



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ – UFPA  
NÚCLEO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DESENVOLVIMENTO RURAL  
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**NATÁLIA SIDRIM DA SILVA DE SOUZA**

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BACTÉRIAS HOMOLÁTICAS NA ENSILAGEM  
DE CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum* cv. ROXO)**

**BELÉM  
2012**

**NATÁLIA SIDRIM DA SILVA DE SOUZA**

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BACTÉRIAS HOMOLÁTICAS NA ENSILAGEM  
DE CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum* cv. ROXO)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Amazônia Oriental e Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Fernandes Bernardes

Co-orientador: Prof. Dr. Kedson Raul de Souza Lima

**BELÉM  
2012**

Souza, Natália Sidrim da Silva de

Efeito da concentração de bactérias homoláticas na ensilagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* cv. roxo) / Natália Sidrim da Silva de Souza: orientadores, Thiago Fernandes Bernardes, Kedson Raul de Souza Lima - 2012.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Belém, PA, 2012.

1. Capim-elefante – Silagem. 2. Capim-elefante – Inoculação. 3. Microbiologia agrícola. 4. Bactérias aeróbicas. 5. Nutrição animal. I. Título

CDD – 22.ed. 631.46

---

**NATÁLIA SIDRIM DA SILVA DE SOUZA**

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BACTÉRIAS HOMOLÁTICAS NA ENSILAGEM  
DE CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum* cv. ROXO)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental e da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Data: 06/02/2012

Banca Examinadora:

---

Dr. Thiago Fernandes Bernardes- Orientador  
Universidade Federal de Lavras - UFLA

---

Dr. Gustavo Rezende Siqueira  
Agência Paulista de Tecnologia dos  
Agronegócios - APTA

---

Dr. Felipe Nogueira Domingues  
Universidade Federal do Pará- UFPA

Aos meus pais, avôs  
e minha irmã, com  
todo amor e carinho.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por sempre me dar luz e força na minha vida.

À Maria Lúcia Sidrim da Silva (mãe), Vanessa Sidrim da Silva de Souza (irmã), Amadeu Veloso de Souza (pai) e Jucileide Sidrim da Silva (avó) por todo amor incondicional, apoio e força que me deram para vencer todas as dificuldades que a vida proporcionou.

À Universidade Federal do Pará (UFPA) pela oportunidade de realização do curso de Mestrado, ao Departamento de Zootecnia e do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) e ao Departamento de Engenharia de Alimentos e da Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA) pela disponibilidade do laboratório para execução das análises.

Ao Prof. Dr. Thiago Fernandes Bernardes pela orientação competente, apoio, conhecimento e conselhos transmitidos.

A CAPES pela bolsa de estudo.

À Empresa Lallemand pela concessão do inoculante microbiano.

Ao Prof. Dr. Kedson Raul de Souza Lima, Msc. Maria Cristina Manno, Dr. Cristian Faturi e Dr. Cesar Augusto Lopez Aguilar, pelas orientações, apoio e por estarem sempre prontos a ajudar. Os levarei sempre com muito carinho e admiração.

Aos meus amigos Adriano, Ana Elisa, Antonio, Daniely, Dário, Diane, Fabrício, Fernando, Ivan, Jefferson, João Flávio, Larissa, Simone, William e Zuleide por todo carinho, amizade, amor, força, por todos os momentos alegres, apreensivos, “corujões”, tristes, tensos, nostálgicos, engraçados, dias de jogos, provas, trabalhos, etc... Agradeço ao meu super amigo-irmão Ivan que dedicou seu tempo e dedicação me ajudando nas análises e me dando todo apoio que precisei durante esses meses. Não sei o que seria de mim, sem vocês!!!

A todos que contribuíram de forma direta e indireta para a minha formação no mestrado.

**Muito Obrigada!!!**

“A lonely road, crossed another cold state line  
Miles away from those I love purpose hard to find  
While I recall all the words you spoke to me  
Can't help but wish that I was there  
Back where I'd love to be, oh yeah”

Avenged Sevenfold, Dear God

## RESUMO

O trabalho analisa o efeito do inoculante bacteriano em silagens de capim Elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Roxo) em concentrações crescentes de inclusão. O experimento realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) consistiu em cinco tratamentos e quatro repetições (Controle, LP/PC4, LP/PC5, LP/PC55, LP/PC6) que se encontravam em baldes plásticos com tampa e vedada com fita plástica, onde foram pesadas semanalmente até o final do experimento. Foram realizadas análises químicas e bromatológicas da forragem e das silagens onde foi retirada amostras no momento da abertura (Dia 0) e no último dia de aerobiose (Dia 10), além da contagem de fungos e leveduras nas silagens para avaliar a qualidade do material ensilado. No período de aerobiose foi inseridos data loggers nos silos para observar a temperatura na pós fermentação. Não houve diferença significativa na composição química das silagens e na contagem de fungos, recuperação de matéria seca, mas houve diferença na contagem de leveduras no momento de abertura. O tratamento de maior dosagem do inoculante ajudou teve maior tempo para a quebra da estabilidade aeróbia, quando comparado com o tratamento Controle. A utilização do inoculante bacteriano *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici* pode ser recomendável, pois melhorou a estabilidade, mas em termos de perfil fermentativo e composição bromatológica, seus efeitos foram mínimos.

**Palavras-chave:** Estabilidade Aeróbia. Inoculante bacteriano. Silagem de capim Elefante.

## ABSTRACT

The research analyzes the effect of the microbiological inoculant in silage of elephant (*Pennisetum purpureum* cv. Purple) in increasing concentrations of inclusion. The experiment was conducted at the Department of Zootecnia (Animal Science), Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) consisted of four replications and five treatments (Control, LP/PC4, LP/PC5, LP/PC55, LP/PC6) who were in plastic buckets with lids and sealed with plastic tape, which were weighed weekly until the end of the experiment. Were carried out chemical and bromatological analysis of forage and silages in samples at the opening (Day 0) and the last day of aerobic stabilization (Day 10), beyond the counting of fungi and yeasts in silages to evaluate the quality of the ensiled material. During aerobic data loggers were placed in silos to observe the temperature in the post fermentation There was no significant difference in the chemical composition of silages and mold counts, dry matter recovery, but there was no difference in yeast count at the time of opening. Treatment of higher dosage of the inoculant took more time to break aerobic stability when compared with the control. The use of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* can be recommended, since it improves the stability, but in terms of fermentation and chemical composition, the effects were minimal.

Keywords: Aerobic stability. Bacterial inoculants. Elephant grass silage

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>13</b>
2.1. SILAGEM.....	13
2.2. MICROFLORA EPÍFITA .....	15
<b>2.2.1. Bactérias Homoláticas .....</b>	<b>15</b>
2.3. INOCULANTES BACTERIANOS.....	16
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>19</b>
3.1. ENSILAGEM.....	19
3.2 DETERMINAÇÃO DAS PERDAS NA FERMENTAÇÃO .....	20
3.3 AMOSTRAGENS E ANÁLISES QUÍMICAS .....	21
3.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	22
3.5. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE AERÓBIA.....	22
3.6. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	23
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>24</b>
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>34</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Roxo) é uma das gramíneas mais difundidas e importantes no Estado do Pará, podendo ser utilizada de diversas formas e alcançando bons níveis de produção animal quando bem manejada. Segundo Faria et al. (1996), a ensilagem do capim-elefante minimiza o problema da estacionalidade de produção de forragem que, no caso da referida gramínea, tem 80% da produção no período chuvoso.

Com a evolução da pecuária, os sistemas de produção intensivos passaram a ser uma opção para os produtores brasileiros, e conseqüentemente a utilização de forragem de alta qualidade durante o ano todo passa a ser um importante componente dos programas de alimentação. Ao longo dos últimos anos houve a intensificação das técnicas de conservação de forragem, sendo a ensilagem o processo mais preponderante no sistema produtivo (MIYAZAKI, 2008).

Várias são as propostas disponíveis visando solucionar os problemas ocasionados pela estacionalidade de produção de forragem, as quais devem ser coerentes com o nível de exploração pecuária de cada propriedade. A conservação de forragens na forma de feno e, ou, silagem, como estratégia de manejo das pastagens, tem se destacado como técnica capaz de possibilitar a exploração da elevada produtividade das forrageiras nas regiões de clima tropical (PEREIRA et al., 2006).

Recentemente, pesquisas têm buscado novas alternativas com o objetivo de minimizar as perdas decorrentes da ensilagem, otimizando o processo fermentativo, reduzindo a deterioração aeróbia e preservando o valor nutritivo das silagens produzidas. Neste sentido, a utilização de inoculantes microbianos (HARRISON; BLAUWIEKEL, 1994), é uma técnica extensamente difundida em países desenvolvidos e vem despertando grande interesse dos produtores brasileiros. Entretanto, os resultados obtidos com sua utilização são contraditórios, já que as melhoras no perfil fermentativo das silagens nem sempre são acompanhadas de melhoras no valor nutritivo e/ou ganhos no desempenho animal, sendo que o inverso também é verdadeiro (MAGALHÃES, 2002).

Resultados inconsistentes da atividade bacteriana no controle da fermentação têm sido encontrados, principalmente no nosso país. Diversos fatores podem afetar a eficiência de um inoculante, tais como: a espécie bacteriana, a cultura a ser

ensilada (concentração de matéria seca e carboidratos solúveis), condições ambientais (temperatura e precipitação), qualidade da água utilizada na aplicação e distribuição do produto na forragem (KUNG JR., 2009).

Entretanto, a concentração no momento da aplicação é um ponto chave, pois as bactérias exógenas devem dominar o processo fermentativo (PITT; LEIBENSPERGER, 1987). Nos Estados Unidos e na Europa os inoculantes mais tradicionais são aplicados na cultura com o objetivo de alcançar uma concentração de  $10^5$  bactérias por grama de forragem (KUNG JR., 2009). No Brasil, as recomendações das empresas dificilmente atingem o valor de  $10^4$  bactérias/g de forragem no momento da ensilagem, porque segundo os fabricantes o custo do inoculante se torna inviável.

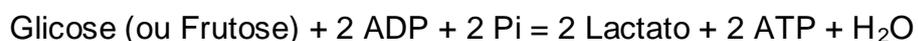
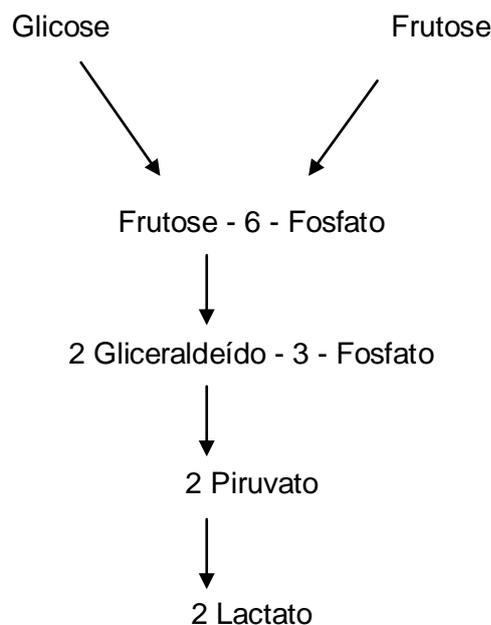
Este trabalho objetivou avaliar o efeito da inclusão dos microrganismos *Lactobacillus plantarum* cepa MA18/5U (LP) e *Pediococcus acidilactici* MA 18/5M (PA), em doses crescentes, sobre a fermentação e estabilidade aeróbia de silagens de capim Elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Roxo).

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. SILAGEM

Define-se silagem como sendo o produto resultante da fermentação da planta forrageira na ausência de ar, finamente picada e acondicionada rapidamente em estrutura de armazenagem. Barnett (1954) registrou que o objetivo da ensilagem é conseguir, dentro da massa ensilada concentração de ácido láctico (Figura 1), produzido como resultado da presença de bactérias homoláticas ou ácido-láticas dentro da cultura cortada, suficiente para inibir outras formas de atividade microbiana e, assim, preservar o material até que ele possa ser utilizado pelos animais.

Figura 1: Síntese da fermentação da glicose e da frutose pelas bactérias ácido lácticas.



Fonte: Modificado de McDonald et al. (1991).

O produto final da fermentação é o ácido láctico, entretanto, alguns grupos produzem quantidade considerável de  $\text{CO}_2$ , etanol e outros metabólitos, sendo estes denominados heterofermentativas.

Forrageiras de clima tropical apresentam contraste entre valor nutritivo e produção por unidade de área, influenciado pelas condições climáticas ou por características da própria planta (GUIM et al., 2002). É fato bem conhecido que, com

a maturação, as plantas, ainda que aumentem a produção de matéria seca, têm o seu valor nutritivo reduzido (VILELA, 1994). A ensilagem constitui um dos principais métodos de conservação dessa gramínea, já que sua utilização, na forma de pastejo ou como reserva forrageira para corte, apresenta a mesma seqüência ao longo do ciclo de crescimento com alterações qualitativas e quantitativas da planta, devido às variações climáticas.

Catchpole e Henzel (1971), afirmam que algumas forragens tropicais são de difícil ensilagem, o que pode proporcionar baixo coeficiente de digestibilidade do material ensilado. Porém os autores ressaltam, que a utilização de aditivos ou técnicas que visem melhorar a preservação da forragem antes da ensilagem pode melhorar a fermentação e reduzir a diminuição da digestibilidade.

O capim-elefante é originário da África e introduzido no Brasil por volta de 1920 chamando a atenção pela sua elevada capacidade de produção, despertando rápido interesse dos pecuaristas (FARIA, 1994; ALMEIDA et al., 2006). Apesar da elevada produção de massa por unidade de área e de teores protéicos superiores às outras forrageiras tropicais (VILELA, 1990), com boa produção em diferentes tipos de solo e temperatura ambiente (LAVEZZO, 1985), o capim-elefante, *Pennisetum purpureum* (Poaceae) apresenta algumas características limitantes para o processo de ensilagem (GUIM et al., 2002; LAVEZZO, 1994). Uma delas é o baixo teor de matéria seca, que segundo Wilkinson (1983), proporciona baixa pressão osmótica, o que permite o desenvolvimento de bactérias da espécie *Clostridium sp.* Estas desdobram açúcares, ácido lático, proteínas e aminoácidos em ácido butírico, acético, amônia, gás carbônico e aminas, com perdas qualitativa e quantitativamente significativas (RODRIGUES et al., 2001)

Henrique e Bose (1992), analisando o efeito de dois aditivos enzimo-bacterianos sobre a ensilagem do capim Elefante cv. Guaçu, com 50 dias de desenvolvimento, apesar de não ter encontrado efeito dos aditivos sobre a qualidade da silagem, obtiveram ingestão de matéria seca para ovinos variando de 41,96 a 50,09 g/UTM (Unidade de Tamanho Metabólico = PV<sub>0,75</sub>) e coeficientes de digestibilidade da matéria seca e matéria orgânica do capim Elefante de 63,78 a 65,39%.

## 2.2. MICROFLORA EPÍFITA

Os microorganismos naturalmente presentes nas plantas forrageiras, chamados de microflora epífita são responsáveis pela fermentação das silagens, afetando também a sua estabilidade aeróbia e a eficiência dos inoculantes contendo microorganismos exógenos (NUSSIO et al., 2003). O número de cepas de microorganismos epífitas é variável, sendo afetado por vários fatores: tipo de forragem, pelo estágio de maturidade das plantas, pelo clima, por tratamentos agrônomicos dispensados na condução da cultura, pelo corte e condicionamento da forrageira (LIN et al., 1992), bem como pela ocorrência de incêndio prévio (BERNARDES et al., 2002).

As plantas forrageiras normalmente são contaminadas por microorganismos e o desenvolvimento de cada tipo de organismo dependerá das condições encontradas no meio (SANTOS et al., 2010). Na ensilagem, a presença ou ausência de O<sub>2</sub> no interior do silo determinará o desenvolvimento, mesmo que temporário, de três tipos de microorganismos: aeróbios, anaeróbios e anaeróbios facultativos. Bactérias ácido lácticas são os principais microorganismos que atuam no processo fermentativo para a conservação da massa ensilada. Essas bactérias incluem, principalmente, os gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* e *Leuconostoc*, que produzem principalmente ácido-lático como produto da fermentação dos açúcares. Já as bactérias anaeróbias do gênero *Clostridium* têm efeitos negativos sobre a qualidade da silagem (JOBIM et al., 2001).

A presença de fungos é indesejável, não somente porque quebram o açúcar e o ácido láctico pela via normal da respiração, mas também hidrolisam e metabolizam a celulose e outros componentes da parede celular (GUIM et al., 2002). Além disso, alguns bolores, principalmente as espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, crescem em silagens onde há penetração de ar e produzem toxinas que são prejudiciais aos animais e ao homem (MCDONALD et al., 1991; MUCK, 1992).

### 2.2.1. Bactérias Homoláticas

As bactérias ácido-láticas são gram-positivas, não apresentam mobilidade nem produzem esporos e são catalase negativas (SANTOS et al., 2006). Elas são essenciais para o processo fermentativo que ocorre nas silagens (PENTEADO et al., 2007; JOBIM et al., 2001). Segundo Pahlow et al. (2003), nenhum grupo de

bactérias varia tanto em número quanto as bactérias homoláticas, indo do limite de detecção  $10^1$  a  $10^5$  unidades formadoras de colônias (UFC)  $g^{-1}$  forragem na alfafa,  $10^6$  em gramíneas perenes e  $10^7$  em milho e sorgo. Populações dentro dessa faixa têm sido também encontradas em condições tropicais para diferentes espécies forrageiras (ROCHA, 2003; PEREIRA et al., 2005; PEREIRA et al., 2006; SOUSA et al., 2006).

Particularmente, *Lactobacillus plantarum* são os maiores fermentadores da silagem (OHMOMO et al., 2002). Embora, os *Lactococcus* são muito importantes no estágio inicial de fermentação, na manutenção de um ambiente ácido, posteriormente, tornando-se os lactobacilos predominantes (SANTOS et al., 2006).

Avaliando o efeito de inoculantes contendo *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus faecium* e *Pediococcus acidilactici*, com  $10^6$  UFC, sobre silagem de capim Pangola (*Digitaria eriantha*), Meeske et al. (1999) verificaram que as silagens tratadas sofreram uma queda de pH mais rápida que a observada no grupo controle, além de apresentarem teores mais elevados de ácido láctico.

McDonald (1981) afirmou que o uso de bactérias lácticas como aditivo na ensilagem foi muito estudado no começo deste século, mas posteriormente abandonado, por considerar-se que a população natural de bactérias lácticas na forragem fosse adequada para assegurar uma fermentação normal. Hoje se sabe que as forragens são fontes pobres de bactérias lácticas além de algumas estirpes presentes não serem apropriadas para os propósitos da inoculação (HENRIQUE, 1992). Muck (1989) confirmou que o número de bactérias lácticas na planta é baixo, e que, após o corte, apenas em metade das amostras foram detectadas estas bactérias. Este autor analisou apenas alfafa, durante dois anos, e de 300 campos diferentes. Praticamente todos os trabalhos encontrados na literatura sobre contagem de bactérias lácticas na planta são de origem temperada, havendo poucos dados nas nossas condições tropicais.

### 2.3. INOCULANTES BACTERIANOS

Desde a década de 80, são utilizados no Brasil aditivos microbianos formulados com bactérias de espécies como *Streptococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici* e *Lactobacillus plantarum*, cujos princípios de atuação são aumentar a produção de ácido láctico e promover a rápida redução do pH da massa ensilada

(COSTA et al., 2001). A inoculação com bactérias homoláticas é feita com os objetivos de reduzir as fermentações clostrídicas e tornar o processo fermentativo mais eficiente (DRIEHUIS et al., 1997). Essa prática tem sido recomendada principalmente para capins tropicais, tendo em vista as rotas fermentativas indesejáveis sofridas por essas espécies (REIS et al., 2004). Segundo Pereira et al. (2002), os resultados com inoculantes contendo bactérias homoláticas em forrageiras tropicais têm sido pouco consistentes e conclusivos.

De uma forma geral, os inoculantes microbianos abrangem a classe de aditivos com mais rápido desenvolvimento e adoção em todo mundo, em virtude da segurança e facilidade de manipulação, ausência de toxicidade para os mamíferos e não poluírem o ambiente, além da grande disponibilidade no mercado (BERNARDES, 2006; MIYAZAKI, 2008; ÁVILA et al., 2009). O princípio básico de atuação destes produtos é o incremento na população de bactérias homofermentativas, e em alguns casos das heterofermentativas, capazes de competir com os microorganismos epífitos existentes na forragem, de maneira a aumentar a relação ácido láctico/acético e de outros ácidos orgânicos envolvidos na preservação das silagens, além de diminuir a proteólise e a desaminação da proteína, com o uso mais adequado dos carboidratos solúveis e conseqüentemente, maior retenção de nutrientes na silagem (ROTZ e MUCK, 1994; KUNG Jr. et al., 2003; PAHLOW et al., 2003; BERNARDES, 2006).

Segundo Rodrigues (2001), a utilização de aditivos nas silagens de clima tropical justifica-se devido à alta umidade e quantidade de carboidratos existentes nestas forrageiras, além das perdas decorrentes de eventuais fatalidades (manejo, fatores climáticos etc). O ideal seria que os aditivos tivessem comprovada capacidade de reduzir as perdas de matéria seca, aumentar a qualidade higiênica, limitar fermentações secundárias, aumentar a estabilidade aeróbia (WARDYNSKI et al., 1993), incrementar o valor nutritivo da silagem e, finalmente, oferecer ao produtor ganhos financeiros consideráveis ao investimento inicial dessa tecnologia (HENDERSON, 1993).

O interesse por inoculantes bacterianos vem crescendo e, dentre as vantagens do seu uso, temos: menor custo, facilidade de manuseio e menor efeito corrosivo no maquinário em comparação ao uso de ácidos (LUIS et al., 1992). Aditivos contendo bactérias lácticas e enzimas mostraram-se mais efetivos na

estabilização do processo fermentativo do que o uso desses aditivos isoladamente (HENDERSON et al., 1987; MERRY et al., 1987).

Um dos fatores determinantes para o sucesso da aplicação de inoculantes bacterianos está na compatibilidade entre a forragem e os microorganismos que foram inoculados na silagem. Hill (1989) constatou que quando três estirpes de *Lactobacillus plantarum*, isoladas de milho, alfafa e sorgo foram co-inoculadas em cada uma destas plantas, a estirpe dominante em cada silagem foi natural de cada planta, sugerindo que uma bactéria isolada de uma determinada planta pode não ter o efeito esperado, quando aplicado em outra diferente (PENTEADO et al. 2007).

Existe grande número de estudos sobre o uso de inoculantes em forragens conservadas, no entanto, os resultados das pesquisas relacionados às melhorias do processo fermentativo, ao valor nutritivo, ao consumo de matéria seca e ao ganho de peso dos animais ainda são contraditórios (ÁVILA et al., 2009). A prática de inocular bactérias homoláticas é recomendada principalmente para capins tropicais, tendo em vista as rotas fermentativas indesejáveis sofridas por essas espécies e tem como objetivos a redução das fermentações clostrídicas e ainda pode tornar o processo fermentativo mais eficiente (DRIEHUIS et al., 1997; REIS et al., 2001; NUSSIO et al., 2002).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. ENSILAGEM

O experimento foi conduzido nas dependências do Setor de Zootecnia, situado a 1°28' de latitude sul e 48°30' de longitude oeste de Greenwich, pertencente à Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Campus de Belém, PA.

O capim Elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Roxo) foi colhido no dia 22 de novembro de 2010, com altura média de 1,20 m, e ensilado no mesmo dia em silos experimentais consistindo em baldes plásticos de 15 litros (Figura 2), contendo 2 kg de areia e uma tela de nylon, sendo providos com tampas plásticas e lacrados com fita adesiva.

Figura 2: Silos Experimentais



Fonte: Arquivo Pessoal (2010)

A forragem colhida foi transportada até as dependências do Setor onde, sobre lonas plásticas específicas para cada tratamento, foram aplicadas por meio de borrifadores manuais, as diluições do inoculante bacteriano e, posteriormente, o capim foi homogeneizado manualmente. A ensilagem foi realizada através da compactação manual e com auxílio de bastões, obtendo uma densidade média de  $660 \pm 22,04$  kg de forragem/m<sup>3</sup>. Foram confeccionados quatro silos para cada

tratamento, totalizando 20 unidades experimentais, as quais permaneceram armazenadas por um período de 189 dias.

Os tratamentos foram representados por cinco doses de um inoculante bacteriano comercial, o qual é composto pelos microrganismos *Lactobacillus plantarum* (cepa MA18/5U) e *Pediococcus acidilactici* (cepa MA 18/5M), sendo os mesmos descritos abaixo.

- 1) Sem inoculante (Controle);
- 2) *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*  $5 \times 10^4$  UFC/g forragem (LP/PC4);
- 3) *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*  $1 \times 10^5$  UFC/g forragem (LP/PC5);
- 4) *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*  $5 \times 10^5$  UFC/g forragem (LP/PC55);
- 5) *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*  $1 \times 10^6$  UFC/g forragem (LP/PC6);

### 3.2 DETERMINAÇÃO DAS PERDAS NA FERMENTAÇÃO

Os silos preenchidos foram pesados no momento da ensilagem e ficaram armazenados no tempo supracitado. Decorrido o tempo previsto os silos foram novamente pesados, para determinação das perdas por gases e efluentes. As perdas gasosas foram estimadas pela diferença de peso bruto dos silos no dia da ensilagem e na data de abertura.

Durante o período de fermentação, os baldes foram pesados para determinação das perdas por gases. As pesagens foram efetuadas semanalmente desde o primeiro dia até completar 189 dias de ensilagem. A determinação da perda por gases foi calculada pela equação descrita por Siqueira et al. (2007):

$$PG = (PSI - PSF) / MSI * 100$$

Sendo:

PG: Produção de gases (% da matéria seca);

PSI: Peso do silo no momento da ensilagem (kg);

PSF: Peso do silo no momento da abertura (kg);

MSI: Matéria seca ensilada (quantidade de forragem (kg) \* % matéria seca).

A mensuração da produção de efluente foi calculada com o uso estratégico de areia seca. O cálculo é feito pela diferença do peso do conjunto silo+areia+tela (após retirar-se a forragem do silo) e antes da ensilagem, em relação a quantidade de forragem fresca ensilada. A determinação da produção de efluente foi descrita por Siqueira et al. (2007):

$$PE = (PSAF - PSAI)/MNI \times 1000,$$

Sendo:

PE = produção de efluente (kg de efluente/t de matéria verde ensilada);

PSAF = peso do conjunto silo, areia, tela e náilon após a abertura (kg);

PSAI = peso do conjunto silo, areia, tela e náilon antes da ensilagem (kg);

MNI = quantidade de forragem ensilada (kg).

Para determinação da recuperação da matéria seca, utilizou-se a equação descrita abaixo, segundo Jobim et al. (2007).

$$RMS = (MFab \times MSab) / (MFfe \times MSfe) * 100$$

Onde:

RMS = índice de recuperação de matéria seca;

MFab= massa de forragem na abertura;

MSab= teor de MS na abertura;

MFfe = massa de forragem no fechamento;

Msfe = teor de MS da forragem no fechamento.

### 3.3 AMOSTRAGENS E ANÁLISES QUÍMICAS

Antes da ensilagem, foram retiradas amostras da forragem com objetivo de caracterizar a planta, as quais foram secas em estufas de ventilação forçada, sendo posteriormente trituradas em moinho estacionário do tipo Wiley, com peneira de malha com crivo de 1 mm. O mesmo ocorreu com as amostras das silagens, tanto

no momento da abertura do silo (Dia 0), quanto no final do período de aerobiose (Dia 10).

As concentrações de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) segundo Silva e Queiroz (2002). O teor de carboidratos solúveis (CHO's) foi determinado pelo método de antrona (DISCHEZ, 1962).

O nitrogênio amoniacal ( $\text{NH}_3$ ) e o pH foram determinados em extratos aquosos produzidos segundo o método descrito por Tabacco et al., 2009.

### 3.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia, pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da UFRA. Tais análises foram efetuadas após a abertura dos silos e no décimo dia de aerobiose.

Amostras de silagens foram pesadas (25 g) e misturadas a 225 ml de solução de água peptonada bacteriológica (Biolog). Após agitação foram retirados 10 ml do extrato para diluições posteriores em tubos de ensaio, contendo 9 ml de solução salina fisiológica estéril (8,5 g de NaCl/litro de água destilada). A partir dos extratos diluídos ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ), foram realizadas as semeaduras (0,1 ml por placa) em placas de Petri descartáveis contendo o meio Àgar YGC (Fluka). As contagens de leveduras e fungos foram feitas após 72 horas e 120 horas, respectivamente (MIYASAKI, 2008).

A diferenciação entre leveduras e fungos foi realizada por meio da estrutura física das colônias, uma vez que as leveduras são microorganismos que apresentam colônias formadas por organismos unicelulares, enquanto que os fungos são multicelulares filamentosos.

### 3.5. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE AERÓBIA

Para a determinação da estabilidade aeróbia, foram colocados cerca de 3 kg de silagem em baldes plásticos, os quais permaneceram abertos por período de 10 dias. Foi inserido em cada balde um data logger para a leitura das variações de temperatura, o qual permaneceu o centro na massa. Outros quatro data loggers também foram posicionados ao redor dos baldes para a avaliação da temperatura do ambiente. Todos os aparelhos foram programados para registrar a temperatura a

cada 2 h. Foi avaliado o tempo necessário para a massa alcançar 2°C acima da temperatura ambiente (KUNG et al., 1998).

### 3.6. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental utilizado para o experimento foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições utilizando-se o esquema de parcelas subdivididas, em que os fatores das parcelas foram os tratamentos e o fator atribuído à subparcela, o tempo. Os resultados referentes à contagem microbiana foram transformados em logaritmo. Os dados foram analisados pelo programa SAS (2001), utilizando-se os procedimentos da análise de variância, e as médias comparadas pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontram-se os dados referentes aos teores médios de MS, FDN, FDA, PB e CHO's da forragem no momento da ensilagem. Os teores de MS foram inferiores aos 25% preconizados por McDonald et al. (1991) como condição necessária para uma silagem de qualidade, considerando uma perda mínima de efluentes e, conseqüentemente, ocorra à conservação dos nutrientes do material ensilado. Todavia, apesar do elevado teor de umidade, as silagens tinham um bom aspecto visual e não apresentaram odor desagradável.

Tabela 1. Composição química do capim Elefante antes da ensilagem.

Variável	
MS (%)	16,83
PB (%MS)	6,02
FDN (%MS)	73
FDA (%MS)	66
CHO's (%MS)	3,3

Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

O capim Elefante, embora possua alguns cultivares com teores de carboidratos solúveis acima de 16% na matéria seca, como é o caso do Taiwan A-148, alguns pesquisadores afirmam que teores abaixo dos 13% vem propiciando silagens razoáveis, citados por Silveira et al. (1979) e Machado Filho e Mühlbach (1986).

Na Tabela 2 encontram-se os dados da composição química e microbiológica das silagens. Não houve diferença estatística entre os tratamentos para as variáveis MS, FDN, CHO's, pH, NH<sub>3</sub> e fungos filamentosos. Houve diferença significativa apenas na contagem de leveduras, no momento de abertura do silo, entre o tratamento Controle e o tratamento de maior dosagem do inoculante (LP/PC 6).

Tabela 2. Características químicas, físicas e microbiológicas das silagens de capim Elefante tratadas com diferentes concentrações de *L. plantarum* e *P. acidilacti*, no momento da abertura.

	Controle	LP/PC 4	LP/PC 5	LP/PC 55	LP/PC 6	EP	Valor de P
MS (%)	15,12	14,86	15,43	14,89	16,33	0,14	0,29
PB (%MS)	5,84	5,87	6,60	5,87	6,85	0,11	0,22
FDN (%MS)	67,73	67,06	68,57	72,65	70,16	0,50	0,26
CHO's (%MS)	0,72	0,62	0,65	0,54	0,50	0,02	0,29
pH	4,12	3,90	4,31	4,48	4,01	0,05	0,10
N amoniacal (%NT)	8,93	7,06	8,89	8,70	10,77	0,29	0,71
Leveduras (log ufc/g silagem)	5,83 a	5,38 ab	4,32 ab	4,42 ab	2,06 b	1,30	0,05
Fungos (log ufc/g silagem)	3,32	2,10	1,58	5,57	2,17	0,74	0,06

Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas linhas, não diferem ( $P>0,05$ ) pelo teste Tukey; EP: erro padrão.

Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

Alguns autores encontraram em seus trabalhos teores de MS variando de 12 a 23% em silagens de capim Elefante, (ALMEIDA et al. 1986; VILELA et al. 1987; ALBERTO et al. 1993; FANTINI et al. 1995; ANDRADE et al. 1998 ; SOBRINHO et al. 1998) o que vem a confirmar, os resultados obtidos neste trabalho. Ranjit e Kung Jr (2000), relataram pequenas variações nos teores de matéria seca em silagens de milho tratadas com inoculantes microbianos. A comparação dos conteúdos de carboidratos residuais das silagens com a forragem (Tabela 1) evidencia que esta fração foi utilizada durante a fermentação, uma vez que os teores desse nutriente apresentaram queda acentuada no material ensilado.

Penteado et al. (2007), trabalhando com capim-mombaça (*Panicum maximum* Jacq), observaram que a inoculação com *Lactobacillus plantarum* melhorou o perfil fermentativo considerando os valores de pH, NH<sub>3</sub>, e menores perdas de matéria seca na silagem.

Esses microrganismos apresentam alta resistência às variações do pH e sobrevivem em meio anaeróbio. Além disso, Lindgren et al., (1985) apontam para o fato de que a assimilação de lactato da silagem por fungos, leveduras e bacilos diminui o potencial da conservação da silagem. Para McDonald et al., (1991) e MUCK et al., (1992), a ação direta na degradação do açúcar e ácido láctico pela via normal da respiração, bem como a hidrólise e metabolização da celulose e demais constituintes da parede celular indicam como indesejável a existência desses fungos

nas silagens. Culmina em perda de nutrientes e, conseqüentemente, compromete o valor nutritivo da silagem.

Akintokun et al. (2007), estudando o efeito do *Lactobacillus plantarum* e carbohidrase na microbiota da silagem de *Tridax procumbens*, observaram redução de pH e composição química com a inclusão do inoculante e da enzima.

Segundo Ferreira (2001), silagem de boa qualidade apresenta N-NH<sub>3</sub> inferior a 10%. Todas as silagens estudadas apresentaram índices bens inferiores indicando reduzida degradação da PB.

No trabalho de Penteado et al., (2007) não houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis pH e N amoniacal. De acordo com Muck (1996), a adição de bactérias lácticas homofermentativas em silagens, pode elevar a produção de ácido láctico durante a fermentação, promovendo uma redução mais acentuada do pH. Desta maneira, possivelmente, em decorrência da rápida queda do pH, ocorra uma inibição da ação de bactérias proteolíticas, acarretando uma menor produção de N-NH<sub>3</sub>. A proteólise durante a ensilagem inicia-se com a ação de enzimas proteolíticas, que resultam na formação de peptídeos e aminoácidos. Posteriormente, bactérias do gênero *Clostridium* e *Enterobactérias*, que se desenvolvem em ambientes com pH elevado (PAHLOW et al., 2003) podem produzir amônia e aminas biogênicas, a partir destes peptídios e aminoácidos (MUCK, 1996). Assim, a redução do pH da silagem por meio da inoculação pode ter reduzido o desenvolvimento destes microrganismos, reduzindo assim a proteólise durante a fermentação.

Os dados referentes as características química e microbiológicas das silagens no ultimo dia de aerobiose encontram-se na Tabela 3. Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) nas variáveis pH, contagem de fungos e leveduras.

Tabela 3. Características químicas e microbiológicas das silagens de capim Elefante tratadas com diferentes concentrações de *L. plantarum* e *P. acidilacti* após 10 dias de exposição ao ar.

	Controle	LP/PC 4	LP/PC 5	LP/PC 55	LP/PC 6	EP	Valor de P
pH	6,58	7,57	6,09	6,83	5,70	0,16	0,29
Leveduras (log ufc/g silagem)	5,91	5,61	5,97	4,54	4,01	1,32	0,43
Fungos (log ufc/g silagem)	4,82	4,90	5,19	5,69	5,12	1,08	0,88

Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas linhas, não diferem ( $P>0,05$ ) pelo teste Tukey; EP: erro padrão. <sup>1</sup>log<sub>10</sub> UFC/g silagem  
 Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

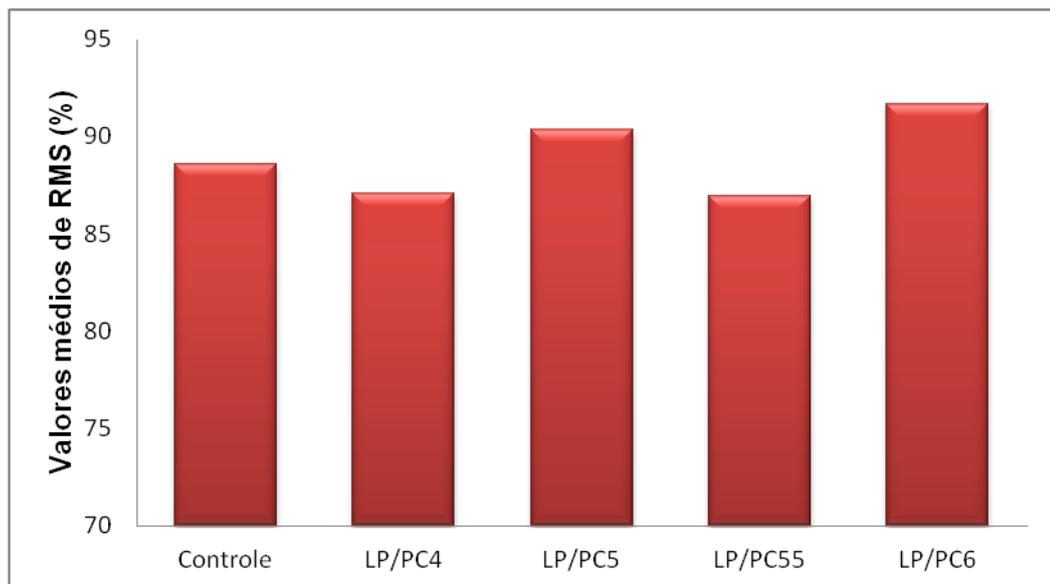
Os valores de pH aumentaram com o prolongamento dos dias de exposição ao ar, em relação ao valor encontrado no momento da abertura dos silos, porém não diferiram entre os tratamentos ( $P>0,05$ ), possivelmente pela ação de microrganismos. Se considerado isoladamente, o valor do pH pode se tornar um índice de qualidade de silagens. O pH usualmente acompanha as mudanças que podem ocorrer no conteúdo de N-NH<sub>3</sub> e ácidos orgânicos (SILVEIRA, 1988). Vale ressaltar que quanto mais rápido o pH cai, mais eficiente será a preservação, e menor será o desdobramento da proteína em compostos nitrogenados não-protéicos, como peptídeos e aminoácidos, que são produtos da atividade das enzimas proteolíticas das plantas. Geralmente tais enzimas atuam no início do processo fermentativo, e um ambiente que as torne inativas, como baixos valores de pH, diminui a produção de amônia, produto da ação das bactérias clostrídicas (WOOLFORD, 1972; OHSHIMA; McDONALD, 1978; McDONALD, 1981).

Os fungos, particularmente as leveduras, são os microrganismos mais freqüentes associados à deterioração da silagem (LINDGREN et al., 1985; McDONALD et al., 1991). Segundo Muck et al. (1991) e Ruiz e Munari (1992) o processo inicia-se com leveduras, que transformam os açúcares em álcool. Vale lembrar que somente a contagem de leveduras não explica as diferenças na estabilidade das silagens (HENDERSON et al., 1979). Honig e Woolford (1980), comentaram que silagens com mais de 10<sup>5</sup> UFC/g MS parecem ser mais propensas à deterioração, porém isso não pode ser considerado como um fator decisivo uma

vez que silagens com menores populações de leveduras também podem deteriorar rapidamente (HENDERSON, 1993)

A recuperação da matéria seca (RMS) representa a quantidade de silagem, considerando a quantidade de forragem produzida em relação à forragem ensilada, ambas consideradas na matéria seca (SIQUEIRA, 2005). Enquanto que as perdas por gases estão associadas ao perfil de fermentação ocorrido na silagem (IGARASI, 2002). A Figura 3 mostra a recuperação de matéria seca (RMS) das silagens de capim Elefante. Em relação aos valores encontrados, pode-se observar que não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos. Este fato indica que o aumento da dose aplicada na massa ensilada não reduziu a recuperação da MS.

Figura 3. Recuperação da matéria seca (RMS) das silagens de capim Elefante tratadas com diferentes concentrações de *L. plantarum* e *P. acidilacti*. (EP= 0,92; P=0,55).



Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

Segundo Jobim; Gonçalves (2003) faz-se necessário determinar a eficiência de aproveitamento da silagem, considerando a quantidade de forragem disponível no campo em relação à forragem consumida pelos animais, enfocando assim todas as perdas ocorridas durante o processo de ensilagem e utilização das silagens. De acordo com McDonald et al. (1991), aumento significativo nas perdas por gases ocorre quando há produção de álcool (etanol ou mantinol) por fermentação por bactérias heterofermentativas, enterobactérias, leveduras e bactérias no gênero *Clostridium*.

Neste trabalho foram observadas perdas muito pequenas em todas as silagens (Tabela 4), havendo diferença estatística apenas nos tratamentos com maior dosagem do aditivo. Rezende et al. (2008) e Balsalobre et al, (2001) afirmam em seus trabalhos que a baixa produção de gás pode ser explicada pelo baixo teor de CHO's existente na forragem, pois durante o período inicial de fermentação não serviram de substrato para microorganismos como as do gênero *Clostridium*.

Tabela 4: Perdas por gases (PG) e perdas por efluentes (PE) em função das doses crescentes de *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici* nas silagens de capim Elefante durante a fase de fermentação.

	Controle	LP/PC 4	LP/PC 5	LP/PC 55	LP/PC 6	EP	Valor de P
Efluentes (kg/t MV)	21,43 ab	20,1 b	23,43 ab	23,92 a	21,84 ab	0,774	0,0531
Gases (% MS)	0,08ab	0,08 ab	0,08 ab	0,100 a	0,06 b	0,007	0,0592

Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas linhas, não diferem ( $P>0,05$ ) pelo teste Tukey; EP:erro padrão.

Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

Houve diferença estatística entre as silagens LP/PC55 e LP/PC6 o que torna o resultado atípico. De acordo com Rezende et al. (2008) , plantas com baixo conteúdo de matéria seca, propiciam perdas durante a fermentação em decorrência de fermentação secundária, bem como a produção de efluentes.podendo exceder mais de 10% a perda de MS por efluente.

As perdas durante a fermentação podem estar ligadas às características inerentes à planta, pois as forrageiras de clima tropical apresentam baixa concentração de carboidratos solúveis e alta umidade no momento do corte, o que acarreta fermentações indesejáveis. A utilização de inoculantes que contêm bactérias homoláticas pode alterar este cenário, pois estas competem com os microorganismos existentes na microflora epifítica, aumentando a eficiência fermentativa. De fato, em países de clima tropical, respostas positivas têm sido alcançadas com o uso de bactérias ácido lácticas, quando as forragens são ensiladas com altas concentrações de CHOs, sugerindo que a limitação não é decorrente da população de bactérias, mas sim das reduzidas concentrações de CHOs. (SOLLENBERGER et al., 2004).

Segundo Siqueira (2005), a produção de gases durante o processo fermentativo em função da transformação das proteínas e carboidratos pelos

microrganismos que geram vários produtos como ácidos orgânicos, etanol, água, ATP e CO<sub>2</sub>. Oude Elferink et al. (2002), afirma que a produção de CO<sub>2</sub> na fermentação ocorre pelas bactérias heterofermentativas que possuem a enzima carboxilase necessária para retirar as moléculas de CO<sub>2</sub> do ácido pirúvico conforme citado por Butler; Bailey (1973).

A estabilidade aeróbia da silagem pode ser definida como a resistência da massa de forragem à degradação após a abertura do silo. Alguns autores definem como o tempo que a silagem leva para atingir uma temperatura superior a 2°C acima da temperatura ambiente (TAYLOR; KUNG Jr., 2002; KUNG JR. et al. 2003). A estabilidade aeróbia também poderia ser caracterizada pela temperatura acumulada durante dez dias após a abertura dos silos experimentais.

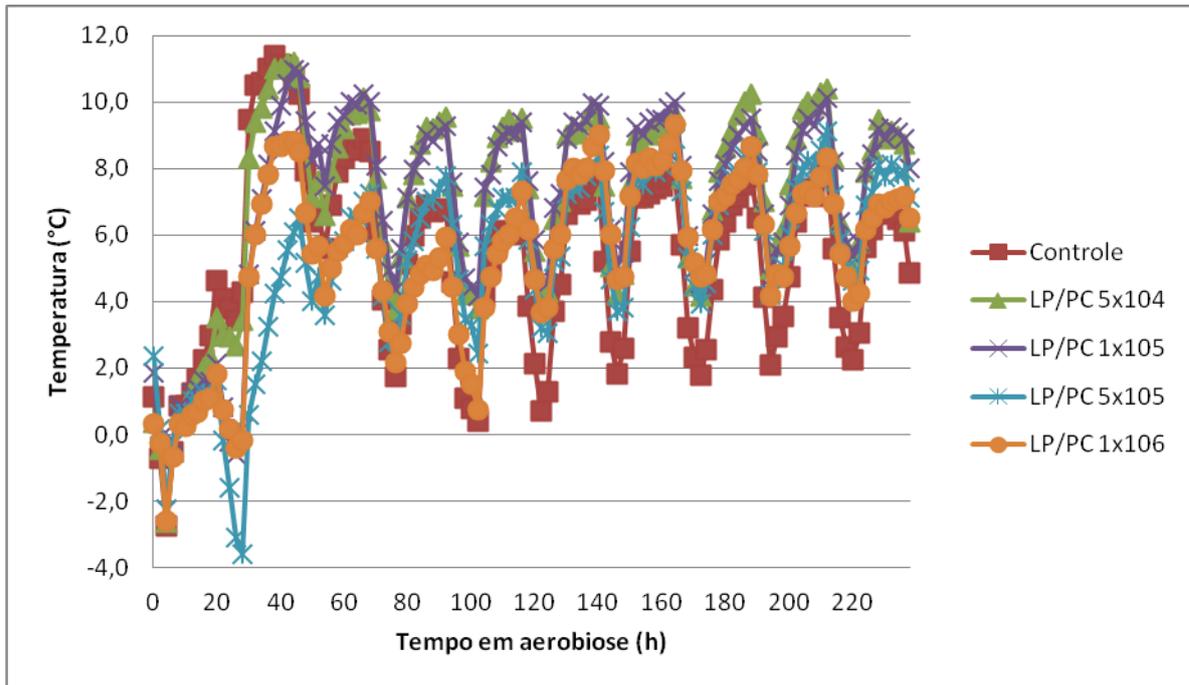
A estabilidade da silagem é determinada pela fermentação aeróbia (pós-fermentação) que ocorre após a abertura do silo (JOBIM; GONÇALVES, 2003). A pós-fermentação será mais intensa, quanto melhor for a qualidade da silagem, em função dos maiores teores de carboidratos solúveis (CHOs) residuais e de ácido láctico.

Os nutrientes preservados e/ou produzidos (Tabela 2) durante a fermentação pela presença de bactérias homoláticas (ácido láctico) podem ser consumidos quando o silo é aberto (MUCK, 2004), pois o lactato pode servir de substrato para os microrganismos deterioradores, o que determinaria a redução da estabilidade aeróbia dessas silagens (KUNG Jr et al., 2003). O acréscimo de outros ácidos, como o acético, o propiônico e o butírico, poderiam aumentar a estabilidade, pois são inibidores de microrganismos deterioradores (MOON, 1983), o que ocorre naturalmente em silagens de capins tropicais, em decorrência das fermentações inadequadas (ANDRADE; MELOTTI, 2003).

Na Figura 4 observa-se que os tratamentos LP/PC4 e LP/PC5 apresentam maiores picos de temperatura, além de alcançar mais rápido a quebra da estabilidade juntamente com o tratamento Controle. Na Figura 5 mostra o tempo necessário para as silagens romperem a barreira da estabilidade. Observa-se que o tratamento LP/PC6 foi mais estável que o Controle ( $P < 0,005$ ). Isso indica que o perfil pós-fermentativo das silagens inoculadas com concentração de  $5 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  (UFC/g forragem) proporcionam redução do crescimento de microorganismos indesejáveis com maior eficácia do que as silagens não tratadas e com menores

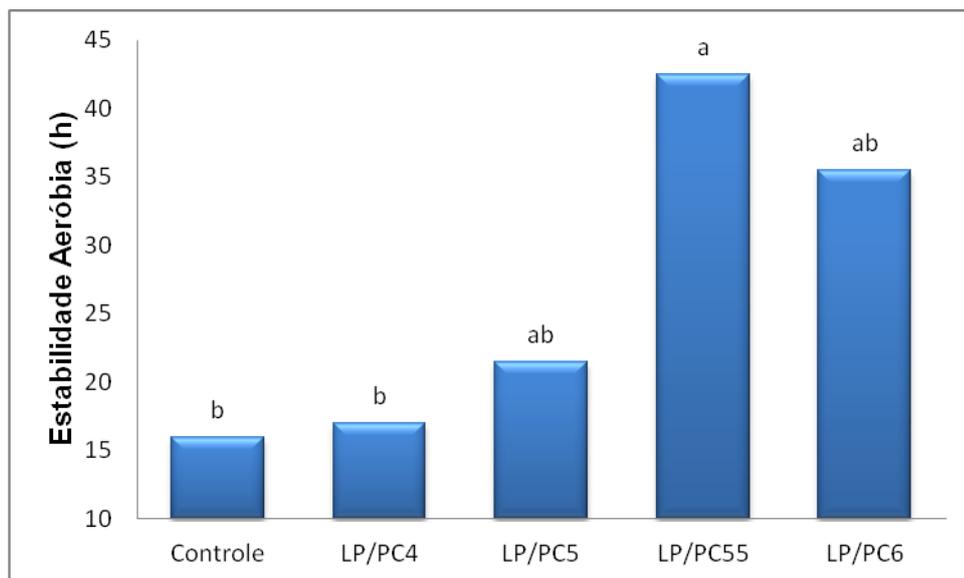
concentrações (Tabela 3), semelhante a Miyazaki (2008) trabalhando com silagens de milho tratadas com aditivo microbiano.

Figura 4. Temperatura alcançada acima da temperatura ambiente e quebra de estabilidade ( $2^{\circ}$  C) das silagens de capim Elefante submetidas aos diferentes tratamentos ao longo das horas de exposição aeróbia.



Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

Figura 5. Tempo alcançado para a quebra de estabilidade ( $2^{\circ}$  C) das silagens de capim Elefante submetidas aos diferentes tratamentos ao longo das horas de exposição aeróbia. (EP = 5,30; P= 0,0095)



Médias seguidas de mesmas letras não diferem ( $P>0,05$ ) pelo teste Tukey; EP:erro padrão  
 Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

Os maiores acúmulos de temperatura significam maior aquecimento da massa ensilada após a abertura, decorrente da maior intensidade de reações promovidas pelos microrganismos ao ambiente aeróbio, os quais se utilizam dos nutrientes disponíveis na silagem, provocando perdas no valor nutritivo (McDONALD et al., 1991; BALSALOBRE et al., 2001). Essa afirmação pode ser reforçada a partir da análise da Tabela 4 em que é possível observar maiores populações de fungos e de leveduras no 10º dia de aerobiose e no momento da abertura (Dia 0)

Aditivos estimulantes da fermentação durante a ensilagem são usados para aumentar a probabilidade de obtenção de fermentação satisfatória e silagem de alto valor nutritivo com mínimas perdas na ensilagem (SHARP et al., 1994). Por outro lado, na maioria dos estudos com inoculantes foi observado redução na estabilidade aeróbica das silagens inoculadas (SPOELSTRA, 1994). A presença de O<sub>2</sub>, pela entrada de ar durante o período de estocagem ou na abertura do silo, favorece o crescimento de microrganismos aeróbicos. Esses microrganismos utilizam vários substratos (os açúcares solúveis, os ácidos orgânicos e o etanol) derivados diretamente da forragem ou indiretamente da fermentação. O resultado dessa atividade é o aumento do pH do material conservado, perda de nutrientes, redução na digestibilidade e no conteúdo de energia, com isso, conseqüentes reduções no valor nutritivo da silagem. Assim, a silagem deteriorada pode conduzir a perdas econômicas elevadas e baixo desempenho animal (HONIG; WOOLFORD, 1980; JOBIM; GONÇALVES, 2003).

## 5. CONCLUSÕES

A aplicação do inoculante bacteriano *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici* não teve efeito sobre as características fermentativas, embora tenha reduzido a população de leveduras, o que acabou por influenciar positivamente na estabilidade das silagens.

## REFERÊNCIAS

- AKINTOKUN, A.; JOLAOSHO, A.O; AFOLABI, R.O. Effect of *L. plantarum* and carbohydrase on microbes and composition of *T. procumbens* silage. **Archivos de Zootecnia**, v. 56, p. 145-156, 2007.
- ALBERTO, A.; PORTELLA, J.S.; OLIVEIRA, O.L.P. Efeito da adição de grão de sorgo moído e do emurchecimento sobre a qualidade da silagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.22, n.1, p.01-11, 1993.
- ALMEIDA, E.X.; PINTO, J.C.; PÉREZ, R.O. Cama de frango e cana de açúcar na qualidade da silagem de *Pennisetum purpureum* Schum. cv. Camerron. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.15, n.3, p.193-199, 1986.
- ALMEIDA, J. C. C.; MUNHO, N. G. A.; PERALI, C.; Avaliação Bromatológica da Silagem de capim-Elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Napier Schum.) com adição de Diferentes doses de açúcar. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA - ZOOTEC 2006, Recife-PE, **Anais...** (CD-ROM), Recife - PE, 2006.
- ANDRADE, S.J.T.; MELOTTI, L. Inoculantes bacterianos na ensilagem do capim-Elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum). Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science v. 40, n.3, p.219-223. 2003 (supl).
- ANDRADE, J.B., et al. Prensagem da forragem e adição de rolão de milho na ensilagem do capim-elefante. 1 - Composição do material a ser ensilado. **Boletim Industrial Animal**, v. 55, n.1, p. 71-79. 1998.
- ÁVILA, C. L. S., et al; Estabilidade aeróbia de silagens de capim-mombaça tratadas com *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.779-787, 2009.
- BALSALOBRE, M.A.A.; NUSSIO, L.G.; MARTHA JR., G.B. Controle de perdas na produção de silagens de gramíneas tropicais. In: MATTOS, W.R.S. (Ed.). **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, p.890-911, 2001.
- BARNETT, A. J. G. **Silage fermentation**. London: Butterworths Sci. Publ. 1954.
- BERNARDES, T. F. *et al.* Características fermentativas e presença de levedura na cana-de-açúcar crua ou queimada ensilada com aditivo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2002] CD-ROM, 2002, p. 39.
- BERNARDES, T. F. **Controle da Deterioração Aeróbia de Silagens**. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia, UNESP, Jaboticabal, 2006.

BUTLER, G. W.; BAILEY, R. W. **Chemistry and Biochemistry of Herbage**. London: Academic, 1973. v. 3, p. 33-60.

CATCHAPOOLE, V.R.; HENZEL, E.F. Silage and silage-making from tropical herbage species. **Herbage Abstracts**, v.41, n.3, p.213-221, 1971.

COSTA, C. et al. Impacto do uso de aditivos e/ou inoculantes comerciais na qualidade de conservação e no valor alimentício de silagens. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 1., 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.87-126.

DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. ed. **Carbohydrate chemistry**. New York, Academic Press, 1962. p. 477-512

DRIEHUIS, F.; VAN WIKSELAAR, P.G.; VAN VUUREN, A.M. Effect of a bacterial inoculant on rate of fermentation and chemical composition of high dry matter grass silages. **Journal of Agricultural Science**, v.128, p.323-329, 1997.

FANTINI, C.M.; ISEPON, O.J. Uso de produtos com elevado teor de matéria seca na melhoria da qualidade de silagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32., 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: SBZ, p.16-17. 1995.

FARIA, V.P. Evolução no uso do capim-elefante: uma visão histórica. IN: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, FEALQ, 1994, p.19-45.

FARIA, E.F.S.; GONÇALVES, L.C.; ANDRADE, V.J. Comparação de seis tratamentos empregados para melhorar a qualidade da silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) em três idades de rebrota I– 60 dias. **Arquivo Escola de Medicina Veterinária da UFBA**, v.18, n.1, p.103-125, 1996.

FERREIRA, J.J. Estágio de maturação do milho e do sorgo o ideal para ensilagem. In: CRUZ, J.C. et al. (Eds.) **Produção e utilização de silagem de milho e sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p.405-428, 2001.

GUIM, A., et al. Estabilidade Aeróbica de Silagens de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) Emurchecido e Tratado com Inoculante Microbiano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2176-2185, 2002.

HARRISON, J. H.; BLAUWIEKEL, R.; STOKES, M. R.; Fermentations and utilization of grass silage. **Journal of Dairy Science**, v.77, n. 10, p. 3209-3235, 1994.

HENDERSON, A. R.; MCGINN, R.; KERR, W. D. The effect of a cellulase preparation applied with or without an inoculum of lactic acid bacteria on the chemical composition of lucerne ensiled in laboratory silos. In: SILAGE CONFERENCE, UK. INSTITUTE FOR GRASSLAND AND ANIMAL PRODUCTION. **Proceedings...** UK, Institute For Grassland And Animal Production, p.29-30, 1987.

HENDERSON, N. Silage additives. **Animal Feed Science Technology**, v. 45, p. 308-317, 1993.

HENRIQUE, W.; BOSE, M.L.V. Efeito de aditivos enzima -bacterianos sobre a qualidade da silagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.21, n.3, p.429-438, 1992.

HILL, H.A. Microbial ecology of lactobacilli silage. IN: FOOD FOR THOUGHT, 2D FORAGE In: SYMPOSIUM. Johnston. **Proceedings...** Pioneer Hi-Bred, Johnston, 1989.

HONIG, H.; WOOLFORD, M.K. Changes in silage exposure to air. In: FORAGE CONSERVATION IN THE 80's, 1979, Brighton. **Proceeding...** Oxford: British Grassland Society, 1980. p.76-87.

JOBIM, C.C., GONÇALVES, G.D. E DOS SANTOS, G.T. Qualidade sanitária de grãos e de forragens conservadas versus desempenho animal e qualidade de seus produtos. In: Jobim, C.C, U. Cecato, J.C. Damasceno e G.T. dos Santos (Eds.). Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas. **Anais...** UEM/CCA/DZO. Maringá, 2001, p. 242-261

JOBIM, C. C.; GONÇALVES, G. D. Microbiologia de forragens conservadas. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. et al. (Eds.) **Volumosos na produção de ruminantes**: valor alimentício de forragens. Jaboticabal: Funep, 2003. p.1-26.

KUNG, Jr., L. *et al.* Added ammonia or microbial inoculant for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.299-306, 1984.

KUNG, Jr., L. *et al.* The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1322-1330, 1998.

KUNG, Jr., STOKES, M. R.; LIN, C. J. Silages additives. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRINSON, J. H. (Eds). **Silage Science and Technology**. 1 ed. Madison: American Society of Agronomy, p. 305-360, 2003.

KUNG, Jr., L. Potential factors that may limit the effectiveness of silage additives. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison [s.n.], 2009, p.37-45.

LAVEZZO, W. Silagem de capim elefante. **Informativo Agropecuário**, v. 11, n. 132, p. 50-57, 1985.

LAVEZZO, W. Ensilagem do capim-Elefante. In: SIMPOSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 10, 1992, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba:FEALQ, 1992. p.169-275.

LIN, C. *et al.* Epiphytic microflora on alfalfa and whole plant corn. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2484-2493, 1992.

LINDGREN, S. et al. Silage inoculation. Selected strains, temperature wilting and practical application. Swedish **Journal of Agricultural Research**, v.15, p.9-18, 1985.

LOURES, D. R. S. et al. Características do Efluente e Composição Químico-Bromatológica da Silagem de Capim-Elefante sob Diferentes Níveis de Compactação. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.32, n.6, p.1851-1858, 2003.

LUIS, L.; ESPERANCE, M.; OJEDA, F. Fermentacion de ensilajes tropicales com la utillizacion de bacterias ácido lácticas aisladas en Cuba. **Pastos Forrajes**, v. 15, n. 1, p. 63-69, 1992.

MACHADO FILHO, L.C.P.; MÜHLBACH, P.R.F. Efeito do emurchecimento na qualidade das silagens de capimElefante cv. Cameroun (*Pennisetum purpureum*, Schum.) e de milheto (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke), avaliadas quimicamente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 224-233. , 1986.

MAGALHÃES, V. J. A. **Efeito da inoculação microbiana da silagempré-secada de alfafa sobre a fermentação no silo, digestibilidade e desempenho produtivo de vacas leiteiras.** Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal). – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Pirassununga, p. 106, 2002.

McDONALD, P. **The biochemistry of silage.** Chichester: John Wiley & Sons, p. 218, 1981.

McDONALD,P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage.** New York: Chalcombe Publications, p. 339, 1991.

MEESKE, R.; BASSON, H.M. The effect of a lactic acid bacterial inoculant on maize silage. **Animal Feed Science Technology**. v. 70, p. 239-274,1998.

MERRY, R.J.; BRAITHWAITE, G.D. The effect of enzymes and inoculants on the chemical and microbiological composition of grass legume silages. In: SILAGE CONFERENCE, 8., Hurley. **Proceedings...** Hurley: Institute for Grassland and Animal Production, 1987, p.27.

MIYAZAKI, M. K. **Uso de Aditivo e de Filme Plástico no Controle da Fermentação e da Deterioração Aeróbia de Silagem de Milho.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Unesp, Jaboticabal, p. 104, 2008.

MOON, N. J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeast by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, v.55, p.453-460, 1983.

MUCK, R.E., Initial bacterial numbers on Lucerne prior to ensiling. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.44, n.1 p.19-25, 1989.

MUCK, R.E.; SPOELTRA, S.F.; WIKESLAAR, P.G. Effects of carbon dioxide on fermentation and aerobic stability of maize silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.59, p.405-412, 1992.

MUCK, R.E. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. **Transactions of the ASAE**, v.47, p.1011-1016, 2004.

MUCK, R. Inoculant of silage and its effects on silage quality. In: INFORMATIONAL CONFERENCE WITH DAIRY AND FORAGE INDUSTRIES, 1996, Madison. **Proceedings...** Madison: USDFRC, 1996, p.43-51.

NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; NUSSIO, C.M.B. Ensilagem de capins tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002, p. 39.

NUSSIO, L. G.; SCHMIDT, P.; PEDROSO, A. F. Silagem de Cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM: PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTAGENS. 20., 2003, Piracicaba **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2003, p. 187-205.

OHMOMO, S.; TANAKA, O.; KITAMOTO, H.K.; CAI, Y. Silage and microbial performance, old history but new problem. **JARQ**. v.36, n.2, p. 59-71, 2002.

OHSHIMA, M.; McDONALD, P. A review of the changes in nitrogenous compounds of herbage ensilage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 29, n. 6, p.497-505, 1978.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H. *et al.* Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Applied and Environmental microbiology**, v.67, p.125-132, 2001.

PAHLOW, G *et al.* Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. 1.ed. Madison: American Society of Agronomy, p.31-94, 2003

PAZIANI, S. F. *et al.* Efeito Do Emurchecimento e Do Inoculante Bacteriano Sobre a Qualidade Da Silagem De Capim Tanzânia e o Desempenho De Novilhas. **Acta Science Animal**. Sci. Maringá, v. 28, n. 4, p. 393-400, Oct./Dec., 2006.

PENTEADO, D. C. S. *et al.* Inoculação com *Lactobacillus plantarum* da microbiota em silagem de capim-mombaça. **Archivos de Zootecnia**. 2007. España, v. 56, n.214, p. 191-202. 2007.

PEREIRA, O.G.; ROCHA, K.D.; SILVA, A.V. Inoculantes bacterianos e enzimáticos para silagem. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 1., 2002, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002, p.373-406.

PEREIRA, O. G.; SOUSA, L. O.; PENTEADO, C. S. Populações microbianas, pH e relação nitrogênio amoniacal/N total em silagens de capim-elefante com diferentes

idades de rebrotação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **Anais...** UFG, CD-ROOM. Goiânia, 2005.

PEREIRA, O. G.; SANTOS, E. M. Microbiologia e processo de fermentação de silagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM. **Anais...** Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2006, v.1, p.393-430

PEREIRA, O. G. et al. Populações microbianas em silagem de capim-mombaça de diferentes idades de rebrotação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. João Pessoa-PB, Brasil. **Anais...** João Pessoa: UFPB, CD-ROM. 2006, p. 43.

PEREIRA, O.G. et al. Conservação de forragens como opção para o manejo de pastagens. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. João Pessoa-PB, Brasil. **Anais...** João Pessoa: UFPB, CD-ROM. 2006, p. 43.

PEREIRA, O.G.; ROCHA, K.D.; FERREIRA, C.L.L.F. Composição química, caracterização e quantificação da população de microrganismos em capim-elefante cv. Cameroon (*Pennisetum purpureum*, Schum) e suas silagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.1742-1750, 2007.

PITT, R.E.; LEIBENSPERGER, R.Y. The effectiveness of silage inoculants: A Systems Approach. **Agricultural Systems**, v. 25, p. 27-49, 1987.

PITT, R.E.; MUCK, R.E.; PICKERING, N.B. A model of aerobic fungal growth in silage. 2. Aerobic stability. **Grass and Forage Science**, v.46, p.301-312, 1991.

RANJIT, N.K.; KUNG Jr., L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.3, p.526-535, 2000.

REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de capins tropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 1., 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001, p.34-74.

REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; AMARAL, R. Teores de compostos nitrogenados do capim Marandu (*Brachiaria brizantha*, c v. Marandu) ensilado com polpa cítrica peletizada. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, CR-ROM. Forragicultura. FORR-426, 2004, p. 40.

ROCHA, K. D. **Silagens de Capim - Elefante cv. Cameron, de Milho e Sorgo Produzidas com Inoculantes Ênzimo - Bacterianos: Populações Microbianas, Consumo e Digestibilidade.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, p. 93, 2003.

RODRIGUES, P. H. M. et al. Valor nutritivo da silagem de capim-elefante cultivar Napier (*Pennisetum purpureum*, Schum) inoculada com bactérias ácido-láticas. **Acta Scientiarum** Maringá, v. 23, n. 4, p. 809-813, 2001

- RODRIGUES, P. H. M. et al. Efeitos da Adição de Inoculantes Microbianos sobre a Composição Bromatológica e sobre a Fermentação da Silagem de Girassol Produzida em Silos Experimentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.6, p. 2169-2175, 2001.
- ROTZ, C. A., L. D. et al. Feeding strategy, nitrogen cycling, and profitability of dairy farms. **Journal of Dairy Science**. v. 82, n. 12, p. 2841-2855, 1999.
- RUIZ, R.L.; MUNARI, D.P. **Microbiologia da silagem** In: RUIZ, R.L. (Ed.) Microbiologia zootécnica. São Paulo: Ed. Roca. p.97-122, 1992.
- SANTOS, M.V.F. et al. Fatores que afetam o valor nutritivo das silagens de forrageiras tropicais. **Arquivo Brasileiro de Zootecnia**. v. 59, p. 25-43, 2010.
- SANTOS, E. M.; ZANINE, A. M.; OLIVEIRA, J. S. Produção de silagem de gramíneas tropicais. **Revista Electrónica de Veterinaria – REDVET**. 2006. V. III. p. 07. Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070706.html>. Acesso em Fev/2011.
- SHARP, R.; HOPPER P.G.; ARMSTRONG, D.G. The digestion of grass silages produced using inoculants of lactic acidbacteria. **Grass and Forage Science**, v.49, p.42-53, 1994.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: UFV, 235p. 2002.
- SILVEIRA, A.C., et al. Avaliação química de silagens de capim-Elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) submetidas a diferentes tratamentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.8, n.2, p. 287-300, 1979.
- SILVEIRA, A. C. Produção e utilização de silagens. IN: SEMANA DE ZOOTECNIA, 12, Pirassununga. **Anais...** Campinas: Fundação Cargil, 1988, p. 119-134.
- SIQUEIRA, G.R. **Cana-de-açúcar (Saccharum officinarum L.) ensilada com aditivos químicos e microbianos**. 2005. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária/, Jaboticabal, p. 92, 2005.
- SIQUEIRA, G.R. et al. Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.2000-2009, 2007.
- SOBRINHO, J.N. et al. Silagem de capim elefante, em três estádios de maturidade, submetido ao emurchecimento. III – Valor nutritivo das silagens. **Boletim da Industria Animal**. v.55, n.2, p.127-138, 1998.
- SOLLENBERGER, L.E. et al. Conserved forage. In: MOSER, L.E.; BURSON, B.L.; SOLLENBERGER, L.E. (Eds.) **Warm season grasses**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p.355-387, 2004.

SOUSA, L. O.; SANTOS, E. M.; PENTEADO, D. C. S. Composição Bromatológica de silagem de capim-mombaça inoculada com *Lactobacillus plantarum* da microbiota epífítica. In: VI CONGRESSO NACIONAL DE ZOOTECNIA- ZOOTEC. Recife. **Anais...** UFRPE. Recife, 2006. CD-ROOM.

SPECK, ML. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, D.C: APHA, p. 701, 1976.

SPOELSTRA, S.F. Influences of air on silage preservation and aerobic stability. IN: GENERAL MEETING OF THE EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION, 15., Wageningen. **Proceedings...** Wageningen: 1994, p.566-577.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **The SAS System for Windows**: version 8.02. Cary: SAS Institute, 2001. (CD-ROM).

TAYLOR, C. C.; KUNG Jr., L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. **Journal Dairy Science**, v. 85. p.1526-1532, 2002.

TABACCO, E *et al.* Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silage as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. **Journal of Applied Microbiology**, 107, 1632-1641, 2009.

VILELA, D. Utilização do capim-elefante na forma de forragem conservada. In: CAPIM-ELEFANTE: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO. Coronel Pacheco, MG, 1994. **Anais...** Coronel Pacheco: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite, 1994, p.117-164.

VILELA, D.; WILKINSON, J.M. Efeito do emurchecimento e da adição da uréia sobre a fermentação e digestibilidade “ in vitro” do capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) ensilado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.16, n.6, p.550-562, 1987.

VILELA, D. Utilização do capim-elefante na forma de forragem conservada. In: CAPIM-ELEFANTE: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO. Coronel Pacheco, MG, 1994. **Anais...** Coronel Pacheco: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite, 1990, p.117-164.

WARDYNSKI, F.A.; RUST, S.R.; YOKOYAMA, M.T. Effect of microbial inoculation of high-moisture corn on fermentation characteristics, aerobic stability, and cattle performance. **Journal Animal Science**. v.71, n.8, p. 2246-2252, 1993.

WILLIAMS, A.G.; LOWE J. F.; REES D.V. The effect of oxygen concentration on changes in microbial population, temperature and dry-matter content grass silage. **Grass and Forage Science**, v.49, p.183-191, 1994.

WILKINSON, J. M. Silages made from tropical and temperate crops. 1. The ensiling process and its influence on feed value. **World Animal Review**, Roma, v. 45, n. 45, p. 36-42, 1983.

WOOLFORD, M. K. Some aspects of the microbiology and biochemistry of silage making. **Herbage Abstracts**, v. 42, n. 2, 105-111, 1972.