem ação contra bactérias formadoras de esporos, leveduras e mofos; mas essa ação é reduzida em pH mais elevado (Woolford, 1975 apud Knicky e Spörndly, 2011), pois apenas a forma não dissociada do ácido é capaz de atravessar a membrana plasmática daquelas células (Warth, 1988). O perfil fermentativo das silagens do tratamento F sugere que houve inibição não específica da fermentação, já que nenhum COV esteve em maior concentração que o tratamento controle. Esse resultado concorda com McDonald et al. (1991), que classificam o benzoato de sódio como inibidor de fermentação. O ácido sórbico à dose de 0,1% foi utilizado como aditivo de azevém ensilado diretamente (MS = 186,5 g kg⁻¹) por Shao et al. (2007). O aditivo químico, que tem modo de ação similar ao ácido benzóico, reduziu o pH e as concentrações de etanol e ácidos acético, propiônico e butírico; e proporcionou maior teor de MS das silagens em relação ao tratamento controle. Os autores concluíram que a fermentação heterolática foi inibida e que as concentrações de ácido láctico não foram maiores que a do tratamento controle devido à baixa contagem de BAL na forragem original ($2,91 \times 10^3$ ufc g⁻¹ forragem).

4.4.4 Estabilidade aeróbia

Os resultados do teste de estabilidade aeróbia estão apresentados na Tabela 4.7. Já que em muitas unidades experimentais a temperatura da silagem não se elevou acima de 2°C em relação à temperatura ambiente, está apresentada na mesma tabela a proporção dos silos em que houve quebra de estabilidade (Pea). Considerando-se dois eventos (houve ou não houve quebra de EA) com as mesmas chances de ocorrência, as proporções observadas diferem das esperadas pelo teste de Chi-Quadrado ($P < 0,01$); ou seja, há associação entre os grupos para esta variável. Para possibilitar a análise estatística paramétrica da EA, assumiram-se valores de 140 ± 1 h para os silos em que não houve quebra de estabilidade. Apesar da ausência de diferença estatística nesta variável, a proporção dos silos que aqueceram sugere um efeito positivo dos aditivos (mais pronunciado no tratamento R) sobre a estabilidade das silagens. A EA média considerando apenas os silos que aqueceram também é apresentada (EAt). A temperatura acumulada (Tac) é uma medida de degradação aeróbia (maior valor quanto maior a degradação). Essa variável foi inferior no tratamento R, quando comparado ao tratamento C, confirmando o efeito do aditivo homolático na preservação da silagem durante a exposição aeróbia. A perda de MS durante a fase de exposição aeróbia (PMSest) foi negativa em dez silos, resultando em médias negativas para os tratamentos C e R. Este erro experimental foi decorrente da dificuldade de homogeneização da silagem não picada após o período de exposição aeróbia, que resultou em grande variabilidade no teor de MS da silagem pós-estabilidade.

Tabela 4.7. Teste de estabilidade aeróbia em silagens de azevém.

Variável ¹	C	F	R	EPM ²
Pea	5/5	3/5	1/5	-
EAt(h)	67.2	84.6	58.3	11.41
EA (h)	67.2	106.8	123.7	11.13
Tac (°C)	4032 ^a	2247 ^{ab}	1226 ^b	697
Tmax (°C)	28.2	26.5	25.5	0.73
PMSest (g kg ⁻¹ MS)	-70.1	41.5	-30.5	22.4

¹ Pea = Proporção de silos em que houve quebra de estabilidade aeróbia no período de 140 h; EAt = estabilidade aeróbia média, considerando apenas os silos em que houve quebra de estabilidade no período de 140 h; EA = estabilidade aeróbia média, considerando valor de 140 h para os silos em que não houve quebra de estabilidade; Tmax = temperatura máxima alcançada na silagem no período de 140 h de exposição aeróbia; PMSest = perda de matéria seca após 140 h de exposição aeróbia. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

O pH das silagens no período de exposição aeróbia está ilustrado na Figura 4.2. Houve tendência de diferença entre tratamentos no dia 2 ($P = 0,067$). A grande variabilidade entre repetições no dia 6 fez com que não fosse detectada diferença estatística entre tratamentos ($P = 0,12$), mesmo com a grande diferença numérica entre as médias. Da mesma forma que os demais resultados do ensaio de estabilidade, estes indicam uma tendência de maior estabilidade das silagens aditivadas, com efeito mais provável do tratamento R.

A tendência de maior estabilidade aeróbia promovida pelo tratamento R discorda dos resultados descritos por Conaghan et al. (2010), que encontraram menor estabilidade aeróbia de silagens de azevém inoculadas com BAL homofermentativas. Não foi encontrada explicação lógica para o efeito positivo de bactérias homoláticas sobre a estabilidade aeróbia das silagens no presente ensaio.

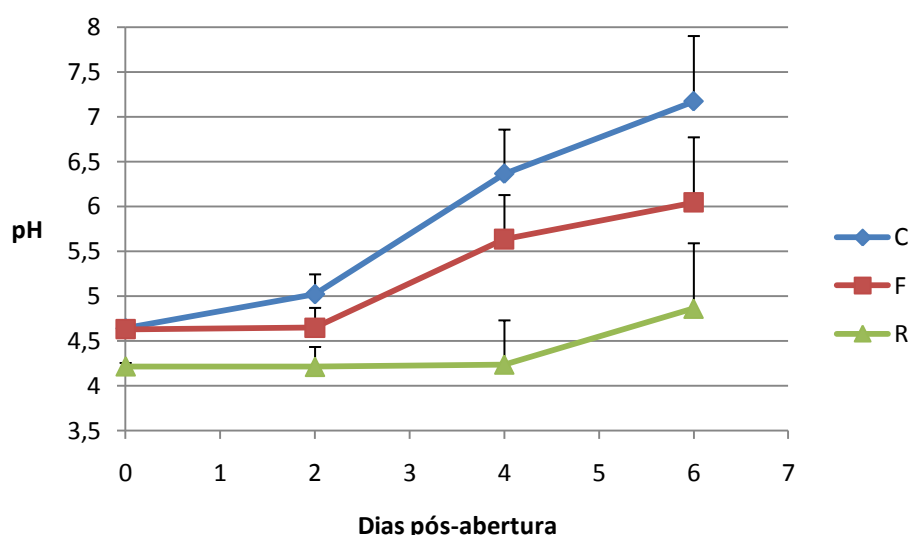


Figura 4.2. pH das silagens de azevém no período de exposição aeróbia. Barras verticais equivalem a um erro padrão.

A estabilidade aeróbia (EA) correlacionou-se negativamente com: temperatura máxima (T_{max} ; -0,94), contagem de leveduras (LEV; -0,76) e pH nos dias 4 e 6 (-0,68 e -0,85, respectivamente). LEV também esteve positivamente correlacionada com T_{max} (0,78) e pH no dia 6 (0,62). Essas correlações corroboram a associação entre a população de leveduras e a deterioração aeróbia (McDonald et al., 1991).

O uso de aditivos na ensilagem de gramíneas temperadas é uma opção que deve ser considerada para melhorar o padrão de qualidade das silagens, já que as

plantas não são naturalmente ideais para a fermentação. O efeito do aditivo composto de BAL homofermentativas e benzoato de sódio parece ter sido proporcionado apenas pelo componente químico, uma vez que inibiu a fermentação de forma inespecífica, provavelmente preservando mais carboidratos solúveis e reduzindo as perdas. Já o efeito do aditivo homofermentativo foi marcante na melhoria do padrão de fermentação, nitidamente proporcionado pelas vias homoláticas, o que reduziu perdas e produziu silagens com tendência à maior estabilidade aeróbia. O aditivo Sil-All 4x4, portanto, proporcionou os melhores resultados e pode ser recomendado em condições semelhantes.

4.5 CONCLUSÃO

Ambos os aditivos reduziram o volume de gás produzido durante a fermentação. Dentre as metodologias utilizadas para avaliação de perdas fermentativas, o volume de gás produzido e a perda estimada por diferença de peso bruto do silo antes e após a ensilagem estiveram mais alinhados com o perfil fermentativo das silagens. Com base nessas variáveis e na composição química das silagens com base no teor de MS obtido em estufa, conclui-se que o inoculante homolático (tratamento R) foi o aditivo mais eficiente em reduzir perdas fermentativas, promovendo silagens de maior qualidade, com excelente padrão de fermentação. O aditivo químico-biológico (tratamento F) teve os mesmos efeitos sobre perdas e qualidade, embora mais modestos, mas não alterou de forma expressiva o perfil fermentativo, produzindo silagens de padrão médio de fermentação.

A análise de estabilidade aeróbia apresentou resultados com alta variabilidade, mas houve tendência de maior estabilidade das silagens tratadas com o aditivo R em relação às silagens controle.

4.6 REFERÊNCIAS

AMARAL, R. C.; BERNARDES, T. F.; SIQUEIRA, G. R.; REIS, R. A. Características fermentativas e químicas de silagens de capim-marandu produzidas com quatro pressões de compactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 532-539, 2007.

CONAGHAN, P.; O'KIELY, P.; MARA, F. P. O. Conservation characteristics of wilted perennial ryegrass silage made using biological or chemical additives. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 628-643, 2010.

CONAGHAN, P.; O'KIELY, P.; O'MARA, F. P. Possibilities of increasing the residual water-soluble carbohydrates concentration and aerobic stability of a low dry-matter perennial ryegrass silage through additive and cultivar use. **Grass and Forage Science**, v. 67, p. 177-198, 2012.

JONES, D. I. H.; JONES, R. The effect of crop characteristics and ensiling methodology on grass silage effluent production. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 60, p. 73-81, 1995.

KLAENHAMMER, T. R. Bacteriocins of lactic acid bacteria. **Biochimie**, v. 70, p. 337-349, 1988.

KNICKY, M. SPÖRNDLY, R. The ensiling capability of a mixture of sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium nitrite. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 824-831, 2011.

KRAWUTSCHKE, M.; THAYSEN, J.; WEIHER, N.; TAUBE, F.; GIERUS, M. Effects of inoculants and wilting on silage fermentation and nutritive characteristics of red clover–grass mixtures. **Grass and Forage Science**, v. 68, p. 326–338, 2013.

LI, Y.; NISHINO, N. Bacterial and fungal communities of wilted Italian ryegrass silage inoculated with and without *Lactobacillus rhamnosus* or *Lactobacillus buchneri*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 52, p. 314-321, 2011.

LI, Y.; NISHINO, N. Changes in the bacterial community and composition of fermentation products during ensiling of wilted Italian ryegrass and wilted guinea grass silages. **Animal Science Journal**, v. 84, p. 607-612, 2013a.

LI, Y.; NISHINO, N. Effects of ensiling fermentation and aerobic deterioration on the bacterial community in Italian ryegrass, guinea grass and whole-crop maize silages stored at high moisture content. **Asian-Australian Journal of Animal Sciences**, v. 26, p. 1304-1312, 2013b.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991.

ROOKE, J. A.; BELL, S. L.; ARMSTRONG, D. G. The chemical composition of grass silage prepared with and without pre-treatment with inoculants containing *Lactobacillus plantarum*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 13, p. 269-279, 1985.

SELWET, M. Effect of a preparation containing lactic fermentation bacteria on the hygienic status and aerobic stability of silages. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 11, p. 35-39, 2008.

SHAO, T.; ZHANG, L.; SHIMIJO, M.; MASUDA, Y. Fermentation quality of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) silages treated with encapsulated-glucose, glucose, sórbico acid and pre-fermented juices. **Asian-Australian Journal of Animal Sciences**, v. 20, p. 1699-1704, 2007.

SUN, Y.; BUESCHER, W.; LIN, J. et al. An improved penetrometer technique for determining bale density. **Biosystems engineering**, v. 105, p. 273-277, 2010.

WARTH, A. D. Benzoic acid on growth yield of yeasts differing in their resistance to preservatives. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, p. 2091-2095, 1988.

5 AVALIAÇÃO LABORATORIAL DE PERDAS EM SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR TRATADA COM DIFERENTES ADITIVOS

Resumo: Tendo em vista as perdas de matéria seca (PMS) elevadas observadas em silagens de cana, é contínua a busca por aditivos capazes de reduzir a fermentação alcoólica de leveduras. Neste estudo, objetivou-se comparar o efeito de aditivos microbiológicos, químico e combinado sobre composição química, fermentação, perdas, efluente e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar em silos laboratoriais. A cana foi colhida com teor de MS de $296 \pm 4,2 \text{ g kg}^{-1}$ e $24,2^\circ\text{Brix}$, picada e separada em cinco tratamentos: controle (C), inoculante à base de bactérias homofermentativas (R), mistura de bactérias homofermentativas com benzoato de sódio (F), inoculante heterofermentativo à base de *Propionibacterium* (A) e Natamicina (N). A PMS foi inferior no tratamento F (189), quando comparada ao tratamento R (272). As perdas por gases (PG) representaram cerca de 90% da PMS. O volume médio de gás produzido (Gprod) foi $29,1 \text{ L kg}^{-1} \text{ MS}$ e foi inferior nos tratamentos F (20,9) e A (23,8) quando comparados ao tratamento R (41,0), mas todos foram semelhantes ao tratamento controle (30,9). A perda por efluentes (PE) média foi $24,9 \text{ kg t}^{-1} \text{ MV}$, e não diferiu entre tratamentos. A demanda química de oxigênio (DQO) média dos efluentes foi 333 mil mg L^{-1} . O etanol foi o composto volátil presente em maior concentração média ($84,1 \text{ g kg}^{-1} \text{ MScorr}$). O tratamento R elevou a concentração de etanol ($112 \text{ g kg}^{-1} \text{ MScorr}$) em relação ao tratamento controle ($72,3 \text{ g kg}^{-1} \text{ MScorr}$). A concentração de ácido lático foi maior no tratamento N, quando comparado aos tratamentos C e A. Os aditivos à base de *Propionibacterium* (A) e Natamicina (N) não tiveram efeito significativo sobre as silagens de cana-de-açúcar. Silagens inoculadas com bactérias homoláticas (R) tiveram maiores perdas que as tratadas com aditivo misto de BAL e benzoato de sódio (F), mas nenhum aditivo diferiu significativamente das silagens controle.

Palavras-chave: BAL, benzoato de sódio, DQO, efluente, etanol, *Propionibacterium*

5.1 LABORATORY ASSESSMENT OF FERMENTATION LOSSES IN SUGARCANE SILAGES TREATED WITH DIFFERENT ADDITIVES

Abstract: Dry matter (DM) losses during sugarcane fermentation are expressive. Thus, the search for additives capable of limiting alcoholic fermentation promoted by yeasts and reducing DM losses remains. In the present study, we aimed to compare the effects of chemical and microbiological additives on sugarcane silages quality, fermentation, losses, effluent and aerobic stability. Sugarcane was harvested with a DM content of $296 \pm 4.2 \text{ g kg}^{-1}$ and 24.2°Brix . Forage was chopped and separated in five treatments: C – control; R – inoculant consisting of homofermentative lactic acid bacteria (LAB); F – mixed additive composed of sodium benzoate and homofermentative LAB; A – heterofermentative inoculant consisted of *Propionibacterium*; N – Natamycin. The DM losses differed across treatments ($P < 0.05$), being lower in F-treated silages (189) when compared to R-treated silages (272). Gas losses (GL) represented approximately 90% of total DM losses and differed similarly to the previous variable. Gas volume directly measured during fermentation (Gprod) was lower ($P < 0.05$) in F ($20.9 \text{ L kg}^{-1} \text{ DM}$) and A ($23.8 \text{ L kg}^{-1} \text{ DM}$) treated silages when compared to R-treated silages (40.97), but all treatments were similar to control silages ($30.9 \text{ L kg}^{-1} \text{ DM}$). Effluent losses (EL) averaged 24.9 kg t^{-1} ensiled forage and did not differ across treatments. The mean chemical oxygen demand of effluents was high ($333 \times 10^3 \text{ mg L}^{-1}$) and not affected by treatment. Ethanol was the main fermentation product, averaging $84.1 \text{ g kg}^{-1} \text{ DMcorr}$. It was present in higher ($P < 0.05$) concentrations in R-treated silages ($112 \text{ g kg}^{-1} \text{ DMcorr}$) when compared to control silages ($72.3 \text{ g kg}^{-1} \text{ DMcorr}$). Lactic acid content was higher in N-treated silages when compared to control and A-treated silages. *Propionibacterium* based additive and Natamycin did not alter sugarcane silages. Homofermentative LAB treated silages (R) had higher fermentation losses when compared to mixed additive (F) treated silages, but were similar to control silages.

Key words: COD, effluent, ethanol, LAB, *Propionibacterium*, sodium benzoate

5.2 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma forragem rica em carboidratos solúveis, e possui teor de matéria seca (MS) adequado para a ensilagem no ponto ótimo de maturidade. Porém, a população epifítica de leveduras faz com que as perdas de matéria seca (PMS) durante a ensilagem sejam muito elevadas, principalmente em silagens não aditivadas (Schmidt, 2009). A via de fermentação das leveduras que converte uma molécula de glicose em duas moléculas de etanol e duas moléculas de gás carbônico gera perda de 48,9% de MS (McDonald et al., 1991).

O uso de aditivos na ensilagem de cana-de-açúcar tem por objetivo inibir o crescimento ou reduzir a atividade das leveduras, reduzindo a PMS proporcionada pela fermentação alcoólica (Schmidt, 2009; Siqueira et al., 2014). Em silagens de cana-de-açúcar não aditivadas, foram encontradas PMS variando de 14,4 (Schmidt et al., 2011) a 36,5% MS (Siqueira et al., 2011), com valor médio de 26,5% MS (Pedroso et al., 2007; Siqueira et al., 2007; Santos et al., 2008; Balieiro Neto et al., 2009; Rezende et al., 2011). No entanto, vale ressaltar que todos esses valores de PMS foram determinados com base na secagem em estufa. As grandes concentrações de etanol e outros compostos voláteis na silagem de cana fazem com que o teor de MS determinado em estufa seja consideravelmente subestimado, o que superestima a PMS em aproximadamente 2,8 pontos percentuais (Daniel et al., 2013).

O uso de inoculantes homofermentativos, tais como o *Lactobacillus plantarum*, não é recomendável em silagens de cana-de-açúcar, pois podem ser ineficientes ou prejudiciais ao processo fermentativo, já que o ácido láctico produzido não é eficiente no controle de leveduras, e ainda serve de substrato para as mesmas (Schmidt, 2009), correndo o risco de elevação da produção de etanol (Daniel et al., 2013). No presente estudo, um inoculante homofermentativo foi utilizado como controle negativo para comparação com os demais tratamentos.

Recentemente, iniciou-se uma frente de pesquisa sobre a inoculação com bactérias heterofermentativas para redução das perdas durante a fermentação de silagens de cana-de-açúcar. Segundo revisão realizada por Schmidt et al. (2014), o *Lactobacillus buchneri* é a espécie heterolática mais pesquisada em silagens de cana-de-açúcar, e sua função é aumentar a produção de ácido acético, que tem efeito no controle de leveduras. Schmidt (2009) revisou 19 trabalhos que avaliaram o

uso de *L. buchneri* em silagens de cana-de-açúcar. A redução de PMS e teor de etanol, e o aumento do teor de ácido acético ocorreram em 8, 9 e 12 dos 19 trabalhos, respectivamente. O aumento da estabilidade aeróbia ocorreu em 6 dos 15 trabalhos que avaliaram essa variável. A ausência da resposta esperada em parte dos experimentos pode estar associada à baixa dose de aplicação do inoculante (menor que 10^5 UFC g^{-1} forragem), comumente aplicada em ensaios brasileiros. Reis et al. (2008) avaliou doses de *Lactobacillus buchneri* de 1×10^4 a 4×10^5 ufc g^{-1} em silagens de grão úmido de milho, e encontrou aumento da estabilidade aeróbia a partir da dose de 1×10^5 ufc g^{-1} , sem melhora significativa em doses maiores.

O ácido propiônico também possui efeito no controle de leveduras em silagens. Inoculante contendo uma mistura de *Propionibacterium acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum* foi avaliado por Siqueira et al. (2007). Esse inoculante não foi capaz de reduzir perdas fermentativas, mas proporcionou aumento na estabilidade aeróbia de 32 para 60 h e foi capaz de manter o pH abaixo de 4,0 após 5 dias de exposição aeróbia.

Dentre os aditivos químicos que potencialmente controlam a população ou atividade de leveduras estão o benzoato de sódio e a Natamicina. O mecanismo de ação do ácido benzóico (liberado na dissolução do benzoato de sódio) é similar ao dos demais ácidos fracos (e. g. acético, propiônico): a membrana celular das leveduras é permeável à forma não dissociada do ácido, devido a suas propriedades lipofílicas. Como o pH do meio intracelular é superior à constante de dissociação do ácido (pKa), o íon H^+ é liberado, e a célula precisa constantemente gastar energia para equilibrar o pH por transporte ativo desses íons, resultando em redução no crescimento ou morte celular (Warth, 1988). Já a Natamicina atua formando complexos com o ergosterol presentes na membrana celular de fungos, o que altera a permeabilidade desta, levando à morte celular por vazamento de íons inorgânicos e metabólitos (Oostendorp, 1981).

Em estudo realizado por Siqueira et al. (2010), tanto o benzoato de sódio como o *L. buchneri* foram capazes de reduzir PMS e perdas por gases (PG) e aumentar a estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar. O uso de Natamicina como aditivo em silagens ainda está em fase inicial de pesquisa, mas já foi verificado efeito de aumento na estabilidade aeróbia de silagens de milho (Novinski et al., 2012b).

O objetivo do presente ensaio foi avaliar qualidade, produtos da fermentação, perdas fermentativas avaliadas por diferentes metodologias, volume de gás produzido, característica do efluente e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar em silos laboratoriais tratadas com aditivos microbiológicos, químico ou combinado.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e cinco silos com dispositivos coletores de gases e de efluentes (DCG e DCE) foram construídos conforme descrito anteriormente (seção 3.3.1). A cana-de-açúcar clone RB036606 foi colhida manualmente no dia 25/08/2014 na Fazenda Experimental da UFPR em Paranaíba/PR e transportada até o Centro de Pesquisas em Forragicultura (CPFOR), em Curitiba, para montagem do experimento no dia 27/08/2014.

A forragem foi picada por ensiladeira acoplada ao trator e amostrada para determinação do teor de sólidos solúveis no caldo (graus Brix) por refratometria. A forragem picada foi separada em cinco tratamentos: controle (C), Sil-All 4x4 a 10 g t^{-1} MV (R), Sil-All Fireguard a 150 g t^{-1} MV (F), Sil-All Cana a 2 g t^{-1} MV (A) e Natamicina a 8 g t^{-1} MV (N). Os aditivos microbiológicos apresentam a seguinte composição: R – *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus faecium* e enzimas amilase, celulase, hemicelulase e xilanase; F – *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, benzoato de sódio e enzimas amilase, xilanase e beta-glucanase; A – *Propionibacterium acidipropionici* e enzima celulase. As doses dos aditivos R, F e A proporcionaram as concentrações teóricas de 2×10^5 ; 1×10^5 e 1×10^5 ufc g^{-1} forragem fresca, respectivamente. Na forragem do tratamento controle foram aspergidos 2 L t^{-1} de água não clorada. O mesmo volume de água não clorada foi utilizado para diluição e aspensão dos aditivos nos demais tratamentos. As forragens de cada tratamento foram homogeneizadas de forma asséptica e amostradas para determinação de MS, composição química e pH.

Foram utilizados $5,45 \pm 0,09$ kg de forragem por silo na confecção de cinco silos por tratamento. A forragem foi compactada manualmente com auxílio de soquete de madeira. Após o enchimento, os silos foram fechados, pesados e vedados com adesivo selante elástico e acoplados aos respectivos DCG. A

produção de gases foi aferida conforme descrito na seção 3.3.3, em sala de temperatura controlada durante todo o período de armazenamento de 65 dias (temperatura média de $24,8 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$).

Na abertura dos silos, o processamento das amostras para determinação de pH, contagens microbiológicas e compostos orgânicos voláteis (COV), as estimativas de perdas e as análises bromatológicas foram realizados conforme descrito anteriormente (seções 3.3.4; 3.3.6 e 3.3.7). Foi determinado o teor de sólidos solúveis (em graus Brix) no fluído das silagens, obtido por prensagem. Do efluente produzido foram coletadas duas amostras de 5 mL, que foram imediatamente congeladas em tubos tipo “ependorf” para determinação da demanda química de oxigênio (DQO) segundo a metodologia descrita por Peralta-Zamora et al. (2005). Após avaliação do valor em graus Brix, o restante do efluente foi pesado para determinação de MS a 65°C durante sete dias.

Para o ensaio de estabilidade aeróbia, aproximadamente 3 kg de silagem foram acondicionados em baldes plásticos, com um data-logger (EL-USB, Lascar, Inglaterra) posicionado no centro da massa. A temperatura foi aferida a cada 30 minutos durante um período de 120 h em sala de temperatura controlada ($23,5 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$). A quebra de estabilidade aeróbia foi considerada como a elevação da temperatura da silagem em 2°C em relação à temperatura ambiente. A variável estabilidade aeróbia (EA) foi calculada como o tempo necessário para quebra de estabilidade. A temperatura acumulada (Tac) foi calculada pela soma das diferenças positivas entre a temperatura da silagem e a temperatura ambiente. A temperatura máxima da silagem durante o período (Tmax) também foi avaliada.

Cerca de 650 g de silagem foram acondicionados em outro recipiente plástico para determinação do pH ao longo do período de exposição aeróbia. Estes recipientes foram mantidos na mesma sala de temperatura controlada. O pH foi determinado nos dias 0, 4 e 5 pós abertura.

As análises estatísticas foram feitas como descrito na seção 3.3.8. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (quatro aditivos e um controle) e cinco repetições.

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa específica atingida na ensilagem foi $643 \pm 11,0 \text{ kg m}^{-3}$ e não diferiu entre tratamentos. As características da forragem fresca logo antes da ensilagem e da silagem após 65 dias de armazenamento estão apresentadas nas Tabelas 5.1 e 5.2, respectivamente. Os teores de cinzas estiveram abaixo dos valores encontrados por Santos et al. (2008) e Novinski et al. (2012a). Os teores de componentes fibrosos (FDN e FDA) e proteína bruta (PB) da forragem estiveram abaixo dos observados por Pedroso et al. (2007), Ribeiro et al. (2010), Schmidt et al. (2011) e Novinski et al. (2012a). A menor participação desses componentes na forragem indica que a concentração de carboidratos solúveis (principalmente sacarose) foi alta. O teor de sólidos solúveis (TSS; °Brix) no caldo da cana-de-açúcar fresca indica que a planta foi colhida em estágio maduro (Schmidt et al., 2011), e está de acordo com as médias da composição química da forragem.

Tabela 5.1. Características da cana-de-açúcar antes da ensilagem.

Variável ¹	Média	DP	Mínimo	Máximo	EPM ²
pH	5,92	0,03	5,89	5,94	0,01
TSS (°Brix)	24,2	0,7	23,5	25,2	0,4
MS (g kg ⁻¹)	296,0	4,2	285,5	301,4	1,3
Cinzas (g kg ⁻¹ MS)	9,4	0,9	8,2	11,1	0,3
FDN (g kg ⁻¹ MS)	438,1	13,6	417,7	460,9	4,3
FDA (g kg ⁻¹ MS)	276,6	12,0	261,4	293,8	3,8
PB (g kg ⁻¹ MS)	15,2	1,1	13,9	17,2	0,4
LEV (log ufc g ⁻¹)	5,49	0,10	5,41	5,56	0,07

¹ TSS = teor de sólidos solúveis no caldo; MS = teor de matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta; LEV = contagem de leveduras. ² Erro padrão da média.

Todos os autores que avaliaram a composição química da cana-de-açúcar antes e depois da ensilagem observaram aumento da participação de componentes fibrosos, em decorrência da perda de MS, que ocorre principalmente por fermentação de carboidratos solúveis. No presente ensaio, o TSS médio no caldo da silagem foi quase 40% inferior ao da forragem, e esteve negativamente correlacionado com todas as variáveis de perdas fermentativas (-0,74 a -0,62; $P < 0,05$). A ensilagem da cana-de-açúcar sem aditivos efetivos, portanto, reduz a digestibilidade da forragem original. A redução do teor de MS (em média de 59,3 g

kg⁻¹) após a ensilagem também é comum e condizente com os altos valores de perdas fermentativas (Tabela 5.3).

Tabela 5.2. Composição química e pH médios das silagens de cana-de-açúcar.

Variável ¹	C	F	R	A	N	Média	EPM ²
pH	3,34 ^b	3,39 ^a	3,37 ^{ab}	3,36 ^{ab}	3,37 ^{ab}	3,37	0,02
TSS (°Brix)	15,5	16,5	15,0	16,0	16,2	15,8	0,2
MS (g kg ⁻¹)	241 ^{ab}	252 ^a	232 ^b	244 ^{ab}	243 ^{ab}	242	1,9
MScorr (g kg ⁻¹)	268 ^b	282 ^a	271 ^{ab}	274 ^{ab}	277 ^{ab}	274	1,6
(g kg ⁻¹ MS)							
Cinzas	10,8 ^b	13,0 ^a	12,5 ^{ab}	11,6 ^{ab}	11,3 ^{ab}	11,8	0,2
FDN	554	551	576	547	541	554	5,9
FDA	363	361	375	348	341	357	4,9
PB	18,5	18,6	19,9	18,6	18,9	18,9	0,3

¹ TSS = teor de sólidos solúveis no caldo; ME = massa específica; MS = teor de matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta. ² Erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 5.3. Perdas de matéria seca e por gases (g kg⁻¹ MS) e volume de gás produzido (L kg⁻¹ MS) na fermentação de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N).

Variável ¹	C	F	R	A	N	Média	EPM ²
PMS	234 ^{ab}	189 ^b	272 ^a	238 ^{ab}	236 ^{ab}	234	7,5
PMScorr	147 ^a	93,6 ^b	148 ^a	143 ^{ab}	126 ^{ab}	132	6,4
PG	218 ^a	164 ^b	255 ^a	216 ^{ab}	217 ^{ab}	214	7,9
PGcorr	129 ^a	65,4 ^b	128 ^a	118 ^a	105 ^{ab}	109	6,7
PGtrad	137 ^{ab}	115 ^b	153 ^a	131 ^{ab}	129 ^{ab}	133	4,1
GProd	30,9 ^{ab}	20,9 ^b	41,0 ^a	23,8 ^b	23,9 ^{ab}	29,1	2,08

¹ PMS = perda de matéria seca; PMScorr = PMS calculada com base no teor de MScorr; PG = perda por gases; PGcorr = PG calculada com base no teor de MScorr; GProd = gás produzido durante o armazenamento. ² EPM = erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas iguais na mesma linha não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05).

De forma geral, as maiores perdas foram proporcionadas pelo tratamento R, e as menores perdas, pelo tratamento F. Os tratamentos A e N proporcionaram perdas de magnitude intermediária, normalmente semelhantes ao tratamento controle.

A utilização do teor de MS corrigido para a perda de COV mostra que a PMS calculada com base no teor de MS em estufa está superestimada, em média, em 77%. A perda por gases (PG) representa cerca de 90% da PMS. Utilizando os valores médios de perda por efluentes (PE) e teor de MS dos efluentes (vide Tabela

5.5), calcula-se que a perda de MS ocasionada pelo efluente responde por 4,9% da PMS e 8,7% da PMS corrigida (PMScorr).

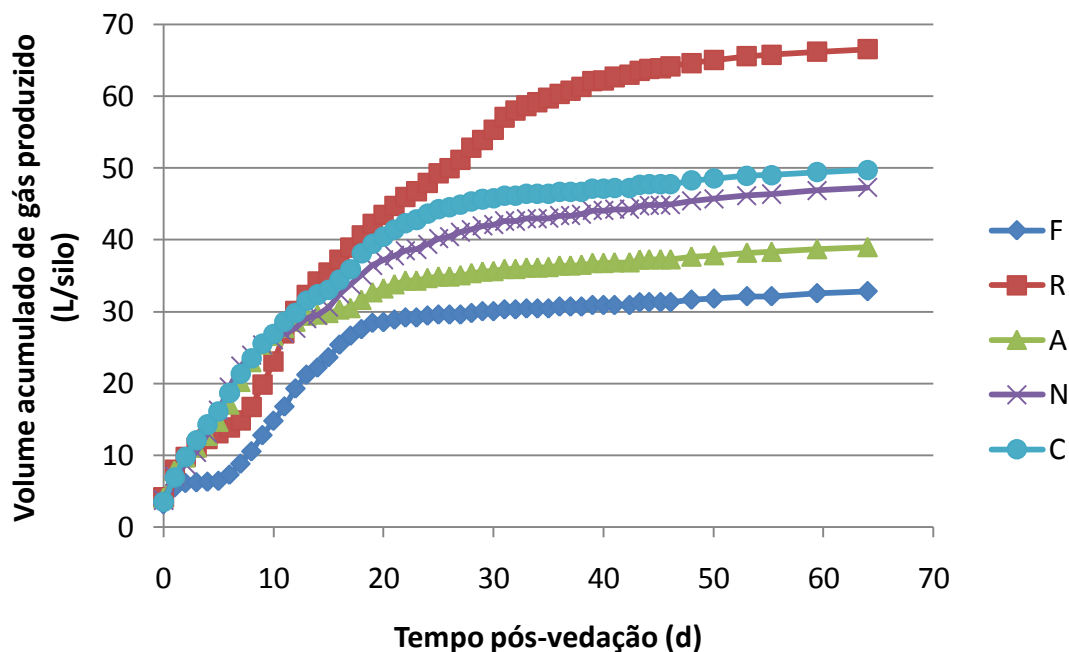


Figura 5.1. Volume de gás produzido na ensilagem de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N), durante 65 dias de fermentação.

Nos experimentos com silagens de capim-elefante, azevém e milho (capítulos 3, 4 e 6) o volume médio de gás produzido (Gprod) na fermentação foi de $5,07 \pm 1,69 \text{ L kg}^{-1} \text{ MS}$, e esteve concentrado, em média nos primeiros cinco dias após a vedação dos silos. Nas silagens de cana-de-açúcar, o Gprod chegou a ser oito vezes maior que essa média (tratamento R), e não cessou durante todos os 65 dias de armazenamento (Figura 5.1). Pedroso et al. (2005) observaram estabilização da PG de silagens de cana após 45 dias de fermentação. Os autores opinam que a estabilização de silagens de cana decorre da alta concentração de etanol, e não por baixo pH (que reduziu a 3,90 em três dias de fermentação) nem por falta de substrato, que são muito abundantes na cana-de-açúcar. Nas primeiras 24 h de fermentação do presente experimento, foram realizadas nove leituras de gases. A frequência foi reduzindo progressivamente até permanecer diária do 42º ao 46º dia de fermentação. Após este dia, as leituras foram feitas com intervalos de dois até cinco dias, na última leitura. A curva de volume acumulado (Figura 5.1) tem sua inclinação bastante reduzida nos últimos dias de fermentação, mas não foi

observada estabilização. Possivelmente, a fermentação alcoólica prosseguiria em pequena intensidade durante períodos mais prolongados de armazenamento, aumentando as perdas fermentativas.

Tabela 5.4. Coeficientes de correlação de Pearson entre variáveis¹ de perdas de silagens de cana-de-açúcar.

	PMS	PMScorr	PG	PGcorr	PGtrad	Gprod	PMSest
PMS		****	****	****	****	****	**
PMScorr	0,85		****	****	****	**	*
PG	0,99	0,83		****	****	****	**
PGcorr	0,85	0,98	0,86		****	**	*
PGtrad	0,91	0,75	0,92	0,79		****	**
Gprod	0,76	0,51	0,78	0,55	0,84		**
PMSest	-0,61	-0,48	-0,59	-0,46	-0,55	-0,56	

¹ PMS = perda de matéria seca; PMScorr = PMS calculada com base no teor de MS corrigido; PG = perda por gases; PGcorr = PG calculada com base no teor de MS corrigido; PGtrad = perda por gases calculada por diferença bruta de peso do silo; Gprod = volume de gás produzido na fermentação; PMSest = perda de MS durante 120 h de exposição aeróbia. * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001; **** P<0,0001.

Dentre os quatro experimentos realizados (capítulos 3 a 6), o presente ensaio foi o único que apresentou correlações significativas entre todas as variáveis de perdas (Tabela 5.4). Isso pode ser explicado pela grande magnitude das perdas, que supera as variações provocadas por erros nas diferentes metodologias utilizadas.

Tabela 5.5. Características do efluente de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N).

Variável ¹	C	F	R	A	N	Média	EPM ²
PE (kg t ⁻¹ MV)	19,86	29,24	22,09	27,18	26,25	24,87	1,33
pH	2,94	2,88	2,97	2,87	2,95	2,92	0,02
TSS (°Brix)	15,1	14,2	14,4	15,2	14,7	14,7	0,2
Mseflu (g kg ⁻¹)	138,8	133,2	131,8	143,7	135,4	136,6	2,4
DQO (10 ³ mg L ⁻¹)	335	329	325	347	328	333	11

¹ PE = perda por efluente; TSS = teor de sólidos solúveis; Mseflu = concentração de MS no efluente; DQO = demanda química de oxigênio. ² EPM = erro padrão da média. Não foram verificadas diferenças estatísticas entre as médias de tratamentos (P≥0,05).

A perda por efluente (PE) não foi alterada pelos tratamentos (Tabela 5.5) e, apesar de não representar muito em termos da perda total de MS, foi muito superior às encontradas nas silagens de capim-elefante, azevém e milho (capítulos 3, 4 e 6). A alta acidez dos efluentes (pH médio de 2,92) é um dos fatores de impacto desse resíduo. A média da demanda química de oxigênio (DQO) dos efluentes ($333 \times 10^3 \text{ mg L}^{-1}$) foi inferior à observada por Novinski et al. (2011) em efluentes de silagens de cana-de-açúcar ($568 \times 10^3 \text{ mg L}^{-1}$), mas superior aos valores descritos para efluentes de silagens de capim, que podem variar de 54.600 a 72.500 mg L^{-1} (Galanos et al., 1995). Como discutido na seção 2.7, os efluentes de silagem são considerados os resíduos mais poluentes da agricultura. Apesar de muito poluentes, a quantidade produzida é irrisória quando técnicas adequadas de ensilagem são aplicadas. De qualquer forma, não se pode ignorar o impacto ambiental provocado pela produção de efluentes, principalmente se a localização do silo permite contaminação de cursos de água próximos.

Tabela 5.6. Contagens microbianas ($\log \text{ufc g}^{-1}$) em silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N).

Variável ¹	C	F	R	A	N	Média	EPM ³
BAL	6,38	5,95	6,40	6,33	5,76	6,16	0,19
Leveduras	5,54	5,69	5,62	5,67	5,87	5,68	0,04
Mofos ²	2,76	3,54	3,22	2,70	3,48	3,14	0,15

¹BAL = bactérias ácido-láticas. ²As unidades experimentais que apresentaram contagem nula em todas as diluições, foi atribuído o valor referente à metade da contagem mínima detectável.

³EPM = erro padrão da média. Não foram verificadas diferenças estatísticas entre as médias de tratamentos ($P \geq 0,05$).

Apesar de não ter sido detectada diferença entre tratamentos na composição microbiológica das silagens (Tabela 5.6), a fermentação foi alterada (Tabela 5.7). O aditivo (R) composto de bactérias homoláticas provocou aumento na concentração de etanol e 2,3-butanodiol, o que está alinhado com as maiores perdas observadas nesse tratamento. Este aditivo também reduziu as concentrações de produtos de fermentação heterolática (ácidos propiônico, butírico, valérico e isovalérico) em relação ao tratamento controle. Contrariamente ao esperado, o tratamento A, à base de *Propionibacterium*, reduziu as concentração de ácido propiônico em relação ao tratamento controle. Os demais aditivos não produziram alterações importantes no perfil de COV em relação ao tratamento controle. O índice homolático (IH), calculado pela razão entre a concentração de ácido lático e a soma das concentrações de

ácido acético e etanol, foi inferior no tratamento R quando comparado aos tratamentos F e N; mas todos os tratamentos foram semelhantes ao controle.

Tabela 5.7. Compostos orgânicos voláteis¹ de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N).

Variável ²	C	F	R	A	N	Média	EPM
g kg⁻¹ MScorr							
Etanol	72,3 ^b	68,9 ^b	112 ^a	78,2 ^b	89,0 ^{ab}	84,1	4,3
Ácido láctico	27,0 ^b	32,7 ^{ab}	33,7 ^{ab}	30,8 ^b	37,8 ^a	32,4	1,0
Ácido acético	20,0	23,1	20,1	21,3	22,4	21,3	0,7
2,3-Butanodiol	6,1 ^{bc}	5,4 ^c	8,8 ^a	7,1 ^b	7,1 ^b	6,9	0,3
Ácido fórmico	3,0 ^b	8,9 ^a	5,2 ^{ab}	5,4 ^{ab}	8,1 ^a	6,1	0,6
mg kg⁻¹ MScorr							
Lactato de etila	398	366	574	394 ^a	439	434	28
Ácido propiônico	440 ^{ab}	622 ^a	174 ^c	241 ^c	307 ^{bc}	353	41
1,2-Propanodiol	196	153	95	207 ^a	71	142	26
Ácido butírico	180 ^a	256 ^a	19 ^b	68 ^{ab}	54 ^{ab}	113	27
Acetato de etila	116 ^a	66 ^b	132 ^a	110 ^a	99 ^{ab}	105	6
Ácido valérico	153 ^a	190 ^a	9 ^b	51 ^{ab}	38 ^{ab}	85	21
Ácido isobutírico	89	135	30	38	48	67	13
Ácido isovalérico	111 ^a	153 ^a	7 ^b	36 ^{ab}	25 ^{ab}	65	17
1-Propanol	54 ^a	33 ^b	62 ^a	55 ^a	59 ^a	53	2
Metanol	23	20	28	23	26	24	1
Acetona	11 ^{ab}	20 ^a	7 ^b	13 ^{ab}	9 ^{ab}	12	2
2-Butanol	0 ^b	1 ^a	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0	0
IH	0,29 ^{ab}	0,36 ^a	0,26 ^b	0,31 ^{ab}	0,34 ^a	0,31	0,01

¹ As concentrações de álcool isopropílico estiveram abaixo do limite de detecção e foram detectados apenas traços de acetato de propila. ² IH = índice homolático, calculado pela razão entre a concentração de ácido láctico e a soma das concentrações de etanol e ácido acético. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

O principal composto orgânico volátil (COV) produzido na fermentação da cana-de-açúcar foi o etanol. A concentração média esteve próxima à observada por Pedroso et al. (2005) em silagens de cana-de-açúcar não aditivadas, com 45 dias de armazenamento (79,2 g kg⁻¹ MS). O ácido láctico foi o segundo COV presente em maior concentração, como observado por Novinski et al. (2012a) e Cavali et al. (2010), porém, Pedroso et al. (2011) e Daniel et al. (2013) identificaram o ácido acético como o segundo COV presente em maior concentração. A concentração de 2,3-Butanodiol foi quase 20 vezes superior à relatada por Daniel et al. (2013). Estes autores encontraram correlação inversa entre 2,3-butanodiol e ácido láctico e etanol. No presente ensaio, porém, o 2,3-butanodiol esteve positivamente correlacionado

com etanol (0,86) e ácido láctico (0,42). O ácido láctico e o etanol estiveram positivamente relacionados (0,54), conforme observado por Daniel et al. (2013).

Tabela 5.8. Teste de estabilidade aeróbia em silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N).

Variável ¹	C	F	R	A	N	Média	EPM ²
Pea	3/5	2/4	0/5	1/4	0/4	6/22	-
EAt(h)	83,2	53,0	-	80,0	-	72,6	9,1
EA (h)	97,9	86,5	120,0	110,0	120,0	107,1	5,2
Tac (°C)	208 ^a	261 ^a	44,7 ^b	240 ^{ab}	71,6 ^{ab}	161	32,1
Tmax (°C)	26,5	26,5	24,8	27,3	25,1	26,0	0,4
PMSest (g kg ⁻¹ MS)	82,6	107,0	41,2	66,0	22,6	63,7	11,5

¹Pea = Proporção de silos em que houve quebra de estabilidade aeróbia no período de 120 h; EAt = estabilidade aeróbia média, considerando apenas os silos em que houve quebra de estabilidade no período de 120 h; EA = estabilidade aeróbia média, considerando valor de 120 h para os silos em que não houve quebra de estabilidade; Tac = temperatura acumulada excedente à temperatura ambiente; Tmax = temperatura máxima alcançada na silagem no período de 120 h de exposição aeróbia; PMSest = perda de matéria seca após 120 h de exposição aeróbia. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

Dentre os 22 silos que passaram pelo teste de estabilidade aeróbia, 16 não aqueceram 2°C acima da temperatura ambiente durante as 120 h de exposição. Na Tabela 5.8 são apresentadas as proporções dos silos em que houve quebra de estabilidade no período de 120 h (Pea). Para possibilitar a análise estatística do tempo para quebra de estabilidade aeróbia (EA), foram atribuídos valores próximos a 120 ± 1 h às repetições que não aqueceram; mas a média considerando apenas os silos que aqueceram também é apresentada (EAt). Apesar da ausência de diferença estatística para a estabilidade aeróbia, observa-se que as silagens controle tiveram maior Pea, seguidas pelo tratamento F. A degradação aeróbia, avaliada pela temperatura acumulada (Tac), foi inferior no tratamento R quando comparado aos tratamentos C e F. As silagens do tratamento F também apresentaram pH significativamente maior que todos os demais tratamentos nos dias 4 e 5 pós abertura (Figura 5.2). Apesar de a magnitude da diferença ser considerável, o pH no tratamento F ainda estava próximo de 4,0, mesmo no 5º dia pós-abertura. Nenhuma silagem apresentou aspecto deteriorado após 120 horas de exposição aeróbia. A estabilidade aeróbia das silagens foi superior às descritas por Mendes et al. (2008) e Balieiro Neto et al. (2009), para silagens não inoculadas, de

56 e 53 h, respectivamente. A temperatura acumulada foi inferior no tratamento R quando comparado aos tratamentos C e F.

A perda de MS no período de exposição aeróbia (PMSest) foi numericamente superior no tratamento F, que foi o tratamento que produziu menores perdas durante a fermentação. A PMSest esteve inversamente correlacionada com todas as variáveis de perdas fermentativas (Tabela 5.4), indicando que, as silagens mais preservadas durante a fermentação estiveram mais suscetíveis à degradação por contato com oxigênio.

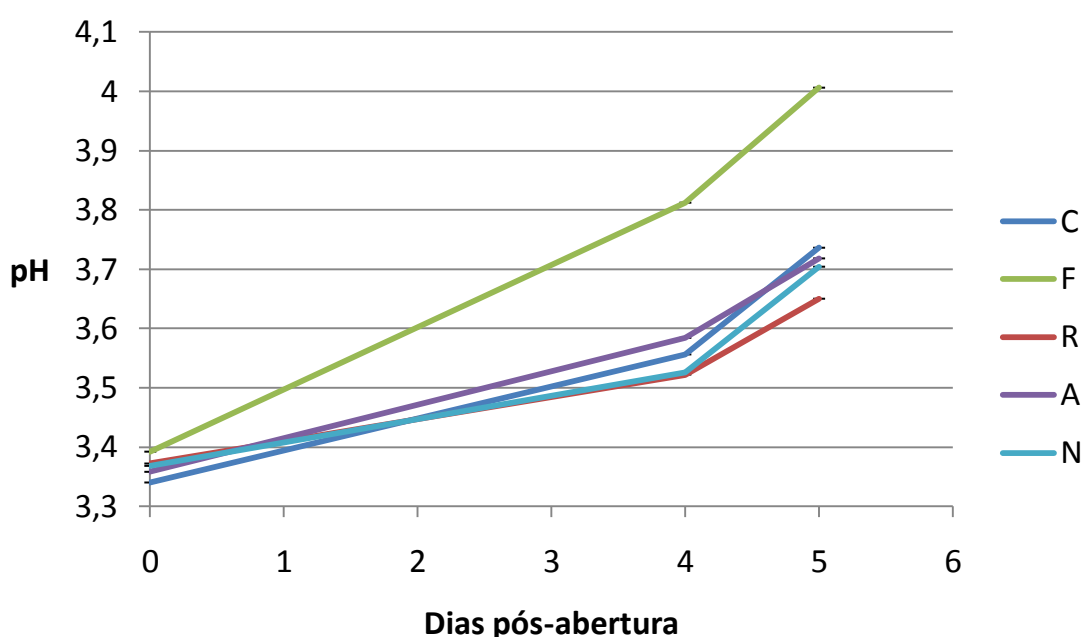


Figura 5.2. pH de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (C) ou tratadas com Sil-All 4x4 (R), Sil-All Fireguard (F), Sil-All Cana (A) ou Natamicina (N) após exposição aeróbia. Barras verticais equivalem a um erro padrão.

Os resultados, de forma geral, são suficientes para contra-indicar o uso do inoculante homolático em silagens de cana, uma vez que este proporcionou aumento da fermentação alcoólica e, portanto, das perdas fermentativas. O aditivo composto de benzoato de sódio e BAL homofermentativas reduziu as perdas significativamente ou não em relação ao tratamento controle, dependendo da metodologia de avaliação de perdas; embora não tenha alterado de forma expressiva o perfil fermentativo das silagens. Dada a similaridade entre os componentes microbiológicos dos aditivos R e F, o efeito benéfico do último foi proporcionado provavelmente pelo benzoato de sódio, mas seria necessário outro ensaio para comparar o aditivo com um tratamento com dose equivalente do

composto químico. A Natamicina e o aditivo à base de *Propionibacterium* não alteraram a conservação das silagens, tornando seu uso desnecessário.

5.5 CONCLUSÃO

Os aditivos à base de *Propionibacterium* (A) e Natamicina (N) não tiveram efeito significativo sobre as silagens de cana-de-açúcar. Silagens inoculadas com bactérias homoláticas (R) tiveram maiores perdas que as tratadas com aditivo misto de BAL e benzoato de sódio (F), mas nenhum aditivo promoveu diferenças significativas em relação às silagens controle.

As metodologias de avaliação de perdas fermentativas foram semelhantes entre si e permitiram as mesmas conclusões em relação aos tratamentos. Em silagens de cana-de-açúcar, em que as perdas são elevadas, qualquer uma das metodologias pode ser utilizada para comparação de tratamentos.

As perdas expressivas de matéria seca na ensilagem de cana, a redução da qualidade após a ensilagem e a produção de efluentes com alto potencial poluente faz questionável o uso desse alimento, sob o ponto de vista ambiental. As vantagens operacionais da ensilagem da cana-de-açúcar em detrimento do fornecimento da forragem picada fresca devem ser balanceadas em cada condição, levando em conta os riscos ambientais das duas formas de manejo.

5.6 REFERÊNCIAS

BALIEIRO NETO, G.; SIQUEIRA, G. R.; NOGUEIRA, J. R.; REIS, R. A.; ROTH, A. P. T. P.; ROTH, M. T. P. Perdas fermentativas e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar aditivadas com cal virgem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, p. 24-33, 2009.

CAVALI, J.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. C.; PORTO, M. O.; FERNANDES, F. E. P.; GARCIA, R. Mixed sugarcane and elephant Grass silages with or without bacterial inoculant. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 462 – 470, 2010.

DANIEL, J. L. P.; WEIß, K.; CUSTÓDIO, L.; SÁ NETO, A.; SANTOS, M. C.; ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L. G. Occurrence of volatile organic compounds in sugarcane silages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 185, p. 101-105, 2013.

GALANOS, E.; GRAY, K. R.; BIDDLESTONE, A. J.; THAYANITHY, K. The aerobic treatment of silage effluent: effluent characterization and fermentation. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 62, p. 271-279, 1995.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991.

MENDES, C. Q.; SUSIN, I.; NUSSIO, L. G.; PIRES, A. V.; RODRIGUES, G. H.; URANO, F. S. Efeito do *Lactobacillus buchneri* na fermentação, estabilidade e no valor nutritivo de silagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 2191-2198, 2008.

NOVINSKI, C. O.; SCHMIDT, P.; PERALTA-ZAMORA, P.; JUNGES, D.; WARPECHOWISKI, M. B.; SANTOS, M. C. Characterization of the sugarcane silage effluent and the potential of environmental pollution. In: II International Symposium on Forage Quality and Conservation, 2011, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2011. CD-ROM.

NOVINSKI, C. O.; JUNGES, D.; SCHMIDT, P.; ROSSI JUNIOR, P.; CARVALHO, J. P. G.; TEIXEIRA, R. A. Methods of lab silo sealing and fermentation characteristics and aerobic stability of sugarcane silage treated with microbial additive. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 264-270, 2012a.

NOVINSKI, C. O.; SCHMIDT, P.; WARPECHOWISKI, M. B.; SOUZA, C. M.; PINTO, S. Estabilidade aeróbia de silagens de milho aditivadas com Natamicina. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 49., 2012, Brasília. **Anais...** Brasília: SBZ, 2012b. CD-ROM.

OOSTENDORP, J. C. Natamycin ^(R). **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 47, p. 170-171, 1981.

PEDROSO, A. F.; NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. F.; LOURES, D. R. S.; IGARASI, M. S.; COELHO, R. M.; PACKER, I. H.; HORII, J.; COMES, L. H. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. **Scientia Agricola**, v. 62, p. 427-432, 2005.

PEDROSO, A. F.; NUSSIO, L. G.; LOURES, D. R. S.; PAZIANI, S. F.; IGARASI, M. S.; COELHO, R. M.; HORII, J.; RODRIGUES, A. A. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 558-564, 2007.

PERALTA-ZAMORA, P.; CORDEIRO, G.A.; NAGATA, N. Utilização de regressão multivariada para avaliação espectrofotométrica da demanda química de oxigênio em amostras de relevância ambiental. **Química Nova**, v. 28, p. 838-841, 2005.

REIS, R. A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; ALMEIDA, E. O.; JANUSCKIEWICZ, E. R.; BERNARDES, T. F.; ROTH, A. P. T. P. Efeitos de doses de *Lactobacillus buchneri* "cepa NCIMB 40788" sobre as perdas nos períodos de fermentação e pós-abertura da silagem de grãos úmidos de milho. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p. 923-934, 2008.

REZENDE, A. V.; RABELO, C. H. S.; RABELO, F. H. S.; NOGUEIRA, D. A.; FARIA JUNIOR, D. C. N. A.; BARBOSA, L. A. Perdas fermentativas e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar tratadas com cal virgem e cloreto de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 739-746, 2011.

RIBEIRO, L. S. O.; PIRES, A. J. V.; CARVALHO, G. G. P.; SANTOS, A. B. FERREIRA, A. R.; BONOMO, P.; SILVA, F. F. Composição química e perdas fermentativas de silagem de cana-de-açúcar tratada com ureia ou hidróxido de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 1911-1918, 2010.

SANTOS, M. C.; NUSSIO, L. G.; MOURÃO, G. B.; SCHMIDT, P.; MARI, L. J.; RIBEIRO, J. L. Influência da utilização de aditivos químicos no perfil da fermentação, no valor nutritivo e nas perdas de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 1555-1563, 2008.

SCHMIDT, P. Improved efficiency of sugarcane ensiling for ruminant supplementation. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 1., 2009, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2009. p. 47-72.

SCHMIDT, P.; ROSSI JUNIOR, P.; JUNGES, D.; DIAS, L. T.; ALMEIDA, R.; MARI, L. J. Novos aditivos microbianos na ensilagem da cana-de-açúcar: composição bromatológica, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 543-549, 2011.

SCHMIDT, P.; SOUZA, C. M.; BACH, B. C. Uso estratégico de aditivos em silagens: quando e como usar? In: SIMPÓSIO: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 5., 2014, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM/CCA/DZO, 2014. p. 243-264.

SIQUEIRA, G. R.; REIS, R. A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; PIRES, A. J. V.; BERNARDES, T. F.; AMARAL, R. C. Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 2000-2009, 2007.

SIQUEIRA, G. R.; REIS, R. A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; PIRES, A. J. V.; BERNARDES, T. F.; ROTH, M. T. P. Queima e aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 103-112, 2010.

SIQUEIRA, G. R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; ROTH, A. P. T. P.; DOMINGUES, F. N.; FERRAUDO, A. S.; REIS, R. A. Óxido de cálcio e *Lactobacillus buchneri* NCIMB 40788 na ensilagem de cana-de-açúcar *in natura* ou queimada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 2347-2358, 2011.

SIQUEIRA, G. R.; SILVA, N. C.; CAMPOS, A. F.; RESENDE, F. D. Avanços tecnológicos na produção e utilização de silagem de cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 5., 2014, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM/CCA/DZO, 2014. p. 117-156.

WARTH, A. D. Benzoic acid on growth yield of yeasts differing in their resistance to preservatives. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, p. 2091-2095, 1988.

6 EFEITOS DO INFLUXO DE AR NA FERMENTAÇÃO E NA ESTABILIDADE AERÓBIA DE SILAGENS DE MILHO ADITIVADAS OU NÃO COM NATAMICINA

Resumo: A injeção de ar atmosférico durante a ensilagem de milho foi avaliada. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições, em esquema fatorial, com 3 tratamentos (C – controle, N4 – Natamicina a 4 g t⁻¹ e N8 – Natamicina a 8 g t⁻¹) e 2 condições (“com ar” e “sem ar”). Nos silos da condição com ar, foram injetados 40 mL dia⁻¹ de ar atmosférico, totalizando 2,6 L de ar injetado por silo. Trinta silos de PVC (8,48 L) equipados com dispositivos coletores de efluente e gases foram compactados manualmente com 5,4 kg de milho colhido e picado com concentração de matéria seca (MS) de 254 g kg⁻¹. Os silos foram armazenados por 66 dias. Avaliaram-se perdas fermentativas, volume de gás produzido (Gprod), composição do gás, concentração de compostos orgânicos voláteis (COV) e estabilidade aeróbia. A composição química da silagem foi avaliada em dois estratos (topo e fundo) correspondentes à metade da altura do silo. A Natamicina de forma geral teve efeito prejudicial sobre perdas e qualidade da silagem, alterou o perfil fermentativo dos COV de menor concentração e não influenciou a estabilidade aeróbia das silagens. A injeção de ar teve como principal efeito a redução marginal da estabilidade aeróbia (P<0.05), mas não alterou as perdas fermentativas. O teor de MS e a composição das silagens diferiram entre estratos. No estrato topo, as silagens apresentaram maiores concentrações de MS e FDN e menores concentrações de cinzas e PB do que as silagens do estrato fundo. A injeção de ar promoveu maior concentração de PB, mas não influenciou MS, FDN, FDA e cinzas. O volume de ar injetado nos silos não foi recuperado, e pode ter sido absorvido pela silagem. Com base neste estudo, não se recomenda o uso de Natamicina como aditivo para silagem de milho.

Palavras-chave: compostos orgânicos voláteis, estabilidade aeróbia, gás, perdas fermentativas

6.1 EFFECT OF AIR INFLUX AND ADDITION OF NATAMYCIN ON CORN SILAGE FERMENTATION AND AEROBIC STABILITY

Abstract: This study aimed to evaluate air injection during corn ensilage. Experimental design was completely randomized with five replicates, in a factorial arrangement with three treatments (C – no additive; N4 – Natamycin at 4 g t⁻¹ and N8 – Natamycin at 8 g t⁻¹) and two conditions (with or without daily air injection of 40 mL d⁻¹). The total volume of air injected was 2.6 L silo⁻¹. Thirty PVC silos (8.48 L) equipped with gas and effluent collection device were manually filled with 5.4 kg of chopped corn, harvested at 254 g kg⁻¹ DM content. Silos were stored for 66 days. Fermentation losses, volume of gas produced during storage, gas composition, fermentation end-products and aerobic stability were measured. Silage chemical composition was determined in two layers (top and bottom), which corresponded to half of the silo height. The additive generally had detrimental effect on silage quality and losses; altered trace fermentation products and did not influence the aerobic stability. Air injection marginally reduced the aerobic stability (P<0.05) but had no effect on fermentation losses. Dry matter (DM) content and silage composition differed between top and bottom layers. Top layer silages had higher concentrations of DM and neutral detergent fiber (NDF) and lower concentrations of ash and crude protein (CP) than the bottom layer silages. Air injection promoted higher concentrations of CP, but did not influence fiber and ash contents. The volume of air injected in the silos was not recovered, and might have been absorbed by the silage. Based in this study, Natamycin is not recommended as additive for corn silage.

Key words: aerobic stability, fermentative losses, gas, volatile organic compounds

6.2 INTRODUÇÃO

O grau de anaerobiose atingido e mantido durante a ensilagem é considerado o fator mais importante para a eficiência do processo de conservação (Woolford, 1990), pois é a única forma de as bactérias ácido-láticas (BAL) dominarem a fermentação (McDonald et al., 1991). McDonald et al. (1991) identificam quatro fases em que o oxigênio entra em contato com a silagem: fase de campo, fase aeróbia inicial no silo, fase de infiltração de ar no silo e fase de deterioração aeróbia após a abertura. Nas silagens de milho, a fase de campo não costuma ser importante, pois a forragem é ensilada diretamente, sem a necessidade

de pré-secagem. A fase aeróbia inicial no silo depende principalmente do tempo decorrido do início do enchimento até a vedação. O grau de compactação obtido no silo influencia a quantidade de ar aprisionado entre as partículas, pois está linear e inversamente correlacionado com a porosidade (Williams, 1994); mas o oxigênio aprisionado é rapidamente consumido pelos sistemas respiratórios da planta e dos microrganismos aeróbios (McDonald et al., 1991). Já a fase de infiltração de ar no silo é influenciada pelo tipo de vedação utilizada, pela manutenção dessa vedação ao longo de todo o período de armazenamento e pela porosidade da massa. Segundo Woolford (1990) a diferença entre a recomendação técnica de fazer uma vedação perfeita e a dificuldade de realmente atingi-la ilustra a eterna diferença entre o que se pode realizar na teoria e na prática. Segundo Green et al. (2012), as perdas ocasionadas por infiltração de ar no silo ainda constituem um dos maiores problemas que influenciam na qualidade da silagem. A fase de deterioração após a abertura é influenciada por fatores físicos, bioquímicos, microbiológicos e de manejo (Wilkinson e Davies, 2013). O papel das leveduras, principalmente aquelas que metabolizam ácidos, como iniciadoras da deterioração aeróbia já é bem documentado, embora bactérias também possam desempenhar papel importante (McDonald et al., 1991).

Nos silos tipo trincheira e superfície, a infiltração de ar durante o período de armazenamento ocorre através da lona, principalmente se exposta ao sol, e através de furos e avarias, devido ao acesso de animais ou pessoas descuidadas. A permeabilidade de lonas comuns foi comparada com a de um filme barreira de oxigênio por Borreani et al. (2007), que correspondeu a $990 \text{ e } 100 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (23°C e 85% de umidade relativa), respectivamente. Green et al. (2012) avaliaram a temperatura e a concentração de oxigênio em silagens de milho por sensores sem fio em dois silos de superfície, um dos quais contendo um furo de 1 cm de diâmetro no centro da lona. A concentração de oxigênio avaliada a 10 cm de profundidade no centro do silo chegou a zero após três dias no silo intacto e permaneceu em torno de 16% durante os 34 dias de armazenamento no silo danificado.

A forma mais comum e mais prática de avaliar perdas fermentativas e estabilidade aeróbia é através de silos laboratoriais, pois são baratos, permitindo avaliação de mais tratamentos, com mais repetições, e são portáteis, permitindo avaliação em várias localidades (Xiccato et al., 1994). O maior controle sobre fontes externas de variação aumenta a sensibilidade do método, mas afasta o modelo das

condições reais dos silos de grande porte, impossibilitando a extrapolação de resultados. Rodrigues et al. (2002) compararam silos laboratoriais com um silo trincheira amostrado em dois estratos: superficial (30 cm) e profundo (60 cm de profundidade a partir da superfície) em silagens de capim-elefante. Observaram diferenças no perfil fermentativo entre os diferentes tipos de silos experimentais, mas não tão grandes quando as diferenças entre os dois estratos do silo em trincheira. Xiccato et al. (1994) também avaliaram, em silagens de milho, a diferença de silos de grande porte (“bunker”) e quatro tipos de silos laboratoriais em quatro fazendas. De forma geral, os silos “bunker” apresentaram menor pH e menor concentração de produtos da fermentação do que os silos laboratoriais. Estes silos foram feitos com diferentes graus de vedação, desde vedação simples com lona plástica (não hermética) até vedação perfeita (hermética); e encontraram uma fermentação mais homolática quando mais bem vedado fosse o silo. Para avaliar se a fermentação foi mais homolática ou heterolática, Xiccato et al. (1994) utilizaram o índice homolático (IH), calculado pela razão entre a concentração de ácido láctico e a soma das concentrações de ácido acético e etanol.

Práticas de manejo, como dimensionamento correto do silo, colheita realizada no momento adequado, compactação e vedação eficientes e cuidado no descarregamento da silagem, sabidamente reduzem a exposição da silagem ao ar, reduzindo a degradação aeróbia. O uso de aditivos, porém, é um dos fatores mais pesquisados, por incentivo financeiro das empresas, naturalmente interessadas nesse apelo comercial. *Lactobacillus buchneri*, uma espécie heterolática usada como inoculante, possui efeito bem documentado de aumento na estabilidade aeróbia de silagens de milho (Kleinschmit et al., 2005; Reich e Kung, 2010; Schmidt e Kung Jr., 2010; Tabacco et al., 2011). O efeito dessa bactéria é obtido pela maior produção de ácido acético, que tem efeito antifúngico quando na forma molecular (não dissociada).

Por essa lógica, outros compostos com a capacidade de inibir crescimento de fungos e leveduras também podem apresentar benefício na qualidade e estabilidade aeróbia de silagens. A Natamicina é uma bacteriocina produzida por bactérias do gênero *Streptomyces*, como *S. chattanovgensis*, *S. natalensis*, *S. gilvosporeus* e, mais recentemente, *S. lydicus* (Lu et al., 2008). Também conhecida como pimarcina, é um polieno macrolídeo que age formando complexos com o

ergosterol da membrana de fungos, o que altera sua permeabilidade e provoca morte celular por vazamento de íons inorgânicos e metabólitos (Oostendorp, 1981).

Pinto (2014) avaliou o uso de Natamicina e *L. buchneri* isoladamente ou combinados em silagens de milho em silos laboratoriais. A combinação dos dois aditivos resultou em redução de perda de MS e redução da população de leveduras até o 3º dia pós-abertura. No entanto, a Natamicina isoladamente não reduziu a concentração de leveduras em silos trincheira durante a utilização da silagem. Em outro experimento com silagem de milho em silos laboratoriais, a adição de Natamicina a 8 g t⁻¹ MV elevou (P<0,05) a estabilidade aeróbia de 93,6 (controle) para 146,4 horas (Novinski et al., 2012). Aparentemente a pesquisa sobre o uso de Natamicina em silagens está em fase inicial, porém Oostendorp (1981) e McDonald et al. (1991) já citavam o uso dessa substância para melhorar a estabilidade aeróbia de silagens.

O objetivo neste estudo foi avaliar o efeito da Natamicina sobre perdas fermentativas estimadas, volume e composição do gás produzido na fermentação, produtos da fermentação, qualidade e estabilidade aeróbia de silagens de milho sob duas condições: vedação hermética e infiltração simulada de oxigênio através de injeção diária de ar atmosférico nos silos laboratoriais.

6.3 MATERIAL E MÉTODOS

Trinta silos com dispositivos coletores de gases e de efluentes (DCG e DCE) foram construídos conforme descrito na seção 3.3.1. O híbrido de milho 2B655HX (Dow Agrosciences, EUA) foi colhido e picado, por ensiladeira acoplada ao trator, com teor de MS (corrigido a 105°C) de 254 g kg⁻¹. O delineamento experimental inteiramente casualizado com arranjo fatorial, com três tratamentos, duas condições e cinco repetições. A forragem picada foi separada em três pilhas para a aplicação dos tratamentos: Controle (C), Natamicina a 4 g t⁻¹ (N4) e Natamicina a 8 g t⁻¹ (N8). À forragem do tratamento controle, foi aplicado o volume de água não clorada referente a 2 L t⁻¹ MV. O mesmo volume de água foi utilizado na diluição do aditivo nos outros dois tratamentos. Os tratamentos foram aplicados asséptica e uniformemente na forragem espalhada em lonas de polietileno por meio de borrifadores manuais.

Após a aplicação, a forragem de cada tratamento foi homogeneizada e amostrada para determinação de MS, pH e composição química. Foram confeccionados dez silos por tratamento (com $5,41 \pm 0,03$ kg MV cada), cinco para cada condição: com (CA) ou sem (SA) injeção diária de ar no silo. Após o enchimento, os silos foram fechados, pesados e vedados com adesivo selante elástico e acoplados aos respectivos DCG. A produção de gases foi aferida conforme descrito na seção 3.3.3, à temperatura ambiente média de $22,9 \pm 1,0^\circ\text{C}$. Nos quinze silos alocados na condição CA, foram injetados 20 mL de ar atmosférico por dia até o 20º dia pós-ensilagem, e 40 mL por dia do 21º até o último dia do período de armazenamento (66 dias), totalizando 2,60 L de ar injetados por silo. A dosagem de ar aplicada (2200 cm^3 de ar $\text{m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ em relação à área da tampa do silo: $0,0177 \text{ m}^2$) corresponde, aproximadamente, ao dobro da permeabilidade de uma lona preta a 25°C (1039 cm^3 de oxigênio $\text{m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) determinada experimentalmente por Amaral (2011).

Ao 14º dia de fermentação, foi coletada uma amostra de gás de cada silo, para determinação da composição gasosa. As amostras de gás foram coletadas com uma seringa acoplada a uma válvula de três vias, e injetadas em tubos de vácuo com tampas de borracha. O volume injetado foi suficiente para criar uma pressão positiva dentro dos tubos. As válvulas do silo e da seringa foram manipuladas de forma a não permitir trocas gasosas com o ambiente. As amostras foram enviadas ao Laboratório de Análise de Solos da UFRGS, e analisadas por cromatografia gasosa (GC 14-A, Shimadzu, Japão) para determinação das concentrações de gás carbônico (CO_2), metano (CH_4) e óxido nitroso (N_2O).

O pH da água em que a proveta do DCG permaneceu submersa foi aferido antes e depois do período de armazenamento. A redução do pH da água (RwpH) foi calculada por subtração simples ($\text{pH}_{\text{inicial}} - \text{pH}_{\text{final}}$).

Após o período de armazenamento, os silos foram pesados, abertos e fotografados. O silo foi virtualmente dividido em dois estratos: topo (T) e fundo (F), correspondentes à metade da altura útil do silo. Os estratos T e F foram retirados e homogeneizados separadamente. O conjunto foi pesado após a retirada total da silagem (tara úmida) para estimativa da produção de efluentes. As silagens do topo e do fundo do silo foram amostradas para determinação de teor de MS, pH e composição química; e a concentração de compostos orgânicos voláteis (COV) foi

determinada apenas na silagem do estrato F. O processamento das amostras foi realizado conforme descrito na seção 3.3.4.

Para o ensaio de estabilidade aeróbia, as silagens do topo e do fundo do silo foram misturadas e homogeneizadas, compondo uma unidade por silo. Em baldes plásticos de 20 L, foram acondicionados 3 kg de silagem, com um data-logger (EL-USB, Lascar, Inglaterra) posicionado no centro da massa; o restante da silagem foi armazenado no próprio silo, sem tampa, para determinação do pH ao longo do período de exposição aeróbia. Os baldes e silos foram mantidos em sala de temperatura controlada ($24,1 \pm 1,9^{\circ}\text{C}$). A temperatura foi registrada a cada cinco minutos durante 168 horas. O pH foi determinado nos dias 0, 2, 4, 6 e 7 pós-abertura. A estabilidade aeróbia (EA) foi calculada como o tempo necessário para a temperatura da silagem superar em 2°C a temperatura ambiente. A temperatura acumulada (Tac) foi calculada pela soma das diferenças positivas entre a temperatura da silagem e a temperatura ambiente. A temperatura máxima (Tmax) da silagem durante o período de avaliação também foi registrada.

As análises bromatológicas e estimativas de perdas foram realizadas conforme descrito nas seções 3.3.6 e 3.3.7, respectivamente; porém, não foi calculado o teor de MS corrigido para perda de COV em estufa, uma vez que apenas a concentração de COV foi analisada somente nas silagens do estrato fundo dos silos.

As análises estatísticas foram realizadas através do programa SAS 9.3. A normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE), e a homogeneidade de variância foi avaliada pela metodologia de Box-Cox (PROC TRANSREG). Transformações de variáveis e adição de unidades foram utilizadas quando necessário. A composição bromatológica, o pH e o teor de MS foram analisados com base em 60 valores (3 tratamentos x 2 condições x 5 repetições x 2 extratos). As demais variáveis foram analisadas com base em 30 valores (3 tratamentos x 2 condições x 5 repetições). As médias das variáveis com efeitos significativos na análise de variância ($P < 0,05$) foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância (PROC GLM). As variáveis com interações significativas foram desdobradas e comparadas da mesma forma. Todas as variáveis foram relacionadas pela análise de correlação de Pearson (PROC CORR). Correlações foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

6.4 RESULTADOS

O teor de MS, a composição química e o pH da forragem pré-ensilagem estão apresentados na Tabela 6.1. As médias são referentes a seis amostras, duas por tratamentos.

As médias das variáveis avaliadas nas silagens de milho e os efeitos de tratamento (T), condição (C) e interação (T x C) estão apresentados na Tabela 6.2. O teor de MS e o pH apresentados nesta tabela foram obtidos pela média dos estratos topo e fundo de cada silo. As médias por tratamento das variáveis cujo efeito de tratamento foi significativo estão apresentadas na Tabela 6.3. As médias por condição das variáveis cujo efeito de condição foi significativo estão apresentadas na Tabela 6.4.

Tabela 6.1. Características do milho antes da ensilagem.

Variável ¹	Média	DP	Mínimo	Máximo	EPM ²
pH	5,72	0,08	5,60	5,85	0,03
MS (g kg ⁻¹)	254	4,3	247	258	1,8
Cinzas (g kg ⁻¹ MS)	35,5	2,2	32,1	38,2	0,9
FDN (g kg ⁻¹ MS)	558	21,7	537	591	8,8
FDA (g kg ⁻¹ MS)	288	13,4	272	308	5,5
PB (g kg ⁻¹ MS)	73,9	5,9	67,6	82,3	2,4

¹ MS = teor de matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta. ² Erro padrão da média.

Dentre os COV, houve efeito de interação para 2,3-butanodiol, ácido propiônico, ácido fórmico, 1,2-propanodiol, ácido butírico, ácido valérico, ácido isovalérico e índice homolático. Dentro da condição com ar, houve diferença de tratamento na concentração de 1,2-propanodiol (mg kg⁻¹ MScorr), que foi maior nos tratamentos C (179) e N4 (143) em relação ao tratamento N8 (100); e no índice homolático, que foi maior no tratamento C (2,66) do que no tratamento N8 (2,31). Dentro da condição sem ar, todos os COV mencionados apresentaram diferença entre tratamentos (Tabela 6.5).

Tabela 6.2. Silagem de milho. Variáveis referentes ao silo: efeitos de tratamento (T), condição (C) – com ou sem injeção de ar e interação (T x C).

Variável ¹	Média ± DP	T	C	T x C
pH	3,66 ± 0,02	NS	NS	*
ME (kg m ⁻³)	638 ± 3,7	NS	NS	NS
MS (g kg ⁻¹)	267 ± 5,6	****	NS	NS
PMS (g kg ⁻¹ MS)	-43,8 ± 23,4	****	NS	NS
PG (g kg ⁻¹ MS)	-47,6 ± 22,0	****	NS	NS
PGtrad (g kg ⁻¹ MS)	17,1 ± 2,0	NS	NS	NS
PE (kg t ⁻¹ forage)	3,60 ± 2,43	***	NS	NS
GProd (L kg ⁻¹ MS)	4,69 ± 0,57	NS	NS	NS
CO ₂ (%)	34,2 ± 2,21	NS	*	NS
CH ₄ (ppm)	3,04 ± 0,29	*	NS	NS
N ₂ O (ppm)	317 ± 165	NS	NS	NS
RwpH	3,49 ± 0,32	NS	**	NS
EA (h)	67,8 ± 5,3	NS	*	NS
Tac (°C)	3023 ± 404	NS	NS	NS
Tmax (°C)	36,8 ± 0,4	NS	NS	NS
PMSest (g kg ⁻¹ MS)	95,1 ± 21,2	NS	NS	**
pH_d2	3,79 ± 0,05	NS	NS	NS
pH_d4	6,07 ± 0,34	NS	NS	NS
pH_d6	6,04 ± 0,21	NS	NS	NS
pH_d7	6,07 ± 0,24	NS	*	NS
(g kg ⁻¹ MScorr)				
Ácido láctico	73,5 ± 7,6	****	*	NS
Ácido acético	20,6 ± 2,4	NS	NS	NS
Etanol	7,9 ± 1,0	NS	NS	NS
(mg kg ⁻¹ MScorr)				
2,3-Butanodiol	523 ± 99	**	NS	**
Ácido propiônico	226 ± 121	NS	NS	*
Metanol	221 ± 26	****	NS	NS
Ácido fórmico	192 ± 57	**	*	**
1,2-Propanodiol	146 ± 54	****	NS	*
Lactato de etila	117 ± 11	**	NS	NS
Ácido butírico	79 ± 106	**	NS	*
Acetato de etila	72 ± 23	NS	NS	NS
Ácido isovalérico	50 ± 90	**	NS	*
Ácido valérico	47 ± 88	***	NS	*
Ácido isobutírico	37 ± 64	**	NS	NS
Acetona	30 ± 18	**	NS	NS
Álcool isopropílico	19 ± 13	*	NS	NS
2-Butanol	6 ± 4	NS	NS	NS
Acetato de propila	0 ± 0	NS	NS	NS
Índice Homolático	2,59 ± 0,29	NS	NS	**

¹ ME = massa específica; MS = teor de matéria seca; PMS = perda de matéria seca; PG = perda por gases; PGtrad = perda por gases calculada pela equação “tradicional”; PE = perda por efluente; GProd = volume de gás produzido durante o armazenamento; CO₂, CH₄ e N₂O = concentrações de gás carbônico, metano e óxido nitroso no gás produzido pela silagem; RwpH = redução da pH da água de imersão do reservatório de gás; EA = estabilidade aeróbia; Tac = temperatura acumulada; Tmax = temperatura máxima da silagem durante exposição aeróbia; PMSest = perda de MS durante exposição aeróbia; pH_d2, 4, 6 e 7 = pH da silagem nos correspondentes dias após abertura. As concentrações de 1-propanol estiveram abaixo do limite de detecção. * = P<0,05; ** = P<0,01; *** = P<0,001; **** = P<0,0001; NS = P≥0,05.

Tabela 6.3. Silagem de milho. Variáveis referentes ao silo: médias por tratamento.

Variável ¹	C	N4	N8	EPM ²
MS (g kg ⁻¹)	273 ^a	263 ^b	265 ^b	1,0
PMS (g kg ⁻¹ MS)	-58,3 ^b	-16,5 ^a	-56,8 ^b	4,3
PG (g kg ⁻¹ MS)	-60,8 ^b	-22,4 ^a	-59,5 ^b	4,0
PE (kg t ⁻¹ forage)	2,40 ^b	5,82 ^a	2,59 ^b	0,44
CH ₄ (ppm)	2,86 ^b	3,05 ^{ab}	3,22 ^a	0,05
Ácido láctico (g kg ⁻¹ MScorr) (mg kg ⁻¹ MScorr)	67,4 ^b	80,4 ^a	72,7 ^b	1,4
2,3-Butanodiol	598 ^a	471 ^b	499 ^b	18
Metanol	199 ^c	243 ^a	220 ^b	5
Ácido fórmico	238 ^a	166 ^b	173 ^b	10
1,2-Propanodiol	206 ^a	132 ^b	98 ^c	10
Lactato de etila	108 ^b	123 ^a	120 ^a	2
Ácido butírico	155 ^a	47 ^{ab}	35 ^b	19
Ácido isovalérico	111 ^a	23 ^b	16 ^b	16
Ácido valérico	111 ^a	20 ^{ab}	10 ^b	16
Ácido isobutírico	83 ^a	17 ^b	12 ^b	12
Acetona	18 ^b	36 ^a	35 ^a	3
Álcool isopropílico	15 ^{ab}	27 ^a	14 ^b	2

¹ Siglas descritas na nota de rodapé da Tabela 6.2. ² Erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 6.4. Silagem de milho. Variáveis referentes ao silo: médias por condição.

Variável ¹	com ar	sem ar	EPM ²
CO ₂ (%)	33,3 ^b	35,1 ^a	0,40
RwpH	3,65 ^a	3,34 ^b	0,06
EA (h)	65,6 ^b	70,4 ^a	1,13
pH_d7	5,97 ^b	6,16 ^a	0,04
Ácido láctico (g kg ⁻¹ MScorr)	71,6 ^b	75,3 ^a	1,4
Ácido fórmico (mg kg ⁻¹ MScorr)	173 ^b	212 ^a	10

¹ Siglas descritas na nota de rodapé da Tabela 6.2. ² Erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 6.5. Concentração de COV (mg kg⁻¹ MS) e índice homolático em silagens de milho dentro da condição sem ar: médias por tratamento.

Variável	C	N4	N8	EPM ¹
2,3-Butanodiol	687 ^a	469 ^b	478 ^b	32
Ácido propiônico	394 ^a	177 ^b	201 ^{ab}	41
Ácido fórmico	300 ^a	156 ^b	179 ^b	19
1,2-Propanodiol	233 ^a	121 ^b	97 ^b	17
Ácido butírico	259 ^a	39 ^b	32 ^b	37
Ácido isovalérico	197 ^a	19 ^b	15 ^b	32
Ácido valérico	198 ^a	17 ^b	9 ^b	31
Ácido isobutírico	142 ^a	14 ^b	12 ^b	23
Índice homolático	2,36 ^b	2,86 ^a	2,75 ^{ab}	0,05

¹ Erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 6.6. Silagem de milho. Variáveis avaliadas nos estratos topo e fundo: efeitos¹ de tratamento (T), condição – com ou sem injeção de ar (C), extrato (E), interações “T x E” e “C x E”.

Variável ²	Média ± DP	T	C	E	T x E	C x E
pH	3,66 ± 0,04	NS	NS	NS	NS	NS
MS (g kg ⁻¹)	267 ± 9,5	****	NS	****	NS	NS
(g kg ⁻¹ MS)						
Cinzas	35,3 ± 1,8	****	NS	****	NS	NS
FDN	537 ± 27,5	*	NS	**	NS	NS
FDA	295 ± 13,0	NS	NS	NS	NS	NS
PB	80,3 ± 8,5	****	*	****	**	**

¹ Não houve efeito significativo das interações “T x C” e “T x C x E”. ² MS = teor de matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta. * = P<0,05; ** = P<0,01; *** = P<0,001; **** = P<0,0001; NS = P≥0,05.

Além dos COV supracitados, apenas a perda de MS na estabilidade (PMSest) e o pH da silagem apresentaram efeito da interação T x C (Tabela 6.9). Dentro da condição com ar, PMSest foi maior para N8 (113,2 g kg⁻¹ MS) em relação a N4 (69,1 g kg⁻¹ MS), e o tratamento C apresentou valor intermediário, semelhante aos outros dois tratamentos (97,6 g kg⁻¹ MS). Nesta mesma condição, o pH foi maior no tratamento C (3,67) em relação ao tratamento N8 (3,63), e intermediário no tratamento N4 (3,66). Ambas as variáveis foram semelhantes entre os três tratamentos dentro da condição sem ar.

As médias de teor de MS, pH e composição química das silagens amostradas nos estratos topo e fundo, bem como os efeitos de tratamento (T), condição (C), extrato (E) e interações estão apresentadas na Tabela 6.6. As variáveis que apresentaram efeito significativo (P<0,05) de T e E estão apresentadas nas Tabelas 6.7 e 6.8, respectivamente. Dentre as variáveis avaliadas por extrato, a única afetada por condição foi a concentração de proteína bruta (PB), que foi maior na condição com ar (81,2 g kg⁻¹ MS) do que na condição sem ar (79,3 g kg⁻¹ MS). O desdobramento dos efeitos de interação observados na PB está apresentado na Tabela 6.10.

Tabela 6.7. Silagem de milho. Variáveis avaliadas nos estratos topo e fundo: médias por tratamento.

Variável ¹	C	N4	N8	EPM ²
MS (g kg ⁻¹)	273 ^a	263 ^b	265 ^b	1,2
Cinzas (g kg ⁻¹ MS)	33,9 ^b	35,7 ^a	36,2 ^a	0,2
FDN (g kg ⁻¹ MS)	529 ^b	533 ^{ab}	549 ^a	3,5
PB (g kg ⁻¹ MS)	77,9 ^b	79,8 ^b	83,1 ^a	1,1

¹ MS = teor de matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; PB = proteína bruta. ² Erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 6.8. Silagem de milho. Variáveis avaliadas nos estratos topo e fundo: médias por extrato.

Variável ¹	Topo	Fundo	EPM ²
MS (g kg ⁻¹)	274 ^a	260 ^b	1,2
Cinzas (g kg ⁻¹ MS)	34,5 ^b	36,1 ^a	0,2
FDN (g kg ⁻¹ MS)	546 ^a	528 ^b	3,5
PB (g kg ⁻¹ MS)	72,8 ^b	87,7 ^a	1,1

¹ MS = teor de matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; PB = proteína bruta. ² Erro padrão da média. Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 6.9. Desdobramento das interações tratamento (T) x condição (C) para a perda de matéria seca durante a exposição aeróbia (PMSest) e pH da silagem.

Tratamento	PMSest (g kg ⁻¹ MS)		pH	
	com ar	sem ar	com ar	sem ar
C	97,6 ^{ab}	99,3	3,67 ^a	3,66
N4	69,1 ^b	106	3,66 ^{ab}	3,66
N8	113 ^a	85,2	3,63 ^b	3,67

Médias com letras sobrescritas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

Tabela 6.10. Desdobramento das interações significativas para PB (g kg⁻¹ MS): extrato x tratamento e extrato x condição.

Extrato	Tratamento			Condição	
	C	N4	N8	com ar	sem ar
Topo	69,7 ^b	71,2 ^b	77,5 ^a	74,8 ^A	70,8 ^B
Fundo	86,1 ^b	88,4 ^a	88,7 ^a	87,6 ^A	87,8 ^A

Médias por tratamento ou por condição com letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Todo o volume de gás produzido (Gprod) durante a fermentação esteve concentrado nos primeiros cinco dias de armazenamento (Figura 6.1). Após esse período, foram realizadas avaliações diárias do nível de gás medido na proveta, mas sem a necessidade de esvaziamento do reservatório. Os níveis médios de gás aferidos nas condições com ar e sem ar, bem como a temperatura ambiente no momento da leitura estão ilustrados na Figura 6.2. Ao final do pico de produção de

gases, as provetas não foram completamente esvaziadas. O volume residual de 200 mL foi deixado no DCG de cada silo para evitar que a água fosse sugada por pressão negativa dentro do silo. Os silos da condição sem ar progressivamente absorveram o volume de gás residual, reduzindo o nível a zero no 18º dia de fermentação. Após esse dia, formou-se uma pressão negativa (magnitude não aferida), que resultava em sucção da água pela mangueira conectada ao silo. As válvulas foram verificadas diariamente, através de rápida abertura, para não permitir a entrada de água nos silos. As válvulas dos silos da condição com ar foram mantidas abertas ou fechadas de acordo com o volume residual do reservatório, também com a finalidade de evitar a sucção de ar pelo silo. A variação de volume residual pareceu acompanhar a variação da temperatura ambiente. Do 6º ao 66º dia de fermentação, foram injetados 2,3 L de ar atmosférico em cada silo da condição com ar. Porém, o nível de gás residual no reservatório variou, em média, de 100 para 167 mL no mesmo período.

A composição média da amostra de gás coletada no 14º dia de fermentação (Tabela 6.2) está ilustrada na Figura 6.3.

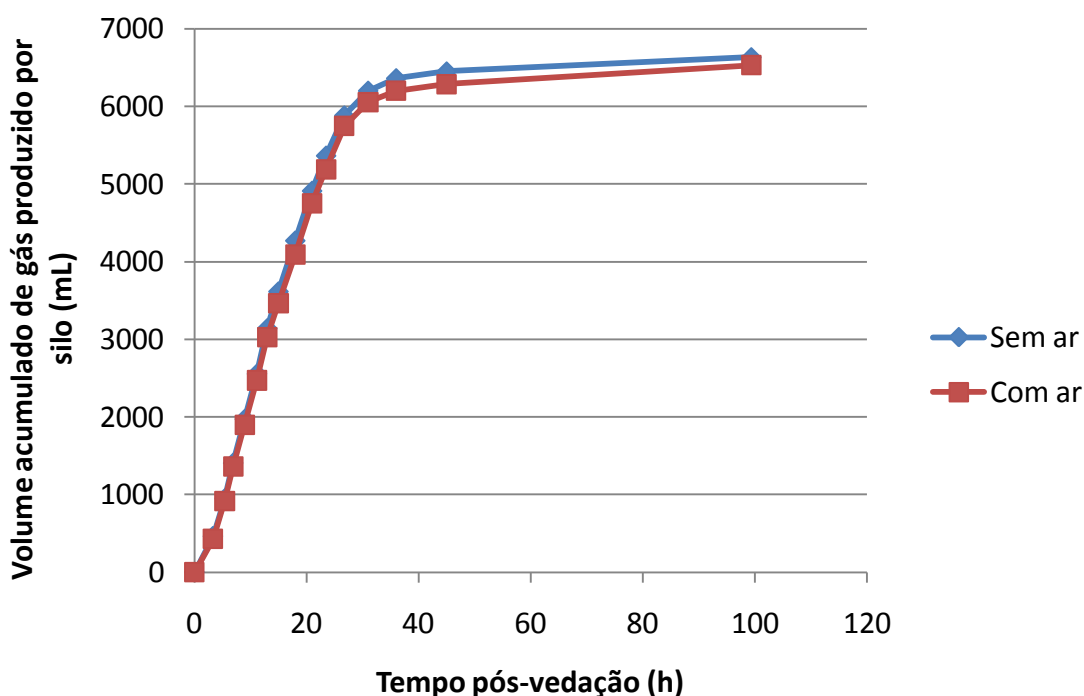


Figura 6.1. Volume acumulado de gás produzido na ensilagem de milho.

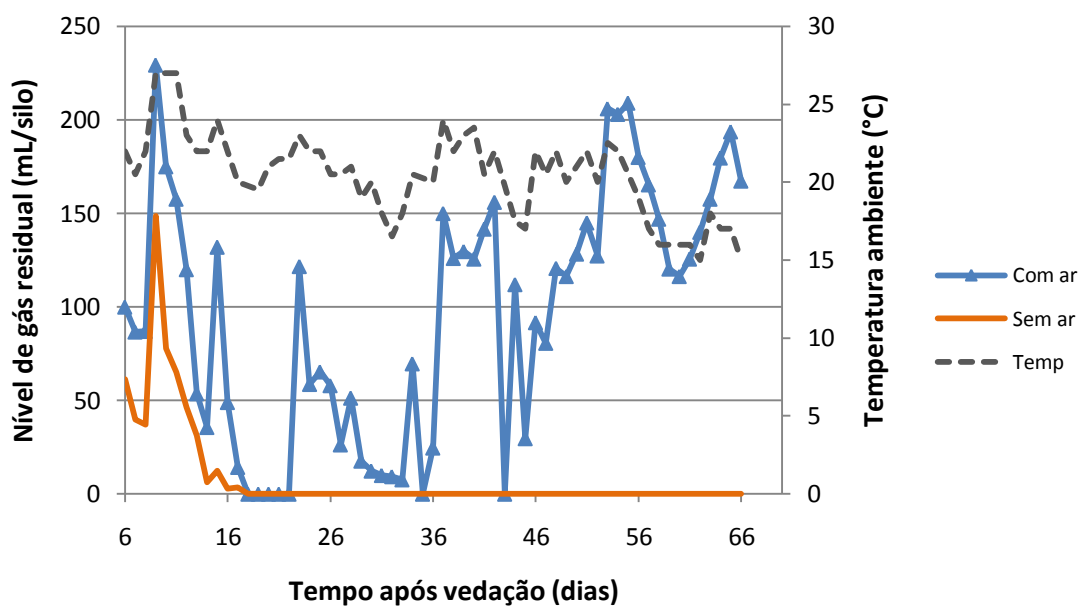


Figura 6.2. Nível de gás residual por silo, sem esvaziamento do reservatório.

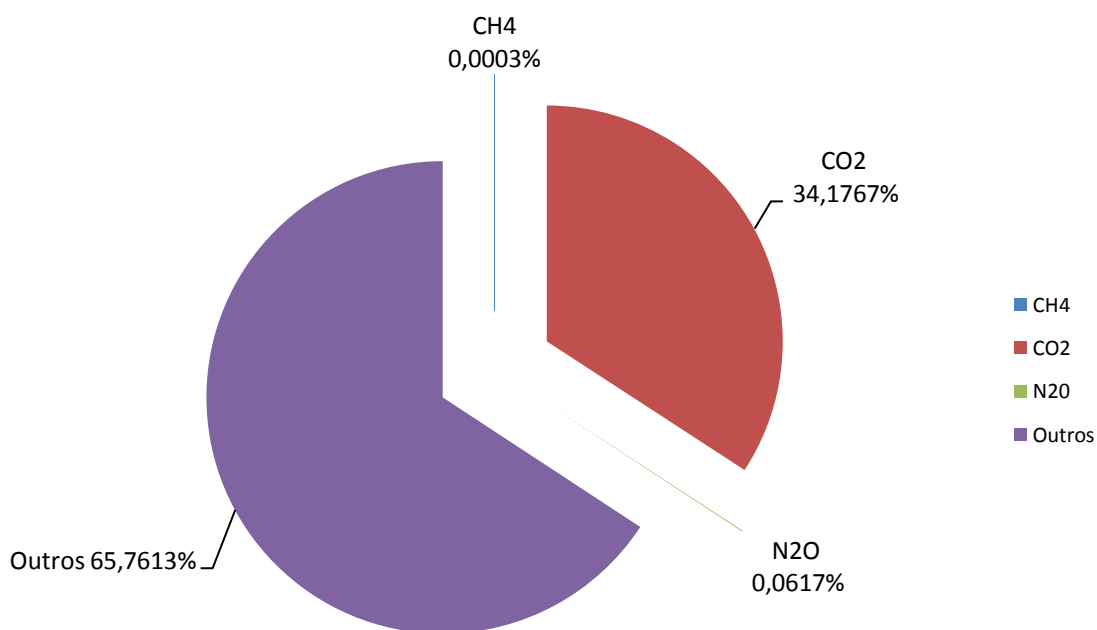


Figura 6.3. Composição média dos gases produzidos na ensilagem de milho no 14º dia de fermentação.

As correlações de Pearson entre as variáveis de perdas fermentativas estão apresentadas na Tabela 6.11. As variáveis Gprod e PGtrad não estiveram significativamente correlacionadas com as demais variáveis de perda.

Tabela 6.11. Coeficientes de correlação de Pearson entre variáveis¹ de perdas de silagem de milho

	MS	PMS	PG	PE	PMSest
MS	-	****	****	*	*
PMS	-0,74	-	****	****	**
PG	-0,75	0,996	-	**	**
PE	-0,37	0,64	0,57	-	
PMSest	0,48	-0,60	-0,61	NS	-

¹ MS = teor de matéria seca; PMS = perda de matéria seca; PG = perda por gases; PE = perda por efluentes; PMSest = perda de MS após período de exposição aeróbia. * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001; **** P<0,0001.

6.5 DISCUSSÃO

6.5.1 Composição química da forragem

O teor de MS médio da forragem foi menor do que a faixa normalmente recomendada (300 a 350 g kg⁻¹). A composição química, no entanto, esteve próxima aos valores encontrados por Velho et al. (2006) e Silva et al. (2005), que utilizaram forragens com teor de MS em torno de 305 g kg⁻¹.

Híbridos modernos de milho apresentam característica *staygreen* marcante, onde a planta apresenta senescência tardia de folhas e, conseqüentemente, maior teor de umidade no momento ideal de corte, com base no enchimento do grão (Arriola et al., 2012). Dessa forma, a recomendação tradicional do teor de MS para colheita (30 a 35% de MS) pode estar defasada.

6.5.2 Composição química da silagem

O teor de MS médio das silagens foi superior em 13,2 g kg⁻¹ em relação ao da forragem. O aumento no teor de MS após a ensilagem não é esperado e pode ser decorrente de erro amostral da forragem fresca. As concentrações médias de cinzas e FDA mantiveram-se próximas às da forragem, mas a concentração média de FDN reduziu de 558 para 537 g kg⁻¹ MS após a ensilagem. Tanto o aumento no teor de MS como a redução de FDN e manutenção de FDA também foram observados por Rodrigues et al. (2004). Essa variação na composição de fibras corresponde a uma redução na concentração de hemicelulose, que pode ser degradada por enzimas (hemicelulases) presentes na planta ou proveniente de

bactérias, ou mais provavelmente por hidrólise ácida promovida pelos produtos da fermentação (McDonald et al., 1991).

O tratamento com Natamicina em ambas as doses reduziu os teores de MS e elevou os teores de cinzas. A dose de 8 g t⁻¹ produziu silagens com maiores concentrações de FDN e PB, em relação ao tratamento C. A composição da silagem, com exceção da concentração de FDA, diferiu entre os estratos topo e fundo. Como o esperado, o estrato fundo abrigou silagem mais úmida, devido ao escoamento de líquidos para o fundo do silo. Esse fenômeno também explica as maiores concentrações de PB e cinzas no estrato fundo, já que minerais e compostos nitrogenados solúveis são carregados com a fase líquida da silagem para o fundo do silo. A maior concentração de FDN no topo do silo pode estar associada a uma menor concentração de carboidratos não estruturais, ou à menor hidrólise de hemicelulose.

A concentração de PB foi a variável com mais efeitos de interação. Em ambos os estratos, PB foi maior no tratamento N8 do que no tratamento C, mas a diferença foi mais pronunciada no estrato topo. O tratamento N4 promoveu concentrações intermediárias de PB, que foi semelhante a N8 no fundo e a C no topo. No estrato fundo, a condição (com ar ou sem) não influenciou a concentração de PB. No estrato do topo, a injeção de ar promoveu maior PB em relação à condição sem ar. O ar atmosférico injetado nos silos é composto de 78% de nitrogênio (N). Como o ar injetado não foi recuperado, é possível, embora não comprovado, que o N tenha sido fixado por um processo biológico na silagem. A fixação biológica de N é um fenômeno bastante conhecido. A fixação anaeróbica de nitrogênio por bactérias celulolíticas isoladas de solo de floresta e de lodo de água fresca foi descrita por Leschine et al. (1988) Minamisawa et al. (2004) reportaram a descoberta da fixação anaeróbica de N₂ por bactérias do gênero *Clostridium* isoladas de gramíneas. A presença desse fenômeno no processo de ensilagem ainda não foi estudada, tornando necessário um estudo mais profundo para buscar cepas fixadoras de nitrogênio nas condições hostis do ambiente fermentativo da silagem.

6.5.3 Produtos da fermentação

O ácido láctico foi o produto da fermentação de maior concentração, o que condiz com o pH médio de 3,66, demonstrando que todas as silagens fermentaram adequadamente. O efeito de interação observado no pH, embora significativo, foi de pequena magnitude e sem importância biológica. Dentre os COV mais representativos (ácido láctico, ácido acético e etanol), apenas o ácido láctico diferiu entre tratamentos, sendo maior no tratamento N4 quando comparado aos demais tratamentos. A concentração média de ácido acético foi próxima às encontradas por Parvin et al. (2010) e Junges et al. (2013), que avaliaram a ensilagem de milho com teores de MS pré-ensilagem de 34,7 e 30,7%, respectivamente. As concentrações de ácido láctico obtidas por Junges et al. (2013) foram próximas às deste estudo, mas as obtidas por Parvin et al. (2010) foram quatro vezes menores, provavelmente pelo maior teor de MS da forragem. No presente ensaio, o teor de MS da silagem esteve inversamente correlacionado à concentração de ácido láctico (-0,59).

De forma geral, o uso do aditivo elevou as concentrações de metanol, lactato de etila e acetona e reduziu as concentrações de 2,3-butanodiol, 1,2-propanodiol e ácidos fórmico, butírico, isobutírico, valérico e isovalérico. Apesar de não significativo, houve tendência de efeito de tratamento para o índice homolático ($P = 0,0788$), com valores médios de 2,51; 2,73 e 2,53 nos tratamentos C, N4 e N8, respectivamente. Embora apenas o etanol, o ácido láctico e o ácido acético entrem no cálculo desse índice, a redução de compostos secundários, como o 1,2-propanodiol e o 2,3-butanodiol podem indicar que o aditivo direcionou a fermentação no sentido homolático.

A injeção de ar reduziu ($P < 0,05$) sutilmente as concentrações dos ácidos láctico e fórmico. Segundo McDonald et al. (1991), Streptococci, pediococci e alguns lactobacilli utilizam a via glicolítica em baixas tensões de oxigênio, produzindo ácido láctico como principal produto; mas conservam a capacidade genética de produzir etanol, formato e acetato em condições de baixa disponibilidade de glucose, convertendo a fermentação homolática em heterolática.

6.5.4 Perdas fermentativas, produção e composição de gases

As estimativas de perda de matéria seca (PMS) e perda por gases (PG) resultaram em valores negativos em todas as unidades experimentais. A ocorrência de valores negativos para perdas estimadas é recorrente na pesquisa, mas normalmente esses não são apresentados. Optamos por apresentar todos os valores, pois um dos nossos objetivos é comparar as diferentes metodologias de avaliação de perdas. As possíveis fontes de erro incluem amostragem e secagem em estufa. O tratamento N4 elevou as perdas quando comparado aos tratamentos C e N8.

As perdas por gases calculadas pela equação “tradicional” (PGtrad) foram pequenas e não diferiram entre tratamentos. O volume de gás produzido na fermentação (Gprod) também foi pequeno, e similar ao observado no experimento com capim-elefante (capítulo 3). Assim como no referido experimento, todo o volume de gás foi produzido em menos de cinco dias após a vedação. O fenômeno relatado de pressão negativa resultante nos silos da condição sem ar após o período de armazenamento já foi observado em outros experimentos realizados por nossa equipe (dados não publicados), tanto em silos tipo saco a vácuo, como em silos experimentais em PVC hermeticamente vedados. Não foram encontrados relatos na literatura desse fenômeno. Contudo, a fixação anaeróbica de N_2 (Minamisawa et al., 2004) e CO_2 (Hu et al., 2013) são fenômenos conhecidos e que podem ser responsáveis pela incorporação de gases em silagens. Contudo, a presença desses fenômenos em silagens precisa ser mais bem estudada.

A PMS e a PG estiveram altamente correlacionadas, como nos experimentos anteriores (capítulos 3 a 5). A perda por efluentes, (PE), embora de pequena magnitude, esteve positivamente correlacionadas com PMS e PG. Gprod e PGtrad não estiveram correlacionados significativamente entre si, mas segundo essas duas metodologias, não houve diferença de perdas entre tratamentos ou condição. Ao contrário do observado no experimento com silagens de azevém (capítulo 4), não está tão claro qual das metodologias representa melhor a realidade. Ao observarmos apenas o perfil fermentativo das silagens, o aumento na concentração de ácido lático e a redução nas concentrações de seis produtos da fermentação heterolática promovidos pelo tratamento N4 deveriam ter reduzido as perdas neste tratamento. Numericamente, as perdas por gases das silagens

aditivadas foram maiores de acordo com PGtrad ($P = 0,90$) e menores de acordo com Gprod ($P = 0,86$), quando comparadas às silagens controle, mas todas estatisticamente semelhantes. As alterações do perfil fermentativo podem ter sido insuficientes para reduzir as perdas. Dentre as metodologias de avaliação de perdas, PGtrad e Gprod não dependem de amostragem da silagem para determinação de MS em estufa como as perdas estimadas PMS e PG, o que torna aquelas teoricamente mais confiáveis do que estas. A PE também não depende de secagem em estufa, mas essa via de perda representa muito pouco em relação à perda total de MS durante a fermentação. A maior PE no tratamento N4, portanto, não necessariamente implica em maior perda total de MS.

A análise de composição da amostra de gás do 14º dia de fermentação (Figura 6.3) foi feita para apenas três gases (gás carbônico, metano e óxido nitroso). Dentre os três gases analisados, o gás carbônico representa 99,8%, porém, sua concentração média (342.387 ppm) indica que ele representa apenas 34% do total. Dessa forma, mais de 65% da composição dos gases é desconhecida. Provavelmente vapor de água, gás nitrogênio e compostos orgânicos voláteis compõem essa parcela desconhecida.

A injeção de ar reduziu a concentração de CO_2 no gás amostrado, mas também aumentou a acidez da água em que o reservatório de gás esteve imerso. A acidez da água aumentou o suficiente no período de armazenamento para reduzir em 3,65 e 3,34 pontos de pH nas condições com ar e sem ar, respectivamente. Essa acidificação pode ser atribuída à solubilização de compostos orgânicos voláteis, e à reação do gás carbônico com a água, formando ácido carbônico. Aparentemente, a injeção de ar deslocou esse equilíbrio, pois reduziu a concentração de gás carbônico no gás amostrado e aumentou a acidez da água.

6.5.5 Estabilidade aeróbia

E estabilidade aeróbia (EA) média esteve próximas das reportadas por Kung et al. (1998) e Kleinschmit et al. (2005) para silagens de milho sem inoculantes. Porém, silagens mais estáveis ($EA = 153$ h) ou menos estáveis ($EA = 13$ h) foram observadas por Comino et al (2014) e Kim e Adesogan (2006), respectivamente.

A EA não foi afetada pelo tratamento, mas foi afetada pela condição: a injeção de ar reduziu ($P < 0,05$) a EA das silagens. Embora a diferença seja de

pequena magnitude (4,8 h), deve-se levar em consideração que o volume de ar injetado foi suficiente para prover ca. 8 mg O₂ kg⁻¹ MS dia⁻¹. Woolford et al. (1970) e Pahlow (1984), citados por Woolford (1990) afirmam que a concentração de 100 a 150 mg O₂ kg⁻¹ MS dia⁻¹ é suficiente para reduzir a EA das silagens. Mesmo que a concentração de oxigênio no presente ensaio tenha sido mais de dez vezes inferior à referida pelos autores, ainda foi possível detectar redução na estabilidade, indicando que houve provável multiplicação de leveduras na presença de oxigênio (McDonald et al., 1991).

O pH médio ao longo dos dias de exposição aeróbia subiu de 3,79 para 6,07 entre os dias 2 e 4 após a abertura e manteve-se estável nos dias 6 e 7. A injeção de ar afetou apenas o pH no dia 7, mas a magnitude da diferença é isenta de significado biológico. A elevação do pH está de acordo com o tempo médio de EA, que indica que o ponto de quebra esteve entre os dias 2 e 3 pós abertura.

A intenção primária deste experimento foi simular a infiltração de ar que ocorre através de lonas utilizadas na vedação de silagens no campo, que normalmente resulta em uma camada superficial de espessura variada de silagem deteriorada. Porém, nenhum silo apresentou aspectos característicos de silagem deteriorada, tampouco alterações na composição bromatológica, mostrando que o volume de ar injetado ou a frequência de uma vez ao dia foram insuficientes para simular a condição de campo. A intenção secundária foi verificar se a Natamicina como aditivo seria mais eficiente em condições de anaerobiose total ou de infiltração de ar; porém, o efeito geral do aditivo não foi positivo.

O fenômeno observado de absorção de ar nos silos foi um achado e não estava entre os objetivos do trabalho, mas abre uma discussão sobre qual processo foi responsável por esse efeito. Uma nova frente de pesquisa é necessária para estudar quais gases e microrganismos estão envolvidos.

6.6 CONCLUSÃO

O uso de Natamicina não foi efetivo em reduzir perdas fermentativas ou aumentar a estabilidade aeróbia de silagens de milho.

A injeção de ar nos silos foi insuficiente para alterar a composição das silagens, mas reduziu a estabilidade aeróbia.

As metodologias de avaliação de perdas com base no teor de MS (PMS e PG) levam a conclusões diferentes do que as metodologias direta (Gprod) e por diferença bruta do peso do silo (PGtrad). Não foi possível identificar qual metodologia foi mais adequada no presente ensaio.

6.7 REFERÊNCIAS

AMARAL, R. C. **Estratégias de controle da deterioração aeróbia em silagens de milho e seu valor alimentício para vacas em lactação**. 173 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2011. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11139/tde-19102011-144643/pt-br.php>>. Acesso em: 04/06/2015.

ARRIOLA, K. G.; KIM, S.C.; HUISDEN, C.M.; ADESOGAN, A. T. Stay-green ranking and maturity of corn hybrids: 1. Effects on dry matter yield, nutritional value, fermentation characteristics, and aerobic stability of silage hybrids in Florida.. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n.2, p. 964-974, 2012.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN, L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4701-4706, 2007.

COMINO, L.; TABACCO, E.; RIGHI, F.; REVELLO-CHION, A.; QUATANTELLI, A.; BORREANI, G. Effects of an inoculant containing a *Lactobacillus buchneri* that produces ferulate-esterase on fermentation products, aerobic stability, and fiber digestibility of maize silage harvested at different stages of maturity. **Animal Feed Science and Technology**, v. 198, p. 94-106, 2014.

GREEN, O.; BARTZANAS, T.; LØKKE, M. M.; BOCHTIS, D. D.; SØRENSEN, C. G.; JØRGENSEN, O. J.; TORTAJADA, V. G. Spatial and temporal variation of temperature and oxygen concentration inside silage stacks. **Biosystems Engineering**, v. 111, p. 155-165, 2012.

HU, P.; RISMANI-YAZDI, H.; STEPHANOPOULOS, G. Anaerobic CO₂ fixation by the acetogenic bacterium *Moorella thermoacetica*. **AIChE Journal**, v. 59, p. 3176-3183, 2013.

JUNGES, D.; SCHMIDT, P.; NOVINSKI, C. O.; DANIEL, J. L. P. Additive containing homo and heterolactic bacteria on the fermentation quality of maize silage. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 35, p. 371-377, 2013.

KIM, S. C.; ADESOGAN, A. T. Influence of ensiling temperature, simulated rainfall, and delayed sealing on fermentation characteristics and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 3122-3132, 2006.

KLEINSCHMIT, D. H.; SCHMIDT, R. J.; KUNG JR., L. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 2130-2139, 2005.

KUNG JR., L.; SHEPERD, A. C.; SMAGALA, A. M.; ENDRES, K. M.; BESSETT, C. A.; RANJIT, N. K.; GLANCEY, J. L. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and total mixed ration. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1322-1330, 1998.

LESCHINE, S. B.; HOLWELL, K.; CANALE-PAROLA, E. Nitrogen fixation by anaerobic cellulolytic bacteria. **Science**, v. 242, p. 1157-1159, 1988.

LU, C. G.; LIU, W. C.; QIU, J. Y.; WANGM H. M.; LIU, T.; LIU, D. W. Identification of an antifungal metabolite produced by a potential biocontrol actinomyces strain A01. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 701-707, 2008.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991.

MINAMISAWA, K.; NISHIOKA, K.; MIYAKI, T.; YE, B.; MIYAMOTO, T.; YOU, M.; SAITO, A.; SAITO, M.; BARRAQUIO, W. L.; TEAUMROONG, N.; SEIN, T.; SATO, T. Anaerobic nitrogen-fixing consortia consisting of clostridia isolated from gramineous plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 3096-3102, 2004.

NOVINSKI, C. O.; SCHMIDT, P.; WARPECHOWISKI, M. B.; SOUZA, C. M.; PINTO, S. Estabilidade aeróbia de silagens de milho aditivadas com Natamicina. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 49., 2012, Brasília. **Anais...** Brasília: SBZ, 2012. CD-ROM.

OOSTENDORP, J. C. Natamycin ^(R). **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 47, p. 170-171, 1981.

PARVIN, S.; WANG, C.; LI, Y.; NISHINO, N. Effects of inoculation with lactic acid bacteria on the bacterial communities of Italian ryegrass, whole crop maize, guinea grass and Rhodes grass silages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 160, p. 160-166, 2010.

PINTO, S. **Natamicina como aditivo para silagens de milho**. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2014. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/35249/R%20-%20D%20-%20SEVERINO%20PINTO.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 15/02/2015.

REICH, L. J.; KUNG JR., L. Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 159, p. 105-109, 2010.

RODRIGUES, P. H. M.; PEDROSO, S. B. G.; MELOTTI, L.; ANDRADE, S. J. T.; LIMA, F. R. Composição bromatológica e perfil fermentativo da silagem de capim-

elefante obtida em diferentes tipos de silos experimentais e no silo tipo trincheira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 2386-2392, 2002.

RODRIGUES, P. H. M.; RUZANTE, J. M.; SENATORE, A. L.; LIMA, F. R.; MELOTTI, L.; MEYER, P. M. Avaliação do uso de inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa e nutricional da silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 538-545, 2004.

SCHMIDT, R. J.; KUNG JR., L. The effects of *Lactobacillus buchneri* with or without a homolactic bacterium on the fermentation and aerobic stability of corn silages made at different locations. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 1616-1624, 2010.

SILVA, A. V.; PEREIRA, O. G.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; FERREIRA, C. L. L. F. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho e sorgo tratadas com inoculantes microbianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1881-1890, 2005.

TABACCO, E.; PIANO, S.; REVELLO-CHION, A.; BORREANI, G. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products and microbial populations of corn silage under farm conditions. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 5589-5598, 2011.

VELHO, J. P.; MÜHLBACH, P. R. F.; GENRO, T. C. M.; SANCHEZ, L. M. B.; NÖRNBERG, J. L.; ORQIS, M. G.; FALKENBERG, J. R. Alterações bromatológicas nas silagens de milho submetidas a crescentes tempos de exposição ao ar após “desensilagem”. **Ciência Rural**, v. 36, p. 916-923, 2006.

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

WILLIAMS, A. G. The permeability and porosity of grass silage as affected by dry matter. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 59, p. 133-140, 1994.

WOOLFORD, M. K. A Review: The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 68, p. 101-116, 1990.

XICCATO, G.; CINETTO, M. CARAZZOLO, A.; COSSU, M. E. The effect of silo type and dry matter content on the maize silage fermentation process and ensiling loss. **Animal Feed Science and Technology**, v. 49, p. 311-323, 1994.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O modelo de avaliação de perdas fermentativas em silos laboratoriais é vantajoso, por seu baixo custo, permitindo ensaios com maior número de tratamentos e repetições do que seria possível em silos de grande escala; e por sua maior sensibilidade, graças ao isolamento de fontes ambientais de variação. No entanto, os resultados obtidos nos ensaios laboratoriais não são necessariamente extrapoláveis para a realidade de campo; e devem, portanto, servir como um método de triagem para seleção de tratamentos que “merecem” ser avaliados em silos de grande porte. Com base nos resultados dos ensaios descritos, os aditivos Sill-All 4x4 e Sil-All Fireguard apresentaram resultados promissores em silagens de capins, com efeito mais pronunciado no de clima temperado.

A metodologia proposta para avaliação de perdas fermentativas correlacionou-se de forma variada com as metodologias tradicionais. A comparação da metodologia proposta (Gprod) com a avaliação tradicional por diferença bruta do peso do silo (PGtrad) está apresentada graficamente na Figura 7.1, ambas em relação à perda de matéria seca corrigida para compostos voláteis (PMScorr). O coeficiente de determinação da regressão linear das variáveis foi sensivelmente maior para Gprod (0,72) do que para PGtrad (0,69). Considerando que as perdas de matéria seca por efluentes foram muito pequenas em todos os experimentos, a inclinação da curva de regressão deveria se aproximar da unidade, como observado na curva da metodologia proposta.

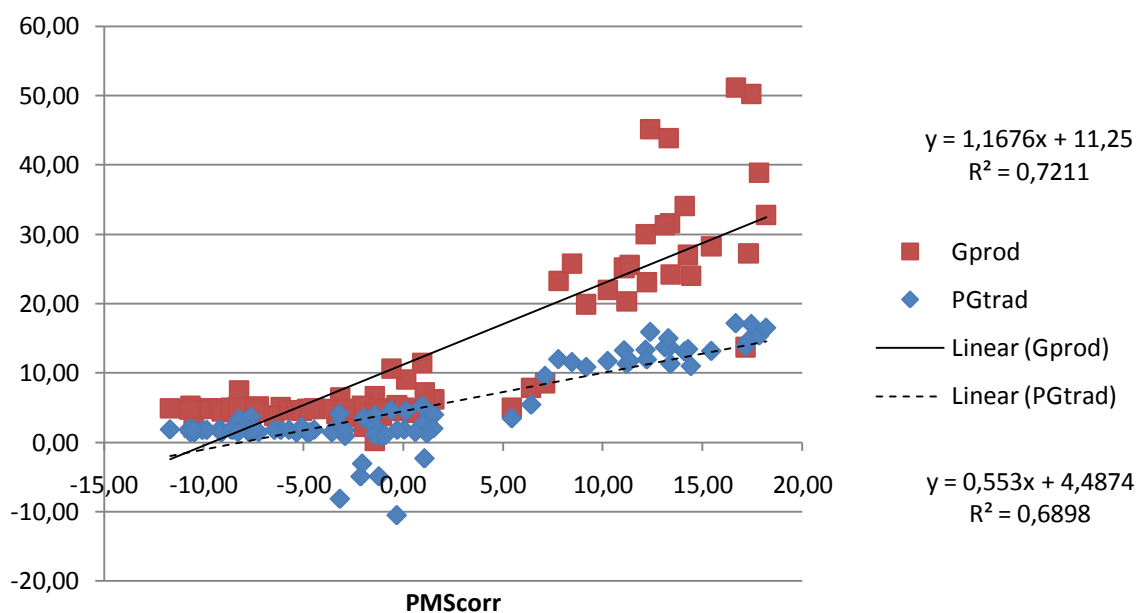


Figura 7.1. Volume de gás produzido (Gprod, L kg⁻¹ MS) e perda por gases estimada por diferença bruta do peso do silo antes e após ensilagem (PGtrad, % MS) em relação à perda de matéria seca corrigida para compostos voláteis (PMScorr, % MS)

Todas as metodologias estiveram correlacionadas entre si apenas no ensaio com cana-de-açúcar, provavelmente devido à grande magnitude de perdas. A ausência de correlação nos demais ensaios pode ser em virtude do número pequeno das amostras ($n = 15$ a 30) associado à baixa magnitude de perdas. As vantagens da metodologia de avaliação direta do volume de gás são a não-dependência de amostragem e secagem em estufa (conhecidas fontes de erro); o baixo custo (quando comparado à determinação de COV para correção de MS) e a visualização da dinâmica fermentativa através da plotagem do gráfico volume x tempo, que não é possível pelos métodos tradicionais de estimativas de perdas. As limitações da nova metodologia são: a necessidade de manutenção dos silos em sala de temperatura controlada para maior confiabilidade dos resultados e a necessidade de monitoramento em tempo integral no início da fermentação.

As boas práticas de manejo continuam sendo a forma mais significativa de reduzir perdas e, portanto, reduzir o impacto ambiental da produção de silagens. O uso de aditivos com essa finalidade requer uma análise cuidadosa da relação custo-benefício, e pode ser considerado como um ajuste final, desde que as condições básicas de manejo sejam atendidas.