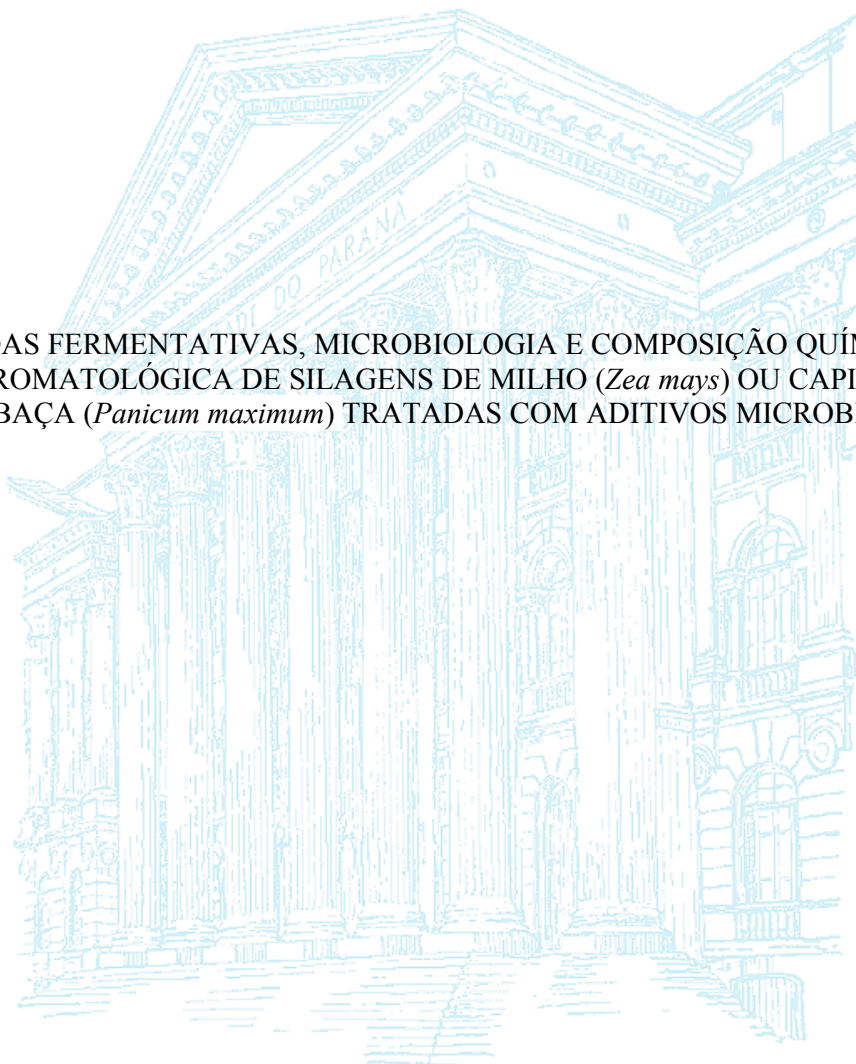


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BLEINE CONCEIÇÃO BACH

PERDAS FERMENTATIVAS, MICROBIOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICO-
BROMATOLÓGICA DE SILAGENS DE MILHO (*Zea mays*) OU CAPIM-
MOMBAÇA (*Panicum maximum*) TRATADAS COM ADITIVOS MICROBIANOS



CURITIBA

2015

BLEINE CONCEIÇÃO BACH
Zootecnista

PERDAS FERMENTATIVAS, MICROBIOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICO-
BROMATOLÓGICA DE SILAGENS DE MILHO (*Zea mays*) OU CAPIM-
MOMBAÇA (*Panicum maximum*) TRATADAS COM ADITIVOS MICROBIANOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Nutrição e Alimentação Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Patrick Schmidt

CURITIBA

2015

B118 Bach, Bleine Conceição.

Perdas fermentativas, microbiologia e composição químico-bromatológica de silagens de milho (*Zea mays*) ou capim-mombaça (*Panicum maximum*) tratadas com aditivos microbianos. / Bleine Conceição Bach. – Curitiba : 2015. 97 f. il.

Orientador: Patrick Schmidt.

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

1. Milho- Silagem. 2. Plantas forrageiras – Silagem. I. Schmidt, Patrick. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU 633.15:636.085.52

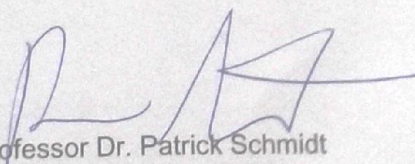
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



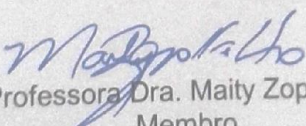
PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “**PERDAS FERMENTATIVAS, MICROBIOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA DE SILAGENS DE MILHO (*Zea mays*) OU CAPIM MOMBAÇA (*Panicum maximum*) TRATADAS COM ADITIVOS MICROBIANOS**” apresentada pela Mestranda **BLEINE CONCEIÇÃO BACH** 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.

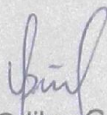
Curitiba, 2 de março de 2015



Professor Dr. Patrick Schmidt
Presidente/Orientador



Professora Dra. Maity Zopollatto
Membro



Professor Dr. Odilon Gomes Pereira
Membro

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Arnaldo e Soeli, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que faz com que tudo aconteça da melhor forma possível.

Aos meus Pais, pelo apoio incondicional e bons conselhos.

Aos meus Irmãos, Ayron e Arion, sempre dispostos, obrigada pela ajuda, passeios e cafés durante esses anos em Curitiba.

Ao Wicky, pelo apoio, principalmente nos momentos difíceis, sempre compreensivo e carinhoso.

Ao Professor Patrick, pela oportunidade e pelos inúmeros ensinamentos, tanto técnicos como para a vida.

A Camilla, pelo companheirismo nos estudos, laboratório, a campo e fora da Universidade, pela amizade, boas conversas e bons conselhos. Ao Severino, por ser sempre prestativo e alegre. Ao Charles, um irmão mais velho, obrigada pelos ensinamentos e caronas. Ao Eduardo, pelo coleguismo durante essa fase. A Lucelia, pelas boas risadas e ajuda. A Maryon, sempre prestativa, mesmo distante. A Maity, sempre divertida e disposta a tirar dúvidas. Às Jessicas que passaram pelo nosso grupo, todas estagiárias queridas. Aos colegas do Centro de Pesquisa em Forragicultura da UFPR, meu muito obrigada.

A Ivone, uma mãe para o nosso grupo, sempre animada, obrigada pelo apoio na Fazenda. Ao Rampão e o pessoal da Marcenaria, sempre dispostos a ajudar. Aos funcionários da Fazenda Canguiri, pelo apoio sempre que possível.

Seu Air, pela paciência e explicações e a Cleuza, pela ajuda no Laboratório de Nutrição.

As amigas Brenda e Jessi, pela amizade firmada, graças àquela casa de madeira querida, e à Gabi, que dividiu seu quarto comigo, o que nos tornou mais próximas.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

A empresa GRASP pelo apoio técnico e financeiro.

tudo claro
ainda não era o dia
era apenas o raio

Paulo Leminski

PERDAS FERMENTATIVAS, MICROBIOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICO –
BROMATOLÓGICA DE SILAGENS DE MILHO (*Zea mays*) OU CAPIM-
MOMBAÇA (*Panicum maximum*) TRATADAS COM ADITIVOS MICROBIANOS

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade de silagens de milho (SM) e capim-Mombaça (SC), tratadas com inoculantes microbianos. Ambos ensaios foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Na SM foram avaliados cinco tratamentos: C – controle, sem aditivos; BLbu – composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) (5×10^4 UFC g⁻¹ de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5×10^4 UFC g⁻¹); ALbu – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. buchneri* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); ALbr – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. brevis* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); BLbr – composto de bactérias (5×10^4 UFC g⁻¹) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g⁻¹). Na SC foram testados dois tratamentos: Controle e Aditivo (composto de bactérias – 1×10^5 UFC g⁻¹). Os gases produzidos durante a fermentação foram coletados para quantificação e qualificação. Após 60 dias de armazenamento foram determinados os teores de MS, MM, PB, FDN e FDA, pH, perdas de gases e efluentes, perdas totais de MS, contagens microbianas de BAL, leveduras e fungos filamentosos, teores de ácidos orgânicos e etanol. As silagens permaneceram 10 dias em exposição aeróbia. De maneira geral, a composição química da SM não foi influenciada pela adição de inoculantes. A dose baixa de *L. brevis* tornou a silagem menos estável em aerobiose em relação à Controle. A dose alta de *L. brevis* gerou maiores perdas totais de MS. As silagens inoculadas com *L. brevis* apresentaram valores superiores de etanol e ácidos acético e propiônico. Na SC, a inoculação diminuiu os teores de MS e PB e elevou os teores de fibra e não alterou as perdas. Os ácidos orgânicos apresentaram produções semelhantes entre os tratamentos. A adição de inoculante não alterou as contagens microbianas e a produção de gás (litros) de ambas silagens avaliadas. A adição de bactérias não melhorou a eficiência fermentativa do nem diminuiu as perdas das silagens.

Palavras-chave: efluentes, gases, heteroláticas, homoláticas, metodologia

FERMENTATIVE LOSSES, MICROBIAL COUNTS AND CHEMICAL COMPOSITION OF CORN SILAGE (*Zea mays*) AND MOMBAÇA GRASS SILAGE (*Panicum maximum*) TREATED WITH MICROBIAL ADDITIVES

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the quality of corn silage (CoS) and grass silage (GS), which received microbial inoculants. Both trials were completely randomized design with five replicates. Five treatments were evaluated in CoS: C – control; BLbu – bacterial blend (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) (5×10^4 CFU g^{-1} wet basis) + low dose of *L. buchneri* (5×10^4 CFU g^{-1}); ALbu – bacterial blend (3.35×10^4 CFU g^{-1}) + high dose of *L. buchneri* (6.65×10^4 CFU g^{-1}); ALbr – bacterial blend (3.35×10^4 CFU g^{-1}) + high dose of *L. brevis* (6.65×10^4 CFU g^{-1}); BLbr – bacterial blend (5×10^4 CFU g^{-1}) + low dose of *L. brevis* (5×10^4 CFU g^{-1}). In GS, two treatments were tested: Control - no additive and Additive – *L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici* (5×10^4 CFU g^{-1}). The gases produced during fermentation were collected for quantification and qualification. After 60 days of storage, samples were taken to determine DM, ashes, CP, NDF and ADF, pH, gases and effluent losses, total DM losses, microbial counts of LAB, yeasts and fungi, contents of organic acids and ethanol. Silages remained 10 days in aerobic exposure. In general, the chemical composition of CoS was not influenced by the addition of inoculants. The low addition of *L. brevis* resulted in silages less stable under aerobic conditions in relation to the Control. The high addition of *L. brevis* lead to higher total DM losses. The silages inoculated with *L. brevis* showed higher values of ethanol, acetic acid and propionic acid. In GS, inoculation decreased DM and CP contents and increased fiber content. However, fermentative losses were not affected. Organic acids showed similar concentrations between treatments. Inoculation did not affect microbial counts and gas production (liters), for CoS and GS. The addition of bacterial blends in silages did not improve the fermentation efficiency, even the DM losses were not decreased significantly by the treatments.

Keys-words: effluent, gases, heterolatic, homolatic, methodology

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Esquema demonstrativo sobre o silo experimental.....	45
Figura 2 -	Produção de gases em silagens de milho, durante a estocagem.	55
Figura 3 -	Comportamento temporal de silagens de milho expostas à aerobiose.....	60
Figura 4 -	Produção de gases em silagens de capim-Mombaça durante o período de armazenamento.	83
Figura 5 -	Comportamento temporal das temperaturas de silagens de capim-Mombaça aditivadas ou não durante a exposição aeróbia.	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características químicas e microbiológicas da planta de milho no momento da ensilagem.....	43
Tabela 2 - Composição química-bromatológica das silagens de milho sem aditivo ou inoculadas com aditivos microbianos.....	49
Tabela 3 - Perdas fermentativas em silagens de milho tratadas ou não com inoculantes microbianos.....	53
Tabela 4 - Contagens microbianas (log UFC g ⁻¹) em silagens de milho sem aditivo ou inoculadas com aditivos microbianos.....	57
Tabela 5 - Estabilidade aeróbia em silagens de milho sem aditivo ou inoculadas com aditivos microbianos.....	59
Tabela 6 - Correlação de Pearson entre características químicas e fermentativas de silagens de milho, inoculadas ou não com bactérias.....	63
Tabela 7 - Características químicas e microbiológicas de capim-Mombaça no momento da ensilagem.....	75
Tabela 8 - Composição química-bromatológica e perfil fermentativo de silagem de capim-Mombaça sem aditivos (Controle) ou inoculada com bactérias ácido lácticas (Aditivo).....	77
Tabela 9 - Perdas fermentativas em silagem de capim-Mombaça sem aditivos (Controle) ou inoculada com bactérias ácido lácticas (Aditivo)	81
Tabela 10 - Contagens microbianas em silagem de capim-Mombaça sem aditivos (Controle) ou inoculada com bactérias ácido lácticas (Aditivo)	84
Tabela 11 - Estabilidade aeróbia em silagem de capim-Mombaça sem aditivos (Controle) ou inoculada com bactérias ácido lácticas (Aditivo)	86
Tabela 12 - Correlação de Pearson entre características químicas e fermentativas de silagens de capim-Mombaça, inoculadas com bactérias.	89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALbr – Silagem tratada com composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*, com dose de $3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. brevis* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹)

ALbu – Silagem com adição de composto de bactérias *L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*, com dose de $3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. buchneri* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹);

BAL – Bactérias ácido lácticas

BLbr – Silagem com adição de composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici* com dose de 5×10^4 UFC g⁻¹) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g⁻¹)

BLbu – Silagem com adição de composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*, com dose de 5×10^4 UFC g⁻¹ de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5×10^4 UFC g⁻¹);

C – Silagem controle, sem adição de bactérias

CO₂ – Dióxido de carbono

CS – Carboidratos solúveis

Difmax – Diferença máxima entre a temperatura da silagem e a temperatura ambiente

EA – estabilidade aeróbia

FDA – Fibra insolúvel em Detergente Ácido

FDN – Fibra insolúvel em Detergente Neutro

ha - hectare

Htmax – Horas para atingir a temperatura máxima na silagem durante a exposição aeróbia

MM – Matéria mineral

MS – Matéria seca

PB – Proteína Bruta

PMS – Perda de matéria seca durante a estabilidade aeróbia

Tmax – Temperatura máxima atingida pela silagem durante a exposição aeróbia

t – Tonelada

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA – USO DE ADITIVOS MICROBIANOS EM SILAGEM	16
2.1	Introdução	16
2.2	Escolha da forragem	17
2.3	A ensilagem	18
2.4	Microrganismos	20
2.4.1	Bactérias ácido láticas	20
2.4.2	Microrganismos indesejáveis	22
2.5	Perdas	23
2.6	Aditivos microbianos	26
2.6.1	Bactérias homoláticas	27
2.6.2	Bactérias heterofermentativas	29
2.6.3	Aditivos microbianos combinados	31
2.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
3.	CAPÍTULO II – QUALIDADE DE SILAGENS DE MILHO INOCULADAS COM BACTÉRIAS HOMO E HETEROLÁTICAS	39
3.1	RESUMO	39
3.2	INTRODUÇÃO	40
3.2.1	MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.2.1.1	Plantio	42
3.2.1.2	Tratamentos e adição de bactérias	42
3.2.1.3	Ensilagem	43
3.2.1.4	Amostragem e Análises	44
3.2.1.5	Análise estatística	47
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.4	CONCLUSÕES	66

3.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
4.	CAPÍTULO III – QUALIDADE E PERDAS EM SILAGEM DE CAPIM-MOMBAÇA INOCULADO COM COMPOSTO DE BACTÉRIAS.....	71
4.1	RESUMO.....	71
4.2	INTRODUÇÃO	72
4.2.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	74
4.2.1.1	Preparo da cultura	74
4.2.1.2	Inoculação e ensilagem	74
4.2.1.3	Análises	75
4.2.1.4	Análise estatística.....	76
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
4.4	CONCLUSÕES	91
4.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	96

1. INTRODUÇÃO

A ensilagem de forragens é uma das principais formas de armazenar alimento, com valor nutritivo preservado ao longo do ano. Essa prática pode ser usada para manter a produção em épocas de escassez de pasto como componente da dieta de ruminantes.

A escolha da planta e as condições que a silagem será produzida irão influenciar na qualidade final do produto. Propriedades fundamentais para que a fermentação ocorra adequadamente, como teor de matéria seca próximo a 30%, baixo poder tampão, população epifítica suficiente e alta quantidade de carboidratos solúveis, nem sempre são encontrados. Técnicas que promovam a melhora nas características da planta, como o emurchecimento e uso de inoculantes, aumentam a possibilidade de uso de diversos materiais a serem ensilados e a qualidade das silagens.

A forragem é conservada pelos ácidos produzidos dentro do silo, que ocasionam diminuição nas atividades microbianas e enzimáticas. As bactérias ácido lácticas (BAL), responsáveis pela fermentação da forragem, são divididas em função de seus produtos. As homofermentativas produzem apenas lactato, ácido forte que diminui o pH, propiciando a conservação da forragem por longos períodos, enquanto as heterofermentativas além do ácido láctico, produzem ácido acético, que possui ação antifúngica e outros compostos. Há ainda as BAL classificadas como heteroláticas facultativas, que produzem ácido láctico como produto principal, mas também podem produzir ácido acético.

As BAL homofermentativas devem ser utilizadas quando a população epifítica da cultura for baixa. Dessa forma, sua adição irá incrementar a fermentação, acidificando o meio com maior eficiência e rapidez. As BAL heterofermentativas são adequadas para silagens mais susceptíveis à degradação aeróbia, como aquelas que possuem alta

quantidade de açúcares residuais e ácido láctico. O acetato produzido por essas bactérias é efetivo contra leveduras, que iniciam a degradação aeróbia.

A adição de microrganismos no processo de ensilagem visa melhorar a fermentação e conservação. Sua adição é justificada quando o objetivo é potencializar a fermentação e direcionar seus produtos à preservação da forragem no silo e após sua abertura. Contudo, os resultados de ensaios experimentais avaliando aditivos microbianos em silagens são extremamente variáveis. A decisão de fazer uso desses aditivos deve ser definida pela necessidade, características da silagem e viabilidade econômica. O presente trabalho visa contribuir com a avaliação do uso de aditivos microbianos em silagens de milho e de capim-Mombaça.

2. CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA – USO DE ADITIVOS MICROBIANOS EM SILAGEM

2.1 Introdução

As plantas necessitam de quantidades de energia solar, umidade e temperatura adequadas às suas necessidades, para realizar a fotossíntese e crescer. A variação do clima ao longo do ano resulta em oscilação na velocidade do crescimento vegetal, afetando a disponibilidade de alimento para os animais mantidos a pasto em no período seco do ano. Propriedades que usam sistemas de pastagem podem sofrer com a falta de forragem e necessitar de complementação volumosa, inclusive em regiões em que é possível o cultivo de espécies de inverno e verão (Kiyota et al., 2011). A armazenagem de alimento em silos garante, com segurança, a nutrição dos animais com qualidade e quantidade suficiente para manter a produção.

Durante as épocas de maior produção de massa verde dos capins tropicais, o excedente de forragem pode ser conservado no processo de ensilagem. Ademais, é possível conservar lavouras inteiras, pois esse processo mantém as características do alimento ao longo do tempo, o que permite o uso de alimento de qualidade durante todo o ano (McDonald et al., 1991).

O princípio da conservação da forragem ensilada baseia-se na fermentação, que ocorre no silo, em ambiente anaeróbio. Nesse momento, as bactérias começam a se desenvolver, usando os carboidratos solúveis da forragem e, como resultado de seu metabolismo, produzem ácidos que reduzem o pH. Essa acidificação paralisa as atividades metabólicas no interior do silo, conservando a forragem por tempo indeterminado.

Para realizar a ensilagem com eficiência é necessário cuidar de todas as etapas, desde o plantio da cultura até o fornecimento ao rebanho. O planejamento nutricional,

aliado ao fornecimento de alimentos com alta qualidade e baixo custo eleva a produtividade e rentabilidade, não apenas nas épocas de escassez, mas durante o ano todo.

2.2 Escolha da forragem

Diversas culturas podem ser ensiladas, desde que possuam atributos que propiciem a fermentação. O teor de matéria seca (MS), a população epifítica, a capacidade tamponante e o teor de carboidratos solúveis influenciam fortemente a qualidade da silagem. A combinação desses fatores determinará o potencial de ensilabilidade da cultura.

O ponto de corte não deve ser definido pelos dias de plantio, e sim pelo teor de MS da planta, que pode ser influenciado, além da genética, pelo clima. Ferreira et al. (2011) realizaram ensaio de digestibilidade com 10 híbridos de milho e efetuaram o corte para ensilagem aos 152 dias de plantio, para todos os híbridos. O teor de MS variou de 27,6 a 35,1%, devido à diferença genética de cada material.

A ensilagem de materiais mais úmidos diminui as perdas no campo, porém, prejudica a fermentação (Reis et al., 2008). Plantas colhidas precocemente, com teores de MS abaixo de 250 g kg⁻¹ MS podem favorecer a proliferação de bactérias produtoras de ácido butírico, com intensa degradação de proteínas e perdas de nutrientes por lixiviação (Cruz et al., 2009). Capins usados para a produção de silagem necessitam de correção no teor de MS, pois, ao atingirem qualidade ótima, ainda apresentam alto teor de umidade. Se esse material for colhido com maior teor de MS, sua qualidade cairá drasticamente, ou seja, esses fatores são inversamente proporcionais. A fim de aproveitar o valor nutritivo da planta, o teor de MS pode ser elevado através do emurchecimento, antes da ensilagem, ou adição de ingredientes secos misturados ao capim, que agem como “sequestrantes” de umidade (Castro et al., 2006; Carvalho et al., 2007).

Se o material apresentar teor de MS acima do recomendado (> 35%), o corte e a picagem serão prejudicados. Plantas mais velhas possuem fibras mais resistentes, pela lignificação da parede celular, o que, além de conferir baixo valor nutritivo ao alimento, também aumenta a dificuldade das facas do maquinário em manter o tamanho de partículas uniforme (Campos et al., 2002). Como consequência, será necessário maior esforço durante o enchimento do silo, para atingir a densidade adequada (~ 600 kg de forragem m⁻³). A retirada do oxigênio, propiciada pela compactação, auxilia a acelerar a fermentação láctica. Caso contrário, bolsões de ar ficam aprisionados, havendo respiração e perda de qualidade no material. Silagens bem compactadas propiciam a conservação dos carboidratos solúveis, diminuem a alteração dos carboidratos estruturais e a ocorrência de proteólise (Velho et al., 2007). Atingir a anaerobiose dentro do silo é o objetivo mais importante para a boa preservação da silagem (McDonald et al., 1991).

A planta de milho é considerada ideal para ensilagem, pois, ao ser colhida com maturidade adequada, apresenta características que favorecem a fermentação, como: teor de matéria seca (MS) entre 30% e 35%, com, no mínimo, 3% de carboidratos solúveis (CS) na matéria original e baixo poder tampão (Nussio et al., 2001). Além disso, a cultura de milho tem alta produtividade de MS, com aproximadamente 20 toneladas de MS por hectare (Dias, 2002), o que contribui para a diluição de custos de implantação (Paziani et al., 2009). A grande variedade de plantas utilizadas pela pecuária propicia o uso de silagem em propriedades de pequeno a grande porte, evitando quedas na produção e desperdício de alimento, através do armazenamento em silos.

2.3 A ensilagem

Após a determinação do ponto de colheita, inicia-se o corte da cultura. As facas do maquinário devem estar afiadas, para que o tamanho de partículas seja homogêneo

(Bernardes e Rego, 2014). A logística de corte, enchimento do silo e compactação deve ser sincronizada, para potencializar o uso das máquinas e economizar tempo.

O silo deve ser abastecido eficientemente, com rápida e adequada vedação. A presença de ar em seu interior mantém as atividades enzimáticas e microrganismos indesejáveis, com consumo de MS. A compactação e respiração das plantas auxiliam na supressão do oxigênio, com geração de ambiente anaeróbio, necessário para a fermentação e preservação do material ensilado (McDonald et al., 1991).

Após o fechamento do silo, o tempo que a forragem deve permanecer estocada depende de suas características, como a umidade, a capacidade tampão e o teor de carboidratos solúveis (Van Soest, 1994). Kung Jr. et al. (1984) constataram que silagens com teor de MS próximo a 30% tiveram rápida queda no pH (terceiro dia de estocagem). Ao ensilarem materiais mais secos, o pH teve redução mais tênue ao longo da fermentação. Todavia, 30 dias é considerado o tempo adequado de estocagem para que o processo fermentativo ocorra e estabilize as atividades dentro do silo (Junges et al., 2013; Daniel et al., 2014).

A população epifítica da planta é responsável pela produção de ácido lático e consequente acidificação do meio. A queda do pH é efetiva em paralisar o metabolismo da planta, dos microrganismos deterioradores e das próprias bactérias responsáveis pela fermentação. Após essa etapa, há pouquíssimas alterações nas características do material ensilado (McDonald et al., 1991).

Quando o silo é aberto para uso da silagem, seu ambiente interno modifica com a entrada de oxigênio. Nesse momento, os ácidos produzidos durante a fermentação interferem na conservação do material exposto ao ar. O ácido lático pode ser consumido por microrganismos deterioradores e alguns ácidos mais fracos, como o acetato e propionato, podem contribuir com a estabilidade aeróbia da silagem (Muck, 2010). A

silagem é afetada inicialmente pela ação das leveduras, em seguida, por bactérias aeróbias e mais tardiamente, por fungos filamentosos. Essa degradação diminui a digestibilidade do volumoso e compromete a sua qualidade (Weinberg et al., 2011).

Silagens que apresentam alto teor de ácido lático e carboidratos residuais têm maior propensão à deterioração, pois são substratos potencialmente utilizáveis por microrganismos após a abertura dos silos (McDonald et al., 1991). Manejar o painel do silo adequadamente diminui a intensidade de penetração do oxigênio, o que evita a degradação nas camadas mais profundas. Para tal, é recomendada a remoção diária de uma fatia de 15 a 30 cm de espessura. Contudo, em condições climáticas quentes e úmidas pode ser necessário retirar uma fatia de espessura de 45 cm ou mais, a fim de prevenir perdas decorrentes da aerobiose (Velho et al., 2006).

2.4 Microrganismos

A população epifítica presente na forragem é bastante variável e afeta diretamente a dinâmica da fermentação. São encontradas bactérias ácido lácticas, microrganismos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras. Durante a ensilagem, há alteração nas espécies e tamanho de suas populações (Lin et al., 1992). A mudança de ambiente dentro do silo, que se torna anaeróbio e ácido, propicia a proliferação de bactérias que contribuem positivamente para a silagem, levando à fermentação láctica (Phalow et al., 2003).

2.4.1 Bactérias ácido lácticas

As bactérias ácido lácticas (BAL), principais responsáveis pela fermentação, consomem os carboidratos solúveis da forragem e produzem ácido lático, ácido acético, etanol e dióxido de carbono (Muck, 2010), que pode resultar na produção de gases e perda de MS e energia.

São bactérias gram-positivas, não formam esporos e crescem em condições microaerófilas ou estritamente anaeróbias. Os principais gêneros que compõe as BAL são: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus* e *Bifidobacterium*. Podem ser classificadas como *Thermobacterium*, *Streptobacterium* ou *Betabacterium*, dependendo da temperatura ótima de crescimento e da via de fermentação de hexoses (homo ou heterofermentativas) (Klein et al., 1998).

As BAL homofermentativas obrigatórias fermentam hexoses quase que exclusivamente a ácido láctico. Pentoses e gluconatos (derivado da oxidação da glicose) não são fermentados. Essas bactérias possuem a enzima frutose bifosfato aldolase, porém, não possuem a enzima fosfoquetolase, como as *Pediococcus acidilactici* e *Enterococcus faecium*. As BAL heterofermentativas facultativas fermentam hexoses quase que exclusivamente a ácido láctico, mas também são capazes de fermentar pentoses a ácido láctico e acético, através da fosfoquetolase induzida. Essas bactérias também possuem a frutose bifosfato aldolase, como é o caso da *Lactobacillus plantarum*. As BAL heterofermentativas obrigatórias fermentam hexoses a ácido láctico, ácido acético/etanol e CO₂. Possuem a enzima fosfoquetolase, mas não possuem a frutose bifosfato aldolase, como ocorre com as bactérias *L. buchneri* e *L. brevis* (Buyze et al., 1957 citado por (McDonald et al., 1991).

Os microrganismos homoláticos promovem taxa de fermentação mais rápida, com menor proteólise, maior produção de ácido láctico, menores produções de ácidos acético e butírico e etanol, e maior recuperação de energia e matéria seca. Bactérias heteroláticas também podem utilizar glicose e ácido láctico como substratos, para produção de ácido acético e propiônico, os quais são efetivos no controle de fungos (Muck, 2010).

2.4.2 Microrganismos indesejáveis

Alguns microrganismos podem acarretar prejuízos ao material, como dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter* e *Clostridium* que, além de consumirem carboidratos solúveis em competição com as BAL, degradam proteínas. Além disso, são bactérias patogênicas, que podem afetar os animais e as pessoas que têm contato com a silagem (McDonald et al., 1991).

As enterobactérias competem fortemente por substrato com as BAL, sendo o segundo maior grupo de bactérias presentes na microflora epifítica no silo (Pahlow et al., 2003). Algumas bactérias dessa família são preocupantes à saúde, pois são patogênicas. Dentre elas, estão presentes a *Escherichia coli* e o gênero *Salmonella* (Wilks et al., 2003). São bactérias anaeróbias facultativas, que fazem uso de nitrato como acceptor de elétrons no lugar do O₂, reduzindo-o a nitrito ou óxido nitroso, com geração de gases (Muck, 2010). Além disso, são adaptáveis a condições adversas, como baixo pH (Pereira et al., 2014). Para controlar seu desenvolvimento, é necessário propiciar fermentação adequada, com substrato e disponibilidade de água suficientes para as BAL (Pahlow, 2003). Penteado et al. (2007) usaram *L. plantarum* em silagens, para dominar a fermentação, e verificaram que doses acima de 1×10^5 UFC g⁻¹ foram eficientes para diminuir a população de enterobactérias.

Os clostrídios são microrganismos anaeróbios, responsáveis pela fermentação butírica, e se desenvolvem em pH mais elevado (Pahlow et al., 2003). São divididos de acordo com os componentes que utilizam como substrato. Podem fermentar aminoácidos, carboidratos e ácido lático e produzir diversos componentes, como amônia, aminas, ácidos butírico e acético, hidrogênio e dióxido de carbono (Muck, 2010). Com a elevação do pH, a silagem torna-se menos estável. Silagens confeccionadas com pouca higiene, com alto contato com terra e esterco estão mais propensas ao aparecimento de clostrídios,

que podem causar enfermidades em humanos (Wilks et al., 2003). Em função da pressão osmótica, a colheita da forragem com 30 a 35 % de MS garante a ausência dessas bactérias (Pereira et al., 2014).

As leveduras, fungos unicelulares, prejudiciais as silagens, principalmente durante sua utilização, quando a silagem entra novamente em contato com o ar (McDonald et al., 1991). No silo fechado, onde não há presença de O₂, esses microrganismos fermentam os açúcares, produzindo ácido butírico, ácido acético, hidrogênio e CO₂; e os aminoácidos, com produção de amônia, aminas e CO₂, o que diminuiu o valor nutritivo da forragem e, como consequência, menor ingestão pelos animais (Muck, 2010).

Em silagens mal manejadas, é possível encontrar fungos filamentosos, sobretudo as espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* (McDonald et al., 1991). A presença desses microrganismos na forragem ensilada, além de consumir o conteúdo celular, pode acarretar na produção de toxinas que afetam o metabolismo animal (Reis et al., 2006; Novinski, 2013). Os produtos dos fungos filamentosos, as micotoxinas, apresentam efeitos tóxicos aos animais, com a intensidade dependente do tempo de exposição e dose. Animais jovens e/ou de alta produtividade são mais sensíveis, e sujeitos a maiores prejuízos (Almeida e Ostrensky, 2011). O material deteriorado deve ser descartado para evitar essa contaminação, porém, muitas vezes isso não é feito, podendo acarretar grandes prejuízos na produção, desde baixo valor nutritivo da forragem até problemas com intoxicação (Bernardes e Rego, 2014).

2.5 Perdas

Os processos de conservação (fenação e ensilagem) por si só causam alterações acentuadas na composição química da forragem e podem reduzir sua qualidade (Reis et al., 2006). A presença de microrganismos deterioradores na forragem atrasa a

fermentação, tem competição com as BAL por substrato e geram perdas, o que diminui o valor nutritivo do material (Pereira et al., 2014).

Características como teor de MS, tamanho de partícula, densidade da massa no silo, manejo de descarregamento do silo, entre outros, podem influenciar as perdas de MS e energia. A exposição no campo, a fermentação, o efluente e a oxidação são as fontes de perdas em silagens (McDonald et al., 1991). Logo, a escolha do material que será ensilado deve levar essas questões em consideração (Jobim et al., 2007).

Entre as perdas geradas durante a ensilagem, a formação de gases é a mais intrigante, pois não é contabilizada diretamente. Algumas metodologias têm sido utilizadas para as avaliações de perdas em silos experimentais, porém, essa forma de avaliação pode subestimar a quantidade de MS e energia perdida, pois silos de fazenda não têm o ambiente controlado (Jobim et al., 2007).

Durante a fermentação, diferentes gases podem ser formados. O gás carbônico é o principal componente, que pode ser decorrente da respiração da planta, que utiliza o oxigênio residual, e de infiltrações ou proveniente de bactérias anaeróbias, que realizam fermentações indesejáveis, e normalmente crescem em meios com pH mais elevado. Quanto mais longa a ação destas bactérias, maiores as perdas de valor nutritivo do material (Muck, 1996; Junges et al., 2013). Schmidt et al. (2012) verificaram que silagens de milho produziram 424 litros de gases por tonelada de forragem ensilada. Fermentações lácticas diminuem as perdas, pois a alta produção de ácido láctico em relação aos ácidos acético e butírico, diminui as produções de gases e calor (Andrade e Meloti, 2003).

Na literatura são encontrados diferentes valores de perdas de MS, devido à variedade de culturas utilizadas e procedimentos de ensilagem. Oliveira et al. (2010), avaliaram silagens de milho, sorgo-sudão, sorgo forrageiro e girassol, e verificaram que as perdas em forma de gás variaram de 2,2 a 7,4% da MS. Schmidt et al. (2011)

encontraram valores de perdas de 13,9% da MS em silagens de cana-de-açúcar, e Paziani et al. (2006), valores de 5,7 a 6,7% da MS em silagens de capim-Tanzânia, com a umidade natural ou com recursos para elevar a MS.

Efluentes também são fonte de perdas, com maior ocorrência em silagens que apresentaram alto teor de umidade. Em situações em que não é possível atingir o teor de MS requerido (<30% MS) com a planta no campo, é necessário elevá-lo através do emurchecimento ou adição de ingredientes secos, para minimizar, ou até eliminar a lixiviação de compostos solúveis da forragem. Carvalho et al. (2007) compararam as duas técnicas e verificaram que o emurchecimento do capim-Elefante auxilia na obtenção de uma silagem de qualidade, porém, pode ser de difícil execução em situações de produção em grande escala. Ao adicionarem farelo de cacau, para elevar o teor de MS, constataram que tem boa retenção de umidade, mas seu baixo valor nutritivo comprometeu a qualidade da silagem.

Silagens de capins estão mais sujeitas à produção de efluente, por serem comumente ensiladas muito úmidas. Andrade et al. (2010) ensilaram capim-Elefante com 159 g de MS kg⁻¹ e observaram produção de efluente de 145,9 kg t⁻¹ de forragem fresca. Ao adicionarem subprodutos secos da indústria, houve grande redução dessa perda. Rabelo et al. (2012) encontraram produção de 13,37 kg t⁻¹ MV de efluente em silagens de milho, com teor de 302,3 g MS kg⁻¹ MV. Sá Neto et al. (2013) não encontraram produção de efluente em silagens de milho, com 348 g kg⁻¹ MS. Os mesmos autores observaram produção de 32,35 kg t⁻¹ MV em silagens de cana de açúcar com 223 g MS kg⁻¹ MV.

Atingir o teor de MS adequado é um dos principais pontos para diminuir ou até evitar a produção de efluentes, além de garantir a qualidade fermentativa dentro do silo. As BAL têm alta tolerância a menores quantidades de água, ao contrário de bactérias

indesejáveis, como os clostrídios (McDonald et al., 1991). Cortar a forragem e deixá-la secar antes da ensilagem contribui para um material de melhor valor nutritivo. Loures et al. (2005) verificaram que silagens de capim-Tanzânia emurchecidas durante 5 horas, elevaram nove pontos percentuais no teor de MS, atingindo 26%, o que melhorou as características da silagem. Castro (2002) também utilizou o emurchecimento de capim-Tifton-85 e encontrou redução nas perdas de campo e de armazenamento ao elevar o teor de MS.

As perdas na ensilagem podem ser grandes se não houver adequado controle dos processos produtivos e fermentativos. Para esse segundo, a inoculação de microrganismos selecionados pode gerar benefícios.

2.6 Aditivos microbianos

A utilização de inoculantes em silagens além de favorecer a fermentação, pode minimizar os danos causados por microrganismos aeróbios, após a abertura dos silos. No Brasil, foi estimado que 27,7% dos produtores aplicam aditivos na ensilagem (Bernardes e Rego, 2014). A adição de inoculantes visa incrementar a população epifítica, para acelerar a queda do pH e manter a quantidade de nutrientes na forragem (Bayatkouhsar et al., 2012)

A probabilidade de encontrar resultados positivos decorrentes do uso de aditivos microbianos é maior quando a planta ensilada não é de boa qualidade, e quando ocorrem falhas no processo de ensilagem ou de retirada da forragem após a abertura dos silos (Junges, 2010). Todavia, a tentativa de corrigir falhas de manejo com a aplicação de inoculantes é economicamente inviável e tecnicamente condenável.

Os aditivos microbianos têm sido testados em grande número de ensaios, conforme revisão feita por Zopollatto et al. (2009), porém, a ocorrência de respostas positivas foi de menos de 40%. Interesses comerciais no lançamento de novos produtos

levam à grande diversidade de cepas, doses de bactérias e associações a outros materiais, como enzimas. É necessário avaliar a viabilidade conjunta desses microrganismos, atividade biológica e atividade enzimática dessas associações, desafiadas pelas condições comuns de ocorrência do processo de ensilagem a campo, para embasar a recomendação prática desses produtos.

Os inoculantes incluem bactérias homo ou heterofermentativas, ou a combinação destas. Seu uso tem o objetivo de garantir que cepas de determinadas bactérias dominem a fermentação, para resultar em silagem de boa qualidade (McDonald et al., 1991). O aditivo escolhido deve apresentar características como a melhora na recuperação de MS, aumento da estabilidade aeróbia e baixa relação custo/benefício, pois o inoculante microbiano tem pouco efeito sobre o desempenho dos animais (Kung Jr. e Muck, 1997).

2.6.1 Bactérias homoláticas

As BAL homofermentativas produzem exclusivamente ácido láctico a partir dos carboidratos solúveis, sem geração de metabolitos secundários. Deste modo, silagens com predominância dessas bactérias apresentam menores perdas de MS (Oude Elferink et al., 2001). Rabelo et al. (2012) inocularam silagens de milho com altas doses de bactérias homofermentativas, a partir de 1×10^9 UFC g⁻¹, e verificaram diminuição nas perdas de MS.

A alta produção de ácido láctico promove redução acentuada no pH, efeito conveniente em silagens de plantas com alto poder tampão. Contreras-Govea et al. (2013) baixaram o pH de silagens de alfafa, com a adição de *Lactobacillus plantarum*, em função do aumento do teor de ácido láctico, com a relação de ácido láctico: ácido acético de 4,1. Além disso, o baixo pH anula a ação de microrganismos indesejáveis, como clostrídios ou enterobactérias (Muck, 1996; Emanuel et al., 2005) e bactérias proteolíticas, que degradam peptídeos e aminoácidos, gerando amônia (Zanine et al., 2007).

Uma espécie de BAL comumente estudada é a *L. plantarum*. Segundo regulamento de execução n.841/2012 da Comissão Europeia, de 18 de setembro de 2012, esta bactéria não tem efeitos adversos na saúde animal, na saúde humana e nem ao ambiente. Pode melhorar a produção de forragens conservadas, mediante o aumento da conservação da MS e da diminuição da perda de proteínas. Lin et al. (1992) avaliaram a população epifítica de silagens de milho e verificaram que *L. plantarum* é predominante antes da ensilagem, seguidos do *P. pentosaceus* e *E. faecium*. Essas bactérias continuaram se desenvolvendo após a ensilagem e dominando a fermentação.

Na literatura são encontrados experimentos com diversas bactérias homoláticas, únicas ou em conjunto, em doses variadas, testadas em várias culturas. Os resultados dependem de todas essas variáveis. Zanine et al. (2007) observaram que silagens de capim inoculadas com *L. plantarum*, com dose 1×10^5 UFC g⁻¹ da forragem fresca, tiveram aumento na produção de ácido láctico, sem alterar o pH, promovendo maior recuperação de MS. O inoculante ainda auxiliou na preservação de proteína do capim-Elefante. Já Paziani et al. (2006), ao avaliarem silagens de capim-Tanzânia emurchecidas, com milho ou com a umidade original, tratadas ou não com *L. plantarum*, verificaram que as técnicas de elevação de MS foram suficientes para reduzir perdas e que a adição de microrganismos não melhorou as características bromatológicas das silagens. Silagens com alto teor de carboidratos solúveis propiciam o desenvolvimento das BAL epifíticas, se o tamanho de sua população for suficiente, há condições para dominar a fermentação, sem necessidade de adição de aditivos (Cavali et al., 2010).

Silagens com fermentação láctica adequada e presença de açúcares residuais estão mais susceptíveis à degradação aeróbia devido à afinidade de leveduras por esses compostos. Rabelo et al. (2012) utilizaram bactérias homoláticas e verificaram que

silagens de milho se tornaram menos estáveis em aerobiose, atingindo maiores temperaturas em relação às silagens não aditivadas.

Maiores populações de bactérias promovem pH mais baixo, maiores teores de ácido lático e menores teores de ácido acético (Penteado et al., 2007). A adição de inoculantes pode direcionar a fermentação eficiente, com diminuição das perdas. Zopollatto et al. (2009) compilaram dados sobre o uso de bactérias homofermentativas e verificaram que, em silagens de milho, 33,3% dos trabalhos observaram queda no pH, 22,2% diminuíram o teor de FDN e 10% aumentaram a PB, em relação à silagem controle. Ao analisar silagens de sorgo, os autores verificaram menos de 20% de respostas favoráveis em relação ao uso de aditivos. A efetividade do inoculante e garantia de ambiente propício para seu desenvolvimento são fundamentais para que a resposta esperada ocorra.

2.6.2 Bactérias heterofermentativas

Bactérias heterofermentativas são adicionadas em silagens principalmente para promover a melhora da estabilidade aeróbia. Além da produção do ácido lático, ácidos acético e propiônico também são gerados no metabolismo desses microrganismos, e ambos são eficientes na inibição do crescimento de fungos (Filya, 2003). Basso et al. (2012) utilizaram doses crescente de aditivos com *L. buchneri* e verificaram que os teores de ácido lático se mantiveram constantes conforme a dose aumentou, enquanto o ácido acético aumentou. Esse efeito diminuiu a população de leveduras e conseqüentemente, melhorou a estabilidade aeróbia de silagens de milho.

Bernardes et al. (2007) utilizaram *L. buchneri* na concentração de 5×10^4 UFC g⁻¹ e não encontraram melhora na estabilidade aeróbia de silagens de capim-Marandu ou nas rações. Os autores atribuem esse resultado a baixa quantidade de cepas adicionadas na silagem. Reis et al. (2008) utilizaram *L. buchneri* para melhorar a qualidade de silagens

de grãos úmidos e observaram que as silagens mostraram-se mais estáveis em aerobiose quando foram adicionadas doses a partir de 1×10^5 UFC g^{-1} de massa ensilada.

Ávila et al. (2009) utilizaram duas cepas de *L. buchneri* em silagens de capim-Mombaça, e constataram que seu uso não melhorou a qualidade da fermentação, porém, inibiu o crescimento de fungos, principais deterioradores de silagem na fase aeróbia. Bayatkouhsar et al. (2012) inocularam silagens de milho com BAL homo e heterofermentativas e verificaram que estas últimas foram mais eficientes em controlar a estabilidade aeróbia.

Schmidt et al. (2011) adicionaram *L. buchneri* em silagens de cana-de-açúcar, na concentração de 5×10^4 UFC g^{-1} forragem e verificaram que as silagens inoculadas não foram mais estáveis durante a exposição ao O_2 e não apresentaram maiores teores de ácido acético que as silagens sem inoculante. A adição dessas cepas elevou as perdas da silagem, com desaparecimento de MS de 20,8%.

As BAL heterofermentativas têm como característica marcante a produção de gás a partir da glicose (Vásquez et al., 2005, citado por Buriti e Saad, 2007). Essas bactérias convertem glicose e frutose em ácido láctico, ácido acético, manitol, CO_2 e água (McDonald et al., 1991) e usam ácido láctico como substrato produzindo ácido acético, 1,2 propanediol e pequenas quantidades de etanol (Oude Elferink et al., 2001). Sá Neto et al. (2013), observaram elevação no pH e redução nas perdas de MS durante a fermentação em silagens de cana-de-açúcar, com o uso de *L. buchneri* na dose de 1×10^5 .

A adição de cepas de bactérias heteroláticas pode contribuir para a melhora na estabilidade da silagem em contato com o oxigênio, durante a fase de alimentação. Ademais, o planejamento da estrutura do silo e a quantidade retirada diariamente podem contribuir para a preservação do material. A variação nas respostas encontradas na literatura ocorre pelas diferentes condições em que as silagens são produzidas,

metodologias utilizadas e análises feitas, dificultando a obtenção de conclusões definitivas.

2.6.3 Aditivos microbianos combinados

Inoculantes que contêm bactérias homo e heterofermentativas podem acelerar a produção de ácido láctico no início da fermentação e diminuir a degradação aeróbia durante o uso da silagem (Driehuis et al., 2001). A combinação destes microrganismos tem gerado diversas pesquisas para esclarecer a efetividade e o desempenho de seu uso em conjunto. Bernardes et al. (2008) não encontraram melhoras nas silagens de capim-Marandu durante a fermentação, exposição aeróbia e consumo, ao serem inoculadas com bactérias homo e heterofermentativas. Sá Neto et al. (2013) testaram *L. plantarum* e *L. plantarum* combinado com *L. buchneri* em silagens de cana-de-açúcar ou milho e também não encontraram alteração na composição química e microbiológica das silagens de milho. Além disso, o uso de bactérias heteroláticas não melhorou a estabilidade do material em exposição ao ar, como esperado.

As respostas da aplicação de aditivos combinados é de difícil interpretação, pois cada bactéria usada possui uma forma de atuação. Neres et al. (2013) utilizaram um combinado de bactérias na concentração de 1×10^9 UFC g⁻¹ em silagens de capim-Tifton-85 e não encontraram melhora na inibição de microrganismos indesejáveis e na estabilidade aeróbia. Valeriano et al. (2009) estudaram a aplicação de *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. brevis* ou *L. buchneri* em silagens de cana-de-açúcar, isoladas na própria planta ou de inoculantes comerciais. Estes autores encontraram respostas contraditórias entre os aditivos, em que as bactérias homoláticas tiveram mais perdas e as heteroláticas que foram mais eficientes em reduzir o pH. O trabalho mostrou que as cepas selecionadas da própria cultura apresentam melhores respostas em relação aos produtos comerciais.

Bactérias heteroláticas são conhecidas pela produção de gases, porém, Junges et al. (2013) utilizaram inoculante com *L. plantarum*, *L. brevis* e *E. faecium*, na dose de 1×10^5 UFC g⁻¹ em silagens de milho, durante quatro períodos de armazenamento, e verificaram que o inoculante não alterou as perdas, e estas aumentaram devido ao tempo de estocagem. Já os teores de fibra aumentaram com o período de estocagem e com a inoculação, provavelmente pelo aumento no consumo de compostos solúveis pelos microrganismos. A combinação de bactérias pode ter evitado o aumento nas perdas dessas silagens.

Dependendo das características da forragem, o do uso de inoculantes pode ser dispensando (Schmidt et al., 2014). Rocha et al. (2006) fizeram uso de inoculantes enzimo-bacterianos em silagens de milho e não encontraram melhora na qualidade e no consumo. Já Kung, Jr. et al. (1984) utilizaram *L. plantarum*, *L. brevis* e *P. acidilactici*, na dose de 2×10^7 UFC g⁻¹ de inoculante, com doses de 500 ou 1000 g de inoculante em 1000 kg de alfafa. A quantidade de inoculante não afetou a queda do pH, mas a silagem sem o inoculante teve pH mais alto no início da fermentação.

A inoculação de silagens com bactérias deve propender a preservação da qualidade da silagem, pois são poucos os efeitos nos animais (Kung Jr. e Muck, 1997). Jayme et al. (2011) não encontraram aumento no consumo e digestibilidade de MS e energia de silagens de capim-Marandu, aditivadas com inoculantes microbianos. Assim, como Fugita et al. (2012), que não encontraram efeitos em bovinos tratados com silagens de milho inoculadas com *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* e *Pediococcus acidilactici* e enzimas. A produtividade animal com o uso de inoculantes se deve a qualidade do alimento, pois seu uso não altera a atividade microbiana ruminal (Dewhurst et al., 2000).

Silagens de melhor qualidade propiciaram melhora na ingestão de energia metabolizável por touros jovens, em trabalho realizado por Aragón et al. (2012). Os autores verificaram melhora no perfil fermentativo de silagens de milho inoculadas com bactérias homo e heterofermentativas (*E. faecium*, *L. plantarum* e *L. brevis*) na dose de 1×10^5 UFC g⁻¹, o que resultou em melhora na produção animal.

Em revisão realizada por Kung Jr. e Muck (1997), os autores verificaram que 28% dos ensaios avaliados melhoraram a ingestão, 53% melhoraram ganho de peso e 47% elevaram a produção de leite. Os autores relatam que esta avaliação deve ser cautelosa, pois os inoculantes avaliados não estão nas mesmas condições, como dose e maneira de aplicação. Ademais, inoculantes com a mesma espécie nem sempre possuem a mesma efetividade, pois as cepas utilizadas podem não terem a mesma origem.

A resposta da aplicação de aditivos está relacionada a fatores como, a dose utilizada, a viabilidade das cepas, as condições de preparo do inoculante, a presença de substrato para as bactérias, entre outros. É importante conhecer as características da silagem e identificar os problemas do material, para então decidir pelo uso ou não de aditivos microbianos.

Silagens com alto valor nutritivo podem necessitar de aditivos que melhorem sua preservação durante a fase de alimentação, aliados ao bom manejo de fornecimento. Da mesma forma, alguns materiais podem necessitar da adição de bactérias para potencializar a fermentação, com rápida queda do pH, para garantir a máxima preservação do material ensilado. O uso de inoculantes pode potencializar a conservação de forragens ensiladas, desde que as etapas básicas do processo sejam executadas adequadamente.

2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, R. e Ostrensky, A. 2011. Aditivos para gado leiteiro. p. 217 – 256. In: Anais do 9º Simpósio Sobre Nutrição de Bovinos. Piracicaba, São Paulo.
- Andrade, I. V. O.; Pires, A. J. V.; Carvalho, G. G. P.; Veloso, C. M.; Bonomo, P. 2010. Perdas, características fermentativas e valor nutritivo da silagem de capim-Elefante contendo subprodutos agrícolas. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:2578-2588.
- Andrade, S. J. T. e Melotti, L. 2003. Inoculantes bacterianos na ensilagem do capim-Elefante (*Pennisetum purpurem*, Schum). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 40:219-223.
- Aragón, Y. A.; Jatkauskas, J.; Vrotniakiene, V. 2012. The effect of a silage inoculant on silage quality, aerobic stability, and meat production on farm scale. *International Scholarly Research Network Veterinary Science* 2012:1-6.
- Ávila, C. L. S.; Pinto, J. C.; Figueiredo, H. C. P.; Morais, A. R.; Pereira, O. G. e Schwan, R. F. 2009. Estabilidade aeróbia de silagens de capim-Mombaça tratadas com *Lactobacillus buchneri*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38:779-787.
- Basso, F. C.; Bernardes, T. F.; Roth, A. P. T. P.; Lodo, B. N.; Berchielli, T. T. e Reis, R. A. 2012. Fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41:1789-1794.
- Bayatkouhsar, J.; Tahmasbi, A. M. e Naserian A. A. 2012. Effects of microbial inoculant on composition, aerobic stability, in situ ruminal degradability and in vitro gas production of corn silage. *International Journal of AgriScience* 2:774-786.
- Bernardes, T. F.; Reis, R. A.; Siqueira, G. R.; Amaral, R. C.; Pires, A. J. 2007. Estabilidade aeróbia da ração total e de silagens de capim-Marandu tratadas com aditivos químicos e bacterianos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:754-762.
- Bernardes, T. F.; Reis, R. A.; Amaral, R. C.; Siqueira, G. R.; Roth, A. P. T. P.; Roth, M. T. P.; Berchielli, T. T. 2008. Perfil Fermentativo, estabilidade aeróbia e valor nutritivo de silagens de capim-Marandu ensilado com aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37:1728-1736.
- Bernardes, T. F.; Rego, A. C. 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal Dairy Science* 97: 1852-1861.
- Buriti, F. C. A. e Saad, S. M. I. 2007. Bactérias do grupo *Lactobacillus casei*: caracterização, viabilidade como probióticos em alimentos e sua importância para a saúde humana. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion* 57:373-380.
- Campos, F. P.; Lanna, D. P. D.; Bose, M. L. V.; Boin, C.; Sarmiento, P. 2002. Degradabilidade do capim-Elefante em diferentes estágios de maturidade avaliada pelo método *in vitro/gás*. *Scientia Agricola* 59:217-225.
- Carvalho, G. G. P.; Garcia, R.; Pires, A. J. V.; Pereira, O. G.; Azevedo, J. A. G.; Carvalho, B. M. A.; Cavali, J. 2007. Valor nutritivo de silagens de capim-Elefante emurhecido ou com a adição de farelo de cacau. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:1495-1501.
- Castro, F. G. F. 2002. Uso de pré-emurhecimento, inoculante bacteriano-enzimático ou ácido propiônico na produção de silagem de Tifton 85 (*Cynodon sp.*). 2002. 136p. Tese (D.Sc.). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.

- Castro, F. G. F.; Nussio, L. G.; Haddad, C. M.; Campos, F. P.; Coelho, R. M.; Mari, L. J.; Toledo, P. A. 2006. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-Tifton-85 (*Cynodon* sp.) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35:358-371.
- Cavali, J.; Pereira, O. G.; Valadares Filho, S. C.; Porto, M. O.; Fernandes, F. E. P e Garcia, R. 2010. Mixed sugarcane and elephant grass silages with or without bacterial inoculant. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:462-470.
- Contreras-Govea, F. E.; Muck, R. E.; Broderick, G. A.; Weimer, P. J. 2013. *Lactobacillus plantarum* effects on silage fermentation and in vitro microbial yield. *Animal Feed Science and Technology* 179:61-68.
- Cruz, J. C.; Filho, I. A. P. e Gontijo Neto, M. M. 2009. Qualidade da silagem de milho em função do teor de matéria seca na ocasião da colheita. p 65. Circular Técnica 112. EMBRAPA.
- Daniel, J. L. P.; Junges, D.; Nussio, L. G. 2014. Alterações na qualidade de silagens de milho durante o armazenamento. p. 23-36. In: Anais do V Simpósio: Produção e utilização de forragens conservadas. Maringá, Brasil.
- Dias, F. N. 2002. Avaliação de parâmetros agrônômicos e nutricionais em híbridos de milho (*Zea mays* L) para silagem. Dissertação (M.Sc.). Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, Brasil.
- Driehuis, F.; Oude Elferink, W.H.; Van Wixselaar, P.G. 2001. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculant with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science* 56:330-343.
- Dewhurst, R. J.; Davies, D. R. e Merry, R. J. 2000. Microbial protein supply from the rumen. *Animal Feed Science and Technology* 85:1-21.
- Emanuel, V.; Jochmann, K. e Gadeken, D. 2005. Isolation of a *Lactobacillus plantarum* strain used for obtaining a product for the preservation of fodders. *African Journal of Biotechnology* 4:403-408.
- Ferreira, G. D. G.; Barri`ere, Y.; Emile, J.; Jobim, C. C.; Almeida, O. C. 2011. Valor nutritivo da silagem de dez híbridos de milho. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 33:255-260.
- Filya, I. 2003. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *Journal of Applied Microbiology* 95:1080-1086.
- Fugita, C. A.; Prado, I. N.; Jobim, C. C.; Zawadzki, F.; Valero, M. V.; Pires, M. C. O.; Prado, R. M. e Françoço, M. C. 2012. Corn silage with and without enzyme-bacteria inoculants on performance, carcass characteristics and meat quality in feedlot finished crossbred bulls. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41:154-163.
- Jayme, C. G.; Gonçalves, L. C.; Molina, L. R.; Jayme, D. G.; Pires, D. A. A.; Borges, I.; Castro, G. H. F. 2011. Consumo e digestibilidade aparente de silagens de *Brachiaria brizantha* cv marandu adicionada de aditivos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 63:704-711.

- Jobim, C. C.; Nussio, L. G.; Reis, R. A.; Schmidt, P. 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:101-120.
- Junges, D. 2010. Aditivo microbiano na silagem de milho em diferentes tempos de armazenamento e avaliação da estabilidade aeróbia por termografia em infravermelho. Dissertação (M.Sc.). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
- Junges, D.; Schmidt, P.; Novinski, C. O. e Daniel, J. L. P. 2013. Additive containing homo and heterolactic bacteria on the fermentation quality of maize silage. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 35:371-377.
- Kiyota, N.; Vieira, J. A. N.; Yagi, R. e Lugão, S. M. B. 2011. *Silagem De Milho Na Atividade Leiteira Do Sudeste Do Paraná*. 1st ed. Londrina, Brasil.
- Klein, G.; Pack, A.; Bonaparte, C. e Reuter, G. 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 41:103-125.
- Kung Jr., L.; Muck, R. 1997. Animal responses to silage additive. p.200-210. In: *Silage: field to feedbunk*. Hershey, Pennsylvania.
- Kung Jr., L.; Grieve, D. B.; Thomas, J. W.; Huber, J. T. 1984. Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *Journal of Dairy Science* 67:299-306.
- Lin, C.; Brent, B. E.; Bolsen, K. K.; Fung, Y. C. 1992. Epiphytic lactic acid bacteria succession during the pre-ensiling and ensiling periods of alfalfa and corn. p.113. In: *Cattlemen's Day*. Kansas State University, Manhattan.
- Loures, D. R. S.; Nussio, L. G.; Paziani, S. F.; Pedroso, A. F.; Mari, L. J.; Ribeiro, J. L.; Zopollatto, M.; Schmidt, P.; Junqueira, M. C.; Packer, I. U.; Campos, F. P. 2005. Composição Bromatológica e produção de efluente de silagens de capim-Tanzânia sob o efeito do emurchecimento, do tamanho de partícula e do uso de aditivos biológicos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34:726-735.
- McDonald, P.; Henderson, A. R.; Heron, S. J. E. 1991. *The biochemistry of silage*. 2nd ed. Chalcombe Publications.
- Muck, R. 1996. Silage inoculation. p.43-51. In: *Conference with dairy and industries*, Madison, Wisconsin.
- Muck, R. E. 2010. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:183-191.
- Neres, M. A.; Zambom, M. A.; Fernandes, T.; Castagnara, D. D.; Rodrigues, J. F. H.; Taffarel, L. E.; Javorski, C. R. e Pozza, M. S. S. 2013. Microbiological profile and aerobic stability of Tifton 85 bermudagrass silage with different additives. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42:381-387.
- Novinski, C. O. 2013. Composição de micotoxinas e bromatologia de silagens de milho em silos de grande porte utilizando imagens em infravermelho. Dissertação (M.Sc.). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
- Nussio, L. G.; Campos, F. P.; Dias, F. N. 2001 Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. p. 127-145. In: *Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas*. Jobim, C. C.; Cecato, U.; Damasceno, J. C. e Santos, G. T. Maringá, Brasil.

- Oliveira, L. B.; Pires, A. J. V.; De Carvalho, G. G. P.; Ribeiro, L. S. O.; Almeida, V. V. e Peixoto, C. A. M. 2010. Perdas e valor nutritivo de silagens de milho, sorgo-sudão, sorgo forrageiro e girassol. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:61-67.
- Oude Elferink, S.J.W.H.; Krooneman, J.; Gottschal, J.C.; Spoelstra, S.F.; Faber, F.; Driehuis, F. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied Environmental and Microbiology* 67:125-132.
- Paziani, S. F.; Duarte, A. P.; Nussio, L. G.; Gallo, P. B.; Bittar, C. M. M.; Zopollatto, M.; Reco, P. C. 2009. Características agrônômicas e bromatológicas de híbridos de milho para produção de silagem. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38:4141-417.
- Paziani, S.F.; Nussio, L.G.; Loures, D.R.S. ; Igarasi, M. S. ; Pedroso, A. F. e Mari, L. J. 2006. Influência do teor de matéria seca e do inoculante bacteriano nas características físicas e químicas da silagem de capim-Tanzânia. *Acta Scientiarum. Animal Science* 28:265-271.
- Pahlow, G.; Muck, R. E.; Driehuis, F. et al. 2003. Microbiology of ensiling. In: *Silage Science and Technology*. 1 ed. Madison: American Society of Agronomy.
- Penteado, D. C. S.; Santos, E. M.; Carvalho, G. G. P.; Oliveira, J. S.; Zanine, A. M.; Pereira, O. G. e Ferreira, C.L.L.F. 2007. Inoculação com *Lactobacillus plantarum* da microbiota em silagem de capim-Mombaça. *Archivos de Zootecnia* 56:191-202.
- Pereira, O. G.; Silva, T. C.; Leandro, E. S.; Ribeiro, K. G. 2014. Práticas na ensilagem *versus* qualidade higiênica da silagem. p. 157-210. In: *Anais do V Simpósio: Produção e utilização de forragens conservadas*. Maringá, Brasil.
- Rabelo, C. H. S.; Rezende, A. V.; Nogueira, D. A.; Rabelo, F. H. S.; Senedese, S. S.; Vieira, P. F.; Barbosa, L. A. e Carvalho, A. 2012. 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* 13:656-668.
- Reis, R. A.; Schocken-Iturrino, R. P.; Almeida, E. O.; Janusckiewicz, E. R.; Bernardes, T. F. 2008. Efeito 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* 9:923-934.
- Reis, R. A.; Teixeira, I. A. M. A. e Siqueira, G. R. 2006. Impacto da qualidade da forragem na produção animal. In: *Anais de Simpósios da 43ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. João Pessoa, Brasil.
- Rocha, K. D.; Pereira, O. G.; Valadares Filho, S. C.; Oliveira, A. P.; Pacheco, L. B. B. e Chizzotti, F. H. M. 2006. Valor nutritivo de silagens de milho (*Zea mays* L.) produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35:389-395.
- Sá Neto, A.; Nussio, L. G.; Zopollatto, M.; Junges, D.; Bispo, A. W. 2013. Silagem de milho ou de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* exclusivamente ou em associação com *L. plantarum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48:528-535.
- Schmidt, P.; Souza, C. M.; Bach, B. C. 2014. Uso estratégico de aditivos em silagens: Quando e como usar. p. 243-264 In: *Anais do V Simpósio: Produção e Utilização de Forragens Conservadas*. Maringá, Brasil.

- Schmidt, P.; Novinski, C.O.; Carneiro, E.W. e Bayer, C. 2012. Greenhouse gas emissions from fermentation of corn silage. P. 428. In: XVI International Silage Conference. Hämeenlinna, Finland.
- Schmidt, P.; Rossi Junior, P.; Junges, D.; Dias, L. T.; Almeida, R. e Mari, L. J. 2011. Novos aditivos microbianos na ensilagem da cana-de-açúcar: composição bromatológica, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. Revista Brasileira de Zootecnia. 40:543-549.
- Valeriano, A. R.; Pinto, J. C.; Ávila, C. L. S.; Evangelista, A. R.; Tavares, V. B.; Schwan, R. F. 2009. Revista Brasileira de Zootecnia 38:1009-1017.
- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of ruminant. Ithaca: Cornell University Press.
- Velho, J. P.; Mühlbach, P. R. F.; Genro, T. C. M.; Sanchez, L. M. B.; Nörnberg, J. L.; Orqis, M. G. e Falkenberg, J. R. 2006. Alterações bromatológicas nas silagens de milho submetidas a crescentes tempos de exposição ao ar após “desensilagem”. Ciência Rural 36:916-923.
- Velho, J. P.; Mühlbach, P. R. F.; Nörnberg, J. L.; Velho, I. M. P. H.; Genro, T. C. M. e Kessler, J. D. 2007. Composição bromatológica de silagens de milho produzidas com diferentes densidades de compactação. Revista Brasileira de Zootecnia 36:1532-1538.
- Weinberg, Z.G.; Khanal, P.; Yildiz, C.; Chen, Y.; Arieli, A. 2011. Ensiling fermentation products and aerobic stability of corn and sorghum silages. Japanese Society of Grassland Science 57:1-5.
- Wilks, D.; Farrington, M.; Rubenstein, D. 2003. The Infectious Diseases Manual. 2nd edition. Blackwell Science Ltda.
- Zanine, A. M.; Santos, E. M.; Ferreira, D. J.; Pinto, L. F. B.; Pereira, O. G. 2007. Características fermentativas e composição químico-bromatológica de silagens de capim-Elefante com ou sem *Lactobacillus plantarum* e farelo de trigo isoladamente ou em combinação. Ciência Animal Brasileira 8:621-628.
- Zopollatto, M.; Daniel, J. L. P.; Nussio, L. G. 2009. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. Revista Brasileira de Zootecnia 38:170-189.

3. CAPÍTULO II – QUALIDADE DE SILAGENS DE MILHO INOCULADAS COM BACTÉRIAS HOMO E HETEROLÁTICAS

3.1 RESUMO

O objetivo desse experimento foi avaliar a qualidade de silagens de milho tratadas com bactérias homo e heterofermentativas em diferentes doses. Foram avaliados cinco tratamentos, distribuídos em DIC, com cinco repetições, sendo eles: C – controle, sem adição de bactérias; BLbu – composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) (5×10^4 UFC g⁻¹ de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5×10^4 UFC g⁻¹); ALbu – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. buchneri* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); ALbr – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. brevis* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); BLbr – composto de bactérias (5×10^4 UFC g⁻¹) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g⁻¹). Durante a fermentação foram qualificados e quantificados os gases produzidos. Após 60 dias da ensilagem foram determinados os teores de MS, MM, PB, FDN e FDA, pH, perdas de gases, efluentes, perdas totais de MS, contagens microbianas de BAL, leveduras e fungos filamentosos, teores de ácidos orgânicos e etanol. As silagens permaneceram em exposição aeróbia durante 10 dias, com controle de temperatura a cada 4 horas. De maneira geral, a composição química das silagens não foi influenciada pela adição de bactérias. A silagem com dose baixa de *L. brevis* foi menos estável em aerobiose que a silagem controle. As silagens com alta dose de *L. brevis* apresentaram maiores perdas de gases (g kg⁻¹ MS), e consequentemente, maiores perdas totais de MS. A produção de gás (litros) foi semelhante para todos os tratamentos. As contagens microbianas foram semelhantes entre as silagens. As silagens inoculadas com *L. brevis* apresentaram valores superiores de etanol e de ácidos acético e propiônico. A adição de bactérias não melhorou o perfil fermentativo e a estabilidade aeróbia das silagens de milho.

Palavras-chave: estabilidade aeróbia, gases, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. plantarum*

3.2 INTRODUÇÃO

A cultura de milho é amplamente usada para a produção de silagem, pois possui características que favorecem a fermentação, como teores de matéria seca (MS) e carboidratos solúveis (CS) adequados, baixo poder tampão e alta produtividade, de até 20 toneladas de MS ha⁻¹ (Von Pinho et al., 2007). A adição de bactérias na forragem, no momento da ensilagem, pode potencializar os produtos da fermentação, para elevar a preservação da silagem.

Bactérias homoláticas são adicionadas para acelerar a queda do pH, com produção de duas moléculas de lactato a partir de uma molécula de glicose (Muck, 2010). Seu metabolismo não gera produtos secundários, o que ocasiona poucas perdas durante a fermentação (Oude Elferink et al., 2001). Rabelo et al. (2012) utilizaram bactérias homoláticas em silagens de milho e verificaram queda nas perdas, em contrapartida, as silagens foram menos estáveis em aerobiose.

As bactérias heteroláticas são adicionadas em silagens que estão susceptíveis à degradação durante o período de uso, causada por microrganismos aeróbios. Silagens com fermentação adequada, como silagens de milho, estão mais vulneráveis à degradação em aerobiose, em função da alta quantidade de lactato presente no material, utilizado como substrato de leveduras, além dos carboidratos residuais (Basso et al., 2012). Bactérias heteroláticas, como *Lactobacillus brevis* e *L. buchneri*, além do ácido láctico, produzem, ácido acético e propiônico que tem propriedades antifúngicas, e controlam a ação de leveduras (Filya, 2003). Bayatkouhsar et al. (2012) utilizaram bactérias heteroláticas em silagens de milho e constataram melhora na estabilidade do material em aerobiose.

A combinação de bactérias homo e heterofermentativas é usada em casos em que o objetivo é o sinergismo entre as cepas, para diminuir as perdas durante todo o processo

de ensilagem, com a potencialização da fermentação e rápida estabilização do material dentro do silo, e para preservação da qualidade durante o fornecimento aos animais (Junges et al., 2013).

Foram objetivos desse experimento avaliar a qualidade de silagens de milho aditivadas com bactérias homo e heterofermentativas em diferentes doses e comparar duas metodologias de avaliação de perdas em silagens.

3.2.1 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1.1 Plantio

O experimento foi realizado pelo Centro de Pesquisas em Forragicultura (CPFOR), da Universidade Federal do Paraná. A cultura de milho utilizada estava implantada na Agropecuária Rabbers, que cedeu a forragem para a montagem deste ensaio, está localizada no município de Castro – Paraná, latitude de 24° 47' 27" S e longitude de 50° 00' 43" W, com 988 metros de altitude e clima subtropical Cfb, segundo a classificação de Köppen. O híbrido utilizado foi o Pioneer 30R50H, com população de 72 mil plantas por hectare, conduzido seguindo as recomendações agrônomicas para a cultura. O desenvolvimento da planta foi acompanhado com medições de teor de MS e quando apresentava teor próximo a 35%, a colheita foi realizada, com colhedora de forragem automotriz Krone Bigx-650, regulada para tamanho médio de partícula de 22 mm.

3.2.1.2 Tratamentos e adição de bactérias

As combinações de bactérias ácido lácticas utilizadas eram provenientes de produtos comerciais em fase de teste. Essas combinações entre a dose do um composto de bactérias (*Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* e *Pediococcus acidilactici*) e a dose de uma bactéria heterolática (*L. buchneri* ou *L. brevis*) promoveu doses de 100.000 UFC g⁻¹ em todos os tratamentos que receberam aditivos microbianos. Foram avaliados cinco tratamentos, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições: C – controle, sem adição de bactérias; BLbu – composto de bactérias (5 × 10⁴ UFC g⁻¹ de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5 × 10⁴ UFC g⁻¹); ALbu – composto de bactérias (3,35 × 10⁴ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. buchneri* (6,65 × 10⁴ UFC g⁻¹); ALbr – composto de bactérias (3,35 × 10⁴ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. brevis* (6,65 ×

10^4 UFC g^{-1}); BLbr – composto de bactérias (5×10^4 UFC g^{-1}) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g^{-1}).

O milho foi amostrado antes da ensilagem, para caracterização bromatológica e microbiológica (Tabela 1).

Tabela 1 - Características químicas e microbiológicas da planta de milho no momento da ensilagem

Variáveis	Tratamentos ¹					Média
	C	BLbu	ALbu	ALbr	BLbr	
pH	5,2	5,0	5,3	5,0	4,9	5,1
Matéria Seca	328,3	328,9	335,6	334,6	333,9	332,3
Proteína Bruta	63,2	55,6	57,0	55,9	60,0	58,3
Matéria Mineral	41,6	30,1	37,3	19,4	38,0	33,3
FDN	547,3	551,7	514,2	481,4	524,5	523,82
FDA	292,8	247,7	246,9	183,3	256,3	245,4
Carboidratos Solúveis	40,8	32,6	28,9	28,3	27,2	31,56
			Log UFC g^{-1}			
Bactérias Ácido Lácticas	9,19	9,14	9,12	9,09	9,24	9,17
Leveduras	6,82	6,72	6,67	7,27	7,30	6,96
Fungos Filamentosos	6,38	6,25	6,23	5,83	6,37	6,21

¹ C – controle, sem adição de bactérias; BLbu – composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) (5×10^4 UFC g^{-1} de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5×10^4 UFC g^{-1}); ALbu – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g^{-1}) + alta dose de *L. buchneri* ($6,65 \times 10^4$ UFC g^{-1}); ALbr – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g^{-1}) + alta dose de *L. brevis* ($6,65 \times 10^4$ UFC g^{-1}); BLbr – composto de bactérias (5×10^4 UFC g^{-1}) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g^{-1}).

Os aditivos microbianos foram dissolvidos em água destilada e pulverizados de forma homogênea sobre a forragem. A silagem Controle recebeu somente água destilada – em quantidade igual à adicionada junto aos aditivos (1000 ml t^{-1} de forragem).

3.2.1.3 Ensilagem

Os silos experimentais, com volume de 20 L, eram providos de um sistema de válvulas para a mensuração da produção de gases e aparato para determinação gravimétrica de perdas. Foram adicionados 2 kg de areia ao fundo dos silos, para quantificar a produção de efluentes. A areia permaneceu separada da forragem com o

auxílio de tela plástica e tecido de algodão (adaptados de Jobim et al., 2007; Schmidt, 2006).

A forragem foi adicionada gradualmente nos silos experimentais, visando adequada compactação, com o auxílio de pisoteio humano, para obtenção de densidade adequada para preservação da forragem, com média de 595 kg de MV m⁻³ (DP = 4,37) (Velho et al., 2007). Em seguida, os silos foram pesados e vedados com adesivo selante, para impedir a troca gasosa com o ambiente. Cada silo foi considerado uma unidade experimental. Os silos foram acoplados ao mecanismo de avaliação do volume de gases produzidos, segundo metodologia descrita por Schmidt et al. (2012) e permaneceram fechados durante 60 dias.

3.2.1.4 Amostragem e Análises

Foram coletadas amostras da forragem fresca e das silagens para determinações químico-bromatológicas e microbianas. A determinação de pH foi realizada conforme metodologia descrita por Kung Jr. et al. (1984), em pHmêtro digital. Os teores de MS, MM e PB foram determinados segundo metodologia descrita pela AOAC (1984) e os teores de FDN e FDA pelo método sequencial, conforme técnicas descritas por Van Soest et al. (1991), adaptadas para o Ankom Fiber Analyser. O teor de carboidratos solúveis (CS) foi determinado pelo método fenol-sulfúrico (Hall, 2000).

A determinação dos ácidos orgânicos e do etanol, contidos no suco da silagem, obtido através de prensagem, foi realizada por cromatografia gasosa, conforme metodologia proposta por Erwin et al. (1961).

As perdas por efluente e perda total de MS (PTMS) foram calculadas conforme metodologia descrita por Jobim et al. (2007) e Schmidt (2006). A determinação de gases durante o processo fermentativo foi realizada através de duas metodologias:

- Perda por gases (perdaG): Diferença gravimétrica, baseada na pesagem dos silos no seu fechamento (dia 0) e na abertura, em relação à massa de forragem armazenada, proposta por Schmidt (2006) e apresentada por Jobim et al. (2007).

- Produção de gases (prodG): Volume de gás produzido avaliado mediante sistema de coleta, que conectam os silos laboratoriais a um recipiente graduado através de uma válvula, quantificando a produção em mL (Figura 1).

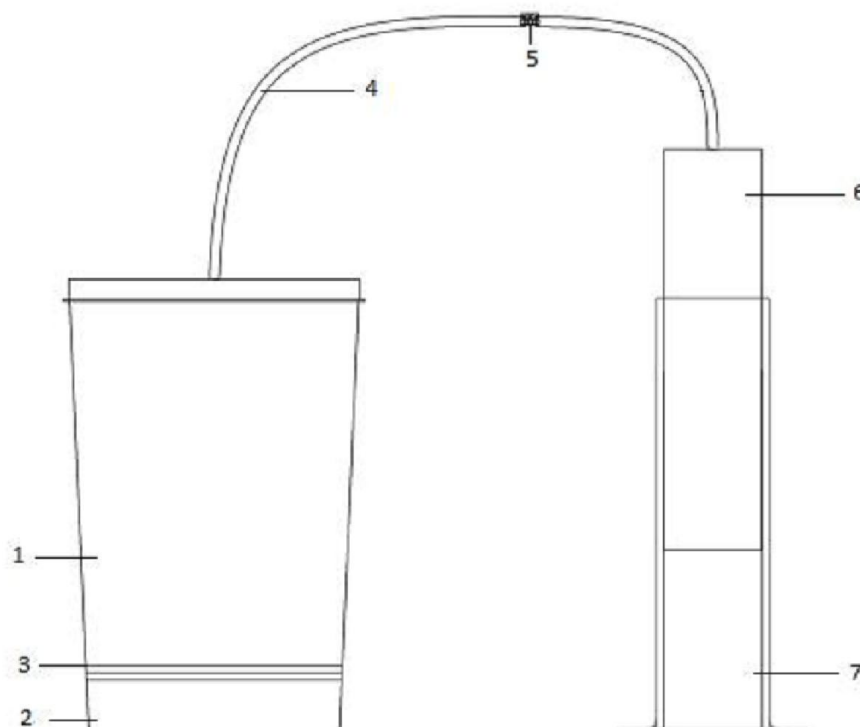


Figura 1 - Esquema demonstrativo sobre o silo experimental.

1 – Corpo do silo, de material termoplástico poliolefínico, para armazenamento da forragem; 2 – Areia, para quantificação da produção de efluentes; 3 – tela em polietileno e tecido em algodão, para impedir o contato da forragem com a areia; 4 – tubos de látex (movimentação dos gases); 5 – torneira de 3 vias com indicadores de direcionamento de fluxo e sistema de giro em torno do próprio eixo; 6 – câmara graduada (1000 mL) em polietileno de baixa densidade, para armazenamento dos gases produzidos pela silagem. 7 – recipiente em PVC preenchido com água para receber a câmara graduada (6).

Logo após o fechamento do silo, a única via de escape do gás produzido é pelo tubo acoplado na tampa do silo (4), que direciona o gás para a câmara graduada (6). Essa

câmara sobe, em função da pressão, indicando qual o volume produzido no menisco formado pela água. Quando esse valor está próximo a 1000 mL, a torneira de três vias (5) é direcionada para fechar o silo e liberar o gás da câmara, para evitar o extravasamento do gás por falta de espaço. Dessa maneira, os silos foram monitorados durante os 60 dias em que ficaram fechados. A produção de gás (prodG) foi considerada como o somatório do volume total de gás (litros), produzido durante os 23 dias iniciais de fermentação.

Durante o período de produção de gases pela silagem, foram coletadas amostras de gás para determinar sua composição. Foram analisadas as concentrações de CO₂, CH₄ e N₂O, através de cromatografia gasosa (GC Shimadzu 14-A). Também foi estimado o potencial causador de efeito estufa, considerando que o CH₄ e o N₂O são 25 e 310 vezes mais impactantes que o CO₂, respectivamente. Os valores são apresentados em gramas de CO₂ equivalente (g CO₂-eq) (Wang, 2014).

As análises microbiológicas para contagem de bactérias ácido lácticas, leveduras e fungos filamentosos foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Kung Jr. et al. (1984), pelo método de diluição e plaqueamento, com técnica Pour Plate, em profundidade. Para a análise, foram pesadas amostras de 25 gramas de forragem com 225 ml de ringer solution ou solução salina, em saco esterilizado e foram levadas ao aparelho Lab-Blender Stomacher 400, para agitação durante 4 minutos, em velocidade de 150 RPM. A mistura foi filtrada em gaze e armazenada em frascos previamente autoclavados.

Para a diluição, foi preparada Ringer Solution (1 litro de água destilada para cada duas pastilhas de ringer (BR0052 – Oxoid)), distribuída em tubos com 9,9 ml da solução, com conseguinte autoclavagem, durante 15 minutos à temperatura de 121 °C.

Os meios de cultura foram seguidos de acordo com a recomendação do fabricante. Os meios destinados à contagem de bactérias tiveram adição de substâncias antifúngicas (natamicina - 0,25 g L⁻¹ de meio ou nistatina - 4 ml L⁻¹ de meio). Para os meios destinados

à contagem de leveduras ou fungos filamentosos, foram adicionados antibióticos (ácido láctico a 85% - 2mL para 400 mL de meio). Os meios foram mantidos em banho-maria, à 50 °C.

As placas de bactérias ácido lácticas e leveduras foram incubadas por 48 horas e as placas de fungos filamentosos de 72 a 120 horas, na temperatura de 32 °C. Foram realizadas contagem das diluições 4, 5 e 6 para bactérias ácido lácticas e 3, 4 e 5 para fungos filamentosos e leveduras. Os valores foram transformados em log UFC g⁻¹.

A avaliação da estabilidade aeróbia foi realizada de acordo com o método descrito por Kung Jr. et al. (2000), em que amostras de 4 kg de silagem foram mantidas por dez dias em sala fechada, com temperatura variável entre 17 a 24 °C. O material foi acomodado sem compactação nos próprios silos, com 33 cm de altura e 27,5 cm de diâmetro. As temperaturas da silagem e do ambiente foram mensuradas a cada 4 horas, com o auxílio de termômetros de bulbo inseridos no centro da massa, durante 10 dias. Com essa coleta de dados, foram determinadas: temperatura máxima alcançada pela massa (°C) – Tmax; temperatura mínima na massa (°C) – Tmin; temperatura média na massa (°C) – Tmédia; somatório das diferenças de temperatura das silagens e do ambiente (°C) – Acum; diferença máxima entre a temperatura da silagem e do ambiente (°C) – Difmax; tempo para atingir a temperatura máxima (horas) – Htmax; tempo para a silagem elevar 2 °C acima da temperatura ambiente (estabilidade aeróbia, horas) – EA. Também foi determinada a perda de MS em aerobiose (PMS), pela diferença na massa seca da forragem antes e após o período de exposição ao ar.

3.2.1.5 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. A análise estatística foi realizada com o programa SAS (Statistical Analysis System) versão 4.3. Utilizou-se a metodologia Box-Cox para verificar a homogeneidade das

variâncias. Quando necessário, os dados foram transformados (Box e Cox, 1964). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando houve significância pelo teste F, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade de erro. Posteriormente, aplicou-se o teste de correlação de Pearson para 16 variáveis, para conhecer a intensidade com que as variáveis influenciam e são influenciadas por outras.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição bromatológica e os produtos da fermentação das silagens avaliadas estão apresentados na Tabela 2. Os valores de pH das silagens não foram influenciados pela adição de bactérias ($P=0,66$), com valor médio de 4,06. Este valor está próximo daquele de 3,74 encontrado por Borreani et al. (2014) em silagens de milho aditivada com *L. buchneri*, *E. faecium* e *L. plantarum* aos 55 dias de ensilagem. Bayatkouhsar et al. (2012) também não encontraram diferença entre o pH em silagens de milho, com 45 dias e 90 dias de fermentação, aditivadas com cepas homoláticas ou com um mix de homo e heterofermentativas em relação a silagem controle, e observaram que os valores foram, em média, de 3,7.

As silagens apresentaram teores de MS coerentes com aqueles registrados na literatura. Rocha et al. (2006) e Junges et al. (2013) encontraram silagens com teor de MS, em média, de 297 e 399 g kg⁻¹, respectivamente. A ensilagem de plantas no ponto de maturação adequado (~300 g kg⁻¹ MS) evita fermentações indesejáveis e subsequente perda de valor nutritivo. Nas silagens avaliadas, a que recebeu a alta dose de *L. brevis* apresentou teor inferior (322,39 g kg⁻¹) ao das silagens Controle e com alta dose de *L. buchneri* ($P<0,01$). O processo fermentativo promove alterações na forragem durante o armazenamento e, dependendo da intensidade e dos microrganismos presentes na

silagem, pode haver maior consumo de nutrientes e aumento nas perdas durante a fermentação (McDonald et al., 1991).

Tabela 2 - Composição química-bromatológica das silagens de milho sem aditivo ou inoculadas com aditivos microbianos

Variáveis	Tratamentos ¹					CV ²	P-Valor
	C	BLbu	ALbu	ALbr	BLbr		
pH	4,04	4,09	4,03	4,07	4,05	1,64	0,66
	-----g kg ⁻¹ -----						
MS	346,2a	338,9ab	341,0a	322,4b	330,8ab	2,8	<0,01
MM	35,8	36,5	35,2	34,9	39,3	10,25	0,38
PB	55,6	54,2	54,1	54,3	59,4	7,55	0,26
FDN	565,1ab	482,4b	676,7a	617,7ab	606,9ab	12,64	<0,01
FDA	224,6	230,9	229,1	241,7	253,6	8,07	0,15
Ácido Lático	46,1	45,4	46,2	50,5	47,9	10,95	0,55
Ácido Acético	13,7c	15,2bc	14,2c	17,3a	16,3ab	5,92	<0,01
Ácido Propiônico	0,4c	0,5b	0,5b	0,6a	0,6a	6,96	<0,01
Ácido Butírico	0,05	0,03	0,03	0,05	0,02	143,08	0,80
Lático:Acético	3,4	3,0	3,3	2,9	2,9	9,99	0,10
Etanol	10,3b	11,3b	10,8b	13,5a	12,9a	5,27	<0,01

Médias seguidas por letras diferentes na linha são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05). ¹ C – controle, sem adição de bactérias; BLbu – composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) (5×10^4 UFC g⁻¹ de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5×10^4 UFC g⁻¹); ALbu – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. buchneri* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); ALbr – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. brevis* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); BLbr – composto de bactérias (5×10^4 UFC g⁻¹) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g⁻¹); ² Coeficiente de variação.

Os teores de MM não foram influenciados pelos tratamentos e foram coerentes aos encontrados por Fugita et al. (2012), em silagem inoculadas, com teores de 31,8 a 34,9 g de MM kg⁻¹ MS e acima dos teores encontrados por Gimenes et al. (2006), de 12,68 g de MM kg⁻¹.

Os teores de PB, com média de 55,5 g kg⁻¹ MS, foram semelhantes entre os tratamentos (P>0,05) e próximos aos encontrados na literatura. Silva et al. (2005) avaliaram silagens de milho, tratadas com aditivos microbianos e verificaram que a PB

não diminuiu ao longo da fermentação, se mantendo em torno de 70 g kg⁻¹ MS. Vieira et al. (2011) avaliaram 10 híbridos de milho para silagem e encontraram valores de 60,3 a 80,7 g kg⁻¹ de PB. Conforme os autores ressaltaram, a qualidade das silagens de milho é avaliada de acordo com seus teores de energia, por ser caracterizada pela alta quantidade de amido e baixos teores de PB.

Em relação aos valores de fibra, apenas a FDN foi significativamente influenciada pelos tratamentos (P<0,01). A FDN da silagem com alta dose de *L. buchneri* (676,7 g kg⁻¹) foi superior à silagem com baixa dose deste mesmo microrganismo (482,38 g kg⁻¹). Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários. Domingues et al. (2012) avaliaram 23 híbridos de milho para silagem e encontraram valores de FDN inferiores a este trabalho, de 384,3 a 489,8% de FDN com baixo CV, de 6,87%.

A FDA apresentou valor médio de 236 g kg⁻¹ MS, semelhante a Borreani et al. (2014), que encontraram silagens com 254,5 g de FDA kg⁻¹ MS. Silva et al. (2005) encontraram resposta semelhante, com aumento da fração FDN, e verificaram que a adição de microrganismos à silagem não alterou a proporção de hemicelulose em silagens, entretanto, o tempo de armazenamento diminuiu esse polissacarídeo.

Dentre os tratamentos, apenas a silagem BLbu apresentou menor teor de FDN em relação ao teor dessa variável na forragem fresca. O aumento nos teores de fibra pode ser explicado pela diminuição dos carboidratos não estruturais, elevando proporcionalmente os outros componentes da MS (Bernardes et al., 2008). Já a diminuição da FDN pode ser relacionada com a hidrólise ácida da hemicelulose (McDonald et al., 1991). No presente estudo, a variação no teor de FDN, diferindo entre os tratamentos, pode estar relacionada a atividade microbiana mais intensa na silagem ALbu.

A adição de inoculante não alterou a produção de ácido lático nas silagens de milho, com valor médio de 47,2 g kg⁻¹ MS. Este ácido, principal responsável pela

preservação do material, auxilia na rápida queda do pH e inibe o crescimento de microrganismos indesejáveis para o processo fermentativo (Santos et al., 2008). Todas as silagens apresentaram teor de ácido láctico recomendado para silagens de milho, de 40 a 70 g kg⁻¹ MS (Kung e Shaver, 2001).

A adição de alta dose de *L. brevis* na silagem de milho elevou a produção de ácido acético, semelhante apenas a baixa dose desta bactéria (BLbr), em relação aos demais tratamentos (P<0,01). Essa bactéria é adicionada em silagens para melhorar a estabilidade do material em aerobiose, devido à alta produção de ácido acético a partir de CS da forragem (Danner et al., 2003). Já a espécie *L. buchneri* é utilizada em silagens para elevar a produção de ácido acético, todavia, isto não ocorreu no presente ensaio. Essa bactéria possui desenvolvimento lento, que pode precisar de mais tempo de estocagem para obter o resultado esperado (Muck, 2010). Borreani et al. (2014) ensilaram milho inoculado com *L. buchneri*, *E. faecium* e *L. plantarum*, durante 55 e 110 dias e verificaram que o aumento no tempo de estocagem aumentou a quantidade dos ácidos acético e propiônico, mas não alterou o ácido láctico.

Os teores de ácido propiônico foram superiores (P<0,01) nas silagens tratadas com *L. brevis*. Esses valores foram semelhantes aos encontrados por Junges et al. (2013), que estudaram silagens inoculadas com bactérias na dose de 1 × 10⁵ UFC g⁻¹ de forragem (*L. plantarum*, *L. brevis* e *E. faecium*). Porém, a adição dos microrganismos não aumentou a produção deste ácido naquele ensaio. Os autores constataram que apenas o período de estocagem elevou a produção dos ácidos acético e propiônico, em atribuição às bactérias heterofermentativas, que têm desenvolvimento mais lento.

Os teores de ácido butírico, com média de 0,04 g kg⁻¹ MS, não foram influenciados pelos tratamentos. Silagens de milho adequadamente fermentadas não devem apresentarem ácido butírico em sua composição (Kung e Shaver, 2001), pois a ensilagem

da planta com teor de MS adequado inibe o crescimento de clostrídios, devido à sensibilidade à baixa atividade de água (McDonald et al., 1991).

A quantidade de ácido láctico em relação ao ácido acético não foi afetada pelos tratamentos, com média de 3,1. A relação láctico:acético diminui com o tempo, pois bactérias heteroláticas podem se manter ativas na silagem durante meses (Borreani et al., 2014). Além disso, *L. buchneri* consome ácido láctico, em condições anaeróbias, e libera 0,5 mol de ácido acético, 0,5 mol de 1,2-propanediol, 0,5 mol de CO₂ e traços de etanol, o que contribui para a diminuição dessa relação com o tempo (Oude Elferink et al., 2001).

Sá Neto et al. (2013) encontraram relações de ácido láctico:acético próximas a verificada no nosso trabalho, em silagens inoculadas com *L. plantarum* e *L. buchneri*. Já Santos et al. (2010) encontraram valor de 12,5 para esta relação, em silagens de milho sem inoculantes microbianos. Esse valor se deve a baixa produção de ácido acético no material.

As silagens tratadas com adição da bactéria heterolática *L. brevis* apresentaram teor de etanol superior às demais silagens. Bactérias heteroláticas, assim como as leveduras, são capazes de produzir etanol a partir de açúcares (Muck, 2010). A presença desse composto é indesejável, pois, além de ser volátil, é tóxico aos microrganismos de interesse à silagem (McDonald et al., 1991). No entanto, quantidades de até 20 g kg⁻¹ MS de etanol em silagens de milho são consideradas baixas, fato ocorrido em todos os tratamentos do nosso estudo (Kung e Shaver, 2001).

As perdas fermentativas das silagens de milho estão apresentadas na Tabela 3. Bactérias heteroláticas são fermentadoras menos eficientes que as homoláticas, em função da produção de CO₂. Esse gás representa MS perdida para o ambiente, o que eleva as perdas durante a fermentação (Filya, 2003). A variável Perda Total de MS (PTMS) foi maior que nas silagens que receberam *L. brevis*, em relação à silagem Controle e aquelas

com *L. buchneri*. As maiores perdas de MS durante a fermentação nos tratamentos com *L. brevis* pode ser resultado dos maiores teores de etanol e ácido acético nessas silagens, principalmente ao receberem a alta dose. Junges et al. (2013) não verificaram alteração nas perdas de MS durante a fermentação ao adicionarem bactérias homo e heteroláticas em silagens de milho, com valores médios de 48,9 g kg⁻¹ de MS perdida com período de estocagem de 60 dias.

Tabela 3 - Perdas fermentativas em silagens de milho tratadas ou não com inoculantes microbianos

Variáveis	Tratamentos ¹					CV ²	P-Valor
	C	BLbu	ALbu	ALbr	BLbr		
	-----g kg ⁻¹ MS-----						
Perda total de MS	13,62c	21,23bc	26,85bc	81,44a	46,62ab	26,96	<0,01
Perda por gases	01,20c	11,12bc	17,46bc	67,85a	38,10ab	65,83	<0,01
	----- kg t ⁻¹ forragem-----						
Efluente	12,4ab	10,2ab	9,5b	14,3a	8,8b	8,16	<0,01
	----- litros t ⁻¹ MV-----						
Produção de gases	975,5	1273,57	978,26	1376,53	979,80	6,31	0,41
	----- g t ⁻¹ MV-----						
CO ₂ equivalente	1008,7	1005,6	999,1	434,9	343,0	10,61	0,10

Médias seguidas por letras diferentes na linha são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05). ¹ C – controle, sem adição de bactérias; BLbu – composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) (5×10^4 UFC g⁻¹ de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5×10^4 UFC g⁻¹); ALbu – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. buchneri* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); ALbr – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. brevis* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); BLbr – composto de bactérias (5×10^4 UFC g⁻¹) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g⁻¹); ² Coeficiente de variação.

A silagem tratada com alta dose de *L. brevis* apresentou maiores valores de perdas por gases (perdaG) em relação às silagens controle e tratada com *L. buchneri*. Além do metabolismo de BAL heterofermentativas gerar perdas na forma de CO₂, a produção de ácidos e etanol pode gerar conclusão equivocada, pois esses compostos são facilmente volatilizados. A literatura mostra diferentes respostas em relação às perdas geradas por inoculantes, pois a variedade de doses aplicadas, origem das cepas utilizadas,

administração do produto, entre outros, podem interferir na ação das bactérias. Basso et al. (2012) adicionaram doses de *L. buchneri* em silagens de milho de até 1×10^6 UFC g⁻¹ e não encontraram aumento nas perdas de gases ou nos teores de MS. Já Borreani et al. (2014) encontraram aumento nas perdas de MS de 39,2 a 77,6 g kg⁻¹ MS, com o aumento do tempo de estocagem, de 55 para 110 dias, devido à continuidade da ação das bactérias heterofermentativas.

A produção de efluente na silagem com alta dose de *L. brevis* foi superior às silagens ALbu e BLbr. A produção de efluente na silagem é influenciada por sua quantidade de MS. Silagens mais úmidas tendem a gerar maior produção de efluente, pela maior susceptibilidade ao extravasamento celular (Bernardino et al., 2005). O tempo de armazenagem também pode influenciar, elevando a produção com o aumento desse período (Junges et al., 2013).

Embora tenha havido efeito de tratamentos ($P < 0,05$) sobre essa variável, a quantidade de efluente produzida pode ser considerada muito pequena para todos os tratamentos avaliados e condizente ao alto teor de MS da forragem usada para confecção das silagens. Rabelo et al. (2012) encontraram produções que corroboram com os resultados deste trabalho, de 13 kg de efluente por tonelada de forragem ensilada, em silagens com 303 g kg⁻¹ de MS. Assim como Junges et al. (2013), que encontraram valores de 4,22 a 20,45 kg de efluente por tonelada de silagem.

Não foi encontrada diferença entre tratamentos para produção de gases (prodG) durante a fermentação, mediante observação direta dos gases, através do armazenamento do volume produzido. A produção média foi de 1117 litros por tonelada de forragem ensilada. Schmidt et al. (2012) encontraram produções de gases mais baixas em silagens de milho, de 416 litros por tonelada de forragem ensilada.

Na Figura 2 está representada a produção dos gases ao longo dos dias de armazenamento da silagem. Os gases foram produzidos somente até o 23º dia, com maiores produções registradas na fase inicial do processo. O primeiro dia foi responsável por 7% da produção; o segundo dia 10%; a partir do terceiro dia, a produção diminuiu para 3% e nos dias seguintes, 1 a 4% do total foi produzido, até o 23º dia.

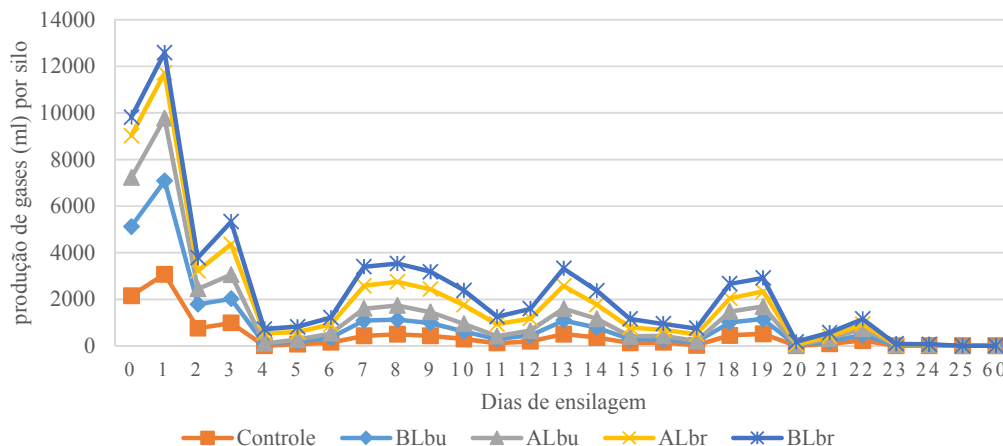


Figura 2 - Produção de gases em silagens de milho, durante a estocagem. Controle, sem adição de bactérias; BLbu – composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) (5×10^4 UFC g^{-1} de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5×10^4 UFC g^{-1}); ALbu – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g^{-1}) + alta dose de *L. buchneri* ($6,65 \times 10^4$ UFC g^{-1}); ALbr – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g^{-1}) + alta dose de *L. brevis* ($6,65 \times 10^4$ UFC g^{-1}); BLbr – composto de bactérias (5×10^4 UFC g^{-1}) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g^{-1}).

Com as produções dos gases armazenadas, foram coletadas amostras para a determinação de sua composição. A composição relativa dos gases da silagem foi 98,74% de CO₂, 1,25% de N₂O e 0,004% de CH₄, na média. De forma geral, as silagens tratadas com *L. brevis* tiveram menores produções de CO₂equivalente (P=0,10). Esses gases produzidos são perdidos para o ambiente, em decorrência da fermentação. Bactérias heteroláticas deveriam potencializar a produção de CO₂, devido ao seu metabolismo (Muck, 2010), o que parece não ter ocorrido.

Neste estudo, as silagens com *L. buchneri* e Controle apresentaram maiores produções de CO₂eq (P = 0,10), mas isto não corroborou com os valores de PTMS. O gás produzido pelas silagens com a *L. brevis* apresentou menos da metade da quantidade de

CO₂eq produzido pelos outros tratamentos. Essa resposta pode estar relacionada a efetividade da *L. brevis* em fermentar os CS da silagem, com menor produção de gases e perda de MS na forma de CO₂. De maneira geral, as produções encontradas neste ensaio foram superiores aos valores encontrados por Schmidt et al. (2012) em silagem de milho, de 14,5 g de CO₂ eq por tonelada de forragem ensilada, assim como Schmidt et al. (2011), que encontraram produção de 36,4 g de CO₂ eq por tonelada de cana-de-açúcar ensilada. A quantidade de gases do efeito estufa produzidos por silagem pode ser considerada baixa dentro dos sistemas agropecuários, como mostra estudo realizado por Almeida (2010), que verificou que o quilo de carne bovina gera 40 kg e 33,98 kg de CO₂ eq oriunda de animais produzidos a pasto e em confinamento, respectivamente.

As metodologias de avaliações de perdas na forma de gases apresentaram resultados diferentes. A avaliação por diferença gravimétrica (perdaG) mostrou que a silagem tratada com maior dose de *L. brevis* apresentou maiores perdas em relação às silagens Controle e com adição de *L. buchneri*, enquanto a prodG foi semelhante entre os tratamentos. Esta última é realizada de forma mais direta, pois o gás gerado é mensurado assim que produzido, sem que a forragem passe por quaisquer alterações, enquanto que a metodologia da variável perdaG é previamente desidratada em estufa, podendo perder compostos voláteis nesse processo. As silagens tratadas com *L. brevis*, apresentaram maiores teores de ácidos acético, propiônico além de etanol (Tabela 2), compostos potencialmente perdidos durante a secagem em estufa. A superestimação das perdas em decorrência da volatilização de compostos de interesse à nutrição pode prejudicar a avaliação da silagem.

A contagem microbiana das silagens de milho é apresentada na Tabela 4. A adição de inoculantes não influenciou a contagem dos microrganismos. Ao final do período de estocagem, as populações microbianas foram menores em relação a forragem fresca,

devido ao ambiente ácido, que diminui a população microbiana dentro do silo. Todavia, o tamanho da população de BAL foi adequado para silagens de milho.

Tabela 4 - Contagens microbianas (log UFC g⁻¹) em silagens de milho sem aditivo ou inoculadas com aditivos microbianos

Variáveis	Tratamentos ¹					CV ²	P-Valor
	C	BLbu	ALbu	ALbr	BLbr		
Bactérias Ácido Lácticas	7,0	7,1	7,0	7,0	7,0	1,49	0,41
Leveduras	4,9	3,7	5,5	5,3	4,6	19,31	0,32
Fungos Filamentosos	3,6	4,7	5,0	4,2	5,0	23,37	0,46

¹ C – controle, sem adição de bactérias; BLbu – composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) (5×10^4 UFC g⁻¹ de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5×10^4 UFC g⁻¹); ALbu – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. buchneri* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); ALbr – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. brevis* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); BLbr – composto de bactérias (5×10^4 UFC g⁻¹) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g⁻¹); ² Coeficiente de variação.

Com a adição de cepas para dominar a fermentação, era esperado aumento na população de BAL nestas silagens. As condições para seu crescimento eram apropriadas, como a umidade da massa e substrato suficiente para a sua proliferação. BAL geralmente estão em menores populações quando a cultura está no campo, e após o corte das plantas, substrato é disponibilizado para seu desenvolvimento, o que estimula o aumento da população na forragem ensilada (McDonald et al. 1991; Lin et al. 1992).

A alta população epifítica pode ter prejudicado o desenvolvimento das BAL inoculadas (9,2 log UFC g⁻¹ de forragem). Sá Neto et al. (2013) estudaram silagens de milho que apresentavam população de BAL de 9,46 log UFC g⁻¹, no momento de inoculação com *L. buchneri* e *L. plantarum*. Os autores, como neste trabalho, não encontraram aumento na contagem de BAL após a ensilagem.

A quantidade de inoculante adicionado deve ser, no mínimo, de 10% da população epifítica, para que possa dominar a fermentação. Quando aplicado a menos de 1%, o inoculante não causa mudanças significativas. Porém, determinar esses valores para a aplicação no dia da ensilagem não é possível, pois as análises necessitam de 2 a 3 dias para verificação do resultado (Muck, 2010). No presente ensaio, a quantidade de

microrganismos adicionada foi de 0,006% da população epifítica. Essa baixa quantidade de microrganismos adicionados pode ter sido a causa para que a população de BAL não alterasse, já que a silagem possuía condições favoráveis a estes microrganismos.

De maneira geral, a população de leveduras diminuiu com a fermentação, mas sem diferença entre os tratamentos. Esses microrganismos podem ficar dormentes durante a fase anaeróbia das silagens, principalmente aquelas que usam ácido láctico como substrato, sem aumento da população (Rocha et al., 2006). Basso et al. (2012) verificaram redução na ocorrência de leveduras em silagens de milho que tiveram aumento na produção de ácido acético, ao utilizarem *L. buchneri*.

Não houve diferença na contagem de fungos filamentosos nas silagens testadas. Estes microrganismos são sensíveis aos ácidos acético e propiônico, assim como as leveduras. A ocorrência de fungos filamentosos afeta o padrão de fermentação, gera produção de compostos tóxicos e pode resultar em silagens de qualidade insatisfatória (Santos et al., 2008). Possivelmente, a ótima vedação obtida nos silos experimentais foi suficiente para inibir a população desses microrganismos, pois são mais influenciados pela presença de oxigênio que pelo pH (Pahlow et al., 2003)

As variáveis relacionadas à exposição aeróbia são apresentadas na Tabela 5. A T_{max} foi superior nos tratamentos com *L. brevis* e BLbu. Silagens de milho geralmente apresentam problemas com a estabilidade aeróbia devido às quantidades de CS residuais e de ácido láctico produzido, substrato para microrganismos deterioradores. Segundo Jobim et al. (2007), a avaliação de temperatura em ambiente controlado pode apresentar baixa acurácia para estimar a velocidade de deterioração da silagem, por não se assemelhar à situação de campo.

A baixa dose de *L. brevis* apresentou média de temperaturas superior à da silagem Controle, assim como a temperatura acumulada (Acum) durante os 10 dias de exposição

e a diferença máxima entre as temperaturas do ambiente e da silagem (Difmax) também foram superiores nesse tratamento. A adição de *L. buchneri* não melhorou a estabilidade do material, sendo semelhante à silagem Controle.

Tabela 5 - Estabilidade aeróbia em silagens de milho sem aditivo ou inoculadas com aditivos microbianos

Variáveis	Tratamentos ¹					CV ⁹	P-Valor
	C	BLbu	ALbu	ALbr	BLbr		
	-----°C-----						
Tmax ²	24,3c	26,7abc	25,3bc	28,1ab	29,7a	2,00	<0,01
Tmédia ³	20,8b	21,39ab	21,16ab	22,14ab	22,88a	1,53	0,04
Acum ⁴	75,4b	114,2ab	96,0ab	149,1ab	191,7a	9,03	0,02
Difmax ⁵	4,8b	6,5ab	5,4ab	7,3ab	9,2a	14,67	<0,01
	----- horas -----						
Htmax ⁶	176,0	176,8	178,4	161,6	187,2	8,59	0,16
EA ⁷	155,20	132,00	149,60	116,00	120,00	18,22	0,25
	-----g kg ⁻¹ MS-----						
PMS ⁸	44,03	58,69	48,16	57,45	60,63	63,96	0,92

Médias seguidas por letras diferentes na linha são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05). 1 C – controle, sem adição de bactérias; BLbu – composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) (5×10^4 UFC g⁻¹ de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5×10^4 UFC g⁻¹); ALbu – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. buchneri* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); ALbr – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g⁻¹) + alta dose de *L. brevis* ($6,65 \times 10^4$ UFC g⁻¹); BLbr – composto de bactérias (5×10^4 UFC g⁻¹) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g⁻¹); 2 Temperatura máxima atingida; 3 Temperatura média; 4 Temperatura acumulada durante a exposição à aerobiose; 5 Diferença máxima entre temperatura do ambiente e da silagem; 6 Horas para atingir a temperatura máxima; 7 Perda da estabilidade em aerobiose; 8 Perda de matéria seca durante a aerobiose; 9 Coeficiente de variação.

Não houve diferenças entre tratamentos para a variável HTmax, e as silagens apresentaram pico de aquecimento bastante tardio, com média de 176 horas. Gimenes et al. (2006), em ensaio com temperatura controlada (25 °C) encontraram valores de Htmax bastante precoces, de 34 a 62 horas, porém, com maiores picos de temperatura (33 a 42 °C) em relação a este trabalho.

Os tratamentos não afetaram a quebra da estabilidade das silagens, considerada quando a silagem atinge 2 °C acima da temperatura ambiente, com média de 134,6 horas. O aumento da temperatura das silagens está diretamente relacionado à oxidação de MS,

através do balanço entre a taxa de calor produzida pela atividade microbiana e as perdas de calor da massa (Hill e Leaver, 2002).

Mesmo com diferença para a temperatura acumulada, que indica se a ação bacteriana foi prolongada ou não na silagem, não houve efeito suficiente para afetar a PMS durante a exposição ao ar. Cabe lembrar que essa última variável é bastante sujeita a erros e apresentou alto coeficiente de variação (63,96%).

O comportamento temporal das silagens está apresentado na Figura 3. As silagens ficaram expostas durante 10 dias a aerobiose, com registro das temperaturas a cada 4 horas. As temperaturas das silagens mantiveram-se menores que a temperatura ambiente até aproximadamente 112 horas.

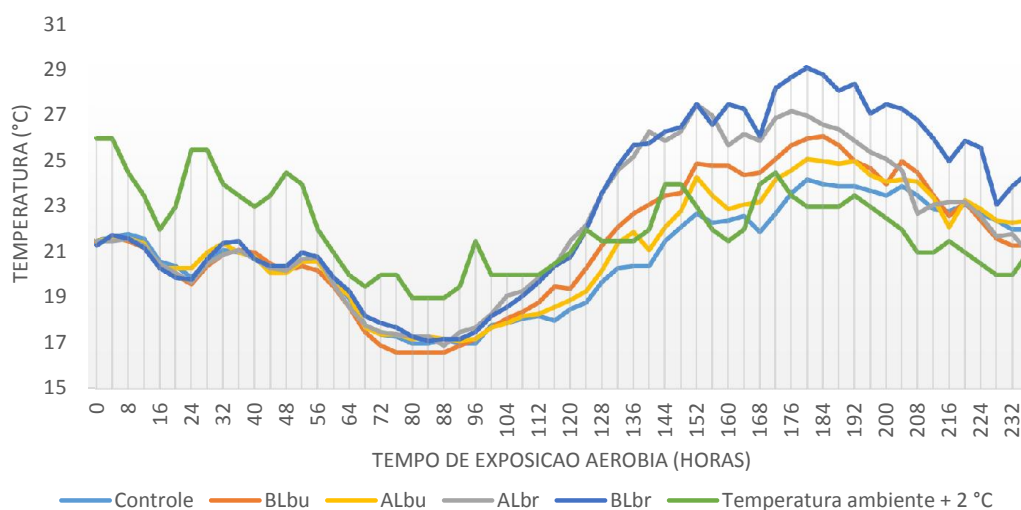


Figura 3 - Comportamento temporal de silagens de milho expostas à aerobiose. Controle, sem adição de bactérias; BLbu – composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) (5×10^4 UFC g^{-1} de forragem fresca) + baixa dose de *L. buchneri* (5×10^4 UFC g^{-1}); ALbu – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g^{-1}) + alta dose de *L. buchneri* ($6,65 \times 10^4$ UFC g^{-1}); ALbr – composto de bactérias ($3,35 \times 10^4$ UFC g^{-1}) + alta dose de *L. brevis* ($6,65 \times 10^4$ UFC g^{-1}); BLbr – composto de bactérias (5×10^4 UFC g^{-1}) + baixa dose de *L. brevis* (5×10^4 UFC g^{-1}).

De forma geral, os tratamentos com *L. brevis* foram menos estáveis em aerobiose, mesmo com teores de ácido acético e ácido propiônico mais altos que as demais silagens. Contudo, para todos os tratamentos, as silagens de milho apresentaram-se bastante

estáveis quando expostas ao ar. Aragón et al. (2012) utilizaram um combinado de bactérias (*E. faecium*, *L. plantarum* e *L. brevis*) na dose de 1×10^5 UFC g⁻¹ e encontraram aumento na estabilidade aeróbia em silagens de milho. Os autores não encontraram aumento nos teores de ácido acético com a adição dessas bactérias, porém, houve redução de ácido butírico, etanol e N-amoniaco, o que melhorou o perfil fermentativo, com pH mais baixo.

Muck (2010) sugere que em silagens com mais de 50 dias de armazenamento o *L. buchneri*, pode favorecer o aumento do ácido acético e, conseqüentemente, elevar a EA, porém, doses de 1×10^5 UFC g⁻¹ forragem ou menos parecem ser pouco eficientes em melhorar a estabilidade aeróbia de silagens. As silagens com *L. buchneri* apresentaram teores de ácido acético menores que as silagens com o *L. brevis*, e apresentaram comportamento em aerobiose semelhante a silagem controle.

Danner et al. (2003) constataram alta correlação de ácido acético com a estabilidade aeróbia. Os autores verificaram que silagens de milho com a presença de *L. buchneri* ou *L. brevis* apresentaram teores de ácido acético de 55,3 e 28,6 g kg⁻¹, com EA de 274 e 72 horas, respectivamente. Segundo os autores, o ácido acético é muito efetivo em manter a estabilidade aeróbia, entretanto, a variedade de microrganismos presentes na silagem pode interferir, pois algumas populações microbianas são mais resistentes a esse ácido. Além da concentração de ácidos, a temperatura, atividade de água e a concentração de O₂ na massa exposta influencia a ação dos microrganismos deterioradores (Pereira et al., 2014). Junges et al. (2013) utilizaram *L. plantarum*, *L. brevis* e *E. faecium*, na dose de 100.000 UFC g⁻¹ de forragem de milho e encontraram produções de ácidos acético e propiônico com média de 18,5 e 0,5 g kg⁻¹ MS, respectivamente. A adição de bactérias às silagens e a quantidade de ácidos produzidos não melhoraram a estabilidade aeróbia dos

materiais avaliados. Já Basso et al. (2012) verificaram melhora na estabilidade aeróbia (172 horas) de silagens de milho com 10,6 g de ácido acético kg⁻¹.

McDonald et al. (1991) descreve que silagens que atingem rapidamente baixo pH têm a fermentação prioritariamente homolática, com o ácido lático como produto. As BAL heteroláticas têm seu crescimento afetado em ambiente ácido, o que pode influenciar a produção de ácido acético desses microrganismos, não sendo suficiente para melhorar sua estabilidade em aerobiose. Todavia, na literatura são encontrados relatos que afirmam que as heteroláticas tem a capacidade de utilizar ácido lático como substrato, para se adaptar a meios mais ácidos, exigindo mais tempo de estocagem para aumentar o teor de ácido acético (Muck, 2010; Oude Elferink et al., 2001).

Em silagens de milho adequadamente fermentadas, a maior preocupação é durante a exposição ao oxigênio, uma vez que as leveduras utilizam o ácido lático como substrato. Neste ensaio, a adição de inoculantes não melhorou a EA das silagens, porém, de forma geral, todas as silagens foram estáveis, não apresentando aquecimento superior a 2 °C em relação ao ambiente nos primeiros 5 dias.

As correlações entre as variáveis selecionadas estão apresentadas na Tabela 6. Os teores de FDN e FDA, foram correlacionados positivamente (0,41) entre si, o que indica diminuição proporcional dos outros componentes da matéria seca, já que ambas variáveis apresentaram a mesma direção, justificando a variação nos teores de FDN entre os tratamentos (Balieiro Neto et al., 2007). Além disso, a FDN foi correlacionada negativamente com o pH (-0,40), possivelmente devido a disponibilidade de substrato, que auxiliou no desenvolvimento das BAL, com queda no pH mais acentuada e elevação no teor de FDN.

Tabela 6 - Correlação de Pearson entre características químicas e fermentativas de silagens de milho, inoculadas ou não com bactérias.

	FDN	FDA	CS	pH	Tmax	EA	PMS	PTMS	perdaG	Lático	Acético	Propiônico	Butírico	Etanol
MS	NS	-0,42*	NS	NS	-0,65**	0,84**	NS	-0,81**	-0,81**	-0,56**	-0,92**	-0,76**	NS	-0,84**
FDN	-	0,41*	NS	-0,40*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
FDA	-	-	NS	NS	0,46*	-0,40*	NS	0,52**	0,56**	NS	0,45*	NS	NS	0,41*
CS	-	-	-	NS	-0,50*	NS	NS	-0,53*	-0,54*	NS	-0,58*	-0,74**	NS	-0,57*
pH	-	-	-	-	NS	-0,40*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,40*	NS
Tmax	-	-	-	-	-	-0,77**	0,42*	0,49**	0,52**	NS	0,74**	0,64**	NS	0,70**
EA	-	-	-	-	-	-	NS	-0,60**	-0,62**	NS	-0,84**	-0,57**	NS	-0,68**
PMS	-	-	-	-	-	-	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PTMS	-	-	-	-	-	-	-	-	0,99**	0,48**	0,83**	0,76**	NS	0,78**
perdaG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,47**	0,83**	0,76**	NS	0,78**
Lático	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,40*	0,41*	NS	0,42*
Acético	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,81**	NS	0,87**
Propiônico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NS	0,88**
Butírico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NS
Etanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; NS – não significativo; Tmax – temperatura máxima durante a exposição a aerobiose; EA – perda de estabilidade durante a exposição aeróbia; PMS – Perda de MS durante a exposição aeróbia; PTMS – Perdas totais de MS durante a fermentação.

Em relação às variáveis da estabilidade aeróbia, o pH foi correlacionado negativamente com a EA (-0,40). Danner et al. (2003) encontraram correlação forte entre ácido acético e a EA (0,95). Todavia, no presente ensaio, o pH baixo foi mais eficiente em manter a silagem estável em aerobiose que o ácido acético e o ácido propiônico, que apresentaram correlação negativa com a EA (-0,84) e (-0,57), respectivamente. O álcool encontrado nas silagens também teve correlação negativa com essa variável (-0,68).

A variável PMS, medida durante os 10 dias de exposição aeróbia, apresentou correlação apenas com Tmax (0,42). O aquecimento da massa exposta é ocasionado por microrganismos aeróbios, resultante do seu metabolismo, durante a deterioração da silagem. O aumento no teor de MS promoveu silagens mais estáveis em contato com o ar, com correlação positiva (EA; 0,84) e diminuiu os picos de temperatura registrados (Tmax; -0,65). Esse fato pode ser em decorrência da quantidade de ácidos necessários para estabilizar o processo. A variável MS foi correlacionada negativamente com alguns dos ácidos avaliados neste ensaio: ácido lático (-0,56), ácido acético (-0,92) e ácido propiônico (-0,76).

As perdas tiveram correlação positiva com os ácidos lático (0,47), acético (0,83) e propiônico (0,76). Conforme citado anteriormente, a avaliação de perdas passa por processamento em estufa, pode superestimar os valores. Neste ensaio, quanto mais ácido, maiores foram as perdas, assim como o etanol (0,78), composto que pode ser volatilizado durante a secagem. Segundo McDonald et al. (1991), a produção de etanol pelas leveduras é acompanhada pela perda acentuada de MS dos substratos na forma de CO₂, além da perda de etanol por volatilização. Assim, redução nos teores de MS é indicativo de perdas durante a fermentação.

Os CS mensurados antes da ensilagem confirmaram as correlações entre a FDA e PTMS (0,52) e perdaG (0,56). A menor disponibilidade de substrato aos microrganismos

pode ter gerado mais perdas provenientes de fermentações secundárias, que impediram a rápida dominação da fermentação pelas BAL.

Entre os ácidos láctico, acético e propiônico e etanol houve correlação positiva. Já o ácido butírico foi o único que apresentou correlação com o pH (0,40). Esse ácido é considerado fraco e de pouco interesse para a conservação de forragens.

Plantas de milho colhidas no momento adequado propiciam a fermentação láctica, devido ao teor de MS próximo a 35% e carboidratos solúveis suficientes para as BAL. A utilização de aditivos poderia contribuir para a qualidade dessa silagem em situações de manejo inadequado ou colheita em momento errado, auxiliando a reduzir possíveis prejuízos (Schmidt et al., 2014).

3.4 CONCLUSÕES

A adição de bactérias ácido lácticas, na dose de 1×10^5 UFC g⁻¹ de forragem não melhora o perfil fermentativo e a estabilidade aeróbia das silagens de milho. As doses aplicadas não foram suficientes para modificar a fermentação, devido ao tamanho da população epifítica.

As metodologias atualmente utilizadas para avaliação de perdas podem estar classificando silagens de boa qualidade, com alta quantidade de ácidos, como silagens que tiveram queda no valor nutritivo durante a fermentação. A metodologia com avaliação direta da produção de gases pode ser mais confiável, pois quantifica a produção de gases sem que a silagem passe por quaisquer processamentos.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC - Association of Official Analytical Chemist. 1984 Official methods of analysis. 14th ed. AOAC, Washington, DC.
- Aragón, Y. A.; Jatkauskas, J.; Vrotniakiene, V. 2012. The effect of a silage inoculant on silage quality, aerobic stability, and meat production on farm scale. *International Scholarly Research Network Veterinary Science* 2012:1-6.
- Almeida, M. H. S. P. 2010. Análise econômico-ambiental da intensificação da pecuária de corte no Centro-Oeste brasileiro. Dissertação (M.Sc.). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.
- Balieiro Neto, G.; Siqueira, G. R.; Reis, R. A.; Nogueira, J. R.; Roth, M. T. P.; Roth, A. P. T. P. 2007. Óxido de cálcio como aditivo na ensilagem de cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:1231-1239.
- Basso, F. C.; Bernardes, T. F.; Roth, A. P. T. P.; Lodo, B. N.; Berchielli, T. T. e Reis, R. A. 2012. Fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41:1789-1794.
- Bayatkouhsar, J.; Tahmasbi, A. M. e Naserian A. A. 2012. Effects of microbial inoculant on composition, aerobic stability, in situ ruminal degradability and in vitro gas production of corn silage. *International Journal of AgriScience* 2:774-786.
- Bernardes, T. F.; Reis, R. A.; Amaral, R. C.; Siqueira, G. R.; Roth, A. P. T. P.; Roth, M. T. P.; Berchielli, T. T. 2008. Perfil Fermentativo, estabilidade aeróbia e valor nutritivo de silagens de capim-Marandu ensilado com aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 37:1728-1736.
- Bernardino, F. S.; Garcia, R.; Rocha, F. C.; Souza, A. L.; Pereira, O. G. 2005. Produção e características do efluente e composição bromatológica da silagem de capim-Elefante contendo diferentes níveis de casca de café. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34:2185-2191.
- Borreani, G.; Piano, S.; Tabacco, E. 2014. Aerobic stability of maize silage stored under plastic films with different oxygen permeability. *Journal Science Food Agriculture* 94:2684-2690.
- Box, G. E. P.; Cox, D.R. 1964. An Analysis of Transformations. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 26:211-252.
- Coan, R. M.; Reis, R. A.; Garcia, G. R.; Schocken-Iturrino, R. P.; Ferreira, D. S.; Resende, F. D. e Gurgel, F. A. 2007. Dinâmica fermentativa e microbiológica de silagens dos capins Tanzânia e Marandu acrescidas de polpa cítrica peletizada. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:1502-1511.
- Danner, H.; Holzer, M.; Mayrhuber, E.; Braun, R. 2003. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 69:562-567.
- Domingues, A. N.; Abreu, J. G.; Cabral, L. S.; Galati, R. L.; Oliveira, M. A. e Reis, R. H. P. 2012. Nutrition value of silage from corn hybrids in the State of Mato Grosso, Brazil. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 34:117-122.
- Erwin, E. S.; Marco, G. J. e Emery, E. M. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science* 44: 1768-1771.

- Filya, I. 2003. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *Journal of Applied Microbiology* 95:1080-1086.
- Fugita, C. A.; Prado, I. N.; Jobim, C. C.; Zawadzki, F.; Valero, M. V.; Pires, M. C. O.; Prado, R. M. e Françoço, M. C. 2012. Corn silage with and without enzyme-bacteria inoculants on performance, carcass characteristics and meat quality in feedlot finished crossbred bulls. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41:154-163.
- Gimenes, A. L. G.; Mizubuti, I. Y.; Moreira, F. B.; Pereira, E. S.; Ribeiro, E. L. A. e Mori, M. R. 2006. Composição química e estabilidade aeróbia em silagens de milho preparadas com inoculantes bacteriano e/ou enzimático. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 28:153-158.
- Hall, M. B. 2000. Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis. Gainesville: University of Florida. 42 p. (Bulletin, 339).
- Hill, J. e Leaver, J.D. 2002. Changes in chemical composition and nutritive value of urea treated whole crop wheat during exposure to air. *Animal Feed Science and Technology* 102:181-195.
- Jobim, C. C.; Nussio, L. G.; Reis, R. A.; Schmidt, P. 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:101-120.
- Junges, D.; Schmidt, P.; Novinski, C. O. e Daniel, J. L. P. 2013. Additive containing homo and heterolactic bacteria on the fermentation quality of maize silage. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 35:371-377.
- Kung Jr., L. 2000. Microbial and chemical additives for silage: effect on fermentation and animal response. p.1-53. In: Workshop sobre milho para silagem. Piracicaba, São Paulo.
- Kung Jr., L.; Grieve, D. B.; Thomas, J. W. and Huber, J. T. 1984. Added ammonia or microbial inoculant for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *Journal of Dairy Science* 67:299-306.
- Kung, L.; Shaver, R. 2001. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. *Focus on Forage* No. 13. 3:1-5.
- Lin, C.; Brent, B. E.; Bolsen, K. K.; Fung, Y. C. 1992. Epiphytic lactic acid bacteria succession during the pre-ensiling and ensiling periods of alfalfa and corn. p.113. In: *Cattlemen's Day*. Kansas State University, Manhattan.
- McDonald, P.; Henderson, A. R.; Heron, S. J. E. 1991. *The biochemistry of silage*. 2nd ed. Marlow, Chalcombe.
- Muck, R. E. 2010. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:183-191.
- Oude Elferink, S. J. W. H.; Krooneman, J.; Gottschal, J. C.; Spoelstra, S.F, Faber, F.; Driehuis, F. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl Environ Microbiol* 67:125-132.
- Pahlow, G.; Muck, R. E.; Driehuis, F. et al. 2003. Microbiology of ensiling. p. 31-94. In: *Silage Science and Technology*. 1 ed. Madison: American Society of Agronomy.

- Pereira, O. G.; Silva, T. C.; Leandro, E. S.; Ribeiro, K. G. 2014. Práticas na ensilagem *versus* qualidade higiênica da silagem. p. 157-210. In: Anais do V Simpósio: Produção e utilização de forragens conservadas. Maringá, Brasil.
- Rabelo, C. H. S.; Rezende, A. V.; Nogueira, D. A.; Rabelo, F. H. S.; Senedese, S. S.; Vieira, P. F.; Barbosa, L. A.; Carvalho, A. 2012. 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 13:656-668.
- Rocha, K. D.; Pereira, O. G.; Valadares Filho, S. C.; Oliveira, A. P.; Pacheco, L. B. B.; Chizzotti, F. H. M. 2006. Valor nutritivo de silagens de milho (*Zea mays* L.) produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos. Revista Brasileira de Zootecnia 35:389-395.
- Rodrigues, P. H. M.; Ruzante, J. M.; Senatore, A. L.; Lima, F. R.; Melotti, L.; Meyer, P. M. 2004. Avaliação do uso de inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa e nutricional de silagem de milho. Revista Brasileira de Zootecnia 33:538-545.
- Sá Neto, A.; Nussio, L. G.; Zopollatto, M.; Junges, D.; Bispo, A. W. 2013. Silagem de milho ou de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* exclusivamente ou em associação com *L. plantarum*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 48:528-535.
- Santos, M. C.; Queiroz, O. C. M.; Nussio, L. G. 2008. Microbiologia de forragens conservadas e suas aplicações. p.101-115 In: Produção e utilização de forragens conservadas. Maringá.
- Santos, R. D.; Pereira, L. G. R.; Neves, A. L. A.; Araújo, G. G. L.; Voltolini, T. V.; Brandão, L. G. N.; Aragão, A. S. L. E. Dórea, J. R. R. 2010. Características de fermentação da silagem de seis variedades de milho indicadas para a região semiárida Brasileira. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 62:1423-1429.
- Schmidt, P. 2006. Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar. Tese (doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.
- Schmidt, P.; Novinski, C.O.; Carneiro, E.W. e Bayer, C. 2012. Greenhouse gas emissions from fermentation of corn silage. P. 428. In: XVI International Silage Conference. Hämeenlinna, Finland.
- Schmidt, P.; Rossi Junior, P.; Junges, D.; Dias, L. T.; Almeida, R. e Mari, L. J. 2011. Novos aditivos microbianos na ensilagem da cana-de-açúcar: composição bromatológica, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. Revista Brasileira de Zootecnia. 40:543-549.
- Schmidt, P.; Souza, C. M.; Bach, B. C. 2014. Uso estratégico de aditivos em silagens: Quando e como usar. p. 243-264 In: Anais do V Simpósio: Produção e Utilização de Forragens Conservadas. Maringá, Brasil.
- Silva, A. V.; Pereira, O. G.; Garcia, R. Valadares Filho, S. C.; Cecon, P. R.; Ferreira, C. L. L. F. 2005. Composição Bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho e sorgo tratadas com inoculantes microbianos. Revista Brasileira de Zootecnia 34:1881-1890.
- Van Soest, P. J.; Robertson, J. B. e Lewis, B. A. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Journal Dairy Science 74:3583 -3597.

- Velho, J. P.; Mühlbach, P. R. F.; Nörberg, J. L.; Velho, I. M. P. H.; Genro, T. C. M. e Kessler, J. D. 2007. Composição bromatológica de silagens de milho produzidas com diferentes densidades de compactação. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:1532-1538.
- Vieira, V. C.; Moro, V.; Farinacio, D. Martin, T. N. e Menezes, L. F. G. 2011. Caracterização da silagem de milho, produzida em propriedades rurais do sudoeste do Paraná. *Revista Ceres* 58:462-469.
- Wang, L. 2014. Energy Efficiency Technologies for Sustainable Agriculture and Food Processing. p. 97-122. In: Sustainable Energy Developments. Bundschuh, J; Chen, G. Taylor and Francis Group.
- Von Pinho, R. G.; Vasconcelos, R. C.; Borges, I. D. e Resende, A. V. 2007. Produtividade e qualidade da silagem de milho e sorgo em função da época de semeadura. *Bragantia* 66:235-245.

4. CAPÍTULO III – QUALIDADE E PERDAS EM SILAGEM DE CAPIM-MOMBAÇA INOCULADO COM COMPOSTO DE BACTÉRIAS

4.1 RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da utilização de aditivos microbianos em silagem de capim-Mombaça. A ensilagem foi realizada com o material previamente emurchecido, em silos experimentais, com capacidade para 20 litros. Foram testados dois tratamentos, em DIC, com cinco repetições: Controle – sem adição de bactérias; Aditivo – inoculação de composto de bactérias (*L. plantarum*, *E. faecium* e *P. acidilactici*) na dose de 1×10^5 UFC g⁻¹. Durante o período de armazenamento, foram quantificados e qualificados os gases produzidos durante a fermentação. Após 60 dias de vedação, foram determinados os teores de MS, MM, PB, FDN e FDA, pH, perdas de gases, efluentes, perdas totais de MS, contagens microbianas de BAL, leveduras e fungos filamentosos, e teores de ácidos orgânicos e etanol. Após 10 dias de exposição aeróbia, foram determinadas a temperatura máxima alcançada pela massa (°C); tempo para atingir a temperatura máxima (horas); diferença máxima entre a temperatura da silagem e do ambiente (°C); somatório das diferenças de temperatura das silagens e do ambiente; tempo para a silagem elevar 2 °C acima da temperatura ambiente (estabilidade aeróbia, horas) e Perda de MS durante a exposição aeróbia. A adição de aditivo microbiano diminuiu os teores de MS e PB e elevou os teores de fibra. O pH foi semelhante entre os tratamentos. O inoculante não alterou a estabilidade do material em contato com oxigênio. A silagem aditivada apresentou menores perdas totais de MS (5,3%) e menor perda de gás, de 4,6%. A produção de gás (litros) não foi diferente entre os tratamentos, assim como as contagens microbianas. A silagem inoculada apresentou maior produção de etanol, com 0,62% da MS. Os ácidos orgânicos apresentaram produções semelhantes entre os tratamentos. A adição de composto de bactérias em silagens emurchecidas de capim-Mombaça não melhorou a eficiência fermentativa do material.

Palavras-chave: gases, inoculantes microbianos, *L. plantarum*

4.2 INTRODUÇÃO

Cerca de 172 milhões de hectares no Brasil são destinados à produção de forragens (IBGE, 2007), sendo o componente principal, se não exclusivo, da dieta da grande maioria dos rebanhos no país. A quantidade de massa produzida pela forragem depende de inúmeros fatores, relacionados à genética da planta e ao ambiente em que está sendo cultivada (Pedreira et al., 2001).

A produção animal em pastagem é afetada pela estacionalidade das plantas forrageiras, devido a fatores climáticos, como a disponibilidade de água, luz e temperatura (Vitor et al., 2009). Para amenizar os prejuízos durante a época de escassez de pasto, é necessário o uso de alternativas que propiciem o fornecimento de alimento de qualidade, com viabilidade econômica.

Durante as épocas em que a produção de forragem é superior à quantidade que o rebanho necessita, é possível armazenar esse excedente, para usá-lo em épocas de menor disponibilidade de alimentos. Com o intuito de preservar o valor nutritivo da forragem, a ensilagem é uma opção de conservação que, ao ser realizada de maneira adequada, evita alterações significativas em sua composição (Novaes et al., 2004).

A colheita deve ser realizada quando o valor nutritivo da forrageira for elevado, com alto teor de proteína bruta e pouca proporção fibrosa. Porém, nesse momento, o material apresenta características pouco favoráveis à fermentação láctica, como alto teor de umidade e baixo teor de carboidratos solúveis (McDonald et al., 1991).

Silagens úmidas proporcionam ambiente favorável ao desenvolvimento de *Clostridium*, microrganismo potencialmente patogênico, responsável pela proteólise e queda no valor nutritivo. A proliferação desses microrganismos é evitada através de cuidados com a higiene no processo e pela rápida queda do pH. A umidade elevada torna necessária a maior produção de ácidos para baixar o pH, devido à dissolução dos ácidos

no meio aquoso (McDonald et al., 1991). Para contornar ou minimizar esse problema, pode ser realizada o emurhecimento do material antes da ensilagem, com o objetivo de atingir teor de MS adequado ($\sim 300 \text{ g kg}^{-1}$), e diminuir perdas por deterioração e contaminação do rebanho (Nussio et al., 2001).

O uso de inoculantes microbianos pode auxiliar na rápida queda do pH, para potencializar a produção de ácido láctico, inviabilizando o desenvolvimento de bactérias indesejáveis. Bactérias homoláticas são caracterizadas pela rápida fermentação, diminuição da proteólise, alta concentração de ácido láctico e alta recuperação de MS e energia (Neres et al., 2013) e não geram perda de CO_2 pelo consumo de carboidratos solúveis (Oude Elferink et al., 2001). Essas bactérias são adequadas para a adição em forragens com baixa capacidade fermentativa e baixa população epifítica para a fermentação.

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da adição de composto de bactérias em silagem emurhecida de capim-Mombaça e comparar duas metodologias de avaliação de perdas.

4.2.1 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1.1 Preparo da cultura

O experimento foi realizado pelo Centro de Pesquisas em Forragicultura (CPFOR) da Universidade Federal do Paraná. O capim-Mombaça (*Panicum maximum*), foi colhido no final do mês de abril, com aproximadamente 2m de altura. A área, destinada a capineira, com 200 m², estava previamente estabelecida na Estação Experimental do Canguiri, pertencente à UFPR, localizada no município de Pinhais – PR, latitude 25°23'30" S e longitude 49°07'30" W, com clima Cfb, segundo a classificação de Köppen. O capim foi cortado com roçadeira costal, colhido manualmente e acomodado em galpão coberto, protegido de radiação solar e chuvas, para emurhecimento por 24h. Posteriormente, o material foi picado em ensiladeira, acoplada a um trator.

4.2.1.2 Inoculação e ensilagem

Foram avaliados dois tratamentos, com cinco repetições: Controle – sem adição de bactérias e Aditivo – inoculação de bactérias ácido lácticas (50% *Pediococcus acidilactici*, 30% *Lactobacillus plantarum* e 20% *Enterococcus faecium*), provenientes de inoculantes em teste, fornecidos por empresa. O inoculante foi dissolvido em água destilada e pulverizado de forma homogênea sobre o material. A dose foi calculada para atingir 100.000 UFC g⁻¹ de forragem. A silagem Controle recebeu somente água destilada – em quantidade igual à adicionada junto aos aditivos (1000 mL 1 t⁻¹ de forragem).

A caracterização do capim antes da ensilagem é apresentada na Tabela 7. A forragem foi pesada individualmente e adicionada gradualmente em silos experimentais de polietileno, com 0,28 m de diâmetro e 0,33 m altura. O material foi compactado através de pisoteio humano para atingir massa específica de ~ 550 kg m⁻³.

Tabela 7 - Característica químicas e microbiológicas de capim-Mombaça no momento da ensilagem

Variáveis	Tratamentos		Média
	Controle	Aditivo	
pH	6,29	6,24	6,27
Densidade	523,08	549,51	536,30
	kg de forragem m ⁻³		
	g kg ⁻¹ MS		
Matéria seca	293,69	291,47	292,58
Proteína Bruta	36,19	29,74	32,96
Matéria Mineral	90,0	80,7	85,35
FDN	814,1	794,6	804,35
FDA	497,94	505,39	501,67
Carboidratos Solúveis	26,5	18,8	22,65
	Log UFC g ⁻¹		
Bactérias Ácido Lácticas	7,25	7,13	7,19
Leveduras	5,52	5,44	5,48
Fungos	-	-	-

Após enchimento, os silos foram pesados e em seguida vedados com adesivo selante, para evitar trocas gasosas da silagem com o ambiente. Os silos continham dois quilos de areia ao fundo, para absorção de efluentes e determinação de perda total de MS. A areia permaneceu separada da forragem com o auxílio de tela plástica e tecido de algodão (Jobim et al., 2007). Seguindo a metodologia desenvolvida pelo Centro de Pesquisas em Forragicultura (CPFOR/UFPR), os silos foram acoplados ao mecanismo de avaliação do volume de gases produzidos (Schmidt et al., 2012), descrito detalhadamente no item 3.3.4 do Capítulo II dessa dissertação.

4.2.1.3 Análises

Para determinar a diferença gravimétrica, os silos foram pesados quando fechados e após 60 dias, quando foram abertos. A diferença dos pesos, aliados aos seus respectivos teores de MS, permitiu estimar a perda de gás em porcentagem, em relação à MS no momento da ensilagem (Jobim et al., 2007).

Foram coletadas amostras da forragem fresca e das silagens para análises bromatológicas para determinar os teores de MS, MM e PB (AOAC, 1984) e os teores de FDN e FDA pelo método sequencial, adaptadas para o Ankom Fiber Analyser (Van Soest et al., 1991), e teor de carboidratos solúveis (CS) pelo método fenol-sulfúrico (Hall, 2000). Os ácidos orgânicos e etanol, contidos no suco da silagem, extraído com o auxílio de uma prensa, foram determinados por cromatografia gasosa (Erwin et al., 1961). A determinação de pH foi realizada em pHmêtro digital (Kung Jr. et al., 1984).

Foram realizadas análises microbiológicas para contagem de bactérias ácido lácticas, leveduras e fungos filamentosos, pelo método de diluição e plaqueamento – técnica Pour Plate, em profundidade, conforme descrito anteriormente no Material e Métodos do Capítulo II, item 3.3.4, dessa dissertação.

Para a avaliação da estabilidade aeróbia foram utilizadas amostras de 4 kg de silagem, acomodadas sem compactação, em recipientes abertos, durante dez dias em sala fechada, com temperatura média de 24°C (desvio padrão = 1,47). As temperaturas da silagem e do ambiente foram registradas a cada 4 horas, com o auxílio de termômetros de bulbo inseridos no centro da massa. As variáveis encontradas estão descritas no item 3.3.4. A perda de MS em aerobiose foi determinada pela diferença entre a quantidade de MS da forragem antes e após o período de exposição ao ar (Kung Jr. et al., 2000).

4.2.1.4 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e cinco repetições. A análise estatística foi realizada com o programa SAS (Statistical Analysis System) versão 4.3. Utilizou-se a metodologia Box-Cox para verificar a homogeneidade das variâncias. Quando necessário, os dados foram transformados (Box e Cox, 1964). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e

posteriormente, aplicou-se o teste de correlação de Pearson entre 16 variáveis, para conhecer a intensidade com que as variáveis influenciam e são influenciadas por outras.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição bromatológica das silagens de capim está apresentada na Tabela 8.

A observação das características visuais e odor das silagens indicou que a fermentação ocorreu de forma satisfatória, sem apresentação de bolores ou mau cheiro.

Tabela 8 - Composição química-bromatológica e perfil fermentativo de silagem de capim-Mombaça sem aditivos (Controle) ou inoculada com bactérias ácido lácticas (Aditivo)

Variáveis	Tratamentos		CV ¹	P-Valor
	Controle	Aditivo		
pH	4,47	4,45	0,78	0,35
	g kg ⁻¹			
Matéria Seca	307,74	304,05	0,56	<0,01
Matéria Mineral	85,71	84,87	2,69	0,58
Proteína Bruta	33,14	29,41	5,28	<0,01
FDN	759,77	782,88	1,27	<0,01
FDA	485,80	509,03	1,92	<0,01
Ácido Láctico	26,42	25,06	7,72	0,31
Ácido Acético	13,12	12,68	4,84	0,30
Ácido Propiônico	0,49	0,47	8,44	0,54
Ácido Butírico	0,49	0,40	22,61	0,16
Etanol	6,30	6,49	2,48	0,10
Lático:Acético	2,012	1,978	6,20	0,67

¹ CV – Coeficiente de variação; ² CS – carboidratos solúveis antes da ensilagem.

O pH não foi alterado com a adição do inoculante, com valor médio de 4,46. Este valor pode ser aceitável para silagens de capins, que via de regra estabilizam em pH mais elevado em comparação a culturas como milho e sorgo. No entanto, cabe destacar, que o pH por se só não é um bom indicador de qualidade de silagem. McDonald et al. (1991) recomendam que os valores de pH estejam entre 3,8 a 4,2, o que indica fermentação

adequada. Entretanto, o teor de carboidratos solúveis em capins pode limitar o desenvolvimento de microrganismos produtores de ácido lático, o que dificulta a queda do pH (Bilal, 2009). Bernardes et al. (2008) testaram a adição de bactérias homo ou heteroláticas, em silagens de capim-Marandu, e não encontraram pH menores nas silagens aditivadas em relação à silagem controle.

O teor de MS do capim, com média de 305,9 g de MS kg⁻¹ de forragem e adequado para ensilagem, pois segundo Muck (2001) silagens de capins com teor de MS abaixo de 300 g de MS kg⁻¹ podem apresentar fermentação clostrídica e perdas significativas pela produção de efluente.

A silagem tratada com bactérias apresentou menor teor de MS (P<0,01). Contudo, a magnitude dessa redução foi pequena. Resultados semelhantes foram encontrados por Coan et al. (2005), que verificaram decréscimo nos teores de MS em silagens de capins que tratadas com aditivos microbianos. A incorporação de bactérias na massa pode ter elevado o consumo de carboidratos solúveis, como substrato, aumentando os teores de fibra (Basso et al., 2012).

Aditivos microbianos são usados para preservar os nutrientes de silagem, porém, o teor de PB superior na silagem controle sugere que o aditivo não foi eficiente nesse parâmetro. De forma geral, estes valores estão abaixo dos encontrados por Ávila et al. (2009), que estudaram silagens de capim-Mombaça com 68,7 g de PB kg⁻¹ MS. Provavelmente, o estágio avançado do capim usado no presente ensaio, proveniente de capineira antiga, influenciou essa variável. Vasconcelos et al. (2009) avaliaram silagens de capim-Mombaça em diferentes idades de rebrota e constataram que silagens feitas a partir de material mais velho têm menores valores de PB.

A idade avançada em que o capim foi colhido também promoveu teores de fibra mais elevados, em função do aumento da participação de lignina. A adição de bactérias

na silagem de capim-Mombaça proporcionou FDN e FDA mais elevados. O aumento de um componente da MS acarreta na diminuição proporcional de outros. Penteadó et al. (2007) encontraram valores de 780 e 406 g kg⁻¹ MS de FDN e FDA, respectivamente. Ao adicionarem *L. plantarum* nas silagens, em doses crescentes, verificaram o aumento nos teores dessas variáveis. Os autores atribuem essa resposta ao aumento no consumo de CS pelas bactérias adicionadas. Já Coan et al. (2005) não encontraram alteração ao usarem bactérias homoláticas em capim-Mombaça, com teores médios de 751 e 454 g kg⁻¹ de FDN e FDA, respectivamente.

O uso de aditivo não afetou o perfil fermentativo da silagem (Tabela 8). Coan et al. (2005) também não encontraram diferença nos teores de ácidos láctico, acético e propiônico em silagens de capins inoculadas com composto de bactérias homoláticas, com dose de $1,5 \times 10^5$ UFC g⁻¹. A competição por substrato entre os microrganismos pode diminuir a produção total dos ácidos (Junges et al., 2013) e impedir o efeito esperado de inoculantes.

Recentemente, Santos et al. (2014) avaliaram o efeito de inoculante microbiano (I) e de idade de rebrotação (35, 45, 55 e 65 dias) (IR) sobre o perfil fermentativo em silagens de capim-Mombaça, em diferentes períodos de fermentação. Os autores verificaram efeito ($P < 0,05$) de IR e I sobre o pH e concentrações de amônia e dos ácidos láctico e acético. O ácido butírico foi afetado pela interação I x IR. O pH foi menor nas silagens inoculadas em todas idades de rebrotação. O ácido láctico também apresentou maior conteúdo nas silagens inoculadas em todas as idades de rebrotação, excetuando aquela de 65 dias. Os autores concluíram que o capim-Mombaça colhido aos 56 dias de rebrotação ou depois, tem população de BAL suficiente para proporcionar boa fermentação.

As silagens apresentaram média de 25,7 g kg⁻¹ de ácido láctico MS. Kung Jr. (2001) recomenda que a proporção de ácido láctico em silagens de capins tropicais deve ser de 60 a 100 g kg⁻¹ MS. Cavali et al. (2010) estudaram silagens de capim-Elefante e verificaram que o uso de *L. plantarum* e *P. acidilacti*, elevou a produção dos ácidos láctico e acético, para 37,4 e 15,2 g kg⁻¹ MS respectivamente. Coan et al. (2005) entretanto, não encontraram aumento na produção de ácido láctico em silagens de capim-Mombaça ou capim-Tanzânia inoculadas.

Os teores de ácido acético não alteraram com a utilização de aditivo, com média de 12,2 g kg⁻¹ MS. Esses valores estão acima dos encontrados por Ferreira et al. (2009), em silagem de capim-Elefante sem aditivos, de 3,50 g kg⁻¹, e abaixo do sugerido para silagens consideradas adequadamente fermentadas de 20 a 50 g kg⁻¹ (McDonald et al., 1991).

Penteado et al. (2007) estudaram silagens de capim-Mombaça, inoculadas com *L. plantarum* e encontraram teores de 31,5 g kg⁻¹ de ácido láctico e 12,9 g kg⁻¹ MS de ácido acético, aplicando doses de 1 × 10⁴ UFC g⁻¹ de forragem. Ao aumentarem a quantidade aplicada, para 1 × 10⁶ UFC g⁻¹, o teor de ácido láctico aumentou para 44,1 g kg⁻¹ enquanto o teor de ácido acético diminuiu para 11,1 g kg⁻¹ MS.

O teor verificado dos ácidos propiônico e butírico foi baixo (Tabela 8). Esses ácidos são fracos e possuem baixa ação na redução do pH das silagens (McDonald et al., 1991). Coan et al. (2005) encontraram teores de ácido propiônico de 0,02 g kg⁻¹ MS. Kung Jr. (2001) afirma que silagens adequadamente produzidas não devem produzir ácido butírico. O manejo de emurchecimento do capim-Mombaça antes da ensilagem, com o objetivo de elevar o teor de MS, pode contribuir para inibir bactérias do gênero *Clostridium*, produtoras de ácido butírico, problema comum em silagens de capins

(Muck, 1990). A produção de ácido acético e butírico está associada a fermentações secundárias e perdas de MS na forma de gases (Santos et al., 2008).

A produção de etanol foi, em média, de 6,40 g kg⁻¹ MS. Essa substância não é interessante em silagens, pois representa perdas de MS e energia (Kung e Shaver, 2001). Cavali et al. (2010) testaram silagens de capim-Elefante e encontraram valores semelhantes de etanol em materiais sem inoculantes e com bactérias homoláticas, entre 13,1 a 20,2 g kg⁻¹ MS, respectivamente.

A adição do inoculante não alterou (P>0,05) as perdas que ocorreram durante a fermentação (Tabela 9). As perdas de MS são ocasionadas pela fermentação, respiração celular e metabolismo de microrganismos anaeróbios, durante a ensilagem, com produção de água e CO₂ (Junges et al., 2013). Cavali et al. (2010) também não verificaram redução nas perdas de MS em silagens de capim-Elefante, inoculadas com bactérias homoláticas. Esses microrganismos utilizam glicose e produzem ácido láctico, com geração mínima de metabólitos, o que pode contribuir para a redução de perdas durante a fermentação (McDonald et al., 1991).

Tabela 9 - Perdas fermentativas em silagem de capim-Mombaça sem aditivos (Controle) ou inoculada com bactérias ácido lácticas (Aditivo)

Variáveis	Tratamentos		CV ¹	P-Valor
	Controle	Aditivo		
	g kg ⁻¹ MS			
Perda total de MS	20,27	12,62	45,01	0,14
Perda por gases	13,30	4,98	37,48	0,10
	kg t ⁻¹ forragem			
Produção de efluente	7,0	7,6	8,60	0,17
	litros t ⁻¹ forragem			
Produção de gases	1501,47	1827,09	7,10	0,31
	g t ⁻¹ forragem			
CO ₂ equivalente	227,00	254,93	40,58	0,76

¹Coefficiente de Variação

A produção de efluentes foi baixa (média de 7,3 kg t⁻¹ de MV), devido ao emurhecimento realizado antes da ensilagem. O teor de MS e a densidade da massa são fatores que influenciam na produção de efluente. Bernardes et al. (2008) encontraram produção de 68,5 kg de efluente por tonelada de massa ensilada em silagens de capim-Marandu com 190 g MS kg⁻¹ e com a densidade de 590 kg de MV m⁻³.

Rezende et al. (2008) adicionaram *L. plantarum* e *P. pentosaceus* em silagens de capim-Elefante. A silagem aditivada produziu 57,30 kg de efluente t⁻¹ MV; 2,3 vezes mais que a silagem controle. Os autores atribuíram esse efeito apenas ao baixo teor de MS da forragem. Já Tavares et al. (2009) não encontraram produção de efluente em silagens de capim-Tanzânia, pois o material foi submetido a emurhecimento antes da ensilagem, com 279,3 g kg⁻¹ de MS, mesmo em condição de alta densidade de 900 kg de MS m⁻³.

A perda por gases apresentou média de 9,14 g kg⁻¹. Assim como a Perda Total de MS, esta variável apresentou alto CV. Rezende et al. (2008) encontraram perdas semelhantes a este trabalho, de 15,5 g kg⁻¹ em silagens de capim-Elefante aditivadas com bactérias homoláticas. Tavares et al. (2009) diminuíram a produção de gases com o aumento da densidade do material ensilado, assim como o emurhecimento antes da ensilagem também foi eficiente para evitar esse tipo de perda. Cavali et al. (2010) verificaram perda na forma de gás de 30 g kg⁻¹ MS em silagens de capim-Elefante. Andrade et al. (2010) encontraram perdas na forma de gases em silagens de capim-Elefante superiores ao presente ensaio, de 61 g kg⁻¹ MS, atribuída a alta umidade presente no capim na ensilagem, de 813 g kg⁻¹ de forragem.

A produção de gases, segundo a metodologia proposta pelo Centro de Pesquisa em Forragicultura da UFPR (Schmidt et al., 2012) foi, em média 1664 L de gases por tonelada de forragem ensilada. O comportamento da produção de gás é apresentado na Figura 4. As silagens produziram gás somente nos primeiros 18 dias. Nos dias um, dois e

três foram produzidos 14, 46 e 20%, respectivamente, do total de gás, correspondendo a 80% da produção. Ambos os tratamentos tiveram o mesmo comportamento, e provavelmente essa produção foi, em grande parte, consequência da respiração da forragem. Os dados de produção de gases, em litros, aparentam ser mais condizentes, já que o teor dos ácidos (Tabela 8) não aumentou com a adição de bactérias.

A armazenagem do gás produzido pelas silagens possibilitou a coleta de amostras para a determinação de sua composição. As análises foram direcionadas aos gases CO₂, CH₄ e N₂O. Dos três gases avaliados, o CO₂ teve 99,99% de participação. O CH₄ e N₂O tiveram 0,008 e 0,003%, respectivamente.

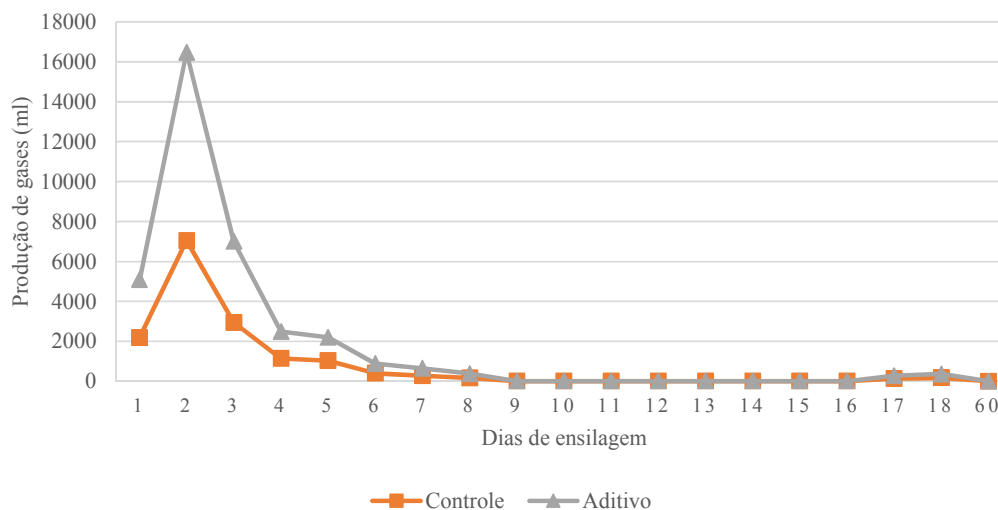


Figura 4 - Produção de gases em silagens de capim-Mombaça durante o período de armazenamento.

Controle – sem aditivos; Aditivo - inoculação de bactérias ácido lácticas na dose de 1×10^5 UFC g⁻¹ forragem (50% *Pediococcus acidilactici*, 30% *Lactobacillus plantarum* e 20% *Enterococcus faecium*).

A produção de CO₂ equivalente foi semelhante entre os tratamentos, com média de 240,96 g por tonelada de forragem ensilada. Esses gases estão ligados ao efeito estufa, devido à absorção de radiação infravermelha, a qual é reemitida para a superfície da Terra, o que aquece o planeta. Contudo, a magnitude dos gases produzidos indica que a fermentação das silagens tem pouca importância, quando comparada a outras fontes

emissoras de GEE no ambiente pecuário, a exemplo de que bovino adulto produz de 0,92 a 1,61 t/animal/ano de CO₂eq (Paulino e Teixeira, 2009).

As silagens de capins são mais propensas à perda de MS durante a fermentação devido a suas características. A eficácia de inoculantes neste tipo de silagem, depende do ambiente dentro do silo. Em levantamento realizado por Schmidt et al. (2014), dos 11 trabalhos encontrados que avaliaram a utilização de bactérias homoláticas em silagens de capins, nenhum apresentou melhora na qualidade das mesmas; e em aproximadamente metade dos casos houve queda no pH e menores perdas de MS. O teor de MS deve ser corrigido e apresentar quantidade suficiente de CS. Desse modo, as condições serão adequadas para a proliferação de bactérias ácido lácticas epifíticas e/ou adicionadas.

As silagens não apresentaram alteração na população de BAL e leveduras com a adição de bactérias (Tabela 10). A população de BAL no capim antes da ensilagem foi de 7,3 log UFC g⁻¹. Esse valor é elevado em relação aos dados encontrados na literatura nacional para silagens de gramíneas tropicais (Santos et al., 2011, Santos et al., 2014). Muck (1996) preconizou população de BAL de 5 log UFC g⁻¹ como o mínimo necessário para que as perdas durante o processo de fermentação sejam mínimas. O crescimento microbiano pode ser afetado por diversos fatores, como a falta de CS, população epifítica superior ao inoculante ou baixa dose de bactérias adicionadas.

Tabela 10 - Contagens microbianas em silagem de capim-Mombaça sem aditivos (Controle) ou inoculada com bactérias ácido lácticas (Aditivo)

População	Tratamentos (log UFC g ⁻¹)		CV ¹	P-Valor
	Controle	Aditivo		
Bactérias Ácido Lácticas	7,9	7,8	1,19	0,43
Leveduras	3,5	2,9	37,61	0,49
Fungos Filamentosos	-	-		

¹ Coeficiente de variação

Penteado et al. (2007) adicionaram 3 doses de bactérias homoláticas e verificaram que a inoculação com doses acima de 1×10^5 UFC g⁻¹ melhoraram o perfil microbiano

das silagens e contribuíram com a diminuição da população de enterobactérias. Os autores também verificaram que, independente da dose adicionada, após 14 dias de ensilagem as populações de BAL apresentaram o mesmo tamanho.

A população de leveduras, que era $5,5 \log \text{ UFC g}^{-1}$ na forragem fresca, diminuiu com a fermentação. O ambiente anaeróbio estabelecido pelo fechamento do silo diminuiu o desenvolvimento das leveduras e o ambiente ácido pode inviabilizar parte dessa população, que tende a aumentar após a exposição da silagem ao oxigênio (Pereira et al., 2014).

Não houve crescimento de colônias de fungos filamentosos em nenhuma das silagens (Tabela 10). Esses microrganismos aparecem em silagens que a deterioração já está avançada, em pontos de infiltração de ar no silo, em virtude de seu desenvolvimento lento (Pahlow et al., 2003). Sua presença em silagens é preocupante devido à produção de compostos orgânicos complexos, as micotoxinas, que diminuem a qualidade da forragem e podem ser tóxicas para homens e animais (Novinski, 2013; Pereira et al., 2014).

O aditivo não influenciou a estabilidade das silagens após a abertura (Tabela 11). As silagens permaneceram durante 10 dias em ambiente com temperatura média de $24 \pm 1,47 \text{ }^\circ\text{C}$, atingindo a temperatura máxima de $30,8^\circ\text{C}$, após 214,8 horas de exposição ao oxigênio. Silagens ricas em carboidratos solúveis e amido, como as de milho, ou aquelas em que a fermentação foi restringida pelo uso de aditivos e/ou pelo emurchecimento excessivo da forragem antes da ensilagem, estão mais propensas à degradação aeróbia (Castro et al., 2006).

As leveduras estão diretamente relacionadas à deterioração de silagens durante a exposição aeróbia, contribuindo para a diminuição de sua digestibilidade (Weinberg et al., 2011). Esses microrganismos consomem o lactato (responsável pela conservação),

alteram o pH e, conseqüentemente, tornam a silagem vulnerável à ação de outros microrganismos indesejáveis (McDonald et al., 1991).

Tabela 11 - Estabilidade aeróbia em silagem de capim-Mombaça sem aditivos (Controle) ou inoculada com bactérias ácido lácticas (Aditivo)

Variáveis	Tratamentos		CV ⁸	P-Valor
	Controle	Aditivo		
	°C			
Tmax ¹	30,1	31,5	5,81	0,25
Tmédia ²	24,71	24,58	3,65	0,82
Acum ³	90,0	92,7	39,70	0,91
Difmax ⁴	6,6	8,0	22,56	0,22
	Horas			
Htmax ⁵	208,8	220,8	3,29	0,51
EA ⁶	135,20	100,80	40,42	0,29
	g kg ⁻¹			
PMS ⁷	49,24	51,62	20,59	0,59

¹ Temperatura máxima atingida; ² Temperatura média; ³ Temperatura acumulada durante a exposição à aerobiose; ⁴ Diferença máxima entre temperatura do ambiente e da silagem; ⁵ Horas para atingir a temperatura máxima; ⁶ Perda da estabilidade em aerobiose; ⁷ Perda de Matéria Seca durante aerobiose; ⁸ Coeficiente de variação.

A temperatura acumulada no material (Acum) e a diferença máxima entre a temperatura da silagem e o ambiente (Difmax) foram de 91,35 e 7,3°C, respectivamente. Essas variáveis avaliam o quanto a silagem permaneceu aquecida. A perda de EA ocorreu com 185,2 horas, em média, para as silagens avaliadas. Ávila et al. (2009) observaram perda de EA em silagens de capim-Mombaça após 55 horas da abertura. A PMS durante a exposição ao oxigênio foi semelhante entre os tratamentos, com média de 50,5 g kg⁻¹ MS da silagem. Geralmente, silagens pobremente fermentadas possuem maior estabilidade durante a exposição aeróbia, pela falta de substrato para os microrganismos aeróbios ou pela presença de produtos provenientes de fermentação secundária, como ácido acético e butírico (Danner et al., 2003).

O comportamento temporal das silagens de capim-Mombaça está caracterizado na Figura 5. A exposição ao oxigênio favorece a ação de microrganismos indesejáveis, que, devido a sua respiração, produzem CO₂ e calor (Pereira et al., 2014). Bernardes (2004) adicionou bactérias homofermentativas em silagens de capim-Marandu e encontrou resposta negativa em relação à degradação aeróbia nas silagens aditivadas, quando comparada à silagem Controle. Assim como Hassanat et al. (2007), que encontraram perdas de EA mais precoces em silagens de milho, tratadas com bactérias homoláticas.

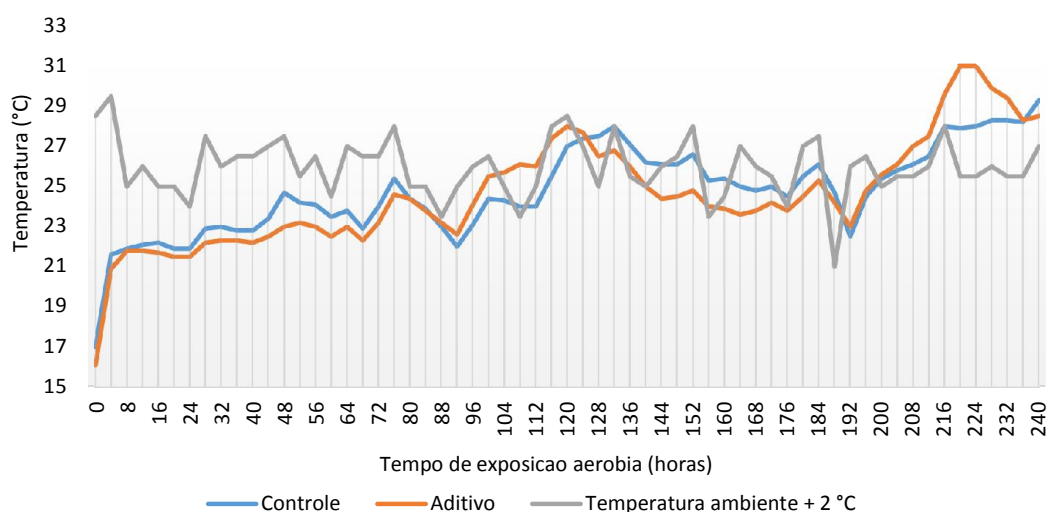


Figura 5 - Comportamento temporal das temperaturas de silagens de capim-Mombaça aditivadas ou não durante a exposição aeróbia. Controle – sem aditivos; Aditivo - inoculação de bactérias ácido lácticas (50% *Pediococcus acidilactici*, 30% *Lactobacillus plantarum* e 20% *Enterococcus faecium*).

De maneira geral, as silagens apresentaram boa estabilidade aeróbia, pois mantiveram-se sem aquecimento durante aproximadamente cinco dias. Boas práticas de manejo, como dimensionamento correto do silo, tamanho de partícula, compactação e vedação adequadas são a forma mais viável para reduzir a degradação aeróbia (Schmidt et al., 2014).

As correlações entre as variáveis selecionadas estão apresentadas na Tabela 12. O teor de MS foi correlacionado positivamente com o ácido butírico (0,65), apesar de este ácido ser encontrado geralmente em silagens mais úmidas, devido à ação de clostrídios.

Todavia, a quantidade encontrada nas silagens ainda está abaixo da quantidade considerada preocupante (Kung e Shaver, 2001). O teor de FDN e FDA foram correlacionados positivamente entre si (0,85), possivelmente pelo efeito de diluição dos outros componentes da MS.

Para valores relacionados à estabilidade aeróbia, a Tmax teve correlação negativa com a EA (-0,83). O pico na temperatura das silagens diminuiu sua EA, pois temperaturas mais elevadas estão relacionadas à intensidade da ação de microrganismos deterioradores. O ácido propiônico, considerado um ácido fraco com capacidade antifúngica, apresentou correlação com a EA e a Tmax (0,71 e -0,70, respectivamente). As perdas de MS durante os 10 dias de exposição aeróbia apresentaram correlação com o ácido acético (0,72) e com o ácido propiônico (-0,81), ambos com propriedades que auxiliam no controle de levedura, entretanto, apenas o segundo contribuiu para diminuir as perdas.

A produção de gases, provenientes da fermentação, apresentou alta correlação positiva com as perdas totais (0,99) e com os CS (0,81). Essa segunda variável foi consumida pelos microrganismos durante a fermentação, elevando a produção de gases. O efluente foi correlacionado positivamente com a densidade (0,79), em função da ruptura das células vegetais pela pressão de compactação, que liberam o conteúdo intracelular, produzindo efluente.

O ácido láctico apresentou correlação apenas com o acético (0,66). O ácido butírico teve correlação com o teor de álcool (-0,64) e com a densidade (-0,79), indicando que o manejo adequado em silagens pode contribuir para a qualidade sanitária do material.

Tabela 12 - Correlação de Pearson entre características químicas e fermentativas de silagens de capim-Mombaça, inoculadas com bactérias.

	FDN	FDA	CS	Tmax	EA	PMS	PTMS	PerdaG	Efluente	Lático	Acético	Propiônico	Butírico	Álcool
MS	-0,64*	-0,90**	0,85*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,65*	-0,71*
FDN	-	0,85**	-0,95**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,77**
FDA	-	-	-0,88**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,86**
CS	-	-	-	NS	NS	NS	NS	0,81*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Tmax	-	-	-	-	-0,83**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-0,70*	NS	NS
EA	-	-	-	-	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,71**	NS	NS
PMS	-	-	-	-	-	-	NS	NS	NS	NS	0,72**	-0,81**	NS	NS
PTMS	-	-	-	-	-	-	-	0,99**	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PerdaG	-	-	-	-	-	-	-	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Efluente	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NS	NS	NS	-0,88**	NS
Lático	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,66*	NS	NS	NS
Acético	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NS	NS	NS
Propiônico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NS	NS
Butírico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,64*
Álcool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; NS = não significativo; Tmax – temperatura máxima durante a exposição a aerobiose; EA – perda de estabilidade durante a exposição aeróbia; PMS – Perda de MS durante a exposição aeróbia; PTMS – Perdas totais de MS durante a fermentação.

Silagens de capim normalmente apresentam densidade menor que silagens de milho. Isso é influenciado principalmente pelo teor de FDN dessas plantas, pela maturidade em que a planta é colhida e pelo tamanho das partículas. Maiores densidades proporcionam expulsão do oxigênio, propiciando um ambiente favorável às BAL e, conseqüentemente, a fermentação adequada (Velho et al., 2007). Tavares et al. (2009) testaram diferentes densidades em silagens de capim-Tanzânia e constataram que o aumento na densidade promove queda no pH e na perda por gás; em contrapartida, aumenta a produção de efluente de materiais com alta umidade.

Neste ensaio, o teor de PB apresentou correlação negativa com a produção de efluente (-0,70; $P < 0,05$). A queda do teor de proteína também pode ser relacionada à ação de clostrídios e enterobactérias, que se desenvolvem em pH mais elevado. Esses microrganismos podem produzir amônia e aminas biogênicas a partir de peptídeos e aminoácidos gerados pela proteólise na fermentação (Pahlow et al., 2003).

O uso de bactérias em silagens de capim pode gerar poucas alterações positivas, conforme os dados anteriormente apresentados. A adição de inoculantes incrementa o custo da silagem e o retorno em melhora na qualidade do material parece inconsistente. O emurchecimento de capins deve ser realizado antes da ensilagem, para diminuir ou suspender fermentações secundárias e a confecção e retirada da silagem adequados são indispensáveis para manter a qualidade do material.

4.4 CONCLUSÕES

A adição de bactérias em capim-Mombaça não melhorou a eficiência fermentativa, nem as perdas de MS e a estabilidade aeróbia das silagens. A avaliação de perdas em silagens deve ser cautelosa, com atenção à metodologia utilizada, que pode superestimar valores em função do processamento que a forragem passa para gerar os dados.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, I. V. O.; Pires, A. J. V.; Carvalho, G. G. P.; Veloso, C. M.; Bonomo, P. 2010. Perdas, características fermentativas e valor nutritivo da silagem de capim-Elefante contendo subprodutos agrícolas. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:2578-2588.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemist. 1984 Official methods of analysis. 14th ed. AOAC, Washington, DC.
- Ávila, C. L. S.; Pinto, J. C.; Figueiredo, H. C. P.; Morais, A. R.; Pereira, O. G. e Schwan, R. F. 2009. Estabilidade aeróbia de silagens de capim-Mombaça tratadas com *Lactobacillus buchneri*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38:779-787.
- Basso, F. C.; Bernardes, T. F.; Roth, A. P. T. P.; Lodo, B. N.; Berchielli, T. T. e Reis, R. A. 2012. Fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41:1789-1794.
- Bernardes, T. F. 2004. Consumo, comportamento ingestivo e digestibilidade de silagem de capim-Marandu submetidas à inoculação de bactérias homo e heterofermentativas. Tese (doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, São Paulo.
- Bernardes, T. F.; Reis, R. A.; Amaral, R. C.; Siqueira, G. R.; Roth, A. P. T. P.; Roth, M. T. P.; Berchielli, T. T. 2008. Perfil Fermentativo, estabilidade aeróbia e valor nutritivo de silagens de capim-Marandu ensilado com aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37:1728-1736.
- Bilal, M. Q. 2009. Effect of molasses and corn as silage additives on the characteristics of mott dwarf elephant grass silage at different fermentation periods. *Pakistan Veterinary Journal* 29:19-23.
- Box, G. E. P.; Cox, D. R. 1964. An Analysis of Transformations. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 26:211-252.
- Castro, F. G. F.; Nussio, L. G.; Haddad, C. M.; Campos, F. P.; Coelho, R. M.; Mari, L. J. e Toledo, P. A. 2006. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-Tifton 85 (*Cynodon* sp.) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35:358-371.
- Cavali, J.; Pereira, O. G.; Valadares Filho, S. C.; Porto, M. O.; Fernandes, F. E. P e Garcia, R. 2010. Mixed sugarcane and elephant grass silages with or without bacterial inoculant. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:462-470.
- Coan, R. M.; Vieira, P. F.; Silveira, R. N.; Reis, A. R.; Malheiros, E. B. e Pedreira, M. S. 2005. Inoculante Enzimático-Bacteriano, Composição Química e Parâmetros Fermentativos das Silagens dos Capins Tanzânia e Mombaça. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34:213-219.
- Danner, H.; Holzer, M.; Mayrhuber, E.; Braun, R. 2003. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 69:562-567.
- Erwin, E. S.; Marco, G. J. e Emery, E. M. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science* 44: 1768-1771.

- Ferreira, A. C. H.; Neiva, J. N. M.; Rodriguez, N. M.; Campos, W. E.; Borges, I. 2009. Avaliação nutricional do subproduto da agroindústria de abacaxi como aditivo de silagem de capim-Elefante. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38:223-229.
- Hall, M. B. 2000. Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis. Gainesville: University of Florida. 42 p. (Bulletin, 339).
- Hassanat, F.; Mustafa, A. F.; Seguin, P. 2007. Effects of inoculation on ensiling characteristics, chemical composition and aerobic stability of regular and brown midrib millet silages. *Science Direct. Animal Feed Science and Technology* 139:125-140.
- IBGE, 2007 Censo Agropecuário 2006: Resultados Preliminares. IBGE: Rio de Janeiro, p.1-146.
- Jobim, C. C.; Nussio, L. G.; Reis, R. A.; Schmidt, P. 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:101-120.
- Junges, D.; Schmidt, P.; Novinski, C. O. e Daniel, J. L. P. 2013. Additive containing homo and heterolactic bacteria on the fermentation quality of maize silage. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 35:371-377.
- Kleinschmidt, D. H.; Kung Junior, L. 2006. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of Dairy Science* 89:4005-4013.
- Kung Jr., L. 2000. Microbial and chemical additives for silage: effect on fermentation and animal response. p.1-53. In: Workshop sobre milho para silagem. Piracicaba, São Paulo.
- Kung Jr., L. 2001. Aditivos microbianos e químicos para silagem: Efeitos na fermentação e resposta animal. p. 53-74. In: Workshop sobre milho para silagem. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz. Piracicaba, Brasil.
- Kung Jr., L.; Grieve, D. B.; Thomas, J. W. and Huber, J. T. 1984. Added ammonia or microbial inoculant for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *Journal of Dairy Science* 67:299-306.
- Kung, L. and Shaver, R. 2001. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. *Focus on Forage* Nº. 13. 3:1-5.
- McDonald, P.; Henderson, A. R.; Heron, S. J. E. 1991. *The biochemistry of silage*. 2nd ed. Marlow, Chalcombe.
- Muck, R. E. 2001. Conserved forage (silage and hay): progress and priorities. In: *International Grassland*. São Pedro, São Paulo.
- Muck, R. E. 1996. Inoculant of silage and its effects on silage quality. In: *Informational conference with dairy and forage industries*. US Dairy Forage Research. 43-52.
- Muck, R. E. 1990. Prediction of lactic acid bacterial numbers on lucerne. *Grass and Forage Science* 45:273-280.
- Neres, M. A.; Zambom, M. A.; Fernandes, T.; Castagnara, D. D.; Rodrigues, J. F. H.; Taffarel, L. E.; Javorski, C. R. e Pozza, M. S. S. 2013. Microbiological profile and aerobic stability of Tifton 85 bermudagrass silage with different additives. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42:381-387.

- Novaes, L. P.; Lopes, F. C. F.; Carneiro, J. C. 2004. Silagens: Oportunidades e Pontos Críticos. Comunicado técnico 43. Juiz de Fora, Minas Gerais.
- Novinski, C. O. 2013. Composição de micotoxinas e bromatologia de silagens de milho em silos de grande porte utilizando imagens em infravermelho. Dissertação (M. Sc.). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Nussio, L. G.; Campos, F. P.; Dias, F. N. 2001 Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. p. 127-145. In: Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas. Jobim, C. C.; Cecato, U.; Damasceno, J. C. e Santos, G. T. Maringá, Paraná.
- Oude Elferink, S.J.W.H.; Krooneman, J.; Gottschal, J.C.; Spoelstra, S.F.; Faber, F.; Driehuis, F. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. Applied Environmental and Microbiology 67:125-132.
- Pahlow, G.; Muck, R. E.; Driehuis, F. et al. 2003. Microbiology of ensiling. 31-94. In: Silage Science and Technology. 1 ed. Madison: American Society of Agronomy.
- Paulino, V. T.; Teixeira, E. M. L. C. 2009. Sustentabilidade de pastagens – manejo adequado como medida redutora da emissão de gases de efeito estufa. CPG – Produção animal sustentável, Ecologia de Pastagens, IZ, APTA/SAA.
- Penteado, D. C. S.; Santos, E. M.; Carvalho, G. G. P.; Oliveira, J. S.; Zanine, A. M.; Pereira, O. G. e Ferreira, C.L.L.F. 2007. Inoculação com *Lactobacillus plantarum* da microbiota em silagem de capim-Mombaça. Archivos de Zootecnia 56:191-202.
- Pedreira, C. G. S.; Mello, A. C. L.; Otani, L. 2001. O processo de produção de forragem em pastagem. p. 772-807. In: Sociedade Brasileira de Zootecnia. A produção animal na visão dos brasileiros. Fealq. Piracicaba, Brasil.
- Pereira, O. G.; Silva, T. C.; Leandro, E. S.; Ribeiro, K. G. 2014. Práticas na ensilagem versus qualidade higiênica da silagem. p. 157-210. In: Anais do V Simpósio: Produção e Utilização de Forragens Conservadas. Maringá, Paraná.
- Rezende, A. V.; Gastaldello Jr., A. L.; Valeriano, A. R.; Casali, A. O.; Medeiros, L. T.; Rodrigues, R. 2008. Uso de diferentes aditivos em silagem de capim-Elefante. Ciência e Agrotecnologia 32:281-287.
- Santos, E. M.; Pereira, O. G.; Garcia, R.; Ferreira, C. L. L. F.; Oliveira, J. S.; Silva, T. C. 2014. Effect of regrowth interval and a microbial inoculant on the fermentation profile and dry matter recovery of guinea grass silages. Journal Dairy Science 97:4423-4432.
- Santos, E.M., Zanine, A.M., Ferreira, D.J., Oliveira, J.S., Penteado, D.C.S. e Pereira, O.G. 2008. Inoculante ativado melhora a silagem de capim-Tanzânia (*Panicum maximum*). Archivos de Zootecnia 215:1-8.
- Schmidt, P.; Novinski, C.O.; Carneiro, E.W. e Bayer, C. 2012. Greenhouse gas emissions from fermentation of corn silage. P. 428. In: XVI International Silage Conference. Hämeenlinna, Finland.
- Schmidt, P.; Souza, C. M.; Bach, B. C. 2014. Uso estratégico de aditivos em silagens: Quando e como usar. p. 243-264 In: Anais do V Simpósio: Produção e Utilização de Forragens Conservadas. Maringá, Brasil.

- Tavares, V. B.; Pinto, J. C.; Evangelista, A. R.; Figueredo, H. C. P.; Ávila, C. L. S.; Lima, R. F. 2009. Efeitos da compactação, da inclusão de aditivo absorvente e do emurhecimento na composição bromatológica de silagens de capim-Tanzânia. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38:40-49.
- Van Soest, P. J.; Robertson, J. B. e Lewis, B. A. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal Dairy Science* 74:3583-3597.
- Vasconcelos, W. A.; Santos, E. M.; Zanine, A. M.; Pinto, T. F.; Lima, W. C.; Edvan, R. L. E Pereira, O. G. 2009. Valor nutritivo de silagens de capim-Mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) colhido em função de idades de rebrotação. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 10:874-884.
- Velho, J. P.; Muhlbach, P.R. F.; Nornberg, J. L.; Velho, I. M. P. H.; Genro, T. C. M.; Kessler, J. D. 2007. Composição bromatológica de silagens de milho produzidas com diferentes densidades de compactação. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:1532-1538.
- Vitor, C. M. T.; Fonseca, D. M.; Coser, A. C.; Martins, C. E.; Nascimento Junior, D.; Ribeiro Junior, J. I. 2009. Produção de matéria seca e valor nutritivo de pastagem de capim-Elefante sob irrigação e adubação nitrogenada. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38:435-442.
- Weinberg, Z.G.; Khanal, P.; Yildiz, C.; Chen, Y.; Arieli, A. 2011. Ensiling fermentation products and aerobic stability of corn and sorghum silages. *Japanese Society of Grassland Science* 57:1-5.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Respostas ao uso de aditivos microbianos em silagens são extremamente variáveis, pois muitos fatores afetam a eficiência desses produtos. Silagens com teores de MS e CS adequados à proliferação da população epifítica têm condições suficientes para a produção de ácido lático, responsável pela preservação da forragem. Devido ao alto valor nutritivo da silagem bem preservada, bactérias heteroláticas podem contribuir para a preservação do material durante seu uso, devido à produção de ácido acético por esses microrganismos. Nas silagens de milho, o uso de inoculante não foi realizado com doses adequadas e as bactérias selecionadas não alteraram a silagem e sua estabilidade aeróbia.

Bactérias homoláticas podem auxiliar na redução de perdas durante a fermentação de silagens, desde que estejam em ambiente favorável para seu desenvolvimento. Nas silagens de capim-Mombaça, o teor de MS foi adequado, porém, a quantidade de substrato pode ter limitado seu desenvolvimento.

A interpretação das metodologias de perdas deve ser cautelosa, com atenção aos processos que a silagem sofre para chegar aos valores finais, a fim de evitar avaliação equivocada do valor nutritivo do material. A nova metodologia proposta por Schmidt et al. (2012) apresenta uma nova maneira de interpretar a produção de gases, com avaliação mais direta do gás produzido. A pesquisa em gases de efeito estufa terá continuidade e a análise do impacto da silagem na emissão de GEE, dentro dos nos sistemas de produção, deverá ter metodologia aperfeiçoada.