

Universidade Federal do Pará Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Amazônia Oriental Universidade Federal Rural da Amazônia

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Jefferson Salvador Lima Padilha da Silva

Efeitos da Utilização de Inoculantes Microbianos em Silagem de Capim Elefante com ou sem o Uso de Melaço

JEFFERSON SALVADOR LIMA PADILHA DA SILVA

EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES MICROBIANOS EM SILAGEM DE CAPIM ELEFANTE COM OU SEM O USO DE MELAÇO

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Produção Animal. Orientador: Prof. Dr. Thiago Fernandes Bernardes

Co-orientador: Prof. Dr. Almir Vieira

Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) –
Biblioteca Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural / UFPA, Belém-PA
Silva, Jefferson Salvador Lima Padilha da
Efeitos da utilização de inoculantes microbianos em silagem de capim elefante com ou sem o uso de melaço / Jefferson Salvador Lima Padilha da Silva: orientadores, Thiago Fernandes Bernardes, Almir Vieira Silva, Belém, PA, 2012.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ciências Agrárias

e Desenvolvimento Rural, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2012.

1. Capim-elefante – Silagem. 2. Capim-elefante – Inoculação. 3. Microbiologia agrícola. I. Título

CDD - 22.ed. 631.46

JEFFERSON SALVADOR LIMA PADILHA DA SILVA

EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES MICROBIANOS EM SILAGEM DE CAPIM ELEFANTE COM OU SEM O USO DE MELAÇO

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Produção Animal.

Universidade Federal do Pará - UFPA

Data de aprovação. Belém	ı – PA:/
	Banca Examinadora
	Dr. Thiago Fernandes Bernardes (Orientador) Universidade Federal de Lavras - UFLA
	Dr. Gustavo Rezende Siqueira (Membro Titular) Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA
	Dr. Felipe Nogueira Domingues (Membro Titular)



AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Pará. Pela estrutura que me foi oferecida.

À Universidade Federal Rural da Amazônia, esta onde realizei praticamente todas as minhas análises laboratoriais e onde fiz meu estágio de docência.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo durante o mestrado.

Ao meu Orientador, **Dr. Thiago Fernandes Bernardes** que mesmo distante, soube como incentivar seus orientados à pesquisa e ao meu Co-orientador, **Dr. Almir Vieira Silva**, que me atendeu sempre que precisei.

Ao Prof. **Cristian Faturi**, que mesmo estando de férias, não economizou esforços para colaborar enormemente com o trabalho.

A **DEUS**, por me dar fé para conseguir este objetivo, o título de mestre, ele que foi meu refúgio quando parecia que tudo estava dando errado.

Aos meus PAIS, Saturnino Salvador Padilha da Silva e Zulene Maria Lima da Silva, por serem as pessoas que sempre me deram o apoio necessário para superar as dificuldades, exemplos de PAIS, os quais me servem de inspiração para formar a minha família

As minhas irmãs: Patrícia Lima Padilha da Silva, Giselle Lima Padilha da Silva e Priscila Lima Padilha da Silva, elas que me incentivam e nunca deixam de me apoiar a conquistar novas etapas na vida.

Aos meus tios (as), primos (as), avós, minha eterna madrinha e afilhado Carlos Eduardo Padilha Matos.

Aos amigos(as) que me ajudaram nesta pesquisa, seja no campo ou no apoio no laboratório: Bruno Menezes, Luciana Creão, Natália Sidrim, Ivan Santos, William Filho, Zuleide, Amaral Jr., Lívia Fonseca e Larissa Coelho.

Ao Prof. **Alexandre Casseb** e **Sandro Patroca**, que me deram todo o suporte necessário no Laboratório de microbiologia. A Prof. **Gisele Barata** pelo empréstimo de equipamentos. Ao **Arquimedes**, responsável pela Fazenda Escola de Igarapéaçú (FEIGA) que disponibilizou o capim-elefante para o enchimento dos silos.

Aos laboratoristas, **Ricardo** do departamento de zootecnia e **Júlio** do departamento de solos pela orientação nos laboratórios.

Ao meu amor, **Breenda Baker Tavares**, pessoa que ficou escutando reclamações do experimento, mas esteve comigo, confortando com seus carinhos.

"Não confunda derrotas com fracasso nem vitórias com sucesso. Na vida de um campeão sempre haverá algumas derrotas, assim como na vida de um perdedor sempre haverá vitórias. A diferença é que, enquanto os campeões crescem nas derrotas, os perdedores se acomodam nas vitórias."

RESUMO

Objetivou-se avaliar a eficiência da utilização de inoculantes microbianos Lactobacillus plantarum + Pediococcus acidilactici e o uso de melaço na ensilagem de capim elefante. Os tratamentos: T1=Tratamento controle, sem inoculante e sem melaço; T2 = Tratamento com inoculação de 1,0x10⁵ Lactobacillus plantarum + Pediococcus acidilactici + adição de 5% de melaço baseado na matéria verde do capim ensilado: T3 = Tratamento com inoculação de 1.0x10⁵ Lactobacillus plantarum + Pediococcus acidilactici, sem melaço; T4 = Tratamento com inoculação de 1,0x10⁶ Lactobacillus plantarum + Pediococcus acidilactici, com melaço e; T5 = Tratamento com inoculação de 1,0x10⁶ Lactobacillus plantarum + Pediococcus acidilactici, sem melaço. Os resultados obtidos, mostraram que os inoculantes promoveram nas silagens um aumento nos teores de MS, PB, pH e nitrogênio amoniacal (%NH3/NT) entre o dia da abertura dos silos (dia 0) e no décimo dia de exposição ao ar (dia 10). Para FDN os valores foram menores após os dez dias de exposição ao ar. Os tratamentos 1, 2 e 3, tiveram melhores resultados quanto a contagem de fungos e leveduras no dia da abertura das silagens. O uso de inoculantes proporcionou as menores concentrações em relação a NH3/NT, mas não apresentaram diferenças significativas com os tratamentos inoculados. As perdas por efluentes e a recuperação de matéria seca não tiveram diferenças significativas (p >0,05). A utilização do melaço influenciou de forma positiva na estabilidade aeróbia, obtendo estabilidade até 27,5 horas após abertura dos silos, encontradas nos tratamentos 2 e 4. A utilização de melaço na dose de 1,0x10⁵ de Lactobacillus plantarum + Pediococcus acidilactici com a adição de melaço foi o tratamento em que se obtiveram os melhores resultados para estabilidade, contagem de fungos e bactérias.

Palavra-chave: Inoculantes microbianos. Melaço. Estabilidade aeróbia.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	8
2.	REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1.	ORIGEM DO CAPIM-ELEFANTE (Pennisetum purpureum, Schum)	9
2.2	CARACTERÍSTICA DO CAPIM-ELEFANTE (Pennisetum purpureum,	
	Schum)	9
2.3.	ADITIVOS	10
2.3.1	Inoculantes microbianos	10
2.3.2	Melaço	13
3	MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1	LOCALIZAÇÃO E CLIMA	15
3.2	TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS	15
3.3	COLETA DE AMOSTRAS	15
3.4.	CONFECÇÃO DOS SILOS	16
3.5.	AVALIAÇÕES	16
3.5.1.	Quantificação de efluentes	16
3.5.2	Quantificação da taxa de recuperação de matéria seca – RMS	17
3.5.3	Contagem de fungos filamentosos e leveduras	17
3.5.4	Fibra em Detergente Neutro – FDN	17
3.5.5	Medição de pH e determinação de nitrogênio amoniacal	17
3.5.6	Estabilidade aeróbia	17
3.5.7	Carboidratos solúveis	18
4.	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	19
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
6.	CONCLUSÕES	30
REFE	RÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

Cerca de 80% do total de forragem produzida ocorre no período chuvoso, ficando os rebanhos sujeitos à escassez de alimentos no período seco FARIA et al. (1995/96). Em decorrência deste fato muitos fazendeiros, técnicos e pesquisadores buscam soluções para esse período de menor produção da pastagem. Uma das alternativas para esse período de escassez de chuvas é fazer o uso de silagens utilizando o acúmulo de forragem durante o período chuvoso.

O objetivo da ensilagem é preservar o alimento, mantendo sua qualidade e características próximas do material original (ROCHA JÚNIOR et al., 2000).

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), tradicionalmente utilizado para corte, tem se destacado como uma boa opção para ensilagem, principalmente pelas suas características de produção de matéria seca (ANDRADE; LAVEZZO, 1998). Bernardino et al. (2005), quando o capim-elefante alcança o momento ideal para o corte, aliando assim um bom valor nutritivo e boa produção, esta forrageira apresenta elevada umidade e baixo teor de carboidratos solúveis, propiciando silagens de baixa qualidade, com grande decomposição protéica, além de elevadas perdas por efluente. Por outro lado, com a maturação, a planta, ainda que aumente a produção de matéria seca (MS), resulta em um produto de pior valor nutritivo (FERRARI JR.; LAVEZZO 2001).

As culturas bacterianas apresentam efeito positivo em ensilagem de capim elefante, quando o capim-elefante apresenta mais de 20% de MS (LAVEZZO, 1994).

Segundo Muck (1996), o uso de inoculantes microbianos podem apresentar efeito negativo na conservação da silagem após a abertura do silo. Isso ocorrerá se os teores de carboidratos solúveis residuais forem elevados, criando-se condições favoráveis para atuação de microrganismos aeróbicos indesejáveis, como as leveduras por exemplo.

De acordo com Wilkinson (1998), fontes de carboidratos têm de ser adicionadas a essas culturas no momento da ensilagem, para incrementar o desenvolvimento das bactérias ácido-láticas e conseqüentemente, a obtenção de silagens de melhor qualidade nutricional.

O objetivo deste trabalho consiste em avaliar a eficiência da utilização de inoculantes microbianos *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus acidilactici* e o uso de melaço na ensilagem do capim-elefante.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ORIGEM DO CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum*, Schum).

Segundo Rodrigues et al. (2001), o capim-elefante é originário do continente Africano, mais especificamente da África Tropical, entre 10ºN e 20ºS de latitude, tendo sido descoberto em 1905 pelo coronel Napier. No Brasil, foram relatadas introduções no Rio Grande do Sul com estacas trazidas dos Estados Unidos, em 1920. Posteriormente ele se disseminou por todo o país. O capim-elefante pertence à família *Poaceae*, subfamília *Panicoideae*, tribo *Paniceae*, gênero *Pennisetum*, o qual possui mais de 140 espécies entre forrageiras cultivadas. *Pennisetum purpureum* Schum. tem sido dividido em três subespécies: *ssp. benthamii, ssp. purpureum e ssp. flexispica* (BOGDAN, 1977).

2.2 CARACTERÍSTICA DO CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum*, Schum)

A espécie pode ser caracterizada como ereta, cespitosa, de porte elevado (1,5m a 5,0m), apresentando folhas invaginantes, largas e compridas (30 cm a 120 cm), inflorescência do tipo panícula e abundante lançamento de perfilhos aéreos e basais (BOGDAN, 1977).

Para o capim elefante a composição química difere pouco entre variedades, tendo uma variação maior entre idade de corte, é comumente encontrado o intervalo entre 29 a 40 t/ha de massa verde por corte, este valor é encontrado quando a forrageira alcança 1,3 a 1,5m de altura (EVANGELISTA; ROCHA, 1997).

Braga et al. (2000), ao estudarem diferentes idades de corte (56, 70, 84, 98 e 112 dias) do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum, variedade Cameron) para ensilagem, concluíram que a idade de 70 dias é a que demonstrou ser a mais indicada para o corte para a confecção da silagem.

Evangelista e Lima (2002) recomendam o primeiro corte ou pastejo para o capim-elefante entre 60 e 90 dias após o plantio, aliando assim o rendimento à qualidade desta forrageira, chamando a atenção de que este primeiro corte não deve ser utilizado para ensilagem, pois segundo estes autores, é o momento em que o capim elefante tem elevado teor de umidade, o que irá comprometer o sucesso da silagem.

Existem vários fatores que influenciam a extensão da proteólise durante a ensilagem, dentre eles, o conteúdo de MS, pH e temperatura. Quando a queda do pH é lenta, ocorrerá a quebra mais acentuada da proteína (GUIM et al., 2004).

2.3 ADITIVOS

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; HOPPER; ARMSTRONG, 1994).

Os aditivos para silagem podem ser classficados em cinco categorias: a) estimulantes da fermentação (inoculação de culturas bacterianas ou fontes de carboidratos); b)inibidores da fermentação; inibidores da deterioração aeróbia; c)produtos que melhoram o valor nutritivo da silagem; d) absorventes (adicionados para aumentar o teor de MS das forragens ensiladas com o objetivo de reduzir perdas de nutrientes por efluentes (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Segundo Morais (1999), para gramíneas tropicais um aditivo ideal a ser utilizado na ensilagem deve ter alto teor de matéria seca, boa aceitabilidade pelo animal, elevado teor de carboidratos solúveis, fácil manipulação, boa disponibilidade no mercado e baixo custo de aquisição, pois além de ajudar na qualidade da silagem é necessário sua utilização seja economicamente viável.

Segundo Kung Jr. e Muck (1997) para fazer a escolha de um aditivo a ser usado no processo de ensilagem é necessário levar em consideração: recuperação de MS, estabilidade após abertura dos silos e relação custo e beneficio da aplicação, uma vez que, em poucos casos, o desempenho dos animais é influenciado pela aplicação de aditivos na ensilagem.

Os efeitos do uso de aditivos, seja sobre a fermentação, composição da silagem ou desempenho animal, estão condicionados ao tipo de inoculante e sua atividade biológica, à quantidade aplicada e ao tipo de forragem, em teor de matéria seca e composição química (HARRISON; BLAUWIEKEL; STOKES, 1994).

2.3.1 Inoculantes microbianos

Segundo McDonald; Henderson e Heron. (1991), o metabolismo das bactérias homoláticas é mais acelerado em relação às heteroláticas, prevalecendo a fermentação lática sobre os microrganismos heterofermentativos.

Os gêneros de microrganismos mais importantes no processo de fermentação lática são: *Lactobacillus sp., Pediococcus sp., Leuconostoc sp., e Streptococcus sp* (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Com o objetivo de aumentar a população de bactérias láticas nos silos, aumentando assim a produção de ácido lático, foram desenvolvidos inoculantes

microbianos para sererm adicionados na forragem durante o processo de ensilagem (CLEALE; WALLACE, 1990).

Elevar a produção de ácido lático, favorecendo assim um melhor processo de fermentação anaeróbia é a principal função dos inoculantes a base de bactérias homoláticas, elevando sua população no silo em detrimento as populações epífitas existentes na forragem ensilada (PAHLOW, 1991).

Lactobacillus plantarum é um microrganismo encontrado em silagens e em alguns produtos alimentícios, geralmente são homofermentativos e convertem mais de 80% dos açúcares fermentescíveis à lactato. A produção rápida de ácido láctico é uma característica marcante desse microrganismo (MCFALL; MONTEVILLE, 1989), característica esta essencial para o processo de ensilagem.

Ranjit e Kung Júnior (2000) obtiveram menores valores numéricos de leveduras, fungos, lactato, etanol e amônia em silagens tratadas com cepas de *Lactobacillus plantarum* do que em silagens que não tiveram inoculação, mas esses valores embora tenham sido menores não apresentaram diferenças significativas. Segundo esses autores, a diminuição no teor de oxigênio e o acúmulo de ácido lático decorrente das fermentações pelas bactérias ácido láticas resultam em queda do pH, inibem o crescimento de microrganismos e preservam por mais tempo os nutrientes presentes na silagem.

Visando a melhoria do processo fermentativo da silagem, trabalhos vem sendo desenvolvidos para a seleção de cepas bacterianas que sejam compatíveis com o material a ser ensilado, que promovam um melhor resultado na qualidade da forragem (SAARISALO et al., 2006; ÁVILA et al. 2009).

Bactérias produtoras de ácido lático têm sido estudadas como inoculantes em silagens. Ávila (2007) observou que cepas homofermentativas da espécie *Lactobacillus plantarum e Lactobacillus paracasei* e heterofermentativas da espécie *Lactobacillus brevis* cresciam com maior frequência durante todo o processo de fermentação da cana-de-açúcar. Adição de bactérias heteroláticas, principalmente da espécie *Lactobacillus buchneri*, a qual tem apresentado resultados promissores principalmente na inibição do crescimento de fungos e no aumento da estabilidade aeróbia (FILYA, 2003).

Jobim et al. (1999), ao trabalharem com silagens de grãos úmidos de milho e espigas de milho utilizaram a contagem total de leveduras, fungos filamentosos e enterobactérias com o objetivo de caracterizar o processo de deterioração aeróbia

das silagens, o mesmo critério foi adotado para caracterizar silagens de capimelefante emurchecidos (GUIM et al., 2002).

Ao adicionar inoculantes microbianos no material da ensilagem, a contagem inicial total de microrganismos é mais alta, com isso a produção de ácido lático é mais intensa, reduzindo de forma rápida o pH. Por apresentarem a capacidade de reduzir o pH com a produção de ácido lático, as bactérias homofermentativas quando disponibilizado mais açúcares, produziriam mais ácido lático com o consumo deste açúcares. (PITT, 1990).

Segundo Kung Jr et al. (1984), com a adição de inoculantes microbianos ocorre uma rápida redução de pH e diminuição na concentração de Nitrogênio amoniacal.

McDonald, Henderson e Heron. (1991) concluíram que, de modo geral, a inoculação com bactérias produtoras de ácido lático na forragem ensilada, acelera a queda do pH e reduz o pH final, aumentando a concentração de ácido lático, e reduzindo a produção de efluentes e perdas de matéria seca (MS) no silo.

Segundo Kung Jr. (2009), os aditivos microbianos devem inibir o logo após a abertura do silo o crescimento de microrganismos aeróbios, como os fungos filamentosos e as leveduras, estes que causam a instabilidade da silagem.

Segundo Zopollatto; Daniel e Nussio (2009) é necessária uma dose de 1,0x10⁸ bactérias ácido láticas por grama de forragem fresca para que o valor de pH reduza rapidamente.

O uso de aditivos microbianos consiste em importante recurso, pois contribui para a redução da proteólise enzimática, resultante do rápido decréscimo do pH da massa ensilada, favorecendo a produção de grandes quantidades de ácido lático, o que representa a possibilidade de maior recuperação da matéria seca ensilada (HENDERSON, 1993).

Os inoculantes microbianos são mais efetivos na silagem de milho, pois promovem reduções nos componentes fibrosos (FDN, FDA, celulose e hemicelulose) da silagem, resultando em maior digestibilidade *in vitro* da matéria seca e, portanto, maior valor nutritivo potencial (SILVA et al. 2005).

A deterioração aeróbia que ocorrem nas silagens se dá em função da penetração de oxigênio na forragem durante o processo de ensilagem, seja no armazenamento ou no fornecimento aos animais. As leveduras que oxidam o lactato

geralmente são responsáveis pelo início do processo de deterioração (DRIEHUIS e ELFERINK, 2000).

A utilização de inoculantes contendo bactérias homoláticas pode alterar as acentuadas perdas em silagens de capins tropicais, pois essas bactérias competem com os microrganismos existentes na microflora epifítica, aumentando a eficiência fermentativa, em decorrência da maior produção de ácido lático (KUNG JR; STOKES; LIN, 2003).

De acordo com Bolsen (1995) a adição de Bactérias Ácido Láticas reduz mais rapidamente o pH das silagens que possuem baixos teores de carboidratos solúveis, inibindo o crescimento de microrganismos que podem causar problemas aos animais e ao homem, como enterobactérias e bactérias dos gêneros *Listeria* e *Clostridium*, melhorando a qualidade fermentativa e sanitária durante os processos aeróbio e anaeróbio.

A ocorrência de fungos em silagens está associada, principalmente a falhas na compactação, propiciando a entrada de ar no silo, sendo tal fato mais relevante em silagens com alto conteúdo de matéria seca e com tamanho de partículas grandes (PEREIRA; REIS, 2001).

Com a entrada de oxigênio no silo, ocorre a proliferação de microrganismos aeróbios facultativos, aumentando a temperatura e perdas de nutrientes das silagens, em uma silagem bem preservada a deterioração aeróbia causada por esses microrganismos é dificultada (NISHINO, et al. 2003).

Luis et al. (1992) chegaram a identificar reduções nos teores de nitrogênio amoniacal, ácidos acético e butírico com o uso de *Pediococcus acidilactici* na ensilagem do capim-elefante. Entretanto, Luis et al. (1986) observaram efeitos significativos do inoculante (*Streptococcus faecium*) quando este foi associado ao melaço como fonte de carboidratos.

2.3.2. Melaço

Sabe-se que o teor de carboidratos solúveis das plantas forrageiras durante a ensilagem é fundamental para que o processo fermentativo se desenvolva de maneira eficiente (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Os carboidratos solúveis são os substratos prontamente disponíveis para o desenvolvimento das bactérias desejáveis, sobretudo as láticas, viabilizando a adequada produção de ácido lático e a rápida redução do potencial hidrogeniônico (pH), condição

necessária para a inibição da atividade proteolítica das enzimas vegetais e do desenvolvimento das bactérias indesejáveis (MUCK, 1988).

O melaço de cana-de-açúcar, é um subproduto da indústria de açúcar, possui na sua composição uma grande quantidade de açúcares fermentescíveis, baixo custo, com grande potencial e muitas aplicações a nível industrial (LIMA, 1987).

O melaço de cana-de-açúcar é um substrato rico em açúcares fermentecíveis e minerais, sendo considerado um bom substrato para o cultivo de bactérias ácido lácticas (DELGADO, 1975).

Moura et al.(2001), adicionaram melaço (3%) em silagens de capim-elefante e obtiveram redução na produção de CO₂ caracterizando uma menor velocidade de deterioração da silagem.

Em experimento com silagem de capim-elefante cv. Mott sob diferentes tratamentos, Tosi et al. (1995), constataram que a adição de 4% da matéria original na forma de melaço é de grande relevância para a ensilagem deste capim-elefante, pois eleva o teor de carboidratos solúveis, inibindo a proteólise, resultando em uma silagem com baixo pH e baixos teores de nitrogênio-amoniacal.

A inclusão de 5% de melaço permitiu inibir a produção de amônia em silagens de capim-elefante com 0,6% de uréia, mas em níveis menores do que este não (YUNUS; OHBA; SHIMOJO, 2000), porém a utilização de melaço em níveis menores que este 5% não ocorreu essa inibição de produção de amônia (SAMANTA; SINGH, VERNA, 2001).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. LOCALIZAÇÃO E CLIMA

O experimento foi realizado em dois locais, dividindo-se em duas fases:

a) 1ª Fase: Local onde foi realizado a ensilagem

O primeira fase do experimento foi realizado na Fazenda Escola de Igarapéaçu, pertencente à Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), localizada em Igarapé-açu, Nordeste do estado do Pará, em local com coordenadas 010 07´59" S e 470 36´55" W. O solo é do tipo Podzólico vermelho amarelo.

b) 2ª Fase: Local onde foi armazenado os silos até o momento de abertura.

A segunda fase foi realizada na Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, campus Belém, departamento de Zootecnia.

3.2 TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

- 1. Tratamento1: Controle: Silagem sem aditivos e sem melaço.
- 2. –Tratamento2: Inoculante dose 1 (*Lactobacillus plantarum + Pediococcus acidilactici*, dose de 1,0 x 10⁵ UFC/g de forragem e adição de 5% de melaço.
- 3. Tratamento 3: Inoculante dose 1 (Lactobacillus plantarum + Pediococcus acidilactici) dose de 1,0 x 10⁵ UFC/g de forragem, sem melaço.
- 4. Tratamento 4: Inoculante dose 2 (*Lactobacillus plantarum + Pediococcus acidilactici*) dose de 1,0 x 10⁶ UFC/g de forragem e adição de 5% de melaço.
- 5. Tratamento 5: Inoculante dose 2 (*Lactobacillus plantarum + Pediococcus acidilactici*) dose de 1,0 x 10⁶ UFC/g de forragem, sem melaço.

3.3. COLETA DE AMOSTRAS

A planta forrageira utilizada na ensilagem foi o capim-elefante *Pennisetum* purpureum cultivar Roxo, com 65 dias de idade de rebrota.

As amostras para as análises do capim-elefante que foi utilizado para a ensilagem, foram coletadas após a homogeneização do capim-elefante (picado em máquina picadora estacionária) com os inoculantes e melaço quando presentes nos tratamentos.

Amostras para determinação bromatológica da silagem no dia da abertura dos silos e dez dias de exposição ao ar foram coletadas, pesadas e posteriormente levadas para estufa de ventilação forçada a 55ºC durante 72 horas, até peso constante. Este material foi moído em moinho de facas tipo Willey, com peneira de 1 mm. O material moído foi analisado quanto ao teor de matéria seca, teor de proteína

bruta, teor de fibra em detergente neutro e teor de fibra em detergente ácido (VAN SOEST, 1967).

As amostras para medição de pH e nitrogênio amoniacal para os dias 0 e 10, foram congeladas até posterior análises. Enquanto que as amostras para as análises de microbiologia ficaram em geladeiras a 5ºC até o momento das análises. 3.4. CONFECÇÃO DOS SILOS

Para a confecção dos silos experimentais, foram utilizados baldes plástico com capacidade para 20L, equipados com material que fosse capaz de absorver os efluentes da silagem (2Kg de areia fina previamente seca em estufa a 65 ℃ com ventilação forçada por 72h) no fundo do balde, foi utilizada uma tela de sombrite para separar a silagem da areia. A silagem foi compactada com pisoteio (pés em sacos plásticos), onde o limite de enchimento era quando o balde com o capim que foi ensilado apresentasse pesos próximos a 16,4 Kg, mantendo assim, um padrão de compactação entre os silos. O conjunto (Balde+Tampa+areia+sombrite+plástico) foi pesado antes do enchimento dos silos. Os silos foram fechados com suas tampas enrroscada e vedados com fitas adesivas. O enchimento dos silos foi em Igarapé-açú na Fazenda Escola de Igarapé-açú-FEIGA (Pertencentes a Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA) e o armazenamento foi na UFRA, campus Belém. Os silos foram abertos após 79 dias de fermentação da silagem.

3.5. AVALIAÇÕES

3.5.1 Quantificação de efluentes.

O uso de areia seca tem mostrado eficiência como coletor de efluente, absorvendo o efluente. A produção de efluente (kg/t MV) foi calculada pela diferença de peso do conjunto silo + areia + sombrite + plástico (após retirar a forragem do silo) e antes da ensilagem, em relação a quantidade de forragem fresca ensilada. A mensuração das perdas por efluente foi realizada de acordo com a equação descrita por Jobim et al. (2007).

$$E = (Pab - Pen) \times 1000$$
(MVfe)

Onde:

E = Produção de efluente (kg/t de massa verde);

Pab = Peso do conjunto (silo+areia úmida + sombrite + plástico) na abertura (kg);

Pen = Peso do conjunto (silo + areia + sombrite + plástico) na ensilagem (kg);

MVfe = Massa verde de forragem ensilada(kg).

3.5.2 Quantificação da taxa de recuperação de matéria seca – RMS.

A taxa de recuperação de MS foi calculada segundo a equação sugerida por Loures et al. (2004):

$$RMS = \{ [(Ms \times MSs)] / (Mf \times MSf) \} \times 100$$

Sendo:

RMS = taxa de recuperação da MS (%);

Ms = massa da silagem (kg matéria natural);

MSs = matéria seca da silagem (%);

Mf = massa da forragem (kg matéria natural);

MSf = matéria seca da forragem (%).

3.5.3 Contagem de fungos filamentosos e leveduras.

Amostras de 25 g de silagem foram retiradas da geladeira a 5°C, e firam adicionadas a 225 ml de solução salina estéril (8,5 g de NaCl/litro de água destilada). Após agitação por 30 min. em um Agitador de Kline, foram retirados 10 ml do extrato para as diluições posteriores. A partir dos extratos diluídos (10⁻² a 10⁻⁷) foram realizadas as semeaduras em triplicatas no meio de cultura "Meio Agar YGC (fr.c/500g) – fluka".

Após as inoculações e passadas 72h de incubação foram feitas as contagens de fungos filamentosos e leveduras em um Contador de colônias CP 600 Plus.

3.5.4 Fibra em detergente Neutro – FDN

O material moído foi analisado quanto ao teor de fibra em detergente neutro segundo Van Soest (1967).

3.5.5 Medição de pH e determinação do nitrogênio amoniacal

As amostras que foram destinadas para as análises de pH e nitrogênio amoniacal foram descongelas, homogeneizadas em aparelho homogeneizador por 2 minutos e analisadas segundo Fenner (1965), adaptada por Vieira (1980).

3.5.6 Estabilidade aeróbia

Após abertura dos silos, foram colocados data loggers (fazendo leitura de temperatura a cada 2h) para medir a temperatura no centro da massa ensilada do silo para sabermos quando que a temperatura no interior do silo ultrapassaria 2 ℃ a temperatura ambiente (KUNG JR. et al., 2000). Cinco data loggers em diferentes alturas foram colocados no mesmo local onde estavam os silos para obter a temperatura ambiente.

3.5.7 – Carboidratos solúveis

Os carboidratos solúveis tiveram suas análises realizadas na Universidade Federal de Lavras – UFLA. Análise realizada pelo método da Antrona que consiste em reações de condensação que utilizam reagentes ácidos para desenvolvimento de cor (DISCHE, 1962).

4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental utilizado no experimento foi inteiramente casualizado, com 5 (cinco) tratamentos, cada um com 4 (quatro) repetições, totalizando 20 repetições (silos) . Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias das variáveis dependentes comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizou-se o procedimento PROC ANOVA do programa SAS (1999).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O capim-elefante utilizado na ensilagem apresentou as características apresentadas na TABELA 1. Foram encontrados valores variando de 19,03 a 22,42% de matéria seca (MS). Isso pode ser explicado através da introdução de 5% de melaço baseado na matéria verde do capim-elefante, pois os maiores teores de matéria seca foram nos tratamentos com a adição de melaço. Já a Fibra em detergente neutro (FDN) tiveram os maiores valores nos tratamentos sem a adição de melaço.

Com a adição de melaço, foram melhoradas as características bromatológicas do capim para ensilagem desejadas para a ensilagem, pois nos tratamentos com melaço aumentou a MS e reduziu a FDN.

Com a adição do melaço, ou seja, uma fonte de carboidratos solúveis, elevouse a concentração de carboidratos nos tratamentos 2 e 4 (TABELA 1).

A Proteína bruta (PB) apresentou maiores valores nos tratamentos sem melaço. Nos tratamentos com melaço os valores ficaram mais próximos nos valores encontrados no tratamento controle. Isso pode ser explicado pela introdução do melaço que diminui a presença de capim nos silos, diminuindo também a PB existente nele (TABELA 1).

Tabela 1: Características da composição do capim-elefante no momento da ensilagem.

Bromatologia	Trat. Controle	Trat. Dose 1 C/M	Trat. Dose 1 S/M	Trat. Dose 2 C/M	Trat. Dose 2 S/M	Erro padrão
MS (%)	19,63 C	22,42 A	19,03 E	20,92 B	19,33 D	0,1
FDN (%)	76,33 A	62,94 C	73,24 AB	57,09 D	70,69 B	0,74
PB (%)	7,76 CD	8,50 BC	10,06 A	7,27 D	9,45 AB	0,24
CHO (%)	4,45 C	8,81 A	3,80 D	8,68 B	3,48 E	0,01

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem (P>0,01) estatisticamente pelo teste Tukey.

Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

Faria et al. (2007), encontrou valores de 12,72, 66,67 e 11,19 para MS, FDN e PB para Capim elefante cultivar Cameron, na composição química-bromatológica do capim com 70 dias de idade e 1,8m de altura, essa diferença pode ser explicada pela diferença de cultivar entre os trabalhos.

Andrade e Melotti (2004) trabalhando com o capim-elefante cultivar Napier encontrou valores de 15,29%, 68,70%, 7,43% e 9,87% de MS, FDN, PB e CHOs. Capim cortado aos 80 dias com altura de 1,8m. Os mesmos autores em outro experimento com o capim-elefante encontraram valores de 15,22%, 69,0%, 10,32% e 8,2% para MS, FDN, PB e CHOs (ANDRADE; MELOTTI, 2003).

GUIM et al. (2002) utilizaram capim-elefante com 96 dias de idade, altura de 1,7m para avaliar os efeitos de inoculantes na silagem de capim elefante emurchecida. O material original (matéria fresca sem o processo de emurchecimento) utilizado para a ensilagem teve 26,24% MS, 5,3% de CHOs e 4,6% PB, apresentando valores superiores de MS e CHOs e valores menores de PB com os encontrados neste estudo.

Tosi et al. (1995), após 72 dias de rebrota do capim-elefante cv Mott, antes do material ser ensilado encontraram valores de 14,1% MS e 7,1% de CHOs para o tratamento controle e 16,4% MS e 12,8% de CHOs para a mesma forrageira quando foi adicionado 4% de melaço no mesmo experimento. A diferença de MS se deu pela diferença entre cultivares estudados e o aumento de CHOs foram semelhantes, próximo de 5 unidade percentuais para mais com a adição de melaço nos trabalhos (4 e 5%).

Rodrigues et al. (2002) analisaram composição bromatológica e o perfil fermentativo de capim-elefante, utilizando capim-elefante cultivar Napier colhido aos 155 dias de crescimento com MS, PB, FDN e CHOs iguais a 32,95%, 4,19%, 80,89% e 5,20%, respectivamente. Pois segundo Rodrigues et al. (2003) trabalhando com a adição de inoculantes em capim-elefante com 97 dias de crescimento, com altura aproximada de 1,8 a 2m, encontrou valores de 17,82, 9,21%, 71,22% e 2,3% de MS, PB, FDN e CHOs para a composição da forrageira antes da ensilagem, valores estes mais próximos dos encontrados neste trabalho.

Valores de 15,9 e 62,4 para MS e FDN foram encontrados para capimelefante aos 40 dias, correspondendo a altura entre 1,2 a 1,5m (ANDRADE et al. 2010).

Para o Capim-elefante que foi ensilado, os teores de MS no dia da abertura dos silos (dia 0) são valores próximos aos encontrados no capim-elefante antes da ensilagem. Mas ao colocar a silagem em contato com o ar, houve um aumento no teor de MS, ocorrendo interação entre os tratamentos com o tempo que a silagem ficou exposta ao ar. Apenas o tratamento 2 não teve uma diferença significativa de

aumento do teor de MS quando exposta ao ar (dia 10). Isso pode ter se dado pela menor concentração de bactérias quando comparadas ao tratamento 4, com isso o consumo de melaço foi menor que no tratamento 4, tornando moderado o acréscimo do teor de MS.

Para Fibra em detergente neutro (FDN) após dez dias de exposição ao ar (dia 10), não foram encontradas diferenças significativas nos tratamentos 1 e 3 (TABELA 2) aos valores encontrados no dia da abertura dos silos (dia 0). No tratamento controle se deu por não ter sido inoculado com as bactérias, assim, menos carboidratos solúveis do FDN foram perdidos. E no tratamento 3, embora esse tratamento tenha recebido inoculação de BAL, essa quantidade inoculada não resultou em elevado consumo dos carboidratos solúveis da FDN da silagem.

Para PB apenas o tratamento 5 não diferiu significativamente do tratamento controle no dia da abertura dos silos, todos os demais tratamentos foram não foram diferentes entre si (TABELA 2).

Os carboidratos solúveis (CHOs) apresentaram maior concentração no tratamento controle (TABELA 2), mesmo com a introdução de 5% de melaço nos tratamentos 2 e 4. Isso pode ser explicado pela ausência da inoculação das BAL no tratamento controle, deste modo não existia uma quantidade de microorganismos capaz de consumir os carboidratos solúveis das silagens suficientes para baixar essa concentração de CHOs. Os valores encontrados mostram que as BAL utilizaram os carboidratos solúveis que foram adicionados na silagem, isso é visto como um ponto positivo, pois com o consumo dos carboidratos adicionados, ocorre uma maior produção de ácido lático, inibindo a proliferação de microorganismos indesejáveis no processo de ensilagem, ocorrendo também uma redução no consumo dos CHOs do capim ensilado.

O pH das amostras coletadas no dia da abertura dos silos encontravam-se ácidos em todos os tratamentos. O valor mais baixo foi encontrado no tratamento controle, pH de 3,79. Resultado do pH mais baixo também após os dez dias que foram colocados com a presença de O₂ foram encontrados para o tratamento controle(TABELA 2).

As BAL foram adicionadas para aumentar a produção de ácido lático, com isso o pH aumentaria, tornando-o alcalino, fornecendo condições de pH que inibem as ações das bactérias do gênero *Clostridium* na degradação da forragem. Após abertura dos silos ocorreu um aumento significativo no pH de todos os tratamentos

submetidos à inoculação. Maior pH foi encontrado no tratamento 3. Para o dia dez de exposição ao ar, o pH nos tratamentos com melaço tiveram resultados semelhantes.

Tabela 2: Características da composição bromatológica na silagem de capim elefante no dia da abertura dos silos e após dez dias de exposição ao ar.

Análises	Controle	Trat. Dose 1 C/M	Trat. Dose 1 S/M	Trat. Dose 2 C/M	Trat. Dose 2 S/M	Erro Padrão
DIA 0						
MS (%) FDN (%) PB (%) CHOs (%) pH NH3/NT (%)	19,88 Bb 75,82 Aa 8,49 Aa 0,79 A 3,79 Da 12,97 Aa	22,53 Aa 55,72 Cb 6,76 Ba 0,53 C 4,13 Cda 8,08 Ba	19,81 Bb 69,18 Ba 6,61 Bb 0,66 B 5,24 Aa 8,19 Ba	21,44 ABb 51,77 Cb 6,83 Bb 0,58 B 4,59 Ba 8,10 Ba	21,54 ABb 65,87 Bb 7,32 Aba 0,54 BC 4,4 BCa 8,44 Ba	0,46 1,16 0,25 0,01 0,08 0,12
DIA 10						
MS (%) FDN (%) PB (%) pH	24,18 Aa 72,24 Ba 9,33 Aa 6,45 Db	23,62 Aa 67,01 Ba 6,37 Ba 9,3 Bb	23,99 Aa 71,71 Ba 9,48 Aa 9,89 Ab	23,92 Aa 68,66 Ba 8,35 Aa 9,31 Bb	23,87 Aa 78,69 Aa 8,50 Aa 7,31 Cb	0,46 1,16 0,25 0,01

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem (P>0,01) estatisticamente pelo teste Tukey.

Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

Segundo McDonald; Henderson e Heron. (1991), uma silagem é considerada de qualidade satisfatória quando seu pH for inferior a 4,2. Se levarmos em consideração apenas o pH das silagens, apenas a silagem do tratamento 1 (controle) e o tratamento 2 estão dentro abaixo do valor considerado ideal para a silagem de boa qualidade. Os tratamentos 3, 4 e 5, apresentam valores elevados para pH para serem consideradas silagens de boa qualidade.

Andrade e Melotti (2004), testando diversos tratamentos em silagens de capim-elefante, dentre os tratamentos o melaço (1, 2 e 3%), verificaram que a medida que aumentava-se a porcentagem de melaço, o pH reduzia (4,04, 3,92 3 3,89, respectivamente).

Rodrigues, et al. (2002), comparando silagens de capim-elefante cv Napier em diferentes tipos de silos em duas densidades diferentes, em silos tipo balde a

média encontrada para o pH foi de 3,8, próximo ao encontrado no tratamento controle e abaixo dos valores encontrados nos demais tratamentos.

Os valores de NH3/NT (%) da silagem no momento da abertura dos silos, o tratamento controle apresentou um valor elevado quando comparado com os demais tratamentos (TABELA 2), com 12,97% de NH3/NT. Com exceção do tratamento controle, todos os tratamentos não tiveram diferenças estatísticas significativas, obtendo valores de 8,08, 8,19, 8,10 e 8,44% de NH3/NT para os tratamentos 2, 3, 4 e 5, respectivamente.

Considerando os valores de NH₃/NT menores que 10% de muito boa qualidade, de 10 a 15% aceitável e insatisfatória quando atinge valores acima de 20% (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991; WOOLFORD, 1984), tomando como base esses teores, a silagem no dia da abertura dos silos (dia 0) são consideradas de muito boa qualidade, exceto o tratamento controle, que mesmo acima dos valores dos demais tratamentos, ainda se encontra em uma faixa de NH₃/NT aceitável.

Resultados de 10,52, 10,27 e 9,43% de NH3/NT foram encontrados por Andrade e Melotti (2004) para silagem de capim elefante nos tratamentos com adição de 1, 2 e 3% de melaço. Valores elevados para os encontrados neste experimento com o uso do melaço. Esta diferença pode ter ocorrido por ter sido feito a inoculação de bactérias que produzem através da fermentação ácido lático, reduzindo o pH e inibindo o desenvolvimento e proliferação de microrganismos que transformam a proteína em NH3/NT. Rodrigues et al. (2002), encontraram valores médios de 7,3% para NH3/NT em silagem de capim elefante utilizando baldes plásticos. Em estudo de silagens utilizando capim-elefante com diferentes inoculantes microbianos, Andrade e Melotti (2003) encontraram uma variação de 11,72 a 12,07% de NH3/NT, esses valores não diferiram estatisticamente entre si.

O aumento do pH, elevou também os teores de NH3/NT, indicando a presença de microrganismos indesejáveis como bactérias do gênero *Clostridium*, uma vez que a população de fungos e leveduras, praticamente se manteve semelhante, com exceção do tratamento 3 entre os períodos de análise.

As contagens de fungos filamentosos não apresentaram diferenças entre os tratamentos estudados no dia da abertura dos silos, assim como em 10 dias sob exposição ao ar (Tabela 3). Mas quando foram comparadas as contagens entre o dia "0" e após dez dias de exposição, "dia 10", a contagem de fungos foi muito

superior no dia 10, devido o contato com o ar, os fungos que necessitam do oxigênio para desenvolver suas atividades metabólicas, bem como para sua proliferação. Isso confirma que os silos estavam muito bem fechados, não permitindo a entrada de ar até o momento da abertura.

Para contagem de leveduras no dia da abertura dos silos, foram encontradas diferenças entre os tratamentos, apresentando contagem mais alta para os tratamentos com inoculação de 1x10⁶ de *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus acidilactici* e para o tratamento com dose de 1x10⁵ de *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus acidilactici* sem a adição de melaço. Quando comparadas com as contagens após dez dias de exposição ao ar a contagem de leveduras foram maiores nos tratamentos 1, 2 e 3 no dia 10 e nos tratamento 4 e 5, foram semelhantes a contagem encontrada no dia 0. Os tratamentos 1 e 2 se mantiveram com contagens mais baixas. Para o tratamento 2 a contagem de leveduras foi menor quando comparadas aos demais tratamentos com inoculação de *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus acidilactici* (TABELA 3).

Tabela 3: Contagem de fungos filamentosos e leveduras nas silagens na abertura dos silos e após dez dias de exposição ao ar.

Dias de Exposição ao ar	Trat. Controle	Trat. Dose 1 C/M	Trat. Dose 1 S/M	Trat. Dose 2 C/M	Trat. Dose 2 S/M	Erro padrão
DIA 0						
Fungos	1,0 b	1,0 b	1,0 b	1,0 b	1,0 b	0,22
Leveduras	1,25 Ba	1,0 Ba	1,25 Bb	4,05 Aa	5,49 Aa	0,34
DIA 10						
Fungos	4,59 a	4,67 a	4,71 a	4,52 a	4,23 a	0,22
Leveduras	2,49 Ba	1,99 Ba	4,16 Aa	4,65 Aa	4,55 Aa	0,34

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem (P>0,01) estatisticamente pelo teste Tukev.

Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

Ao utilizar a contagem de leveduras como um dos parâmetros para indicar a qualidade da silagem, encontrou-se os melhores resultados nos tratamentos 1, 2 e 3, na silagem controle e nas silagens com dose de 1,0 x10⁵ de *Lactobacillus plantarum* + *Pediococcus acidilactici*, ou seja, menor contagem de leveduras. Com isso ocorrerá menor respiração, consequentemente menor energia será liberada para silagem como produto da atividade metabólica e respiração das leveduras.

Com isso, maiores serão os tempos em que a silagem aquecerá, ou seja, maior a estabilidade da silagem. Mas não podemos utilizar apenas a contagem de leveduras para afirmar que esses tratamentos serão mais estáveis (FIGURA 1), a contagem de leveduras é apenas um dos parâmetros que é utilizado para determinar a qualidade da silagem.

GUIM et al. (2002), ao analisarem diferentes profundidades dos silos, para a profundidade de 35 a 65 cm, observaram valores de 7,39 UFC/g silagem após 8 dias de exposição ao ar em silagem de capim elefante. Contagem elevada quando se compara aos valores encontrados neste experimento. Leveduras que aerobicamente conseguem utilizar o ácido lático, promovem o aumento do pH (MUCK, 2002). Como neste experimento o pH se elevou de forma significativa após a exposição ao ar, o aumento na contagem de leveduras foi insignificante entre os dias 0 e 10, o que não aconteceu no experimento acima citado, pois o pH mesmo tendo um aumento significativo para o experimento, foi um aumento mais moderado quando comparado ao encontrado neste estudo. Em condições aeróbias, muitas espécies de leveduras degradam o ácido lático, causando aumento do pH da silagem (MCDONALD; HENDERSON; HERON. 1991).

Segundo Woolford (1990), a instabilidade da silagem está associada principalmente com o desenvolvimento e proliferação de bactérias aeróbias, fungos e leveduras. A quebra da estabilidade da silagem está demonstrada na Figura 1, momento em qual a temperatura da massa de forragem no silo ultrapassa 2ºC a temperatura ambiente, foi atingido primeiramente pelos tratamentos 3 e 1, chegando a instabilidade depois de 22 e 22,5h de ensilado, respectivamente. Os tratamentos 2 e 4, foram os que permaneceram estáveis por mais tempo, chegando a 27,5h de estabilidade, o tratamento 5 embora tenha atingido a quebra da estabilidade mais rapidamente que os tratamento 2 e 4, não houve diferença estatística entre esses três tratamentos. Indicando que o uso do melaço como aditivo para fornecimento de carboidratos solúveis, foi eficaz para a estabilidade da silagem, pois manteve a estabilidade do material ensilado por mais tempo. Os tratamentos T1, T2 e T4 atingiram a temperatura máxima de 43ºC após 28h, 36h e 46h, respectivamente, de fechamento do silo. Os tratamentos T3 e T5 chegaram a temperatura máxima de 43,5ºC e 42,5ºC após 26 e 28h, respectivamente (FIGURA 1).

Para silagem de milho, a estabilidade no tratamento sem inoculantes foi de 25h, com o uso do inoculante *L. buchneri* foi de 35h para o tratamento inoculado

com uma dose < 100.000 UFC/g silagem e 503 para *L.buchneri* na dose > 100.00 UFC/g silagem (MUCK, 2010).

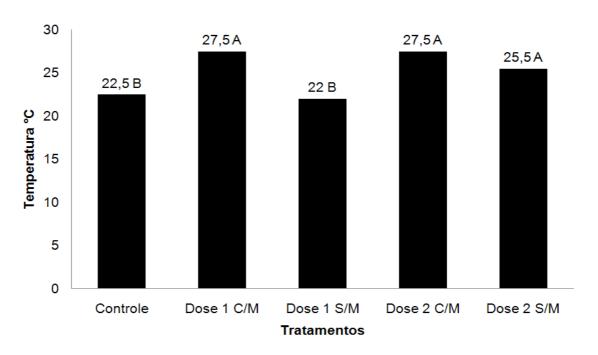


Figura 1: Estabilidade aeróbia da silagem: Tempo que a silagem demorou para ultrapassar 2°C da temperatura ambiente (horas).

Médias seguidas da mesma letra maiúscula nas barras entre os tratamentos não diferem (P>0,01) estatisticamente pelo teste Tukey.

Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

Danner et al. (2003) em silagens de milho observaram valor de 26 horas para o tratamento utilizando *L. plantarum*, valor próximo ao encontrado no tratamento 5.

Rodrigues et al. (2003), avaliaram a estabilidade do capim-elefante e apresentaram resultados de 96h para o tratamento controle, 108h para o Sil-All (*Streptococcus faecium, Pediococcus acidilactici, Lactobacillus plantarum*, amilase, hemicelulase e celulase), 114h para Silibac (*L. plantarum*, *S. faecium e Lactobacillus sp.*) e 120h para o Pioneer 1174 (*S. faecium e L. plantarum*), com as temperaturas máximas de 30,5, 30,75, 30,5 e 30,37, respectivamente. Utilizando os mesmos produtos de inoculantes, Rodrigues et al. (2001), determinou como 90h de estabilidade para a silagem controle, temperatura máxima de 27°C, e para os outro tratamentos 78h, 114 e 54h de estabilidade; temperatura máxima de 26,25 e 26,50 e 27,5°C para os tratamento Sil-All, Silobac e Pioneer, respectivamente.

As perdas por efluentes não tiveram diferenças estatísticas entre os tratamentos, variaram de 21,44 a 25,41Kg/t MV de perdas por efluentes. Valores

acima dos encontrados por Oliveira, et al. (2010), 20,4 Kg/t MV em silagens de milho armazenadas durante 60 dias, enquanto que Junges (2010), encontrou perdas de 20,2 kg/t MV aos 120 dias de armazenamento de silagem de milho. Schimidt et al (2001) também encontrou valor menor para produção de efluentes em cana-deaçúcar, valor de 18,2 Kg/t MV, quando inoculado com aditivo composto de *Lactobacillus brevis + Enterococcus faecium + L. plantarum.* Mari (2003), encontrou valor superior ao desde trabalho, 39,6 Kg/t MV, quando trabalhou silagem de capimmarandu.

Tabela 4: Quantificação de perdas e recuperação da matéria seca .

Parâmetro	Trat. Controle	Trat. Dose 1 C/M	Trat. Dose 1 S/M	Trat. Dose 2 C/M	Trat. Dose 2 S/M	Erro padrão
PERDAS Kg/t MV	23,47 A	25,41 A	21,44 A	24,99 A	24,67 A	1,36
RMS%	75,86 A	82,13 A	75,42 A	82,4 A	75,86 A	2,95

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem (P>0,01) estatisticamente pelo teste Tukey.

Fonte: Análise dos dados de campo, 2011

O mesmo que aconteceu para as perdas por efluentes, ocorreu para recuperação de matéria seca, onde não foram encontradas diferenças estatísticas, variando de 75,42 a 82,4% de recuperação de matéria seca.

Amaral et al (2008) e Bernardes et al. (2007), trabalhando com capim-marandu, encontraram 92,9% e na faixa de 93,6 a 94,5% de recuperação de matéria seca, respectivamente aos 6 dias de exposição ao ar. Teixeira, et al. (2008), avaliando cana-de-açúcar, ao adicionarem farelo de cacau chegaram ao valor de 95,3% de recuperação de matéria seca. Peres (1997). Avaliando capim elefante adicionados de 10% de polca cítrica, apresentou 91,1%. Os valores de recuperação de matéria seca citados foram maiores que os obtidos neste trabalho (Tabela 4), provavelmente devido neste experimento ter sido utilizado o melaço, este que tem elevado teor de matéria seca, mas que durante o processo de fermentação sofre perdas de MS maiores que os outros aditivos utilizados nos experimentos citados acima.

Entretanto, no mesmo trabalho, Peres (1997) encontrou valores similares ao que foi encontrado neste trabalho (Tabela 4), 77,4% quando adicionou 10% de fubá de milho na silagem, 81,3 no tratamento sem polpa cítrica, 86,4% quando adicionou 5% de polpa cítrica e 80% quando adicionou 15% de polpa cítrica.

6. CONCLUSÕES

A utilização do inoculante microbiano *Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus actidicilati* apresentou resultado desejado quando empregados na dose de 1x10⁵ UFC/g silagem para as características qualitativas de estabilidade e contagem de fungos e leveduras.

A dose de 1x10⁶ de *Lactrobacillus plantarum + Lactobacillus actidici* apresentou ao piores resultados para as contagens de leveduras no dia da abertura dos silos.

O emprego da associação inoculantes microbianos com melaço teve resultados positivos comas silagens testados neste expeimento, pois manteve as silagens estáveis por mais tempo.

Não foram encontradas diferenças entre os tratamentos para recuperação de matéria seca e perdas por efluentes.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, R.C.; et al. Estabilidade aeróbia de silagens do capim-marandú submetidas a diferentes intensidades de compactação na ensilagem. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v.37, n.6, p.977-983, 2008.
- ANDRADE, I.V.O. et al. Perdas, características fermentativas e valor nutritivo da silagem de capim-elefante contendo subprodutos agrícolas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.12, p.2578-2588, 2010.
- ANDRADE, J.B.; LAVEZZO, W. Aditivos na ensilagem do capim-elefante. Composição bromatológica das forragens e das respectivas silagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, n.11, p.1856-1872, 1998.
- ANDRADE, S.J.T.; MELOTTI, L. Inoculantes bacterianos na ensilagem do capimelefante (*Pennisetum purpureum, Schum*). **Brazilian Journ al of Veterinary Research and Animal Science** v. 40, n.3, p.219-223. 2003 (supl).
- ANDRADE, S.J.T.; MELOTTI, L. Efeito de alguns tratamentos sobre a qualidade da silagem de capim-elefante cultivar Napier (*Pennisetum purpureum*, Schum). **Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, p.494-415, 2004.
- ÁVILA, C.L.S. **Isolamento e uso de Lactobacillus buchneri na ensilagem de capim-mombaça e cana-de-açúcar.** 2007. 175f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- ÁVILA, C.L.S. et al. Effects of na indigenous and a commercial *Lactobacillus* buchneri strain on quality of sugarcane silage. **Grass and Forage Sciene**, v. 64, n. 4, p. 384-394, 2009.
- BERNARDES, T.F. et al. Estabilidade aeróbia da ração total e de silagens de capim-Marandú tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 754-762, 2007.
- BERNARDINO, F.S. et al. Produção e características do efluente e composição bromatológica da silagem de capim-elefante contendo diferentes níveis de casca de café. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n.6, p.2185-2191, 2005.
- BOGDAN, A.V. **Tropical pastures and fodder crops**. New York: Longman,1977. 475p.
- BOLSEN, K.K. Silage: basic principles. In: BARNES, R.F.; MILLER, D.A.; NELSON, C.J. (Eds.) **Forages**. 5.ed. Ames: lowa State University, 1995. p.163-176.
- BRAGA, A.P. et al. Avaliação das silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cv. Cameron em diferentes idades de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2000. CD ROM.

CLEALE, R.M.; WALLACE, C.R. Effects of enzyme-inoculant systems on preservation and nutritive value of haycrop and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 3, p. 711-718, 1990.

DANNER, H. et al. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.1, p.562-567, 2003.

DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, 1962. p. 477-52.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H. The impacto of the quality of silage on animal helth and food safety: a review. **Veterinary Quarterly**, v.22, p.212-217, 2000.

EVANGELISTA, A.R.; LIMA, J.A. **Silagens**: do cultivo ao silo. Lavras, Editora UFLA, 2. ed., 2002, 210 p.

EVANGELISTA, A.R.; ROCHA, G.P. **Forragicultura.** Lavras – MG.: Universidade Federal de Lavras; Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, 1997. 246 p.

FARIA, D.J.G. et al. Composição químico-bromatológica da silagem de capimelefante com níveis de casca de café. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.36, n.2, p.301-308, 2007.

FARIA, E.F.S.; GONÇALVES., L. C.; ANDRADE. V.J. de. Comparação de seis tratamentos empregados para melhorar a qualidade da silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) em três idades de rebrota. **Arquivo da Escola de Medicina Veterinária da UFBA,** v.18, n.1, p.103-125, 1995/96.

FERRARI JÚNIOR, E.; LAVEZZO, W. Qualidade da silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) emurchecido ou acrescido de farelo de mandioca. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.30, n.5, p.1424-1431, 2001.

FILYA, I. 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**, v.95, n.5, p.1080-1086, 2003.

GUIM, A. et al. Estabilidade aeróbica de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) emurchecido e tratado com inoculante microbiológico. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v. 31, n.6, p. 2176-2185, 2002.

GUIM, A. et al. Padrão de fermentação e comparação químico-bromatológica de silagens de Jitirana (*Ipomoea glabra Cjoisy*) e Jitirana peluda (*Jacquemontia asarifolia* L. B. Smith). **Revista Brasileira de Zootecnia,** v. 33, n.6, p. 2214-2223, 2004.

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

HENDERSON, N. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, p.35-56, 1993.

JOBIM, C.C. et al. Desenvolvimento de microrganismos durante a utilização de silagens de grãos úmidos de milho sem brácteas. **Acta Scientriarum,** v.21, n.3, p.671-676, 1999.

JOBIM, C.C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.36. p.101-120, 2007 (supl. Especial).

JUNGES, D. Aditivo microbiano na silagem de milho em diferentes tempos de armazenamento e avaliação da estabilidade aeróbia por termografia em infravermelho. 2010. 100f.. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária)-Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2010.

KUNG JR., L.; GRIEVE, D.B.; THOMAS, J.W. 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 JÚNIOR, L. e MUCK, R. Animal responses to silage additive. In: SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK, 1997, Hershey. **Proceedings...** Hershey: NRAES-99, 1997. p.200-210.

KUNG, JR., L. et al. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1479-1486, 2000.

KUNG JÚNIOR., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology.** 1.ed. Madison: Amareca Society of Agronomy, 2003.

KUNG JR., L. Effects of microbial additives in silages: fatcs and perspectives. In: ZOPOLLATO, M.; MURARO, G.B.; NUSSIO, L.G. (ed). INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, v.1., São Pedro, 2009. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2009. p.7-22.

LAVEZZO, W. Ensilagem de capim-elefante. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 12.1994. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 169-275.

LIMA, U. A. Tecnologia das fermentações, São Paulo : E. Blucher, 1987. v.1

LOURES, D.R.S. et al. Perdas por efluente em gase em silagens de capim Tanzânia sob os efeitos do teor de matéria seca, tamanho de partícula e do uso de aditivos. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., Campo Grande, 2004, **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gmosis [2004]. CD-ROM. Forragicultura. FOR-133

- LUIS, L. et al. Efecto de La adicion de lactisil sobre *Pennisetum purpureum* conservado como ensilage. **Pastos y Forrages**, Matanzas, v.9, n.3, p.278-283, 1986.
- LUIS, L. et al. Fermentacion de ensilajes tropicales com las utilizacion de bacterias acido lacticas aisladas en Cuba. **Pastos y Forrages**, Matanzas, v,15, n.1, p.63-69, 1992.
- MARI, L.J. Intervalo entre cortes em capim-Marandu (*Brachiaria brizantha* (Hochst. Ex A. Rich.) Stapf cv. Marandu): produção, valor nutritivo e perdas associadas à fermentação da silagem. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003. 138f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2003.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage,** 2.ed. Marlow: Chalcomb Publications, 1991. 340p.
- MCFALL, S.M.; MONTIVILE, P.E. pH mediated regulation of piruvate catalism in *Lactobacillus plantarum* chemostat cultures. **Journal of Industry Microbiology,** n. 4, p. 335-340, 1989.
- MORAIS, J.P.G. Silagem de gramíneas tropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 7., 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1999. p. 89-95.
- MOURA, M.S.C. et al. Efeito de aditivos sobre a velocidade de deterioração de silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. CD ROM.
- MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.11, p.2992-3002, 1988.
- MUCK, R.E. Inoculation 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.
- MUCK, R.E. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. In: INTERNATIONAL MEETING; CIGR WORLD CONGRESS. 15., 2002, Chicago. Annual... Chicago, Illinois, USA: ASAE, 2002. 13 p.
- MUCK, R.E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.39, p.183-191, 2010 (supl. especial).
- NISHINO, N.; et al. Accumulation of 1,2-propanodiol and enhancement of aerobic stability in whole crop maize silage inoculed with *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Applied Microbiology**, v.94, n.5, p.800-807, 2003.

OLIVEIRA, L.B. et al. Perdas e valor nutritivo de silagens de milho, sorgo-sudão, sorgo forrageiro e girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.61-67, 2010.

PAHLOW, G. Role of microflora in forage conservation. In: PAHLOW, G.; HONIG, H. (Ed) **Forage conservation towards**. Braunschweig: European Grassland Federayion, 1991. v. 1, p.26-36.

PEREIRA, J.R.A.; REIS. R.A. Produção de silagem pré-secada com forrageiras temperadas e tropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, Maringá, 2001. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.64-86.

PERES, J.R. Avaliação da polpa de citros seca e peletizada como aditivo na ensilagem do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum). Piracicaba, 1997. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem). Escola Superior de Agricultura "Luíz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

PITT, R.E. **Silage and hay presevation.** Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service, 1990. 53 p.

RANJIT, N.K.; KUNG JR., L. The effects 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. 526-535, 2000.

ROCHA JÚNIOR, V.R. et al. Avaliação de sete genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) *Moench*) para produção de silagem. II — Padrão de fermentação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** Belo Horizonte, v.52, n.5, p.12-18. 2000.

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.6S, p.2169-2175, 2001.

RODRIGUES, P.H.M. et al. Composição Bromatológica e Perfil Fermentativo da Silagem de Capim-Elefante Obtida em Diferentes Tipos de Silos Experimentais e no Silo Tipo Trincheira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2386-2392, 2002.

RODRIGUES, P.H.M.. et al. Adição de inoculantes microbianos sobre a composição química e perfil fermentativo da silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum). **Acta Scientiarum. Animal Sciences,** Maringá, v. 25, no. 2, p. 397-402, 2003.

SAARISALO, E. et al. Screening and election of lactic acid bactéria strains suitable for ensiling Grass. **Journal of Applied Microbiology.** v. 102, p. 327-336, 2006.

SAMANTA, A. K.; SINGH, K. K.; VERNA, N. C. Effect of additives on silage quality of Napier ensiled in plastic bag. **Indian Journal Animal.** Sci., v. 71, n. 9, p. 881-882, 2001.

SCHIMIDT, P. et al. Novos aditivos microbianos na ensilagem da cana-de-açúcar: composição bromatológica, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.3, p.543-549, 2011.

SHARP, R.; HOPPER P.G.; ARMSTRONG, D.G. The digestion of grass silages produced using inoculants of lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v.49, p.42-53, 1994.

SILVA, A.V. et al. Composição Bromatológica e Digestibilidade in Vitro da Matéria Seca de Silagens de Milho e Sorgo Tratadas com Inoculantes Microbianos. **Revista Brasileira de Zootecnia.** V.34, n.6, p.1881-1890, 2005.

TEIXEIRA, F.A. et al. Perdas na ensilagem de capim-elefante aditivado com farelo de cacau e cana-de-açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.227-233, 2008.

TOSI, H.; et al. Ensilagem do capim-elefante cv. Mott sob diferentes tratamentos. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.24, n.6, p. 909-916, 1995.

VAN SOEST, P.J. Development of a comprehensive system for analysis and its application to forage. **Journal of Animal Science**, v.26, n.1, p119-128, 1967.

VIEIRA, P.F. Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.

WILKINSON, J.M. Additives for ensiled temperate forage crops. In: REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** São Paulo: SOCIEDADE NRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1998, p.53-72.

WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker, 1984. 350p.

WOOLFORD, M.K. The detrimental effects or air on silage. **Journal Applied Bacteriology**, v. 68, n. 2, p. 101-116, 1990.

YUNUS, M.; OHBA, N.; SHIMOJO, M. Effects of adding urea and molasses on napiergrasss silage quality. Asian Austr. **Journal Animal Science**, v. 13, n. 11, p. 1542-1547, 2000.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J.L.P.; NUSSIO, L.G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, Sup. esp., p.170-189, 2009.