

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CAROLINE DAIANE NATH

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA, FERMENTATIVA E
ESTABILIDADE AERÓBIA EM SILAGENS PRÉ-SECADAS DE CAPIM
TIFTON 85 COM DIFERENTES CAMADAS DE FILME DE POLIETILENO E
TEMPOS DE ARMAZENAMENTO**

Marechal Cândido Rondon
2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CAROLINE DAIANE NATH

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA, FERMENTATIVA E
ESTABILIDADE AERÓBIA EM SILAGENS PRÉ-SECADAS DE CAPIM
TIFTON 85, COM DIFERENTES CAMADAS DE FILME DE POLIETILENO E
TEMPOS DE ARMAZENAMENTO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Zootecnia, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, para obtenção do título de “Mestra em Zootecnia”.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcela Abbado Neres

Marechal Cândido Rondon
2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CEP)
(Biblioteca da UNIOESTE — Campus de Marechal Cândido Rondon — PR, Brasil)

N274c	Nath, Caroline Daiane Caracterização microbiológica, fermentativa e estabilidade aeróbia em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 com diferentes camadas de filme de polietileno e tempos de armazenamento / Caroline Daiane Nath. - Marechal Cândido Rondon, 2016. 77 f. Orientadora: Dr.a Marcela Abbado Neres Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2016. 1. Silagem. 2. Capim Tifton. I. Neres, Marcela Abbado. II. Título. CDD 22.ed. 636.0862 CIP-NBR 12899
-------	---

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM ZOOTECNIA

CAROLINE DAIANE NATH

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA, FERMENTATIVA E
ESTABILIDADE AERÓBIA EM SILAGENS PRÉ-SECADAS DE CAPIM
TIFTON 85, COM DIFERENTES CAMADAS DE FILME DE POLIETILENO E
TEMPOS DE ARMAZENAMENTO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Zootecnia, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, para obtenção do título de “Mestra em Zootecnia”.

Marechal Cândido Rondon, 17 de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Marcela Abbado Neres
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof.^a Dr.^a Maximiliane Alavarse Zambom
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Luciano dos Santos Bersot
Universidade Federal do Paraná

A Deus por estar sempre ao meu lado.

Aos meus pais, Sírío e Leoníze, pelo carinho, amor e ensinamentos. Por serem o motivo de minha existência e incentivarem minhas conquistas.

E ao meu marido Ricardo, pelo apoio, paciência e amor.

A vocês e por vocês...

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo Dom da vida, por sempre estar ao meu lado e ouvir as minhas preces, me amparando nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Sírío Sérgio Nath e Leoníze Zelaide Hoerlle Nath, pela base educacional e de bons princípios passados ao longo desses anos e por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos.

Ao meu marido, Ricardo Luiz Model, pelo apoio, motivação e compreensão nos momentos em que tive que priorizar o trabalho e o estudo, deixando em segundo plano os momentos familiares.

À Universidade Estadual do Oeste de Paraná (UNIOESTE) e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPZ), pela oportunidade de realização do Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento desse projeto (processo 471834/2013-0) e pela concessão da bolsa de estudos.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Marcela Abbado Neres, pela amizade, orientação, paciência, humildade e principalmente, por ter acreditado em mim e no meu trabalho.

Aos membros componentes da banca examinadora, pela avaliação do trabalho, orientação, sugestões e contribuições fornecidas.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UNIOESTE que participaram desta jornada.

Ao Paulo Henrique Morsh, secretário do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UNIOESTE, pela paciência, dedicação, responsabilidade e disponibilidade em todos os instantes.

Ao César Vorpapel, pela disponibilização da propriedade para a realização deste trabalho.

Ao professor Dr. José Renato Stangarlin, pela atenção, paciência e colaboração.

Ao professor Dr. Luciano dos Santos Bersot e equipe do Laboratório de Inspeção e Controle de Qualidade de Alimentos e Água (LACOMA), do Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná – *Campus* de Palotina, pela realização de algumas análises microbiológicas.

Ao professor Dr. Élcio Silvério Klosowski, por disponibilizar os dados meteorológicos da Estação Climatológica Automática da UNIOESTE.

Aos funcionários do Laboratório de Química Agrícola e Ambiental, pela realização da análise química do solo, tecido e dejetos.

À Jaqueline Wobeto e aos colegas do grupo Núcleo de Estudos em Feno e Pré-Secado - NEFEPS, em especial, a Kácia Scheidt, Claudiane Haab, Daniele Lourenço, Samantha Sunahara e Alessandro Giacomini, que me auxiliaram sem medirem esforços durante a execução deste trabalho, pela atenção, dedicação e responsabilidade em todos os instantes.

Aos funcionários da Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, da UNIOESTE, pela colaboração nos trabalhos.

À Marilda Schmoeller e Liziane Mufatto, pela amizade, força, carinho e conforto nos momentos complicados.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização desta conquista, os mais sinceros agradecimentos.

RESUMO

NATH, CAROLINE DAIANE. Mestrado em Zootecnia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, março de 2016. **Caracterização microbiológica, fermentativa e estabilidade aeróbia em silagens pré-secadas de capim Tifton 85, com diferentes camadas de filme de polietileno e tempos de armazenamento.** Orientadora: Dr^a. Marcela Abbado Neres

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil microbiológico, fermentativo, a estabilidade aeróbia e a variação da temperatura externa em silos bags com silagens pré-secadas de capim Tifton 85, com diferentes camadas de filme de polietileno e tempos de armazenamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas no tempo, com 4 repetições. Nas parcelas principais foram alocados os tratamentos (2 e 3 camadas de envelopamento) e nas subparcelas os tempos de amostragem, sendo 3 tempos (30, 60 e 90 dias de armazenamento) para avaliação microbiológica, fermentativa e da atividade de água (A_w) e 5 tempos (0, 1, 2, 3 e 4 dias de exposição aeróbia) para avaliação da estabilidade aeróbia. Para estudo da variação de temperatura externa nos silos durante o armazenamento, os tratamentos alocados nas parcelas foram constituídos pelos estratos de avaliação (superfície, meio e base do silo) e as subparcelas, os tempos de avaliação (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 e 84 dias de armazenamento). Foram confeccionados silos de 400 kg cada, com uso de inoculante no enfardamento, e estes armazenados no tempo, sendo após sua abertura, acondicionados em galpão coberto. No perfil microbiológico após abertura da silagem, foi quantificado por meio de cultura a população de *Clostridium*, *Bacillus*, enterobactérias, bactérias ácido lácticas, *Listeria* sp., *Salmonella* sp., leveduras e fungos. A estabilidade aeróbia foi avaliada da abertura ao quarto dia de exposição da silagem ao oxigênio. O pH e os teores de carboidratos solúveis e nitrogênio amoniacal (NH_3/N total), foram avaliados após abertura da silagem. A avaliação da temperatura nos estratos (superfície, meio e base) dos silos foi realizada semanalmente durante o armazenamento da silagem, com auxílio de um termômetro de infravermelho com mira laser. Verificou-se que o tempo de armazenamento e o número de camadas de filme de polietileno não refletiram em alterações na população de *Clostridium*, bactérias ácido lácticas e nos valores de A_w . Houve uma diminuição na população de enterobactérias com o aumento do período de

armazenamento em ambos os tratamentos. A população de *Bacillus* foi menor em silagens confeccionadas com três camadas de envelopamento ($3,63 \log \text{ UFC g}^{-1}$), aos 30 dias de abertura. Não houve crescimento de *Listeria* sp. e *Salmonella* sp. durante o período de armazenamento das silagens. O gênero de fungo de maior ocorrência em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 foi o *Penicillium*. Não houve quebra de estabilidade aeróbia durante os períodos avaliados, em função das elevadas temperaturas das silagens, sendo estas superiores a temperatura ambiente. O pH ficou superior ao preconizado para uma boa conservação da silagem (4,2) na abertura e durante a exposição ao oxigênio. Verificou-se que os teores de nitrogênio amoniacal e de carboidratos solúveis nas silagens com duas camadas diferiram entre os tempos de armazenamento. Houve alteração da temperatura nos diferentes estratos de avaliação nos silos com duas camadas de envelopamento aos 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias e nos silos com três camadas de envelopamento aos 0, 7, 14, 21 e 35 dias de armazenamento. A temperatura na base e no meio dos silos com duas e três camadas de envelopamento aos 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 63 e 84 dias de ensilagem superaram os valores da temperatura ambiente, caracterizando o aquecimento da silagem durante o armazenamento. As silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com duas e três camadas de filme de polietileno tiveram sua estabilidade aeróbia e perfil fermentativo prejudicados durante o armazenamento e desabastecimento dos silos, portanto as silagens obtidas não podem ser consideradas de boa qualidade.

Palavras-chave: conservação de forragens, *Cynodon* spp., fermentação, filme plástico, micro-organismos

ABSTRACT

NATH, CAROLINE DAIANE. Master's degree in Animal Science. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. March, 2016. Microbiological characterization, fermentation and aerobic stability in pre-dried silage of Tifton 85 grass with different layers of polyethylene film and storage times. Supervisor: Dr^a. Marcela Abbado Neres

This work aimed to evaluate the microbiological and fermentative profile, aerobic stability and variation of the external temperature in silo bags with pre-dried silage of Tifton 85 grass, with different layers of polyethylene film and storage times. The trial design was completely randomized with a split plot in the weather, with 4 replications. In the main plot were allocated the treatments (2 and 3 layers of involvement) and the subplots the sampling times, 3 times (30, 60 and 90 days of storage) for microbiological and fermentative evaluation and water activity (A_w) and 5 times (0, 1, 2, 3 and 4 days of aerobic exposure) for aerobic stability evaluation. For the study of the external temperature variation in silos during storage, the treatment allocated in the plots were constituted by evaluation strata (surface, middle and silo base) and the subplots, the evaluation times (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 and 84 days of storage). Silos of 400 kg have been made, with the use of inoculant in the baling and these ones stored in the weather, and after their opening were placed in a covered shed. In the microbiological profile, after the silage's opening, it was quantified by culturing, the population of *Clostridium*, *Bacillus*, enterobacteriaceae, lactic acid bacteria, *Listeria* sp., *Salmonella* sp., yeasts and fungi. The aerobic stability was evaluated from its opening to the fourth day of exposure of the silage to the oxygen. The pH and the levels of soluble carbohydrates and ammonia nitrogen (NH_3/N total) were evaluated after the silage's opening. The evaluation of temperature in the silo strata (surface, middle and base) was performed weekly during the silage's storage, with the aid of an infrared thermometer with laser sight. It was found that the storage time and the number of layers of polyethylene film has not reflected in changes in the *Clostridium* population, lactic acid bacteria and A_w values. There was a decrease in the population of enterobacteria with the increasing of storage period in both treatments. The *Bacillus* population was lower in silages made with three layers of involvement ($3.63 \log \text{CFU g}^{-1}$), 30 days of opening. There was no growth of *Listeria* sp. and *Salmonella* sp. during the silage storage period. The fungus genre of greater occurrence

in silage pre-dried of Tifton 85 grass was the *Penicillium*. There was no breach of aerobic stability during periods of evaluation due to the high temperatures of silage, which are above ambient temperature. The pH was greater than recommended for good silage preservation (4.2) in the opening and during exposure to oxygen. It was found that the content of ammonia nitrogen and soluble carbohydrates in the silages with two layers differ between the storage times. There was alteration in temperature in the different strata of evaluation in silos with two layers of involvement at 0, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days and the silos with three layers of involvement at 0, 7, 14, 21 and 35 days of storage. The temperature at the base and in the middle of the silos with two and three layers of involvement at 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 63 and 84 days of ensiling exceeded the values of the ambient temperature, characterizing the heating of the silage during storage. The pre-dried silage of Tifton 85 grass wrapped with two and three layers of polyethylene film had their aerobic stability and fermentation profile damaged during storage and shortages of silos, therefore the silage obtained cannot be considered of good quality.

Keywords: *Cynodon* spp., fermentation, forage conservation, microorganisms, plastic film

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

- Figura 1. Médias semanais de temperatura máxima (T_{máx}) e mínima (T_{mín}), umidade relativa média do ar (UR_{méd}) e precipitação pluviométrica para a região durante o período experimental 38
- Figura 2. Levedura e gêneros de fungos na serapilheira depositada na área de produção do pré-secado e no capim Tifton 85 antes do corte e no enfardamento 48
- Figura 3. Levedura e gêneros de fungos após abertura aos 30, 60 e 90 dias de fermentação anaeróbia das silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com duas camadas de filme de polietileno 49
- Figura 4. Levedura e gêneros de fungos após abertura aos 30, 60 e 90 dias de fermentação anaeróbia das silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com três camadas de filme de polietileno 50
- Figura 5. Temperatura (°C) em diferentes estratos de avaliação nas silagens pré-secadas de capim Tifton 85 com 2 camadas de envelopamento, durante 90 dias de armazenamento 51
- Figura 6. Temperatura (°C) em diferentes estratos de avaliação nas silagens pré-secadas de capim Tifton 85 com 3 camadas de envelopamento, durante 90 dias de armazenamento 52

CAPÍTULO 4

- Figura 1. Médias semanais de temperatura máxima (T_{máx}) e mínima (T_{mín}), umidade relativa média do ar (UR_{méd}) e precipitação pluviométrica para a região durante o período experimental 61
- Figura 2. Valores médios de pH em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com duas camadas de filme de polietileno, após exposição ao oxigênio .. 67
- Figura 3. Valores médios de pH em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com três camadas de filme de polietileno, após exposição ao oxigênio.... 68
- Figura 4. Temperatura da silagem pré-secada de capim Tifton 85 envelopadas com duas camadas de filme de polietileno, após exposição ao oxigênio 70
- Figura 5. Temperatura da silagem pré-secada de capim Tifton 85 envelopadas com três camadas de filme de polietileno, após exposição ao oxigênio 70

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Características químicas e físicas do solo experimental.....	39
Tabela 2. Composição química do biofertilizante suíno utilizado como fertilizante na área experimental.....	40
Tabela 3. Atividade de água (A_w) em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento	43
Tabela 4. Atividade de água (A_w) e população de bactérias ($\log \text{UFC g}^{-1}$) presentes no capim Tifton 85 antes do corte e no enfardamento, na serapilheira e na silagem envelopada com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30 dias de armazenamento	44
Tabela 5. População de bactérias no momento da abertura de silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento	47
Tabela 6. População de fungos em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento	49

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Características químicas e físicas do solo experimental.....	62
Tabela 8. Composição química do biofertilizante suíno utilizado como fertilizante na área experimental.....	62
Tabela 9. Temperatura máxima, pH máximo e dias para obtenção de temperatura máxima e pH máximo após abertura da silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento	65
Tabela 10. Valores médio de pH durante quatro dias de exposição ao oxigênio após abertura das silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento.....	66
Tabela 11. Média diária de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) durante quatro dias de exposição ao oxigênio após abertura das silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento....	69
Tabela 12. Teores de nitrogênio amoniacal, carboidratos solúveis e pH na abertura da silagem pré-secada de capim Tifton 85 envelopada com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento	71

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Estacionalidade da produção forrageira	17
2.2 Conservação de forrageiras	17
2.3 Ensilagem	18
2.4 Produção de silagem pré-secada ou emurhecida	19
2.5 Utilização do filme de polietileno para vedação	20
2.6 Qualidade sanitária das silagens	21
2.6.1 Bactérias ácido lácticas	22
2.6.2 <i>Bacillus</i>	22
2.6.3 <i>Clostridium</i>	23
2.6.4 Enterobactérias	23
2.6.5 <i>Listeria</i>	24
2.6.6 <i>Salmonella</i>	25
2.6.7 Fungos e Leveduras	25
2.7 Perfil fermentativo	26
2.7.1 Carboidratos solúveis	26
2.7.2 Nitrogênio amoniacal (N-NH ₃)	27
2.7.3 Poder tampão	28
2.8 Estabilidade aeróbia	28
2.9 Referências Bibliográficas	29
3 PERFIL MICROBIOLÓGICO E VARIAÇÃO DA TEMPERATURA EXTERNA EM SILOS BAGS COM SILAGEM PRÉ-SECADA DE CAPIM TIFTON 85, COM DIFERENTES CAMADAS DE FILME DE POLIETILENO E TEMPOS DE ARMAZENAMENTO	35
3.1 Introdução	37
3.2 Material e Métodos	38
3.2.1 Localização	38
3.2.2 Área experimental	39
3.2.3 Delineamento experimental	40
3.2.4 Ensilagem e armazenamento	40
3.2.5 Parâmetros analisados	41
3.2.5.1 Quantificação populacional microbiana e atividade de água	41
3.2.5.2 Temperatura dos silos	42
3.2.6 Análise Estatística	42

3.3 Resultados e Discussão.....	43
3.3.1 Atividade de água e quantificação populacional microbiana	43
3.3.2 Temperatura dos silos.....	50
3.4 Conclusões.....	52
3.5 Referências Bibliográficas.....	53
4 PERFIL FERMENTATIVO E ESTABILIDADE AERÓBIA EM SILAGENS PRÉ-SECADAS DE CAPIM TIFTON 85, COM DIFERENTES CAMADAS DE FILME DE POLIETILENO E TEMPOS DE ARMAZENAMENTO.....	57
4.1 Introdução.....	59
4.2 Material e Métodos.....	60
4.2.1 Localização.....	60
4.2.2 Área experimental	61
4.2.3 Delineamento experimental.....	62
4.2.4 Ensilagem e armazenamento	63
4.2.5 Parâmetros analisados	63
4.2.5.1 Estabilidade aeróbia.....	63
4.2.5.2 Perfil fermentativo.....	64
4.2.6 Análise Estatística	64
4.3 Resultados e Discussão.....	65
4.3.1 Estabilidade aeróbia.....	65
4.3.2 Perfil fermentativo.....	71
4.4 Conclusões.....	73
4.5 Referências Bibliográficas.....	73
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76

1. INTRODUÇÃO

A maioria dos sistemas de produção de ruminantes no Brasil é baseada na utilização de forrageiras tropicais. Entretanto, em períodos com baixa incidência de radiação solar, temperatura e precipitação pluviométrica, ocorre a redução no potencial produtivo das plantas forrageiras, afetando de maneira significativa o desempenho animal. Uma das alternativas possíveis para amenizar esse déficit forrageiro é o uso de técnicas conservacionistas como a ensilagem.

O princípio da conservação de forragens através da ensilagem é baseado na fermentação anaeróbia, visando fornecer uma quantidade suficiente de ácido láctico para promover queda do pH, e como consequência inibir micro-organismos indesejáveis com o objetivo de conservar o valor nutritivo e as características do alimento o mais próximo possível da forragem original.

Entretanto, as forrageiras tropicais apresentam alta capacidade tamponante e baixos teores de matéria seca e de carboidratos solúveis nos estágios de crescimento em que apresentam bom valor nutricional, colocando em risco o processo de conservação por meio da ensilagem, devido às possibilidades de ocorrência de fermentações secundárias indesejáveis. Como opção para contornar o baixo teor de matéria seca, a pré-secagem do material a ser ensilado tem-se constituído como uma excelente alternativa tecnológica, de forma a melhorar o padrão de fermentação das silagens de forrageiras tropicais. Atualmente, o mercado de máquinas agrícolas disponibiliza equipamentos próprios para tais atividades.

A manutenção do ambiente da silagem em anaerobiose durante a fase de fermentação e armazenamento, bem como a estabilidade aeróbia durante a fase de fornecimento, são fatores que determinam o êxito na silagem confeccionada. Entretanto, a presença de oxigênio, pela entrada de ar durante o período de armazenamento ou de abertura do silo, favorece o crescimento de micro-organismos aeróbios, que resultam em perda de nutriente e consequente redução do valor nutritivo das silagens.

Neste sentido, um dos requisitos para se produzir silagens de qualidade é limitar a quantidade de oxigênio na massa ensilada, porém os filmes de polietileno utilizados para envelopamento dos silos apresentam permeabilidade ao gás oxigênio, sendo que o movimento gasoso entre a massa ensilada e a massa de ar externa pode proporcionar a deterioração da silagem, ocasionando o aumento da temperatura e do pH na massa ensilada, o aparecimento de mofos e a alteração no odor e na coloração do volumoso.

Deste modo, o número de camadas do filme plástico utilizado na vedação dos silos é fundamental para impedir a penetração do oxigênio no material ensilado, e assim, controlar o crescimento de micro-organismos em silagens, como forma de maximizar as fermentações desejáveis para obtenção de produtos mais estáveis e de melhor qualidade nutricional.

Portanto, objetivou-se com o presente estudo avaliar o perfil microbiológico, fermentativo, a estabilidade aeróbia e a variação da temperatura externa nos silos bags com silagens pré-secadas de capim Tifton 85, com diferentes camadas de filme de polietileno e tempos de armazenamento.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Estacionalidade da produção forrageira

A pastagem é a forma mais prática e econômica de alimentação dos ruminantes e constitui a base de sustentação da pecuária do Brasil, porém está sujeita a estacionalidade de produção. A estacionalidade na produção de forragens determina a alternância entre períodos onde a grande disponibilidade quantitativa e qualitativa de forragem (águas), com períodos de escassez em que o crescimento da planta é reduzido (seca).

De acordo com Vitor et al. (2009), a estacionalidade da produção ocorre na maioria das espécies forrageiras tropicais e está relacionada principalmente a fatores climáticos, como a ocorrência de longos períodos com baixa intensidade de chuvas associada ao fotoperíodo mais curto e às baixas temperaturas no período do inverno.

Devido à estacionalidade de produção das plantas forrageiras, é necessário o uso de algumas técnicas, tais como: produção de silagem ou feno; utilização de resíduos e subprodutos da agroindústria; pastejo diferido; culturas de inverno; suplementação a pasto; confinamento, dentre outras (ANDRADE, 2000), para complementar a alimentação dos animais durante o período de entressafra (inverno ou período seco), minimizando assim os efeitos da disponibilidade estacional de alimentos (LUCATTO JUNIOR E MELO, 2008). A não adoção destas técnicas alternativas pelos produtores resulta em baixos índices zootécnicos na pecuária e na degradação das pastagens, que são submetidas à superlotação de animais durante o período de escassez de forragens (LOURENÇO, 2012).

2.2 Conservação de forrageiras

A conservação de forragens é uma prática muito antiga, pois a domesticação dos herbívoros, em especial dos ruminantes, ocorreu em regiões de clima instável, com grandes períodos de frio intenso ou de secas prolongadas (ARCURI et al., 2003). Consequentemente, o fornecimento de alimento para os animais em períodos de escassez somente poderia ocorrer se houvesse estoques formados nos períodos de abundância de forragens.

A técnica de conservação de forrageiras tem como objetivo fundamental a preservação do valor nutritivo da forragem original, para posterior utilização na alimentação dos animais

durante o período de escassez de alimento. Entretanto, a eficiência de qualquer sistema de conservação de forragem não deve considerar apenas o valor nutricional do produto final, mas também as perdas que ocorrem desde a colheita do material vegetal fresco até a alimentação dos animais (McDONALD, 1981).

A adoção da conservação da forragem é uma alternativa cada vez mais empregada que atende a demanda crescente de volumosos (OLIVEIRA et al., 2010), sendo que entre as diferentes formas de conservação, a ensilagem é a mais utilizada atualmente em nosso país (SÁ NETO, 2012), destacando-se por ser de utilização relativamente fácil e ser bastante versátil quanto ao volume a ser produzido e maquinário necessário (REGALADO, 2014).

De acordo com Junges (2010), a ensilagem é o método mais adequado para a conservação de alimentos volumosos e, quando bem feita, mantém as características nutricionais da planta, com perdas mínimas em quantidade e qualidade, podendo ser utilizada como suplemento nos períodos de baixo crescimento das pastagens, inclusive como principal alimento volumoso.

2.3 Ensilagem

No processo de ensilagem, o princípio de conservação da forragem deve-se à produção de ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico, a partir de açúcares solúveis, que promove a redução do pH da massa ensilada e, conseqüentemente, a inibição de micro-organismos deletérios indesejáveis (ZANETTE, 2010).

Didaticamente, o processo de fermentação da silagem é dividido em quatro principais fases, de diferentes durações e intensidades, que não podem ser precisamente separadas uma das outras (BARNETT, 1954).

A fase aeróbia (Fase I) inicia-se no enchimento do silo e se estende até o esgotamento do oxigênio (O_2) presente na massa ensilada. A presença de O_2 favorece o desenvolvimento e crescimento de micro-organismos aeróbicos ou anaeróbios facultativos, que em conjunto com o processo respiratório das plantas forrageiras, causam a redução do oxigênio na silagem (SANTOS e ZANINE, 2006). A duração desta fase varia de quatro e seis horas, porém, se a forragem for compactada e o silo vedado rapidamente, esse tempo pode ser minimizado (McDONALD et al., 1991).

Com a exaustão do oxigênio, inicia-se a fase de fermentação (Fase II) com duração de 24 a 72 horas, dependendo das propriedades da forrageira ensilada e das condições de

ensilagem (ARAÚJO, 2011). Nesta fase, ocorre a rápida multiplicação de bactérias produtoras de ácido láctico (BAL) heterofermentativas e de bactérias anaeróbias produtoras de ácido acético (enterobactérias). Estas bactérias produzem etanol, ácido acético, ácido láctico e gás carbônico, utilizando glicose, frutose, xilose e ribose como substratos. A produção destes ácidos durante o processo fermentativo ocasiona a queda do pH, que ao atingir valores abaixo de 5,0 promove inibição de BAL heterofermentativas e proliferação de BAL homofermentativas.

Com a exclusão do oxigênio e a redução do pH a valores entre 3,8 e 4,5, o crescimento de todos os micro-organismos é inibido, caracterizando assim a fase estável (Fase III) do processo fermentativo da silagem. De acordo com Pereira et al. (2004), o ciclo fermentativo da silagem se completa com 21 dias, quando bem ensilada e em pH moderado, e que neste período, os principais processos fermentativos já ocorreram e a silagem se encontra estabilizada, podendo o silo ser aberto e a silagem fornecida aos animais. Entretanto, durante a fase de descarga (Fase IV), iniciada após a abertura do silo, a presença de O₂ favorecerá a atividade de micro-organismos indesejáveis, tais como fungos, leveduras e bactérias aeróbias. Esses micro-organismos consomem os nutrientes da silagem, principalmente açúcares residuais e lactato, causando elevação do pH, quebra da estabilidade aeróbia, além do decréscimo no valor nutricional da silagem e rejeição pelos animais (BORREANI e TABACCO, 2010).

2.4 Produção de silagem pré-secada ou emurchecida

Pré-secados são forragens conservadas obtidas por um processo intermediário a fenação e ensilagem, baseado na secagem parcial das forragens (teores de matéria seca entre 50% a 60%) e na sua fermentação por micro-organismos sob condições anaeróbias (DOMINGUES, 2009).

A remoção parcial da água contida na planta, através do emurchecimento ou da pré-secagem, tem como finalidade restringir a extensão da fermentação durante o processo de conservação de forragens através da ensilagem e reduzir a incidência de fermentações secundárias indesejáveis (PEREIRA e REIS, 2001), permitindo que o volumoso possa ser armazenado e utilizado na alimentação dos animais durante o período de escassez de forragem.

Anualmente, a produção de pré-secado vem crescendo, pela facilidade de produção e possibilidade de ensilagem de diversos materiais, mas a principal justificativa da ampla difusão e viabilidade dessa técnica em comparação com o processo de fenação é o menor tempo de exposição do material a campo (JOBIM et al., 2007) minimizando perdas por incidência de chuva.

De acordo com Berto e Mühlbach (1997), o emurchecimento da planta aumenta a relação ácido láctico/acético, reduz a produção de amônia e restringe a produção de ácido butírico, além de diminuir a solubilização do nitrogênio e evitar a produção de efluentes. Entretanto, a taxa de emurchecimento varia de acordo com as variáveis ambientais (velocidade do vento, umidade do ar, radiação solar e temperatura) e características estruturais das forragens (espessura e comprimento do colmo, proporção folha/colmo, peso da folha, espessura da cutícula e densidade de estômatos), que influenciam no tempo de secagem e no teor final de matéria seca (MS).

Chamberlain e Wilkinson (2000) propuseram um período máximo de desidratação no campo de 24 horas, pois de acordo com estes autores, longos períodos de secagem resultam em grandes perdas de MS, principalmente de proteína, alterando a proporção de nitrogênio protéico que proporcionará redução no consumo de MS e carboidratos solúveis, reduzindo o valor energético da silagem, enquanto curtos períodos proporcionam pequenas perdas por respiração com aumento significativo na concentração de MS da forragem.

Embora os pré-secados apresentem fatores dietéticos positivos e sejam uma alternativa interessante para locais onde a taxa de secagem é comprometida, há ainda algumas limitações para seu maior uso e difusão (DOMINGUES, 2009). Entre eles estão o grande volume dos fardos, que dificulta o transporte e o manejo de abertura dos mesmos quando há um número pequeno de animais a alimentar e a baixa estabilidade das silagens após abertura dos silos, resultando em deterioração do material ensilado.

2.5 Utilização do filme de polietileno para vedação

O material mais utilizado para a vedação de silos é o filme de polietileno. Porém, os filmes de polietileno apresentam permeabilidade ao oxigênio (NERES et al., 2013), sendo que esta permeabilidade é altamente variável em razão das alterações que ocorrem durante o armazenamento (SAVOIE, 1988).

Segundo as normas da American Society for Testing and Materials (2010), com a elevação da temperatura de 23 a 50°C, a permeabilidade dos filmes plásticos ao oxigênio aumenta de 3 a 5 vezes. Neste sentido, regiões com temperaturas mais elevadas, como as tropicais e, no verão, em países de clima temperado, as silagens podem tornar-se mais suscetíveis à deterioração aeróbia, devido à maior permeabilidade do filme plástico (PAILLAT e GAILLARD, 2001).

Em razão da dificuldade de compactação, a parte superior do silo apresenta menor densidade, maior porosidade e, conseqüentemente, maior intensidade de trocas gasosas, facilitando assim, a entrada de O₂ e, conseqüentemente, o processo de deterioração aeróbia, decorrente do desenvolvimento de micro-organismos aeróbios. Esse processo de deterioração se intensifica pela alta superfície de contato do material ensilado com o ambiente pela deficiência nas práticas de manejo na ensilagem e pela ineficiência dos filmes plásticos em evitar a entrada de O₂ (SANTOS, 2015). De acordo com Ashbell e Kashanci (1987), as perdas alcançadas nas regiões periféricas podem ser até 60% maiores quando comparadas à região central do silo.

2.6 Qualidade sanitária das silagens

Os micro-organismos naturalmente presentes nas plantas forrageiras constituem a microbiota epifítica da cultura, são os responsáveis por alterações no material ensilado ao longo do processo fermentativo. O número de micro-organismos epifíticos é variável, sendo afetado pelo tipo de forragem, estágio de maturidade das plantas, clima, tamanho do corte e condicionamento da forrageira (LIN et al., 1992).

A microbiota pode ser dividida em dois grupos principais: os micro-organismos benéficos ou desejáveis, os quais são representados pelas bactérias ácido-láticas e os micro-organismos indesejáveis, responsáveis por causar deterioração aeróbia (*Bacillus*, *Listeria* e fungos) e anaeróbia (*Clostridium* e enterobactérias) na massa ensilada (BRAVO-MARTINS, 2004).

Jobim et al. (2001), afirmaram que as plantas forrageiras são naturalmente contaminadas por micro-organismos epífitas, benéficos ou não, e o desenvolvimento de cada espécie dependerá dos tipos de condições encontradas no meio. No processo de confecção da silagem a presença ou ausência de oxigênio no interior do silo influenciará o desenvolvimento

microbiano, sendo observados três tipos de micro-organismos: aeróbios, anaeróbios e anaeróbios facultativos.

2.6.1 Bactérias ácido lácticas

As bactérias ácido-lácticas (BAL) são o principal grupo de micro-organismos que atuam no processo fermentativo para a conservação da massa ensilada. Elas incluem, principalmente, os gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* e *Leuconostoc*, que produzem principalmente, ácido láctico como produto da fermentação dos açúcares (BERNARDES, 2003).

Com base no metabolismo fermentativo as BAL podem ser classificadas em homofermentativas ou heterofermentativas. As homofermentativas produzem ácido láctico como o principal produto da fermentação da glicose, enquanto que as heterofermentativas produzem diversos metabólitos como produtos resultantes da fermentação da glicose, tais como o ácido acético, dióxido de carbono e etanol, além do próprio ácido láctico. O grupo das bactérias lácticas homofermentativas inclui os gêneros *Streptococcus*, *Pediococcus* e os *Lactobacillus* homofermentativos, e o grupo heterofermentativo inclui os gêneros *Leuconostoc* e um subgrupo do gênero *Lactobacillus* (CARR et al., 2002).

De acordo com Jobim e Gonçalves (2003), para o sucesso do processo fermentativo nas silagens são necessárias condições de anaerobiose nos silos, substrato adequado e uma população suficiente de BAL. Entretanto, o número de BAL é relativamente pequeno nas culturas (<10 UFC/g) (JASTER, 1994), mas o corte e a picagem da forrageira provoca a liberação de sucos da planta, o que ocasiona o aumento do número de BAL prévio a ensilagem (LOPES, 2006), favorecendo o processo fermentativo através da conservação da massa ensilada.

2.6.2 *Bacillus*

Bactérias do gênero *Bacillus* são formadores de esporos e estão frequentemente envolvidos na deterioração inicial de silagens, principalmente as espécies *Bacillus cereus*, *Bacillus firmus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus polymyxa* (PEREIRA e REIS, 2001).

Os esporos de bacilos, se presentes em silagens ou em outros tipos de forragens, podem passar para as fezes através do sistema digestório dos ruminantes, acarretando uma maior contaminação do leite, especialmente em sistemas com ordenha manual ou mecânica com higienização deficiente (ARCURI et al., 2003). Estas bactérias são consideradas um agente patogênico pelos laticínios, dada sua resistência à pasteurização e aumento de sua população mesmo às baixas temperaturas (PAHLOW et al., 2003).

Segundo McDonald et al. (1991), bactérias do gênero *Bacillus* contribuem pouco para a preservação de silagens, desempenhando apenas grande importância no processo de deterioração aeróbia, sob condições de pH acima de 5,0 em temperatura alta.

2.6.3 *Clostridium*

As bactérias do gênero *Clostridium* são micro-organismos anaeróbios indesejáveis que apresentam como principal característica a formação de esporos nas plantas, que não pertencem a microbiota epifítica das culturas, mas surgem a partir da contaminação do solo pelo emprego de adubos mal compostados e contaminados (FENLON et al., 1995). Jobim e Gonçalves (2003) relatam que o crescimento de *Clostridium* em silagens é favorecido em situações de elevação da temperatura no interior do silo, baixo teor de MS na forragem ensilada, baixo teor de carboidratos solúveis, alta capacidade tampão da cultura e vedação inadequada do silo.

Esses micro-organismos são responsáveis por grandes perdas no interior do silo, pois fermentam açúcares, ácido láctico e aminoácidos produzindo ácido butírico e aminas, que resultam em significativas perdas de MS, e na redução da palatabilidade, além da diminuição da estabilidade aeróbia da silagem (MAHANNA, 1994).

Um dos principais problemas da ingestão de alimentos contaminados com esporos de *Clostridium* é a contaminação do leite, pois estes esporos são capazes de resistir à pasteurização, comprometendo assim a qualidade do leite e causando sérios danos na produção de lácteos.

2.6.4 Enterobactérias

As enterobactérias são bacilos gram-negativos anaeróbios facultativos, que competem com as BAL pelos açúcares disponíveis, podendo também degradar proteínas. Esta degradação de proteína não só causa redução no valor nutricional da silagem, como também conduz a produção de aminas e ácidos graxos ramificados, apresentando efeito negativo na palatabilidade da silagem, diminuindo o consumo voluntário (SÁ NETO et al., 2009).

As enterobactérias normalmente crescem intensivamente durante os primeiros dias de ensilagem, mas sua população decresce rapidamente à medida que o meio é acidificado, sendo geralmente, inibidas em pH abaixo de 5,0 (MUCK, 1996). Portanto, métodos de ensilagem que induzam à uma rápida e suficiente diminuição nos valores de pH da silagem ajudarão a diminuir o crescimento de enterobactérias (McDONALD et al., 1991).

Neste sentido, torna-se evidente que a presença destes micro-organismos é indesejável em forragens conservadas, pois além de competir pelos nutrientes a serem disponibilizados às BAL, também produzem toxinas e relevante quantidade de amônia, durante a ensilagem.

2.6.5 *Listeria*

Estes micro-organismos são aeróbios ou anaeróbios facultativos, sendo a espécie *Listeria monocytogenes* a mais importante tendo em vista a qualidade da silagem, pois ela é patogênica para vários animais e seres humanos (SHLECH, 1996).

O crescimento e a sobrevivência desta bactéria em silagens é determinado pelo grau de anaerobiose e pelo pH da silagem. A *L. monocytogenes* tolera pH entre 3,8 e 4,2 por longos períodos, somente se o oxigênio estiver presente. Sob condições estritamente anaeróbias esse organismo pode ser rapidamente destruído nesta faixa de pH (3,8 a 4,2) (DONALD et al., 1995).

Os animais podem ser infectados pela ingestão de alimentos contaminados, sendo que a silagem é o alimento com maior contaminação por *Listeria* (FENLON, 1998). Woolford (1990) descreve que muitas espécies desta bactéria têm sido isoladas em silagem, principalmente perto da superfície, onde a alimentação com essa silagem parece aumentar a susceptibilidade do animal às doenças. Portanto, a eliminação desta silagem mal conservada, no momento de fornecer aos animais, previne problemas de contaminação por *Listeria*, e outros micro-organismos, como fungos e *Clostridium* (MUCK e SHINNERS, 2001).

2.6.6 *Salmonella*

As salmonelas são bacilos gram-negativos aeróbios e anaeróbios em temperaturas de 37°C, porém desenvolvem-se numa faixa de crescimento de 7°C a 45°C (GRIFFITH et al., 2006). São resistentes à dessecação e ao congelamento, possuindo a capacidade de sobreviver no ambiente por anos (WILCOCK e SCHWARTZ, 1993).

O crescimento de *Salmonella* sp. ocorre em um pH ótimo entre 6,5 e 7,5, admitindo uma variação entre 4,5 e 9,0 (QUINN et al., 2005). Valores inferiores a 4,1 inativam e destroem a *Salmonella* sp. (TORTORA et al., 2005).

De acordo com Tortora (2002), quase todas as espécies desse gênero são potencialmente patogênicas, causando salmonelose ou gastroenterite por *Salmonella*. São habitantes comuns do trato intestinal de vários animais, principalmente aves e bovinos, podendo contaminar os alimentos em condições sanitárias precárias. As salmonelas podem ser isoladas no intestino das pessoas e dos animais, atingindo alimentos direta ou indiretamente através dos excrementos de animais na hora do abate, através de excremento das pessoas ou de águas poluídas por dejetos (HOBBS e ROBERTS, 1999).

2.6.7 Fungos e Leveduras

Os principais gêneros de fungos isolados em silagens são *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Absidea*, *Monoascus*, *Scopulariopsis* e *Trichoderma*, onde o crescimento destes está associado a locais onde há penetração de ar durante a fase de armazenamento ou durante a fase de abertura do silo, no qual há maior difusão do oxigênio no material ensilado (EL-SHANAWANY et al., 2005). De acordo com Archundia e Bolsen (2001), os fungos se desenvolvem principalmente em ambientes com teor de umidade acima de 13%, umidade relativa acima de 70%, temperatura acima de 13°C, nutrientes prontamente disponíveis, pH maior que 5,0 e presença de O₂.

A presença de fungos causa redução no valor nutritivo e na palatabilidade da silagem em função da degradação de proteínas (ARCURI et al., 2003), e conseqüentemente, diminui a aceitabilidade do volumoso por parte dos animais. Alguns gêneros como *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, podem produzir micotoxinas e estas acarretarem danos à saúde e à produtividade dos animais quando ingeridas (MAHANNA, 1994). A formação de micotoxinas na forragem é determinada por uma série de fatores, como a presença de O₂,

estresse da planta, o estágio de desenvolvimento em que a cultura foi cortada, o tipo de solo e atividades sinérgicas ou antagônicas entre espécies de fungos (WOOLFORD, 1990).

As leveduras têm papel importante na deterioração da silagem quando exposta ao ar durante o descarregamento dos silos, ou por problemas de vedação inadequada (McDONALD, 1981). Outro fator importante em relação às leveduras é que podem crescer em uma ampla faixa de pH, de 3 a 8 (WOOLFORD, 1976), embora os valores ótimos para crescimento sejam de 3,5 a 6,5 (ARCHUNDIA e BOLSEN, 2001).

Sob condições aeróbias, as leveduras podem degradar ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico, cítrico, málico) e etanol, elevar o pH e criar condições para o crescimento de outros micro-organismos indesejáveis (McDONALD et al., 1991).

2.7 Perfil fermentativo

Segundo Van Soest (1994), a qualidade da silagem pode ser influenciada pelo processo fermentativo da massa, uma vez que durante a ensilagem, pode ocorrer redução do valor nutritivo pela respiração, fermentação aeróbia, processos de decomposição ou perdas de efluentes. Entre os diversos parâmetros que determinam a qualidade da fermentação, estão os teores de nitrogênio amoniacal, poder tampão e carboidratos solúveis.

2.7.1 Carboidratos solúveis

Os carboidratos solúveis são importantes substratos para boa fermentação da forragem. Segundo Haigh (1990), o conteúdo de carboidratos solúveis de uma forrageira é considerado como um parâmetro indicador da qualidade da forragem para ensilagem, sendo necessária uma concentração mínima de 2,5 a 3,0% na MS. Os principais carboidratos solúveis presentes nas forrageiras são glicose, frutose, galactose, frutanas e sacarose (WOOLFORD, 1984).

Deve-se considerar que os valores finais de carboidratos solúveis representam a soma dos carboidratos inicialmente presentes (açúcares redutores e a fração da amilose solúvel em água) e aqueles liberados durante o período de armazenamento da forragem, subtraídos do que foi fermentado. Porém, Ferlon et al. (1995) alertam que a maior disponibilização de açúcares para o processo fermentativo de silagens nem sempre é positiva, uma vez que há

possibilidade desses açúcares também favorecerem a produção de álcoois por leveduras, o que representa aumento de perda da matéria seca e da capacidade de putrefação da silagem após a abertura do silo e redução do consumo de silagem pelo animal.

Segundo Bergamaschine et al. (2006), as gramíneas forrageiras tropicais não apresentam teores adequados de MS, carboidratos solúveis e valores de poder tampão que proporcionem eficiente processo fermentativo, levando à perdas decorrentes da fermentação secundária, do efluente produzido e de deteriorações aeróbias, constituindo entraves na produção de silagens de gramíneas tropicais. Sendo assim, além do manejo adequado, a planta deve ser colhida com teor de umidade ideal para a ocorrência de compactação ótima da massa ensilada e manutenção dos nutrientes, bem como o teor de carboidratos solúveis suficiente para promover adequada fermentação láctica (PEREIRA et al., 2007).

2.7.2 Nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$)

O conteúdo de amônia nas silagens expresso como o percentual do nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total ($N-NH_3/NT$), indica a quantidade de proteína degradada durante a fase de fermentação (PIGURINA, 1991). Sua quantificação é utilizada como avaliação da qualidade do processo fermentativo em silagens, pois o seu conteúdo é um indicativo da presença de clostrídeos, uma vez que a produção desse composto é pequena por parte de outros micro-organismos presentes na silagem e enzimas da planta (McDONALD, 1981).

A degradação das proteínas ocorre durante a fermentação do material ensilado, e é resultado de condições ácidas insuficientes para que as bactérias indesejáveis sejam inibidas (McDONALD et al., 1991). O aumento da produção de amônia provocado pela proteólise neutraliza os ácidos desejáveis, interferindo diretamente na qualidade final do material ensilado (VAN SOEST, 1994), aliado ao valor de pH, a porcentagem de $N-NH_3/NT$ indica se a fermentação foi satisfatória (McDONALD et al., 1991).

De acordo com Henderson (1993), silagens entre e abaixo de 8 a 11% de $N-NH_3$ apresentam fermentação eficiente para a conservação do material ensilado, não ocorrendo hidrólise excessiva da proteína em amônia. Valores superiores a 15% de $N-NH_3$ significa hidrólise considerável de proteína (FARIA et al., 2007) e tais silagens são menos consumidas pelos animais.

2.7.3 Poder tampão

O poder tampão é definido como a capacidade da massa de forrageira em resistir às alterações de pH (JOBIM et al., 2007). A resistência à alteração do pH durante o processo de fermentação é devido à capacidade de tamponamento da planta, o qual é característica de cada forrageira e se altera com os seus estádios de maturação (MOISIO e HEIKONEN, 1994).

De acordo com Cherney e Cherney (2003), quando a massa a ser ensilada apresenta alto poder tampão a velocidade de queda do pH é lenta, aumentando as perdas durante o processo de ensilagem que por consequência reduz a qualidade do material final.

O poder de tamponamento de forrageiras é exercido por bases inorgânicas de potássio e cálcio, proteína, aminoácidos livres e por sua capacidade de produção de amônia (VAN SOEST, 1994). Aminoácidos básicos, aminas e amônia, produtos finais da degradação de proteína, impedem a rápida queda do pH da massa ensilada (McKERSIE, 1985).

2.8 Estabilidade aeróbia

A estabilidade aeróbia indica o tempo necessário para se verificar mudanças mensuráveis da temperatura, sendo esta altamente variável de poucas horas a semanas (SIQUEIRA et al., 2005). Normalmente, a quebra da estabilidade aeróbia é definida como o tempo necessário para que a massa da silagem, após a abertura do silo, apresente elevação de 1°C (DRIHEUIS et al., 2001) a 2°C (KUNG JR. et al., 2003) em relação à temperatura ambiente. Além da temperatura, de acordo com PITT et al. (1991) e PHILLIP e FELLNER (1992), a concentração de carboidratos solúveis, a população de fungos e a concentração de ácidos orgânicos em interação com o pH são os parâmetros que mais afetam a estabilidade das silagens.

Segundo Driehuis et al. (2001), quando a silagem é exposta ao ar, fermentações indesejáveis podem ocorrer, ocasionando elevação da temperatura do silo juntamente com o pH, redução da estabilidade aeróbia e a deterioração da forragem conservada mais rapidamente. Bernardes et al. (2005), afirmaram que a deterioração aeróbia em silagens de capins tropicais é caracterizada principalmente por bactérias aeróbias, em vez de fungos e leveduras, por estas apresentarem alto teor de umidade, reduzida acidez e baixa fonte de nutrientes disponíveis na massa ensilada.

2.9 Referências Bibliográficas

- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **ASTM D3985-05: Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor**. Philadelphia: ASTM, 2010. 7p.
- ANDRADE, C.M.S. **Produção de bovinos em pastagem irrigada**. Viçosa, MG: UFV, 2000. 23 p.
- ARAÚJO, K.G. **Características produtivas, nutricionais e fermentativas e cinética de trânsito de partículas de silagens de milho**. 2011. 59f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina.
- ARCHUNDIA, M.E.U.; BOLSEN, K.K. Aerobic deterioration of silage: processes and prevention. In: Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium. **Thrumpton Nottingham**, UK. 2001, p.127-144.
- ARCURI, P.B.; CARNEIRO, J.C.; LOPES, F.C.F. Microrganismos indesejáveis em forragens conservadas: efeito sobre o metabolismo de ruminantes. In: VOLUMOSOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES: VALOR ALIMENTÍCIO DE FORRAGENS, 2003, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal/SP: FUNEP, 2003, p.51-69.
- ASHBELL, G.; KASHANCI, Y. In silo losses from wheat ensiled in bunker silos in a subtropical climate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.40, p.95-103, 1987.
- BARNETT, A.J.G. **Silage fermentation**. New York: Academy Press, 1954. 208p.
- BERGAMASCHINE, A.F.; PASSIPIÉRI, M.; VERIANO FILHO, W.V. et al. Qualidade e valor nutritivo de silagens de capim-marandu (*B. brizantha* cv. Marandu) produzidas com aditivos ou forragem emurchecida. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1454-1462, 2006.
- BERNARDES, T.F. **Características fermentativas, microbiológicas e químicas do capim-Marandu (*Brachiaria brizantha* (Hoschst ex. A. Rich) Stapf cv. Marandu) ensilado com polpa cítrica peletizada**. 2003. 118f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; MOREIRA, A.L. Fermentative and microbiological profile of Marandu-grass ensiled with citrus pulppellets. **Scientia Agricola**, v.62, n.3, p.214-220, 2005.
- BERTO, J.L.; MÜHLBACH, P.R.F. Silagem de aveia preta no estágio vegetativo, submetida à ação de inoculantes e ao efeito do emurchecimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.4, p.651-658, 1997.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.6, p.2620-2629, 2010.

- BRAVO-MARTINS, C.E.C. **Identificação de leveduras envolvidas no processo de ensilagem de cana-de-açúcar e utilização de extratos vegetais como seus inibidores.** 2004. 148f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- CARR, F.J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The lactic acid bacteria: A literature survey. **Critical Reviews in Microbiology**, v.28, n.4, p.281-370, 2002.
- CHAMBERLAIN, A.T.; WILKINSON, J.M. **Feeding the dairy cow.** Lincoln: Chalcomb, 2000. 241p.
- CHERNEY, J.H.; CHERNEY, D.J.R. Assessing Silage Quality. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.; HARRISON, J. (Eds.) **Silage Science and Technology.** Madison: American Society of Agronomy, 2003. p.141-198.
- DANTAS, C.C.O.; NEGRÃO, F.M.; ZANINE, A. Produção de silagem de capim *Brachiaria decumbens*. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.4, n.37, p.1-18, 2010.
- DOMINGUES, J.L. Uso de volumosos conservados na alimentação de eqüinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, suppl, p.259-269, 2009.
- DONALD, A.S.; FENLON, D.R.; SEDDON, B. The relationships between ecophysiology, indigenous microflora and growth of *Listeria monocytogenes* in grass silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v.79, n.2, p.141-148, 1995.
- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, W.H.; VAN WIKSELAAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculant with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v.56, n.4, p. 330-343, 2001.
- EL-SHANAWANY, A.A.; MOSTAFA, M. E.; BARAKAT, A. Fungal populations and Mycotoxins in silage in Assuit and Sohag governorates in Egypt, with special reference to characteristic Asperigilli toxins. **Mycopathologia**, v.159, n.2, p.281-289, 2005.
- FARIA, D.J.G.; GARCIA, R.; PEREIRA, O.G et al. Composição químico-bromatológica da silagem de capim-elefante comníveis de casca de café. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.301-308, 2007.
- FENLON, D.R.; HENDERSON, A.R.; ROOKE, J.A. The fermentative preservation of grasses and forage crops. **Journal of Applied Bacteriology**, v.79, suppl., p.118-131, 1995.
- FENLON, D.R.; WILSON, J. The quantitative assessment of *Listeria monocytogenes* growth in a laboratory ensiling system allowing limited aerobic spoilage. **Grass and Forage Science**, v.53, n.3, p.292-295, 1998.
- GRIFFITH, R.W.; SCHWARTZ, K.J.; MAYERHOLTZ, D.K. *Salmonella*. IN: STRAW, B.E.; ZIMMERMAN, J.J.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D.J. **Disease of swine.** 9 ed., p.739-751, 2006.

- HAIGH, P.M. Effect of herbage water-soluble carbohydrate content and weather conditions at ensilage on the fermentation of grass silages made on commercial farms. **Grass and Forage Science**, v.45, n.3, p.263-271, 1990.
- HENDERSON, N. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, p.35-56, 1993.
- HOBBS, B.C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos**. São Paulo: Varela, 1999. 376p.
- JASTER, E. Fermentation principles of legume, grass forage examined. **Feedstuffs**, v.64, n.12, p.14-16, 1994.
- JOBIM, C.C.; GONÇALVES, G.D. Microbiologia de Forragens Conservadas. In: REIS, R.A; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R.; MOREIRA, A.L. (Ed.). **VOLUMOSOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES: VALOR ALIMENTÍCIO DE FORRAGENS**. 2003. Jaboticabal. **Anais...**, FUNESP. p.1-26. 2003.
- JOBIM, C.C.; GONÇALVES, G.D.; SANTOS, G.T. Qualidade sanitária de grãos e de forragens conservadas “versus” desempenho animal e qualidade de seus produtos. In: **SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS**, 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.242-261.
- JOBIM, C.C; NUSSIO, L.G; REIS, R.A. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suppl., p.101-119, 2007.
- 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 Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- KUNG JR., L.; TAYLOR, C.C.; LYNCH, M.P. et al. The effects of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.1, p.336–343, 2003.
- LIN, C.; BOLSEN, K.K.; BRENT, B.E. et al. Epiphytic microflora on alfalfa and whole-plant corn. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2484-2493, 1992.
- LOPES, J. **Qualidade da silagem de cana-de-açúcar elaborada com diferentes aditivos**. 2006. 98f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- LOURENÇO, A.R. **Avaliação econômica da implantação de um sistema de irrigação na recria de bovinos da raça nelore sob pastejo rotacionado**. 2012. 53f. Monografia (Bacharelado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Goiás, Anápolis.

- LUCATTO JUNIOR, A.J.; MELLO, S.P. Avaliação da silagem de capim-elefante cv. Napier (*Pennisetum purpureum*) com diferentes tipos de aditivos. **Nucleus**, v.5, n.2, p.1-16, 2008.
- MAHANNA, B. Proper management assures high-quality feeds. **Feedstuffs**, v.10, p.12-56, 1994.
- McDONALD, P. **The biochemistry of silage**. New York: John Wiley e Sons, 1981. 207p.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. New York: Chalcombe Publications, 1991. 339p.
- McKERSIE, B.D. Effect of pH on proteolysis in ensiled legume forage. **Agronomy Journal**, v.77, n.1, p.81-86, 1985.
- MOISIO, T.; HEIKONEN, M. Lactic acid fermentation in silage preserved with formic acid. **Animal Feed Science and Technology**, v.47, n.1, p.107-124, 1994.
- MUCK, R. E. Silage Inoculation: inoculation of silage and its effect son silage quality. In: CONFERENCE WITH DAIRY AND FORAGE INDUSTRIES, 1996, Madison. **Proceedings...** Madison-US, 1996.p.43-51.
- MUCK, R.E. SCHINNES, K.J. Conserved forages (silage and hay): Progress and priorities. In. INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS. XIX. 2001. São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: Brazilian Society of Animal Husbandry. 2001. p.753.-762.
- NERES, M.A.; ZAMBOM, M.A.; FERNANDES, T. et al. Microbiological profile and aerobic stability of Tifton 85 bermudagrass silage with different additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.42, n.6, p.381-387, 2013.
- OLIVEIRA, L.B.; PIRES, A.J.V.; CARVALHO, G.G.P. 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.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. Microbiology of ensiling. In: SILAGE SCIENCE AND TECHNOLOGY. Madison. **Proceedings...** Madison: ASCSSA-SSSA, Agronomy, v.42, p.31-93, 2003.
- PAILLAT, J.M.; GAILLARD, F. Air-tightness of wrapped bales and resistance of polythene stretch film under tropical and temperate conditions. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v.79, n.1, p.15-22, 2001.
- 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, 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.64-86.
- PEREIRA, O.G.; RIBEIRO, K.G.; PEREIRA, D.H. Produção e utilização de forragens conservadas. In: II Semana de Zootecnia da FAFEID, 2004, Diamantina. **Anais...** Diamantina. MG. 2004. p.75-118.

- 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.
- PHILLIP, L.E.; FELLNER, V. Effects of bacterial inoculation of high-moisture ear corn on its aerobic stability, digestion, and utilization for growth by beef steers. **Journal of Animal Science**, v.70, n.10, p.3178-3187, 1992.
- FIGURINA, G. Factores que afectan el valor nutritivo y localidad de fermentación de ensilajes. In: INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION AGROPECUÁRIA. (Ed). **Pasturas y producción animal de áreas ganadería intensiva**. Montevideo, 1991. p.77-92. (Serie Técnica, 15).
- 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, n.3, p.301-312, 1991.
- QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 470p.
- REGALADO, T.A.P. **Abordagem multivariada sobre o uso de tecnologia nas propriedades rurais do município de Pimenta Bueno – RO**. 2014. 54f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Camilo Castelo Branco, Descalvado.
- SÁ NETO, A. **Caracterização microbiológica, parâmetros fermentativos e estabilidade aeróbia em silagens de forragens tropicais com aditivos microbianos**. 2012. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- SÁ NETO, A. Microrganismos indesejáveis em silagem de cana-de-açúcar. 2009. 44f. Monografia (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- SANTOS, E.M.; ZANINE, A.M. Silagem de gramíneas tropicais. **Colloquium Agrariae**, v.2, n.1, p.32-45, 2006.
- SANTOS, J.P. **Utilização de filme de baixa permeabilidade ao oxigênio no revestimento das paredes de silos trincheira**. 2015. 55f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SAVOIE, P. Optimization of plastic covers for stack silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v.41, p.65-73, 1988.
- SHLECH, W.F. Pathogenesis and immunology of *Listeria monocytogenes*. **Pathologie Biologie**, v.44, p.775-782, 1996.
- SIQUEIRA, G.R.; BERNARDES, T.F.; REIS, R.A. Instabilidade aeróbia de silagens: efeitos e possibilidades de prevenção. In: Simpósio sobre volumosos na produção de ruminantes, 10, 2005, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 2005, p.25-60.
- TORTORA, G.J. **Microbiologia**. 6 ed. Porto Alegre, Artmed, 2002. 827 p.

- TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 8 ed. Porto Alegre, Artmed, 2005. 983p.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VITOR, C.M.T; FONSECA, D.M.; CÓSER, A.C. et al. Produção de matéria seca e valor nutritivo de pastagem de capim-elefante sob irrigação e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.3, p.435-442, 2009.
- WILCOCK, B.P.; SCHWARTZ, K.J. Salmonellosis. In: LEMAN, A.D. et al. **Diseases of swine**. 7ed. Ames: Iowa State University Press, 1993. p. 570-583.
- WOOLFORD, M.K. A preliminary investigation into the role of yeasts in the ensiling process. **Journal of Applied Bacteriology**, v.41, p.29-36, 1976.
- WOOLFORD, M.K. A review: The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v.68, p.101-116, 1990.
- WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker, p. 350, 1984.
- ZANETTE, P.M. **Efeito da inclusão de açúcar ou inoculante bacteriano na silagem de milho sobre perdas, valor nutricional, desempenho e eficiência econômica de novilhos confinados**. 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava.

3. PERFIL MICROBIOLÓGICO E VARIAÇÃO DA TEMPERATURA EXTERNA EM SILOS BAGS COM SILAGEM PRÉ-SECADA DE CAPIM TIFTON 85, COM DIFERENTES CAMADAS DE FILME DE POLIETILENO E TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil microbiológico e a variação da temperatura na camada externa de silos bags com silagem pré-secada de capim Tifton 85, com diferentes camadas de filme de polietileno e tempos de armazenamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas no tempo, com 4 repetições. Para avaliação microbiológica e da atividade de água (A_w), os tratamentos (duas e três camadas de envelopamento) foram alocados nas parcelas e os tempos de amostragem (30, 60 e 90 dias de armazenamento) nas subparcelas. Para estudo da variação de temperatura externa nos silos durante o armazenamento, foram alocados nas parcelas os estratos de avaliação (superfície, meio e base do silo) e nas subparcelas os tempos de avaliação (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 e 84 dias de armazenamento). Foram confeccionados silos de 400 kg cada, com uso de inoculante no enfardamento e estes armazenados no tempo, sendo após abertura colocados em galpão coberto. Verificou-se que o tempo de armazenamento e o número de camadas de filme de polietileno, não refletiram em alterações na população de *Clostridium*, bactérias ácido lácticas e nos valores de A_w . Houve um decréscimo na população de enterobactérias com o aumento do período de armazenamento em ambos os tratamentos. A população de *Bacillus* foi menor em silagens confeccionadas com três camadas de envelopamento ($3,63 \log \text{ UFC g}^{-1}$), aos 30 dias de abertura. Não houve crescimento de *Listeria* sp. e *Salmonella* sp. durante o período de armazenamento das silagens. O gênero de fungo de maior ocorrência em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 foi o *Penicillium*. Houve alteração da temperatura nos diferentes estratos de avaliação nos silos com duas camadas de envelopamento aos 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias e nos silos com três camadas de envelopamento aos 0, 7, 14, 21 e 35 dias de armazenamento. A temperatura na base e no meio dos silos com duas e três camadas de envelopamento aos 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 63 e 84 dias de ensilagem superaram os valores da temperatura ambiente, caracterizando o aquecimento da silagem durante o armazenamento.

Palavras-chave: conservação de forragens, *Cynodon* spp., filme plástico, micro-organismos

3. MICROBIOLOGICAL PROFILE AND EXTERNAL TEMPERATURE VARIATION IN SILO BAGS WITH PRE-DRIED SILAGE OF TIFTON 85 GRASS WITH DIFFERENT LAYERS OF POLYETHYLENE FILM AND STORAGE TIME

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the microbiological profile and the temperature variation in the external layer of silo bags, with pre-dried silage of Tifton 85 grass with different layers of polyethylene film and storage time. The trial design was completely randomized with a split plot in the weather, with 4 replications. For microbiological evaluation and the water activity (A_w), the treatments (two and three layers of involvement) were allocated in the plots and sampling times (30, 60 and 90 days of storage) in the subplots. For the study of temperature variation in silos during storage, the evaluation strata were allocated in the plots (surface, middle and silo base) and in subplots the evaluation times (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 and 84 days of storage). Silos of 400 kg have been made, with the use of inoculant in the baling and these ones stored in the weather, and after their opening were placed in a covered shed. It was found that the storage time and the number of layers of polyethylene film has not reflected in changes in the *Clostridium* population, lactic acid bacteria and A_w values. There was a decrease in the population of enterobacteria with the increasing of storage period in both treatments. The *Bacillus* population was lower in silages made with three layers of involvement ($3.63 \log \text{CFU g}^{-1}$), 30 days of opening. There was no growth of *Listeria* sp. and *Salmonella* sp. during the silage storage period. The fungus genre of greater occurrence in silage pre-dried of Tifton 85 grass was the *Penicillium*. There was alteration in temperature in the different strata of evaluation in silos with two layers of involvement at 0, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days and the silos with three layers of involvement at 0, 7, 14, 21 and 35 days of storage. The temperature at the base and in the middle of the silos with two and three layers of involvement at 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 63 and 84 days of ensiling exceeded the values of the ambient temperature, characterizing the heating of the silage during storage.

Keywords: *Cynodon* spp., forage conservation, microorganisms, plastic film

3.1 Introdução

A produção de silagem pré-secada é uma das alternativas para viabilização dos sistemas de produção de forragens conservadas nas condições tropicais, pois permite que o excedente da forragem produzida na estação chuvosa possa ser armazenada e utilizada como suplementação volumosa dos animais no período de entressafra forrageira. A técnica, além de reduzir os riscos de incidência de chuvas sobre o material cortado no campo durante a fase de secagem, permite o uso de equipamentos empregados no processo de fenação. Além disso, apresenta facilidade de transporte e comercialização, e constitui-se uma fonte de renda ao produtor.

A manutenção do ambiente da silagem em anaerobiose durante a fase de fermentação e armazenamento é extremamente importante para a preservação do valor nutritivo do material ensilado (GIMENES et al., 2006). Entretanto, a presença do oxigênio antes da abertura do silo favorece o crescimento de micro-organismos, que liberam energia na forma de calor pela atividade respiratória microbiana e pela fermentação da massa microbiana proporcionando a degradação do volumoso.

A deterioração da silagem, ocasionada por fungos, leveduras e bactérias aeróbias pode ser identificada pela elevação da temperatura, alteração no odor e aparecimento de mofo na massa ensilada (McDONALD et al., 1991). Como consequência da ação destes micro-organismos há prejuízos na qualidade nutricional e sanitária da silagem (BERNARDES, 2008), além do baixo consumo do volumoso e/ou a rejeição completa do alimento pelo animal.

Neste sentido, um dos requisitos para se produzir silagens de qualidade é limitar a quantidade de oxigênio, porém a propriedade (cor, espessura e composição) do filme de polietileno utilizado para envelopamento do silo pode afetar a permeabilidade dos gases (SNELL et al., 2002) e propiciar a deterioração aeróbia das silagens. Deste modo, o número de camadas do filme plástico utilizado na vedação dos silos é fundamental para impedir a penetração do oxigênio no material ensilado e assim controlar o crescimento de micro-organismos em silagens, como forma de maximizar as fermentações desejáveis, para obtenção de produtos estáveis e de melhor qualidade nutricional.

Sendo assim, objetivou-se avaliar o perfil microbiológico e a variação da temperatura na camada externa de silos bags com silagem pré-secada de capim Tifton 85, com diferentes camadas de filme de polietileno e tempos de armazenamento.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Localização

O experimento foi conduzido na fazenda experimental Antônio Carlos dos Santos Pessoa, pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *Campus* de Marechal Cândido Rondon, PR. Os silos foram adquiridos em uma propriedade produtora de pré-secado próxima à fazenda da UNIOESTE, localizada sob as coordenadas geográficas: latitude 24°33'40'' S, longitude 54°04'12'' W e altitude de 420m. De acordo com a classificação climática proposta por Köppen, o clima é Cfa - clima subtropical; temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C, com verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida (CAVIGLIONE et al., 2000). Os totais anuais médios de precipitação pluvial para a região variam de 1.600 a 1.800mm, com trimestre mais úmido apresentando totais que variam entre 400 a 500mm (IAPAR, 2006). Os dados climáticos referentes ao período experimental foram obtidos na Estação Meteorológica Automática localizada na fazenda experimental da UNIOESTE (Figura 1).

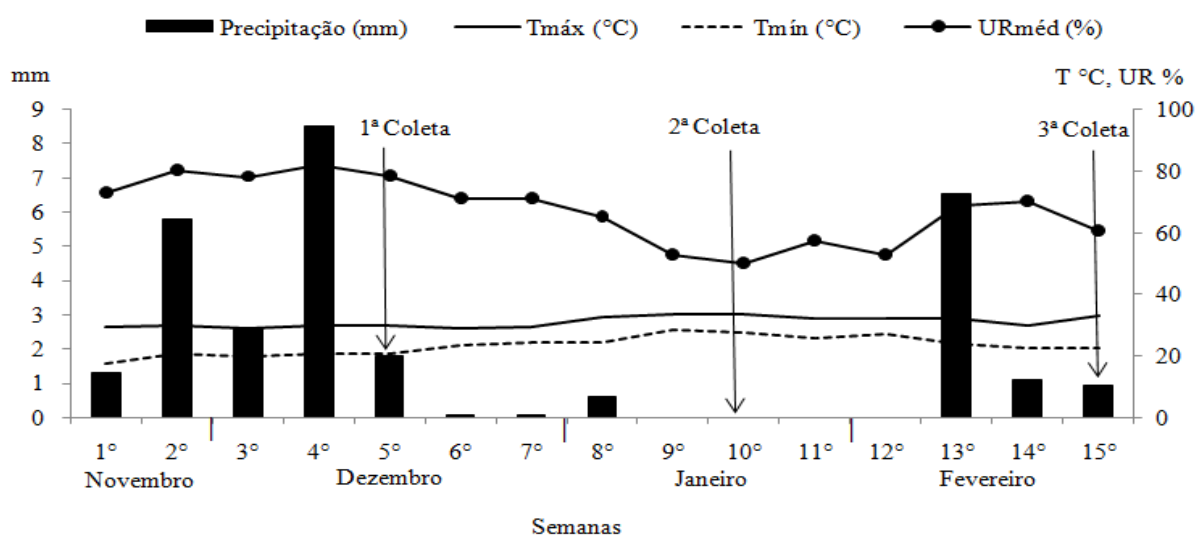


Figura 1. Médias semanais de temperatura máxima (Tmáx) e mínima (Tmín), umidade relativa média do ar (URméd) e precipitação pluviométrica para a região durante o período experimental

Fonte: Estação meteorológica da Fazenda Experimental da UNIOESTE, Marechal C. Rondon – PR, novembro/2014 a fevereiro/2015.

3.2.2 Área experimental

O solo experimental é caracterizado como Latossolo Vermelho eutrófico de textura argilosa (EMBRAPA, 2006), cujas características químicas e físicas foram determinadas através de amostragem realizada por ocasião da implantação do experimento nas profundidades de 0-20, 20-40 e 40-60 cm (Tabela 1).

Tabela 1. Características químicas e físicas do solo experimental

Atributo	Profundidades (cm)		
	0 - 20	20 - 40	40 - 60
pH (CaCl ₂)	5,24	5,45	5,47
P (mg dm ⁻³) ⁽¹⁾	33,72	32,11	42,66
K (cmol _c dm ⁻³) ⁽¹⁾	0,11	0,11	0,09
Ca (cmol _c dm ⁻³) ⁽²⁾	5,88	7,27	6,99
Mg (cmol _c dm ⁻³) ⁽²⁾	1,91	2,40	2,29
H + Al (cmol _c dm ⁻³) ⁽³⁾	4,65	4,43	4,26
SB (cmol _c dm ⁻³)	7,89	9,77	9,37
CTC (cmol _c dm ⁻³)	12,54	14,20	13,63
Matéria orgânica (g dm ⁻³)	23,10	24,61	22,83
V (%)	63,16	68,81	68,93
Al (%) ⁽²⁾	0,60	0,00	0,22
Fe (mg dm ⁻³) ⁽¹⁾	21,60	17,84	17,86
Mn (mg dm ⁻³) ⁽¹⁾	87,77	92,78	91,19
Cu (mg dm ⁻³) ⁽¹⁾	26,87	25,61	29,85
Zn (mg dm ⁻³) ⁽¹⁾	30,06	30,62	30,20
Areia (g kg ⁻¹)	58,82	50,55	44,32
Silte (g kg ⁻¹)	359,08	402,20	417,38
Argila (g kg ⁻¹)	554,80	547,25	538,30

⁽¹⁾ Extrator Mehlich⁻¹, ⁽²⁾ Extrator KCl 1 mol L⁻¹ e ⁽³⁾ pH SMP (7,5). Caracterizações químicas e físicas realizada pelo laboratório de Química Agrícola e Ambiental da UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon (PR).

A área utilizada para colheita da forragem e confecção das silagens foi estabelecida em 2006 com capim Tifton 85 (*Cynodon* sp.), e recebe periodicamente o biofertilizante suíno como única fonte de adubação proveniente de um biodigestor modelo Canadense, conforme Instrução Normativa nº 8 de 25 de Março de 2004, e a Instrução Normativa SDA nº 25 de 23 de Julho de 2009.

O biofertilizante é aplicado na superfície da área forrageira por aspersão, com equipamento acoplado ao trator, aos 07 e 14 dias de rebrota da forrageira sendo em média 60 m³ ha⁻¹ por aplicação. Foram coletadas amostras do biofertilizante utilizado na fertilização da área experimental para realização de análises químicas (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química do biofertilizante suíno utilizado como fertilizante na área experimental

N ⁽¹⁾	K ⁽²⁾	Ca ⁽²⁾	Mg ⁽²⁾	P ⁽³⁾	Zn ⁽²⁾	Mn ⁽²⁾	Fe ⁽²⁾	Cu ⁽²⁾
g kg ⁻¹	----- g L ⁻¹ -----				----- mg L ⁻¹ -----			
1,17	0,27	0,40	0,06	0,02	0,65	0,24	1,50	1,68

⁽¹⁾Método Kjeldahl ⁽²⁾Digestão nitroperclórica e leitura em espectrofotômetro de absorção atômica, modalidade chama ⁽³⁾Digestão nitroperclórica e leitura em espectrofotômetro UV-visível. Composição química realizada pelo laboratório de Química Agrícola e Ambiental da UNIOESTE – *Campus* de Marechal Cândido Rondon (PR).

3.2.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas no tempo, com 4 repetições. Para avaliação microbiológica e da atividade de água, os tratamentos (2 e 3 camadas de envelopamento) foram alocados nas parcelas e os tempos de amostragem (30, 60 e 90 dias de armazenamento) nas subparcelas. Para estudo da variação de temperatura externa nos silos durante o armazenamento, foram alocados nas parcelas os estratos de avaliação (superfície, meio e base do silo) e nas subparcelas os tempos de avaliação (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 e 84 dias de armazenamento).

3.2.4 Ensilagem e armazenamento

O corte do capim Tifton 85 foi realizado no dia 17/11/2014 às 15h30min, quando a forrageira encontrava-se com idade fisiológica equivalente a 35 dias de crescimento e teor de matéria seca (MS) de 296,00 g kg⁻¹. O capim foi ceifado com uma segadora condicionadora com batedores de dedos livres de ferro, ajustada a uma altura de corte de 05 cm do solo.

O material foi submetido ao emurchecimento visando obter teores crescentes de matéria seca na ensilagem. As condições climáticas predominantes no dia do corte ao enfardamento foram com temperaturas médias de 22,9°C e umidade relativa média do ar em torno de 57%. Após 17h30m de exposição ao tempo, ao atingirem 540,15 g kg⁻¹ de MS (18/11/2014 às 11:00hs), a forrageira foi enfardada em forma de rolos (400 kg cada), com aproximadamente 100 cm de altura e 150 cm de diâmetro, mediante o uso de enfardadeira. Imediatamente, os rolos foram envelopados automaticamente com duas e três camadas de filme de polietileno em multicamadas (stretch) branco leitoso, com 25 µm de espessura.

A forragem foi aditivada com inoculante comercial BactoSilo[®] AMS (alta concentração matéria seca) no momento do enfardamento através de recipiente acoplado a enfardadeira, apresentando em sua composição *Lactobacillus buchnerie* *Propionibacterium acidipropionici*, com concentração aproximada de 20×10^9 e 30×10^9 UFC g⁻¹, respectivamente. A aplicação do inoculante foi realizada segundo as recomendações do fabricante. Os rolos de silagem pré-secada foram armazenados na fazenda experimental da UNIOESTE em condições de campo, expostos as intempéries. Após abertura, os silos permaneceram durante quatro dias em galpão de alvenaria com cobertura à temperatura ambiente, e abertos para aeração.

3.2.5 Parâmetros analisados

3.2.5.1 Quantificação populacional microbiana e atividade de água

Foram coletadas amostras da serapilheira depositada sobre a área experimental, do capim no momento do corte e enfardamento e das silagens aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento. Estas foram submetidas a procedimentos laboratoriais para a quantificação da população microbiológica no Laboratório de Inspeção e Controle de Qualidade de Alimentos e Água (LACOMA), do Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná – *Campus* de Palotina e no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica da UNIOESTE.

As populações de bactérias e fungos foram determinadas em duplicata por meio de técnicas de culturas segundo Silva et al. (1997), utilizando os seguintes meios: *Lactobacillus* MRS Broth para contagem de bactérias ácido lácticas (BAL), mantendo-se as placas em incubação a 30°C por 48 horas; Violet Red Bile Agar para contagem de enterobactérias, mantendo-se as placas em incubação a 36°C por 24 horas; Reinforced Clostridial Agar para contagem de *Clostridium*, com incubação das placas por 24 horas em estufa com sistema de gás carbônico a 36°C; Potato Destrose Ágar para contagem de fungos e leveduras, com incubação das placas a temperatura ambiente por sete dias. O isolamento do *Bacillus* foi realizado conforme Speck (1984), utilizando-se o meio ágar nutriente com incubação das placas por 72 horas em estufa a 30°C. As análises microbiológicas de *Listeria* sp. e

Salmonella sp. foram baseadas na Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Após o período de incubação as colônias foram contadas, utilizando-se um contador de colônias Quebec, sendo passíveis de serem contadas as placas que apresentaram entre 30 e 300 UFC (Unidade Formadora Colônia) por placa de Petri e os resultados foram expressos em log de UFC g⁻¹.

Para avaliar a atividade de água (Aw), foi utilizado o aparelho medidor de atividade de água (Aqualab Lite) por medida direta nas amostras trituradas da serapilheira, do capim no momento do corte e das silagens aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

3.2.5.2 Temperatura dos silos

Durante a ensilagem do material, foram realizadas mensurações da temperatura aos 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 e 84 dias de armazenamento. As temperaturas foram aferidas às 13horas (horário de verão) de cada período de avaliação em três estratos (superfície, meio e base) dos silos, com auxílio de um termômetro infravermelho digital com mira a laser, precisão de 2%, AKSO[®] (modelo AK32).

3.2.6 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e às médias comparadas pelo teste de Tukey em nível 5% de probabilidade de erro. Na contagem e identificação dos gêneros dos fungos e leveduras foram calculadas as médias e estas submetidas à análise descritiva dos dados, por meio de gráficos. As variações de temperatura foram estudadas no tempo por meio de regressão.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Atividade de água e quantificação populacional microbiana

A atividade de água não foi afetada ($P>0,05$) pelo número de camadas de envelopamento e período de armazenamento (Tabela 3). Segundo JOBIM et al. (2007), a determinação da A_w assume grande importância na qualidade fermentativa e na atividade microbiológica das silagens, pois ela indica o teor de água livre do alimento, sendo a única forma de água possível de utilização pelos micro-organismos (CASTRO et al., 2006). No entanto, o comportamento microbiano frente à A_w é extremamente variável, dependendo da espécie ou da cepa considerada, do substrato no qual se encontra e da relação entre a A_w e os outros fatores intrínsecos ou extrínsecos (LEITÃO, 1997).

Segundo Araújo et al. (2005), o desenvolvimento microbiano ocorre em intervalo da atividade de água de 0,60 a 0,99; sendo que a A_w ideal para o crescimento se situa entre 0,90 e 0,99; abaixo desses valores, o crescimento é moderado, retardado ou inibido. Desta forma, os micro-organismos têm sua atividade largamente afetada pela A_w , sendo que neste estudo foram observados valores variáveis de A_w de 0,93 a 0,97 nas diferentes camadas de envelopamento durante todos os períodos, o que não interferiu no desenvolvimento de micro-organismos ao longo do processo fermentativo.

Tabela 3. Atividade de água (A_w) em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

	A_w					
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	0,962	0,934	0,948	0,948a	4,13	2,86
3 camadas	0,955	0,947	0,970	0,957a		
Média	0,959A	0,940A	0,959A			

CV1(%) e CV2(%) = coeficientes de variação da parcela e subparcela. Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Castro et al. (2006), ao avaliarem silagens de capim Tifton 85 confeccionadas com e sem aditivo bacteriano-enzimático e ácido propiônico tamponado após 32 dias de ensilagem, observaram valores médios da atividade de água de 0,89; 0,88 e 0,8, respectivamente, resultados estes inferiores aos obtidos neste trabalho.

De acordo com McDonald et al. (1991) e Leitão (1997), o incremento no teor de matéria seca (MS) reduz a atividade de água nas silagens, entretanto, os teores de MS das silagens (539,15 e 549,58 g kg⁻¹ de MS para duas e três camadas de envelopamento, respectivamente) obtidos neste estudo, contrapõe-se a tendência comum na literatura de redução da Aw associada a aumento do teor de MS.

Avaliando-se a atividade de água no capim, na serapilheira e nas silagens, constatou-se que houve diferença (P<0,05) somente em dois momentos da avaliação, antes do corte, onde foram observados valores de Aw de 1,010 e na serapilheira com Aw de 0,791 (Tabela 4). Sendo estes o maior e o menor valor para a Aw, respectivamente. Desta forma, a pré-secagem do material ensilado proporcionou a diminuição da atividade de água, porém em níveis não satisfatórios capazes de impedir o crescimento microbiano.

Tabela 4. Atividade de água (Aw) e população de bactérias (log UFC g⁻¹) presentes no capim Tifton 85 antes do corte e no enfardamento, na serapilheira e na silagem envelopada com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30 dias de armazenamento.

	Corte	Enf.	Serapilheira	2 camadas	3 camadas	CV (%)
Aw	1,010a	-	0,791c	0,962b	0,955b	1,66
<i>Clostridium</i>	4,40b	5,70a	5,91a	6,21a	5,75a	9,28
Enterobactérias	4,05b	4,08b	5,44a	3,92b	3,70b	8,33
BAL	3,97c	5,55b	5,83ab	6,43a	5,98ab	6,94
<i>Bacillus</i>	3,63b	4,64ab	4,08ab	5,08a	3,63b	13,26
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência	-	Ausência	Ausência	Ausência	
<i>Listeria</i> sp.	Ausência	-	Ausência	Ausência	Ausência	

CV(%) = coeficientes de variação. BAL = Bactérias ácido lácticas. Enf. = Enfardamento. Médias seguidas por letras minúsculas distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

A população de *Clostridium* apresentou uma redução significativa (P<0,05), somente na amostragem do corte (Tabela 4), sendo que a constatação da elevação de bactérias clostrídicas nos demais pontos de amostragens esteve relacionada provavelmente, à contaminação da forragem e da serapilheira pelo solo durante os processos de revolvimento e enfardamento, uma vez que o número desses micro-organismos nas plantas verdes é geralmente baixo (McDONALD et al., 1991).

Wobeto (2014), ao quantificar a população de enterobactérias em fenos de capim Tifton 85 sob duas alturas de corte (4 e 8 cm), constatou maior população de enterobactérias no corte aos 4 cm, devido à proximidade da forrageira ao solo e do sistema de enfardamento remover e incluir parte deste solo e serapilheira junto ao feno enfardado. No presente estudo, a serapilheira apresentou a maior população de enterobactérias (P<0,05) (Tabela 4), o que

possivelmente pode ter contribuído para a contaminação das silagens de acordo com a literatura anterior citada.

A população de BAL apresentou diferença ($P < 0,05$) entre os pontos de amostragens (Tabela 4), sendo que no corte obtiveram-se as menores quantidades de BAL. Segundo Lin et al. (1992), o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas aumenta após o corte e picagem da forragem - comportamento semelhante ao observado no presente trabalho.

A população de *Bacillus* foi superior ($P < 0,05$) nas silagens confeccionadas com 02 camadas de envelopamento (Tabela 4), sendo indesejável seu desenvolvimento em silagens pois, estão frequentemente envolvidas na deterioração inicial deste volumoso (McDONALD et al., 1991).

Observou-se ausência de *Salmonella* sp. e *Listeria* sp. nos diferentes pontos de amostragens (Tabela 4), descartando a possibilidade de focos de contaminação na área de produção do capim Tifton 85 e nas silagens pré-secadas avaliadas. Entretanto, a contaminação da forragem por micro-organismos patogênicos também pode ser ocasionada através de equipamentos, manipuladores, roedores, insetos ou pela contaminação cruzada com outro alimento (CARDOSO e CARVALHO, 2006).

O desenvolvimento de *Clostridium* e bactérias ácido-lácticas não mostraram variações entre tratamentos ($P > 0,05$), tendo como média geral 5,93 e 6,01 log UFC g⁻¹, respectivamente (Tabela 5). Os resultados encontrados corroboram parcialmente aos obtidos por Avila (2015), que ao avaliar silagens de Tifton 85 com adição de inoculante, casca de soja e resíduo de beneficiamento de milho em diferentes tempos de armazenamento (15, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias) observou maior população de BAL aos 15 dias de armazenamento, sendo que os valores variaram entre 7,07 e 7,72 log UFC g⁻¹, enquanto que a população de *Clostridium* variou entre 5,30 e 6,06 log UFC g⁻¹ ao longo do período experimental. As BAL são responsáveis pela produção do ácido láctico, tido como fundamental para uma boa conservação da silagem, porém para que elas tenham êxito em preservar a silagem, estas devem superar a população epifítica da forragem, tornando-se a população dominante no ambiente (TOLEDO FILHO, 2010).

A população de enterobactérias apresentou interação entre o número de camadas de envelopamento e tempo de armazenamento (Tabela 5). Houve um decréscimo significativo na população de enterobactérias ($P < 0,05$) com o aumento do período de armazenamento em ambos os tratamentos, devido à redução do pH durante o período de estocagem, uma vez que o desenvolvimento desses micro-organismos são inibidos em pH abaixo de 4,5 (STEFANIE et al., 2000). O desenvolvimento de enterobactérias não foi afetado ($P > 0,05$) pelo número de

camadas de envelopamento. O desenvolvimento desse micro-organismo é indesejável em silagens (COAN et al., 2007), pois causa degradação das proteínas e realiza fermentação secundária, utilizando o ácido láctico e produzindo compostos, como os ácidos acético e butírico, prejudicando a conservação e reduzindo a aceitabilidade da silagem pelos animais (SANTOS, 2012).

A população de *Bacillus* nas silagens com 2 e 3 camadas de envelopamentos aos 60 e 90 dias não apresentou diferença ($P>0,05$) entre o número de camadas de envelopamento, exceto aos 30 dias de armazenamento onde silagens com 2 camadas de envelopamento tiveram maior população de *Bacillus* (Tabela 5). Em silagens confeccionadas com 3 camadas de envelopamento ocorreu diferença ($P<0,05$) na população de *Bacillus* entre os tempos de armazenamento porém, silagens com 2 camadas de envelopamento não apresentaram variação.

A deterioração aeróbia em silagens de gramíneas tropicais é ocasionada principalmente por bactérias aeróbias (BERNARDES et al., 2005) como o gênero *Bacillus*, sendo que a contaminação das silagens por esse gênero ocorre principalmente pelo carregamento de terra para dentro dos silos ou através da utilização de dejetos como fertilizante na lavoura (NOVINSKI, 2013). Entretanto, Wobeto (2014) afirma que ocorre diminuição na população de micro-organismos ao longo do sistema de tratamento do dejetos *in natura* para o biofertilizante, dando indícios de que a utilização de biofertilizante como fonte de adubação em áreas de produção de capim não é precursor de contagens elevadas de micro-organismos nos volumosos conservados produzidos.

No momento da abertura dos silos observou-se ausência de *Salmonella* sp. e *Listeria* sp. nas amostras analisadas (Tabela 5). Estes resultados diferiram dos obtidos por Schocken-Iturrino et al. (2005), que observaram no momento da abertura dos silos presença de *Listeria* sp. em 65,6% das amostras de silagem de capim Tifton 85. O desenvolvimento de *Salmonella* sp. e *Listeria* sp. está diretamente ligado ao pH da silagem, observando-se inibição do crescimento de *Listeria* sp. em pH próximo a 5,2 (SCHOCKEN-ITURRINO et al., 2005) e crescimento de *Salmonella* sp. em pH próximo de 7,0 (NAUIACK, 2006).

Tabela 5. População de bactérias no momento da abertura de silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

<i>Clostridium</i> (log UFC g ⁻¹)						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	6,21	5,82	5,95	5,99a	9,67	6,57
3 camadas	5,75	5,88	5,99	5,87a		
Média	5,98A	5,85A	5,97A			
Enterobactérias (log UFC g ⁻¹)						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	3,92aA	3,30aB	2,01aC	3,08	9,47	8,69
3 camadas	3,70aA	3,44aA	2,01aB	3,05		
Média	3,81	3,37	2,01			
Bactérias ácido lácticas (log UFC g ⁻¹)						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	6,43	5,67	6,08	6,06a	8,24	7,20
3 camadas	5,98	6,10	5,83	5,97a		
Média	6,21A	5,89A	5,96A			
<i>Bacillus</i> (log UFC g ⁻¹)						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	5,08aA	4,27aA	4,61aA	4,65	14,17	14,81
3 camadas	3,63bB	5,03aA	4,90aA	4,52		
Média	4,36	4,65	4,76			
<i>Salmonella</i> sp. (25g)						
	30 dias	60 dias	90 dias			
2 camadas	Ausência	Ausência	Ausência			
3 camadas	Ausência	Ausência	Ausência			
<i>Listeria</i> sp. (25g)						
	30 dias	60 dias	90 dias			
2 camadas	Ausência	Ausência	Ausência			
3 camadas	Ausência	Ausência	Ausência			

CV1(%) e CV2(%) = coeficientes de variação da parcela e subparcela. Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Os gêneros de fungos encontrados na serapilheira e na forragem antes da ensilagem (corte e enfardamento) foram *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Bipolaris*, *Rhizoctonia*, além de uma quantidade elevada de leveduras (Figura 2). Na forrageira antes do corte observou-se menor quantidade de fungos, porém maior população de levedura quando comparado ao enfardamento e serapilheira, o que pode ter favorecido a deterioração, alterando a estabilidade aeróbia do pré-secado.

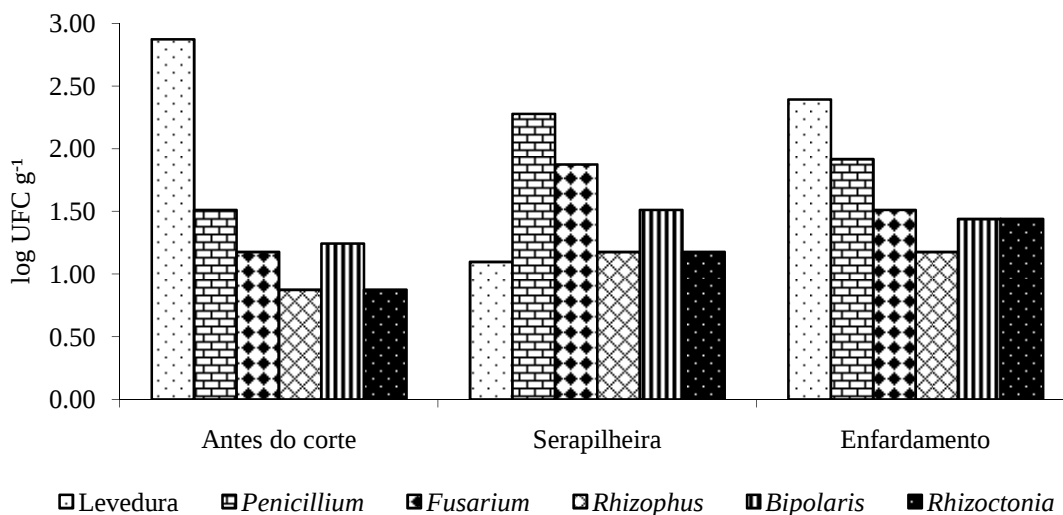


Figura 2. Levedura e gêneros de fungos na serapilheira depositada na área de produção do pré-secado e no capim Tifton 85 antes do corte e no enfardamento.

Resultados semelhantes foram encontrados por Mufatto et al. (2016), ao quantificar a população fúngica na serapilheira depositada sobre área de crescimento de plantas de capim Tifton 85, verificaram diversos micro-organismos, prevalecendo dentre eles os mesmos gêneros quantificados no presente estudo. Ames et al. (2015), ao avaliarem o capim-Tifton 85 antes do corte para fenação, quantificaram maior população fúngica pertencente ao gênero *Phoma* e *Fusarium*, porém valores estes inferiores a 30 UFC g⁻¹.

A contagem total de fungos (log UFC g⁻¹) na abertura dos silos, não foi influenciada (P<0,05) pelo número de camadas de envelopamento e tempos de armazenamento (Tabela 6), sendo que o aparecimento de fungos foi bem esporádico aos 30 e 60 dias de armazenamento, não atingindo contagem superiores a 30 UFC g⁻¹ silagem nas diluições estudadas.

Tabela 6. População de fungos em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

Total de Fungos (log UFC g ⁻¹)						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	3,39	5,40	6,44	5,08a	91,54	46,83
3 camadas	5,25	4,75	8,98	6,33a		
Média	4,32A	5,08A	7,71A			

CV1(%) e CV2(%) = coeficientes de variação da parcela e subparcela. Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Os gêneros de fungos encontrados nas silagens foram *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Rhizophus*, *Bipolaris*, sendo que os dois primeiros apresentaram maior ocorrência na maioria das silagens nos diferentes tempos de armazenamento (Figura 3 e 4). Resultados semelhante foram obtidos por Schocken-Iturrino et al. (2005), ao quantificar a população fúngica em silagens de capim Tifton 85 no momento da abertura dos silos após 80 dias de ensilagem, constataram predominância dos gêneros *Penicillium* e *Fusarium*.

Avaliando-se a presença de fungos nas silagens com 2 camadas de envelopamento, observa-se de uma maneira geral maior ocorrência de fungos e leveduras nas silagens após 60 dias de armazenamento, o que pode estar associado ao elevado pH registrados neste período (Figura 3). Na abertura dos silos aos 30 dias, houve maior população de fungos *Penicillium* e aos 60 e 90 dias destacam-se com maior ocorrência o gênero *Fusarium*.

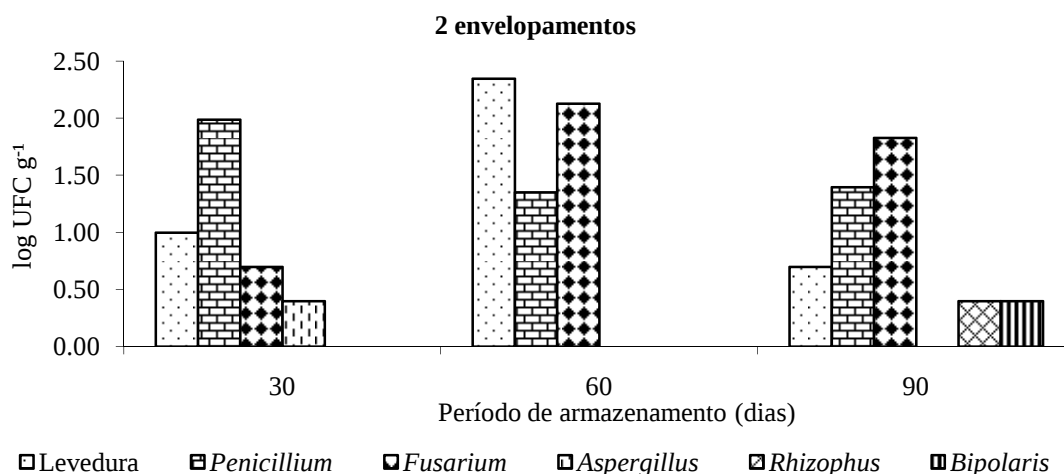


Figura 3. Levedura e gêneros de fungos após abertura aos 30, 60 e 90 dias de fermentação anaeróbia das silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com duas camadas de filme de polietileno.

Aos 90 dias de armazenamento dois novos gêneros de fungos foram identificados na silagem pré-secada com duas camadas de envelopamento, o *Rhizophus* e *Bipolaris*. Estes gêneros são vulgarmente encontrados em silagens sendo responsáveis pela sua deterioração aeróbia (SILVA, 2012; VITORINO, 2011).

Nas silagens com 3 camadas de envelopamento, houve maior população de levedura aos 30 e 60 dias e de fungos aos 90 dias de armazenamento. A maior população de fungos *Penicillium* ocorreu aos 30 dias e *Fusarium* aos 60 e 90 dias de ensilagem (Figura 4).

Os gêneros patogênicos como *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* são os mais encontrados em silagens (SANTOS et al., 2013). Estes fungos necessitam de temperatura acima de zero, umidade acima de 20% e de oxigênio para se desenvolverem (MUCK e SHINNES, 2001), sendo dominantes na capacidade de produção de toxinas, podendo acarretar prejuízos à saúde dos animais quando ingeridas (MAHANNA, 1994) e de pessoas ao manusear o alimento volumoso, além de causar alteração na composição química da silagem (MOSER, 1995).

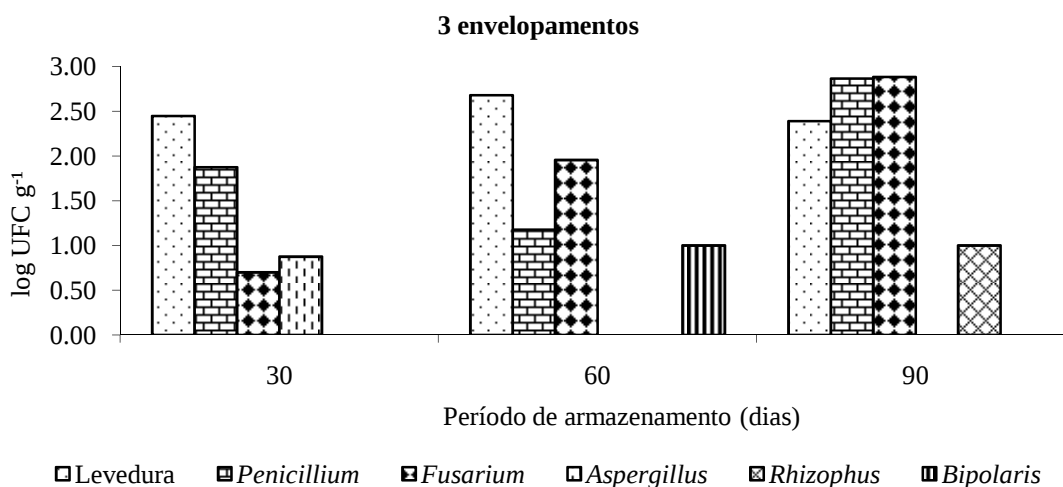


Figura 4. Levedura e gêneros de fungos após abertura aos 30, 60 e 90 dias de fermentação anaeróbia das silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com três camadas de filme de polietileno.

3.3.2 Temperatura dos silos

Houve alteração da temperatura nos diferentes estratos de avaliação nos silos com 2 camadas de envelopamento ($P < 0,05$), ocorrendo interação ($P < 0,05$) com os tempos de armazenamento (Figura 5). As diferenças entre os estratos de avaliação nos silos foram

variáveis em cada tempo, exceto aos 49, 56, 63, 70, 77 e 84 dias de ensilagem onde não foram observadas diferenças ($P>0,05$).

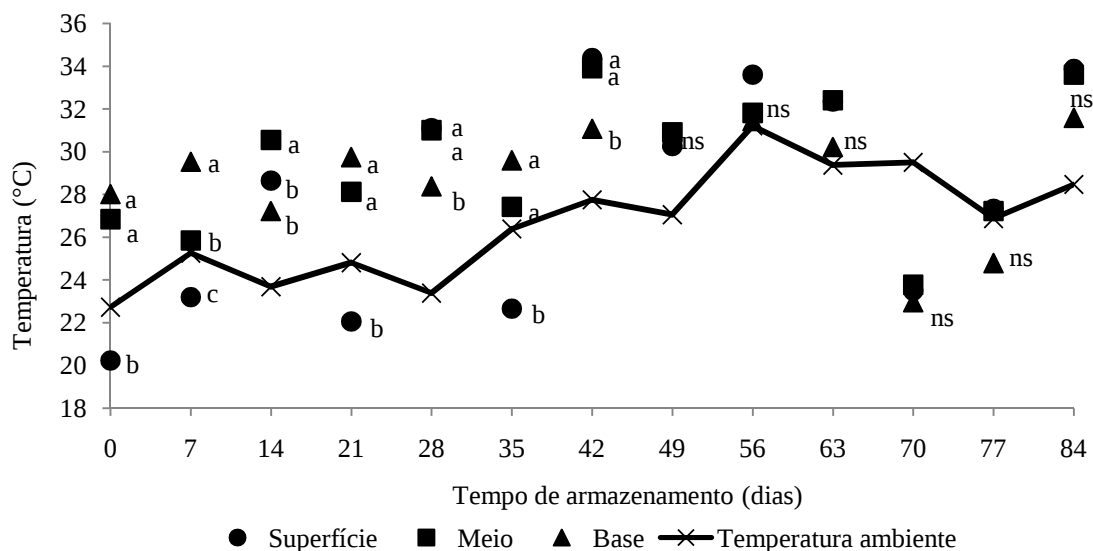


Figura 5. Temperatura (°C) em diferentes estratos de avaliação nas silagens pré-secadas de capim Tifton 85 com 2 camadas de envelopamento, durante 90 dias de armazenamento.

Houve interação entre os estratos de avaliação e os tempos de armazenamento ($P<0,05$), para temperatura nos silos com 3 camadas de envelopamento (Figura 6). As maiores temperaturas foram registradas na base e no meio dos silos ($P<0,05$) aos 0, 7, 21 e 35 dias de ensilagem. Aos 28, 42, 49, 56, 63, 70, 77 e 84 dias de armazenamento, não ocorreram diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos. O estudo da regressão para temperatura em função do tempo não foi significativo para silagens com 2 e 3 camadas de envelopamento.

A elevação da temperatura na base pode estar relacionada à estocagem dos silos sobre o solo, onde ocorre o aquecimento da camada inferior pelo reflexo dos raios solares sobre o solo e pelos níveis de umidade desenvolvidos na base do fardo, que são absorvidos em pequena quantidade do solo. Entretanto, as altas temperaturas registradas na camada central do silo são atribuídas à baixa condutividade térmica da massa ensilada, que mantém por longo período o calor desenvolvido durante as primeiras fases de fermentação (BERNARDES, 2006).

Os resultados obtidos evidenciam que a temperatura na base e no meio dos silos com 2 e 3 camadas de envelopamento aos 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 63 e 84 dias de ensilagem superaram os valores da temperatura ambiente, caracterizando o superaquecimento da silagem durante o armazenamento.

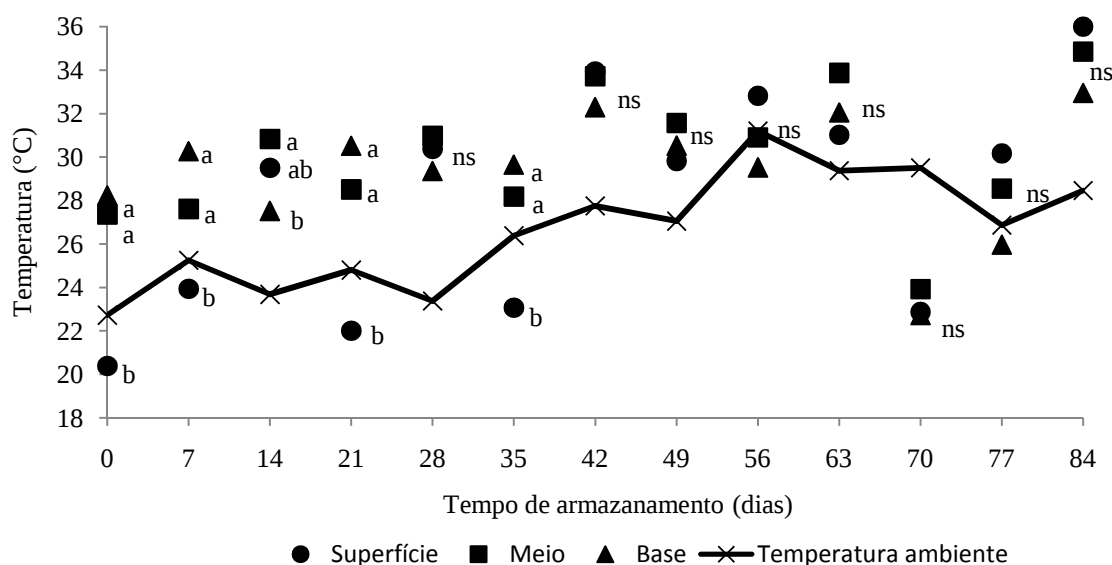


Figura 6. Temperatura (°C) em diferentes estratos de avaliação nas silagens pré-secadas de capim Tifton 85 com 3 camadas de envelopamento, durante 90 dias de armazenamento.

Os resultados obtidos neste trabalho diferem dos observados por Bispo (2013), ao avaliar a temperatura do painel em silagens de milho armazenadas em silo trincheira, observou que a região central dos silos apresentou menor temperatura que o topo central e topo lateral, que foram semelhantes entre si. Snell et al. (2002), utilizando 5 tipos de plástico (branco/90 μm ; transparente/150 μm ; branco/150 μm ; preto/150 μm ; e branco/200 μm) obtiveram diferenças na temperatura logo abaixo do filme plástico em silagem de milho, onde filmes mais escuros e mais finos resultaram em maiores temperaturas.

Borreani e Tabacco (2010) afirmam que há uma correlação direta entre a temperatura e a qualidade da silagem, tanto que utilizam a elevação da temperatura como parâmetro para verificar o aumento da deterioração aeróbica em silagens. Sendo que a silagem é considerada deteriorada quando no mínimo 10% da superfície do painel apresenta temperatura superior a 10°C em relação a temperatura da região central do silo, ou quando apresenta fungos visíveis nas camadas periféricas próximas às paredes laterais (BORREANI e TABBACO, 2009).

3.4 Conclusões

Silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com duas camadas de filme de polietileno apresentaram maior população de enterobactérias e *Bacillus* aos 30 dias de

abertura. Os fungos de maior ocorrência nas silagens foram do gênero *Penicillium* e *Fusarium*.

Silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com duas e três camadas de filme de polietileno apresentaram maiores valores de temperatura na base e no meio dos silos.

3.5 Referências Bibliográficas

- AMES, J.P.; NERES, M.A.; CASTAGNARA, D.D. et al. Aspectos relacionados à produção e armazenamento do feno de Tifton 85 com sobressemeadura de aveia branca IPR 126 e Guapa. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.1, p.341-352, 2015.
- ARAÚJO, L.F.; OLIVEIRA, L.S.C.; NETO, A.P. Equilíbrio higroscópico da palma forrageira: Relação com a umidade ótima para fermentação sólida. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.3, p.379-384, 2005.
- AVILA, A.S. **Silagem de Tifton 85 na alimentação de vacas em lactação**. 2015. 68f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- BERNARDES, T.F. **Controle de deterioração aeróbia de silagens**. 2006. 116f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Júlio Mesquita, Jaboticabal.
- BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; AMARAL, R.C. et al. Perfil fermentativo, estabilidade aeróbia e valor nutritivo de silagens de capim-Marandu ensilado com aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.10, p.1728-1736, 2008.
- BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; MOREIRA, A.L. Fermentative and microbiological profile of Marandu-grass ensiled with citrus pulp pellets. **Scientia Agricola**, v.62, n.3, p.214-220, 2005.
- BISPO, A.W. **Qualidade de silagens de milho confeccionadas com diferentes filmes de vedação e desempenho produtivo de vacas em lactação**. 2013. 116f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. Temperature measurements of large scale silo face to assess aerobic deterioration of corn silage on farm. In: THE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, São Pedro. **Proceeding...**São Pedro, 2009.p.175-187.
- BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.6, p.2620-2629, 2010.

- CARDOSO, T.G.; CARVALHO, V.M. Toxinfecção alimentar por *Salmonella* spp. **Revista do Instituto da Ciência da Saúde**, v.24, n.2, p.95-101, 2006.
- CASTRO, F.G.F.; NUSSIO, L.G.; HADDAD, C.M. et al. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-tifton 85 (*Cynodon* sp.) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.358-371, 2006.
- CAVIGLIONE, J.H.; KIIHL, L.R.B.; CARAMORI, P.H. et al. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina : IAPAR, 2000. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>>. Acesso em: 15/11/2015.
- COAN, R.M.; REIS, R.A.; GARCIA, G.R. et al. Dinâmica fermentativa e microbiológica de silagens dos capins tanzânia e marandu acrescidas de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1502-1511, 2007.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2006. 306p.
- GIMENES, A.L.G.; MIZUBUTI, I.Y.; MOREIRA, F.B. et al. Composição química e estabilidade aeróbia em silagens de milho preparadas com inoculantes bacteriano e/ou enzimático. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.28, n.2, p.153-158, 2006.
- INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ - IAPAR. **Cartas climáticas do Paraná**. 2006. Disponível em: <http://200.201.27.14/Site/Sma/Cartas_Climaticas/Classificação_Climaticas.htm>. Acesso em: 29/11/2015.
- JOBIM, C.C; NUSSIO, L.G; REIS, R.A. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suppl., p.101-119, 2007.
- LEITÃO, M.F.F. Atividade de água e alterações microbiológicas dos alimentos. In: JARDIM, D.C.P.; GERMER, S.P.M. (Eds.) **Atividade de água em alimentos**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1997. p.1-18.
- LIN, C.; BOLSEN, K.K.; BRENT, B.E. et al. Epiphytic microflora on alfalfa and whole-plant corn. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2484-2493, 1992.
- MAHANNA, B. Proper management assures high-quality feeds. **Feedstuffs**, v.10, p.12-56, 1994.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. New York: Chalcombe Publications, 1991. 339p.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Instrução Normativa nº. 8, de 25 de março de 2004. Proíbe em todo o território nacional a produção, a comercialização e a utilização de produtos destinados à alimentação de

ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal. **Diário Oficial da União**, de 26 de março de 2004, Seção 1, p.1. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=178957228>> Acesso em: 10/02/2016.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Instrução Normativa nº. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, de 18 de setembro de 2003. Seção 1, p. 44. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacaovisualizar&id=2851>>. Acesso em: 11/02/2016.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Instrução Normativa nº. 25, de 23 de julho de 2009. Normas sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes orgânicos simples, mistos, compostos, organominerais e biofertilizantes destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**, de 28 de julho de 2009. Seção 1, p. 18. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao>>. Acesso em: 10/02/2016.

MOSER, L.E. Post-harvest physiological changes in forage plants. In: POST-HARVEST PHYSIOLOGY AND PRESERVATION OF FORAGES. MOORE, K.J., KRAL, D.M., VINEY, M.K. (Eds). **American Society of Agronomy Inc.**, Madison, Wisconsin. p.1-19, 1995.

MUCK, R.E. SCHINNES, K.J. Conserved forages (silage and hay): Progress and priorities. In. INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS. XIX. 2001. São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: Brazilian Society of Animal Husbandry. 2001. p.753.-762.

MUFATTO, L.M.; NERES, M.A.; NATH, C.D. et al. Caracterização e quantificação da população de fungos em área de produção de feno de capim Tifton 85, adubado com biofertilizante suíno. **Ciência Rural**, v.46, n.3, p.486-491, 2016.

NAUIACK, J.B. **Infecções bacterianas mais importantes no leite de vaca**. 2006. 111f. Monografia (Pós-Graduação em higiene e inspeção de produtos de origem animal) – Universidade Castelo Branco, São Paulo.

NOVINSKI, C.O. **Composição de micotoxinas e bromatologia de silagens de milho em silos de grande porte utilizando imagens em infravermelho**. 2013. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SANTOS, A.O. **Seleção e avaliação de cepas bacterianas para ensilagem de milho**. 2012. 168f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SANTOS, S.F.; GONÇALVES, M.F.; RIOS, M.P. et al. Principais tipos de silos e microrganismos envolvidos no processo de ensilagem. **Veterinária Notícias**, v.19. n.2, p.140- 152, 2013.

- SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; REIS, R.A.; COAN, R.M. et al. Alterações químicas e microbiológicas nas silagens de capim-tifton 85 após abertura dos silos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.464-471, 2005.
- SILVA, J.L. **Identificação morfológica e molecular de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* isolados de alimentos destinados a caprinos em lactação**. 2012. 85f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) - Instituto Biológico, São Paulo.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 295p.
- SNELL, H.G.J; OBERNDORFER, C.; LUCKE, W. et al. Effects of the colour and thickness of polyethylene film on ensiling conditions and silage quality of chopped maize, as investigated under ambient conditions and mini-silos. **Grass and Forage Science**, v.57, p.342-350, 2002.
- SPECK, M.L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 2.ed. Washington: American Public Health Association, 1984. 914p.
- STEFANIE, J. W. H.; ELFEINK, O.; DRIEHUIS, F. et al. Silage fermentation process and their manipulation. In: FAO ELETRONIC CONFERENCE ON TROPICAL SILAGE, Rome, 1999, Rome. **Proceedings...** Rome: FAO, 2000. p. 17-30.
- TOLEDO FILHO, S.G. **Avaliação da dinâmica da população de microrganismos em plantas de cana-de-açúcar IAC (93-3046)**. 2010. 96f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- VITORINO, O.C.L. **Micotoxinas na alimentação e na saúde animal e humana**. 2011. 77f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica) - Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo.
- WOBETO, J.R. **Composição química e microbiológica da água residuária da suinocultura na produção e no armazenamento de feno de capim-tifton 85**. 2014. 78f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.

4. PERFIL FERMENTATIVO E ESTABILIDADE AERÓBIA EM SILAGENS PRÉ-SECADAS DE CAPIM TIFTON 85 COM DIFERENTES CAMADAS DE FILME DE POLIETILENO E TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil fermentativo e a estabilidade aeróbia de silagens pré-secadas de capim Tifton 85, com diferentes camadas de filme de polietileno e tempos de armazenamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas no tempo, com dois tratamentos (duas e três camadas de envelopamentos) nas parcelas principais e três tempos de amostragem alocados nas subparcelas (30, 60 e 90 dias de armazenamento) para avaliação do perfil fermentativo e cinco tempos (0, 1, 2, 3 e 4 dias de exposição aeróbia) para avaliação da estabilidade aeróbia, com 4 repetições. Foram confeccionados silos de 400 kg cada, com uso de inoculante no enfiamento e estes armazenados no tempo, sendo após abertura colocados em galpão coberto. Não houve quebra de estabilidade aeróbia durante os períodos avaliados em função das elevadas temperaturas das silagens, sendo estas superiores a temperatura ambiente. O pH ficou superior ao preconizado para uma boa conservação da silagem na abertura e durante a exposição ao oxigênio. Verificou-se que os teores de nitrogênio amoniacal e de carboidratos solúveis nas silagens com duas camadas diferiram entre os tempos de armazenamento. As silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com duas e três camadas de filme de polietileno tiveram sua estabilidade aeróbia e perfil fermentativo prejudicados durante o armazenamento e desabastecimento dos silos, portanto as silagens obtidas não podem ser consideradas de boa qualidade.

Palavras-chave: carboidratos solúveis, conservação de forragens, filme plástico, nitrogênio amoniacal, pH, temperatura

4. FERMENTATIVE PROFILE AND AEROBIC STABILITY IN PRE-DRIED SILAGE OF TIFTON 85 GRASS WITH DIFFERENT LAYERS OF POLYETHYLENE FILM AND STORAGE TIME

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the fermentative profile and aerobic stability in pre-dried silage of tifton 85 grass with different layers of polyethylene film and storage time. The trial design was completely randomized with a split plot in the weather, with two treatments (two and three layers of involvement) in the main plots and three sampling times allocated in the subplots (30, 60 and 90days of storage) for the fermentative profile evaluation and five times (0, 1, 2, 3 and 4 days of aerobic exposure), for the evaluation of aerobic stability with 4 replications. Silos of 400 kg have been made, with the use of inoculant in the baling and these ones stored in the weather, and after their opening were placed in a covered shed. There was no breach of aerobic stability during periods of evaluation due to the high temperatures of silage, which are above ambient temperature. The pH was greater than recommended for good silage preservation in the opening and during exposure to oxygen. It was found that the content of ammonia nitrogen and soluble carbohydrates in the silages with two layers differ between the storage time. The pre-dried silage of Tifton 85 grass wrapped with two and three layers of polyethylene film had their aerobic stability and fermentative profile damaged during the storage and shortages of silos, therefore the silage obtained cannot be considered of good quality.

Keywords: ammonia nitrogen, forage conservation, pH, plastic film, soluble carbohydrates, temperature

4.1 Introdução

A maioria dos sistemas de produção de ruminantes no Brasil é baseada na utilização de forrageiras tropicais. Entretanto, em períodos com baixa incidência de radiação solar, temperatura e precipitação pluviométrica, ocorre a redução no potencial produtivo das plantas forrageiras, afetando de maneira significativa o desempenho animal. Uma das alternativas possíveis para amenizar esse déficit forrageiro é o uso de técnicas conservacionistas como a ensilagem.

O princípio da conservação de forragens através da ensilagem é baseado na fermentação anaeróbia, visando fornecer uma quantidade suficiente de ácido láctico para promover queda do pH e como consequência inibir micro-organismos indesejáveis com o objetivo de conservar o valor nutritivo e as características do alimento o mais próximo possível da forragem original (SILVA, 2002). Porém, para que essas condições sejam alcançadas, a forrageira deve apresentar quantidades adequadas de substrato fermentescível (carboidratos solúveis), poder tampão relativamente reduzido e porcentagem de matéria seca acima de 300 g kg⁻¹ (RODRIGUEZ, 2010).

Entretanto, as forrageiras tropicais apresentam alta capacidade tampão, baixos teores de matéria seca e de carboidratos solúveis, nos estágios de crescimento em que apresentam bom valor nutricional (McDONALD et al., 1991), colocando em risco o processo de conservação por meio da ensilagem, devido às possibilidades de ocorrência de fermentações secundárias indesejáveis. Como opção para contornar o baixo teor de matéria seca, a pré-secagem do material a ser ensilado tem-se constituído uma excelente alternativa tecnológica (RODRIGUEZ, 2010), de forma a melhorar o padrão de fermentação das silagens de forrageiras tropicais.

A manutenção do ambiente da silagem em anaerobiose durante a fase de fermentação e armazenamento, bem como a estabilidade aeróbia durante a fase de desabastecimento, são fatores importantes para a preservação do valor nutritivo do material ensilado (GIMENES et al., 2006). Entretanto, a presença de oxigênio, pela entrada de ar durante o período de armazenamento ou de abertura do silo, favorece o crescimento de micro-organismos aeróbios, que resulta em elevação do pH, aquecimento da massa de forragem e alteração do valor nutritivo da silagem (SANTOS, 2007).

Neste sentido, um dos requisitos para se produzir silagens de qualidade é limitar a quantidade de oxigênio, porém a propriedade (cor, espessura e composição) do filme de polietileno utilizado para envelopamento do silo pode afetar a permeabilidade dos gases

(SNELL et al., 2002) e propiciar a deterioração aeróbia das silagens. Deste modo, o número de camadas do filme plástico utilizado na vedação dos silos é fundamental para impedir a penetração do oxigênio no material ensilado e assim controlar o crescimento de micro-organismos em silagens, como forma de maximizar as fermentações desejáveis, para obtenção de produtos estáveis e de melhor qualidade nutricional.

Neste contexto, objetivou-se com o presente estudo avaliar o perfil fermentativo e a estabilidade aeróbia de silagens pré-secadas de capim Tifton 85, com diferentes camadas de filme de polietileno e tempos de armazenamento.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Localização

O experimento foi conduzido na fazenda experimental Antônio Carlos dos Santos Pessoa, pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *Campus* de Marechal Cândido Rondon, PR. Os silos foram adquiridos em uma propriedade produtora de pré-secado próxima a fazenda da UNIOESTE, localizada sob as coordenadas geográficas: latitude 24° 33' 40'' S, longitude 54° 04' 12'' W e altitude de 420 m. De acordo com a classificação climática proposta por Köppen, o clima é Cfa - clima subtropical; temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C, com verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida (CAVIGLIONE et al., 2000). Os totais anuais médios de precipitação pluvial para a região variam de 1.600 a 1.800mm, com trimestre mais úmido apresentando totais que variam entre 400 a 500 mm (IAPAR, 2006). Os dados climáticos referentes ao período experimental foram obtidos na Estação Meteorológica Automática localizada na fazenda experimental da UNIOESTE (Figura 1).

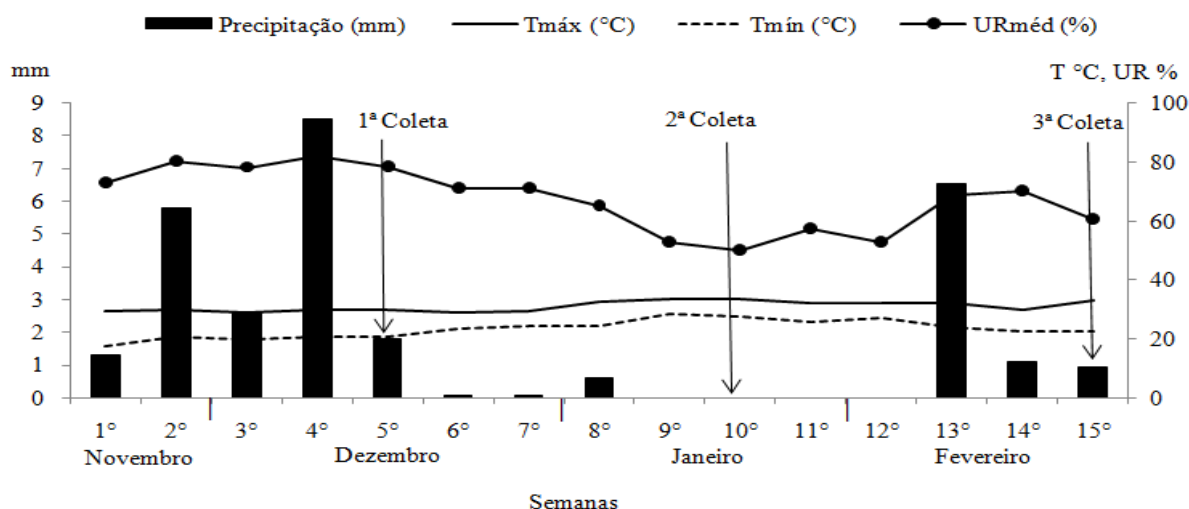


Figura 1. Médias semanais de temperatura máxima (T_{máx}) e mínima (T_{mín}), umidade relativa média do ar (UR_{méd}) e precipitação pluviométrica para a região durante o período experimental

Fonte: Estação meteorológica da Fazenda Experimental da UNIOESTE, Marechal C. Rondon – PR, novembro/2014 a fevereiro/2015.

4.2.2 Área experimental

O solo experimental é caracterizado como Latossolo Vermelho eutrófico de textura argilosa (EMBRAPA, 2006), cujas características químicas e físicas foram determinadas através de amostragem realizada por ocasião da implantação do experimento nas profundidades de 0-20, 20-40 e 40-60 cm (Tabela 1).

A área utilizada para colheita da forragem e confecção das silagens foi estabelecida em 2006 com capim Tifton 85 (*Cynodon* sp.), e recebe periodicamente o biofertilizante suíno como única fonte de adubação proveniente de um biodigestor modelo Canadense, conforme Instrução Normativa nº 8 de 25 de Março de 2004, e a Instrução Normativa SDA nº 25 de 23 de Julho de 2009.

O biofertilizante é aplicado na superfície da área forrageira por aspersão, com equipamento acoplado ao trator, aos 07 e 14 dias de rebrota da forrageira sendo em média 60 m³ ha⁻¹ por aplicação. Foram coletadas amostras do biofertilizante utilizado na fertilização da área experimental para realização de análises químicas (Tabela 2).

Tabela 1. Características químicas e físicas do solo experimental

Atributo	Profundidades (cm)		
	0 - 20	20 - 40	40 - 60
pH (CaCl ₂)	5,24	5,45	5,47
P (mg dm ⁻³) ⁽¹⁾	33,72	32,11	42,66
K (cmol _c dm ⁻³) ⁽¹⁾	0,11	0,11	0,09
Ca (cmol _c dm ⁻³) ⁽²⁾	5,88	7,27	6,99
Mg (cmol _c dm ⁻³) ⁽²⁾	1,91	2,40	2,29
H + Al (cmol _c dm ⁻³) ⁽³⁾	4,65	4,43	4,26
SB (cmol _c dm ⁻³)	7,89	9,77	9,37
CTC (cmol _c dm ⁻³)	12,54	14,20	13,63
Matéria orgânica (g dm ⁻³)	23,10	24,61	22,83
V (%)	63,16	68,81	68,93
Al (%) ⁽²⁾	0,60	0,00	0,22
Fe (mg dm ⁻³) ⁽¹⁾	21,60	17,84	17,86
Mn (mg dm ⁻³) ⁽¹⁾	87,77	92,78	91,19
Cu (mg dm ⁻³) ⁽¹⁾	26,87	25,61	29,85
Zn (mg dm ⁻³) ⁽¹⁾	30,06	30,62	30,20
Areia (g kg ⁻¹)	58,82	50,55	44,32
Silte (g kg ⁻¹)	359,08	402,20	417,38
Argila (g kg ⁻¹)	554,80	547,25	538,30

⁽¹⁾ Extrator Mehlich⁻¹, ⁽²⁾ Extrator KCl 1 mol L⁻¹ e ⁽³⁾ pH SMP (7,5). Caracterizações químicas e físicas realizada pelo laboratório de Química Agrícola e Ambiental da UNIOESTE – *Campus* de Marechal Cândido Rondon (PR).

Tabela 2. Composição química do biofertilizante suíno utilizado como fertilizante na área experimental

N ⁽¹⁾	K ⁽²⁾	Ca ⁽²⁾	Mg ⁽²⁾	P ⁽³⁾	Zn ⁽²⁾	Mn ⁽²⁾	Fe ⁽²⁾	Cu ⁽²⁾
g kg ⁻¹	----- g L ⁻¹ -----				----- mg L ⁻¹ -----			
1,17	0,27	0,40	0,06	0,02	0,65	0,24	1,50	1,68

⁽¹⁾Método Kjeldahl⁽²⁾Digestão nitroperclórica e leitura em espectrofotômetro de absorção atômica, modalidade chama⁽³⁾Digestão nitroperclórica e leitura em espectrofotômetro UV-visível. Composição química realizada pelo laboratório de Química Agrícola e Ambiental da UNIOESTE – *Campus* de Marechal Cândido Rondon (PR).

4.2.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas no tempo, com 2 tratamentos (2 e 3 camadas de envelopamento) nas parcelas principais e 3 tempos de amostragem alocados nas subparcelas (30, 60 e 90 dias de armazenamento) para avaliação do perfil fermentativo e 5 tempos (0, 1, 2, 3 e 4 dias de exposição aeróbia) para avaliação da estabilidade aeróbia, com 4 repetições.

4.2.4 Ensilagem e armazenamento

O corte do capim Tifton 85 foi realizado no dia 17/11/2014 às 15h30min, quando a forrageira encontrava-se com idade fisiológica equivalente a 35 dias de crescimento e teor de matéria seca (MS) de 296,00 g kg⁻¹. O capim foi ceifado com uma segadora condicionadora com batedores de dedos livres de ferro, ajustada a uma altura de corte de 05 cm do solo.

O material foi submetido ao emurchecimento visando obter teores crescentes de matéria seca na ensilagem. As condições climáticas predominantes no dia do corte ao enfardamento foram com temperaturas médias de 22,9°C e umidade relativa média do ar em torno de 57%. Após 17h30m de exposição ao tempo, ao atingirem 540,15 g kg⁻¹ de MS (18/11/2014 às 11:00hs), a forrageira foi enfardada em forma de rolos (400 kg cada), com aproximadamente 100 cm de altura e 150 cm de diâmetro, mediante o uso de enfardadeira. Imediatamente, os rolos foram envelopados automaticamente com duas e três camadas de filme de polietileno em multicamadas (stretch) branco leitoso, com 25 µm de espessura.

A forragem foi aditivada com inoculante comercial BactoSilo[®] AMS (alta concentração de matéria seca) no momento do enfardamento através de recipiente acoplado a enfardadeira, apresentando em sua composição *Lactobacillus buchneri* *Propionibacterium acidipropionici*, com concentração aproximada de 20x10⁹ e 30x10⁹ UFC g⁻¹, respectivamente. A aplicação do inoculante foi realizada segundo as recomendações do fabricante. Os rolos de silagem pré-secada foram armazenados na fazenda experimental da UNIOESTE em condições de campo, expostos as intempéries. Após abertura, os silos permaneceram durante quatro dias em galpão de alvenaria com cobertura, à temperatura ambiente e abertos para aeração.

4.2.5 Parâmetros analisados

4.2.5.1 Estabilidade aeróbia

As avaliações da estabilidade aeróbia (EA), com medidas de pH e temperatura tiveram início na abertura dos silos (considerado o tempo zero) ao quarto dia de exposição ao ar após 30, 60 e 90 dias de armazenamento. No momento da abertura de cada silo experimental, os

primeiros 05 cm da porção superior do material ensilado foram desprezados, não sendo coletados nas amostras.

A determinação diária do pH das silagens foi realizada com peagâmetro digital às 13hs, conforme metodologia de Cherney e Cherney (2003).

A leitura da temperatura do ambiente e da silagem diretamente no silo foi realizada com auxílio de termohigrômetro digital inserido no centro da silagem e instalado no galpão na altura dos silos. As medições de temperatura foram realizadas diariamente às 11hs, sendo definida a quebra da EA como o tempo (dias) observado para que a temperatura da silagem exposta ao oxigênio apresentasse elevação de 1°C em relação à temperatura ambiente (DRIEHUIS et al., 2001).

Com a mensuração destes parâmetros, foi possível determinar o pH máximo, tempo em dias para o pH máximo, temperatura máxima, tempo em dias para a temperatura máxima e a estabilidade aeróbia (tempo em dias para quebra).

4.2.5.2 Perfil fermentativo

Amostras do material antes da ensilagem e da silagem após a abertura dos silos foram coletadas e submetidas a procedimentos laboratoriais no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da UNIOESTE, para determinação dos teores de carboidratos solúveis conforme metodologia de Johnson et al. (1966), capacidade tampão e nitrogênio amoniacal de acordo com Bolsen et al. (1992). A capacidade fermentativa (CF) do material ensilado foi calculada de acordo com a equação proposta por Kaiser et al. (2002), sendo: $CF = MS + 8(CS/CT)$, em que a matéria seca (MS) é expressa em %, os carboidratos solúveis (CS) em % da MS e a capacidade tampão (CT), em e.mg de HCl/100 g de MS.

4.2.6 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e às médias comparadas pelo teste de Tukey em nível 5% de probabilidade de erro. As variações de pH e temperatura foram estudados no tempo por meio de regressão.

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Estabilidade aeróbia

Observou-se que o número de camadas de envelopamento e o período de armazenamento não interferiram ($P>0,05$) na temperatura máxima e nos dias para obtenção da temperatura e pH máximo nas silagens pré-secadas de capim Tifton 85 (Tabela 3). As silagens confeccionadas com 2 camadas de envelopamento apresentaram diferença ($P<0,05$) nos valores de pH entre os tempos de armazenamento, sendo que aos 90 dias ocorreu uma diminuição significativa no valor de pH máximo em relação aos demais tempos de abertura, porém silagens com 3 camadas de envelopamento não apresentaram variações nos diferentes tempos de armazenamento. O pH máximo não foi afetado ($P>0,05$) pelo número de camadas de envelopamento.

Tabela 3. Temperatura máxima, pH máximo e dias para obtenção de temperatura máxima e pH máximo após abertura da silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

Temperatura máxima (°C)						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	43,23	38,35	36,00	39,19b	6,49	19,09
3 camadas	45,50	42,58	43,00	43,69a		
Média	44,37A	40,47A	39,50A			
pH máximo						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	5,93aA	6,09aA	5,08aB	5,70	6,16	6,61
3 camadas	5,77aA	5,74aA	5,42aA	5,64		
Média	5,85	5,92	5,25			
Dias para obtenção de temperatura máxima						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	4,00	4,00	4,00	4,00a	10,42	10,42
3 camadas	4,00	3,50	4,00	3,83a		
Média	4,00A	3,75A	4,00A			

Dias para obtenção de pH máximo						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	1,50	0,75	2,25	1,50a	119,31	136,86
3 camadas	1,25	0,75	1,25	1,08a		
Média	1,38A	0,75A	1,75A			

CV1(%) e CV2(%) = coeficientes de variação da parcela e subparcela. Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Neres et al. (2013), ao avaliarem silagens de Tifton 85 aos 30 dias de ensilagem com adição de grãos de milho, casca de soja, inoculante, sem aditivos, pré-secados ao sol e sal sobre a camada superior, observaram valores próximos a 5,00 para pH máximo sendo que seu pico ocorreu 48 horas após a abertura dos silos. Desta forma, as silagens avaliadas neste trabalho apresentaram valores de pH máximo superiores, sendo que o tempo necessário para obtenção do pH máximo foi menor comparado a literatura citada acima.

Não houve diferença ($P>0,05$) dos valores de pH entre os tratamentos durante os quatro dias de exposição aeróbia das silagens pré-secadas de capim Tifton 85 aos 30 e 90 dias de armazenamento (Tabela 4). Após 60 dias de armazenamento obteve-se maior pH em silagens com 2 camadas de envelopamento no momento da abertura ($P<0,05$), não ocorrendo diferença nos valores de pH entre os tratamentos do primeiro ao quarto dia de aeração.

Tabela 4. Valores médio de pH durante quatro dias de exposição ao oxigênio após abertura das silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

30 dias de armazenamento								
	0	1	2	3	4	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	5,76a	5,61a	5,57a	5,46a	5,66a	5,61	5,13	3,03
3 camadas	5,69a	5,49a	5,37a	5,31a	5,81a	5,53		
60 dias de armazenamento								
	0	1	2	3	4	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	6,02a	5,43a	5,27a	5,55a	5,43a	5,54	8,01	5,55
3 camadas	5,57b	5,15a	5,29a	5,55a	5,35a	5,38		
90 dias de armazenamento								
	0	1	2	3	4	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	4,87a	4,75a	4,90a	4,88a	4,94a	4,87	15,68	5,81
3 camadas	5,03a	4,90a	5,18a	5,20a	5,00a	5,06		

CV1(%) e CV2(%) = coeficientes de variação da parcela e subparcela. Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Observou-se neste estudo, que todas as silagens apresentaram valores de pH superiores a faixa ideal entre 3,8 a 4,2 (McDONALD et al., 1991), demonstrando padrão fermentativo inadequado no volumoso conservado, devido aos baixos teores de carboidratos solúveis e poder tampão observados nas silagens pré-secadas de capim Tifton 85.

Houve efeito quadrático ($P < 0,05$) dos tempos de exposição aeróbia sobre os valores de pH nas silagens pré-secadas envolvidas com 2 camadas de filme de polietileno aos 30 e 60 dias de armazenamento, com ponto de mínima estimado em 5,49 e 5,25, respectivamente. Os valores de pH não apresentaram efeito ($P > 0,05$) aos 90 dias de armazenamento (Figura 2).

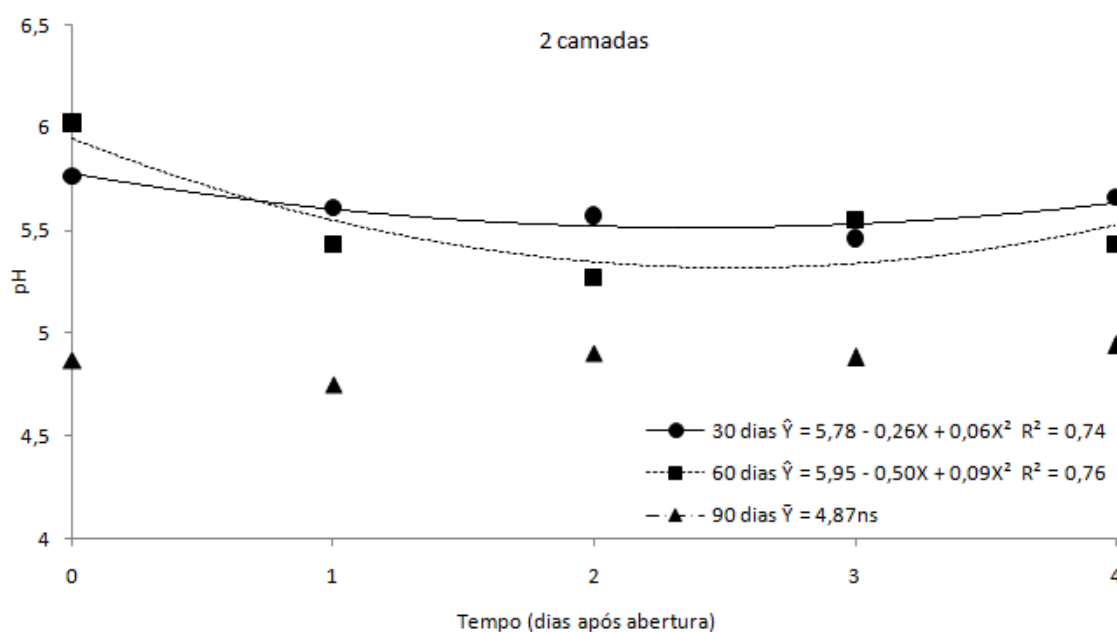


Figura 2. Valores médios de pH em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com duas camadas de filme de polietileno, após exposição ao oxigênio

Nas silagens com 3 camadas de envelopamento, os valores de pH apresentaram efeito quadrático ($P < 0,05$) com os tempos de exposição ao ar, aos 30 dias. Aos 60 e 90 dias de armazenamento, os valores de pH não apresentaram efeito ($P > 0,05$) para o tempo de exposição ao oxigênio (Figura 3).

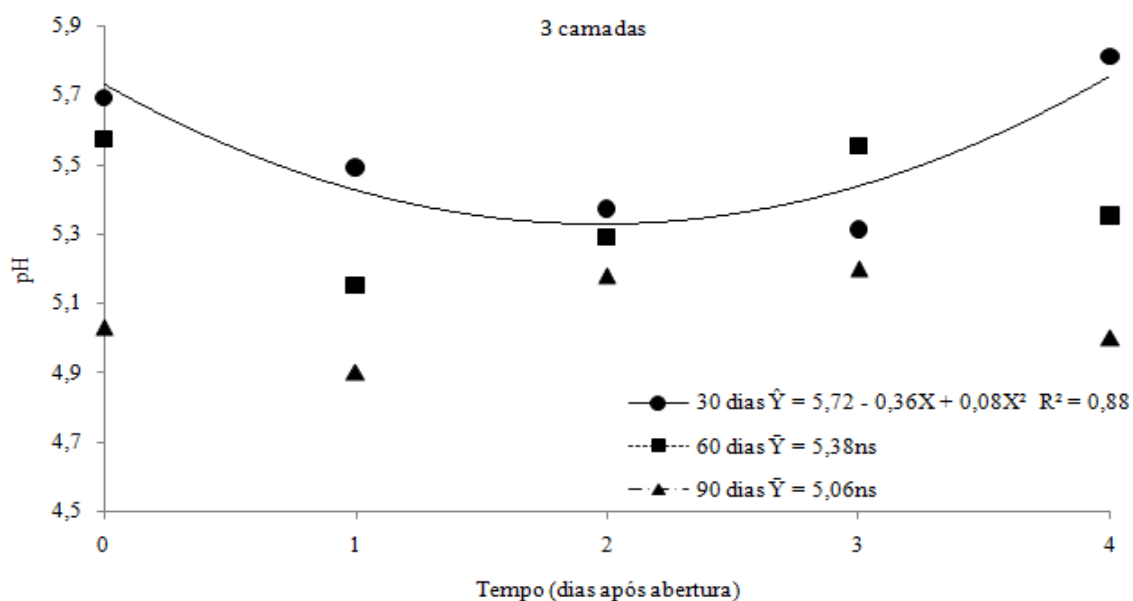


Figura 3. Valores médios de pH em silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com três camadas de filme de polietileno, após exposição ao oxigênio.

A variação nos valores de pH registrados durante o período em que as silagens permaneceram em aerobiose pode ser atribuída à deterioração do volumoso (KUNG Jr. et al., 2003), ocasionada pela atuação indesejável de bactérias e fungos oportunistas que reduzem a qualidade da silagem em contato com o oxigênio (KLEINSCHMIT et al., 2005).

Não houve diferença ($P>0,05$) dos valores de temperatura entre os tratamentos durante os quatro dias de exposição aeróbia das silagens pré-secadas de capim Tifton 85 aos 30 e 60 dias de estocagem (Tabela 5). Aos 90 dias de armazenamento, obteve-se maiores temperaturas em silagens com 3 camadas de envelopamento do segundo ao quarto dia de aerobiose ($P<0,05$), não ocorrendo diferença nos valores de temperatura entre os tratamentos no momento da abertura e no primeiro dia de exposição da silagem ao ar.

Constatou-se que no momento da abertura, todas as silagens apresentaram temperaturas mais elevadas que as registradas no ambiente, portanto, não houve quebra de estabilidade aeróbia durante os períodos avaliados. Neres et al. (2013), não observaram quebra da estabilidade aeróbia em silagens de capim Tifton 85 durante sete dias de exposição ao oxigênio, porém a temperatura ambiente não foi superior a da massa ensilada no período avaliado, o que contribuiu para uma boa preservação do volumoso e inibição do crescimento de micro-organismos indesejáveis.

Tabela 5. Média diária de temperatura (°C) durante quatro dias de exposição ao oxigênio após abertura das silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

30 dias de armazenamento								
	0	1	2	3	4	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	29,92a	32,72a	34,32a	36,45a	43,22a	35,33	21,31	10,36
3 camadas	28,92a	34,00a	36,77a	38,85a	45,50a	36,81		
Tª ambiente	27,5	38,4	38,4	38,4	38,4			
60 dias de armazenamento								
	0	1	2	3	4	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	28,50a	33,82a	34,82a	36,70a	38,35a	34,44	16,43	9,76
3 camadas	28,42a	33,40a	36,75a	38,45a	42,35a	35,87		
Tª ambiente	25,9	41,4	41,4	32,9	41,3			
90 dias de armazenamento								
	0	1	2	3	4	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	31,22a	33,70a	34,67b	35,52b	36,00b	34,22	30,63	8,78
3 camadas	31,42a	36,82a	39,67a	41,87a	43,00a	38,56		
Tª ambiente	30,1	36,2	41,0	41,0	41,0			

CV1(%) e CV2(%) = coeficientes de variação da parcela e subparcela. Tª ambiente = Temperatura ambiente. Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

As elevadas temperaturas registradas nas silagens no momento da abertura dos silos podem ser atribuídas à proliferação de micro-organismos indesejáveis ou à permeabilidade dos filmes de polietileno utilizados para vedação durante o armazenamento dos silos. De acordo com Degano (1999) os filmes de polietileno apresentam permeabilidade ao oxigênio, a qual tende a aumentar em função da elevação da temperatura ambiente. Desta forma, as altas temperaturas registradas durante o armazenamento das silagens influenciaram no aumento da permeabilidade do filme de polietileno, propiciando a deterioração aeróbia do volumoso, com o consequente aumento de temperatura da massa ensilada.

Houve efeito linear crescente ($P < 0,05$) dos tempos de aeração sobre os valores de temperatura nas silagens pré-secadas envolvidas com 2 camadas de filme de polietileno, aos 30 e 60 dias de estocagem. Aos 90 dias de armazenamento, a temperatura não apresentou efeito ($P > 0,05$) durante o período de aerobiose (Figura 4).

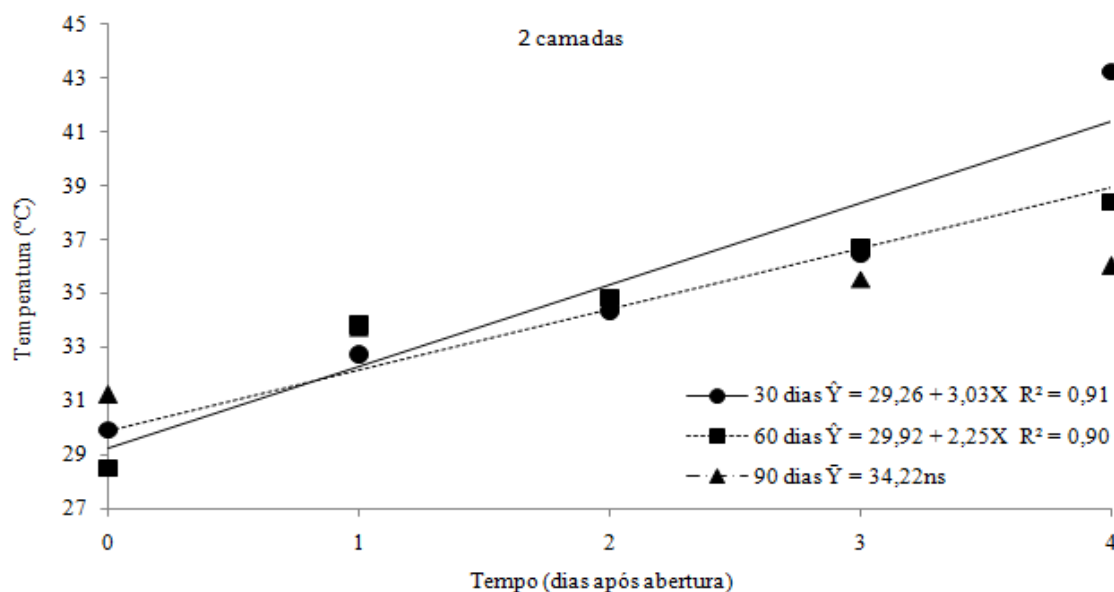


Figura 4. Temperatura da silagem pré-secada de capim Tifton 85 envelopada com duas camadas de filme de polietileno, após exposição ao oxigênio.

Nas silagens com 3 camadas de envelopamento, os valores de temperatura apresentaram comportamento linear crescente ($P < 0,05$) ao longo dos tempos de aeração em todos os períodos de armazenamento avaliados (Figura 5).

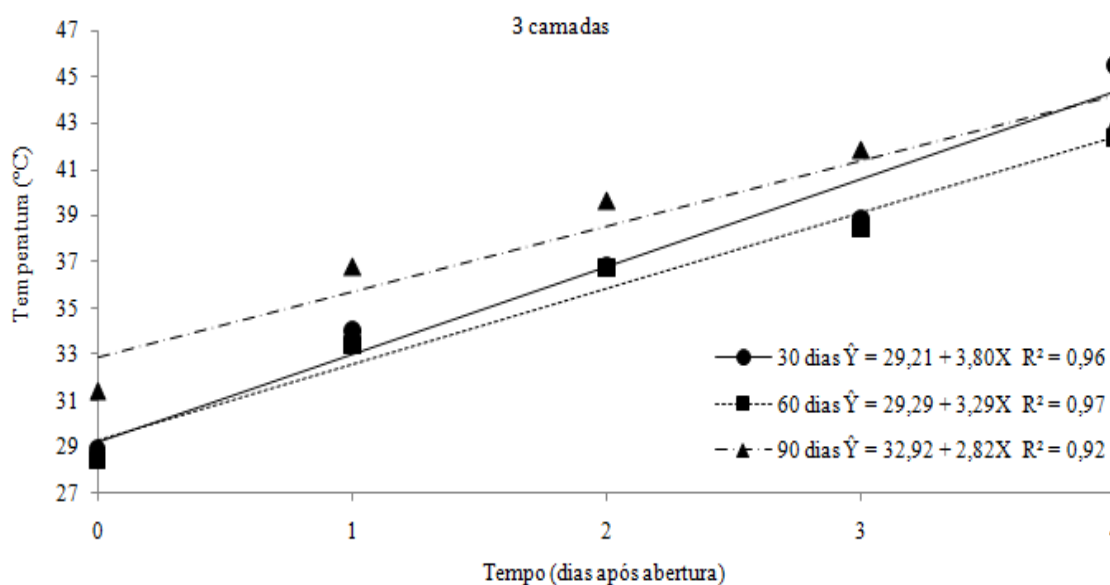


Figura 5. Temperatura da silagem pré-secada de capim Tifton 85 envelopada com três camadas de filme de polietileno, após exposição ao oxigênio.

4.3.2 Perfil fermentativo

O nitrogênio amoniacal (NH_3/N total) não foi afetado ($P>0,05$) pelo número de camadas de envelopamento (Tabela 6). Em silagens confeccionadas com 2 camadas de envelopamento ocorreu diferença ($P<0,05$) no teor de NH_3/N total entre os tempos de armazenamento, porém todos os valores ficaram dentro da faixa adequada para permitir uma fermentação satisfatória e impedir fermentações indesejáveis, o que ocorre em forragens ensiladas com teores de NH_3/N total acima de $150,0 \text{ g kg}^{-1}$ (McDONALD et al., 1991). Menores teores de nitrogênio amoniacal indicam menor intensidade de proteólise durante o processo de fermentação das silagens, em decorrência de menor atuação de bactérias do gênero *Clostridium* e, conseqüentemente, da menor produção de ácido butírico (MUCK e SHINNERS, 2001).

Tabela 6. Teores de nitrogênio amoniacal, carboidratos solúveis e pH na abertura da silagem pré-secada de capim Tifton 85 envelopada com diferentes camadas de filme de polietileno, aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

N- NH_3/N total (g kg^{-1})						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	30,75aB	43,17aA	39,24aAB	37,72	15,57	18,44
3 camadas	27,99aA	38,13aA	34,05aA	33,39		
Média	29,37	40,65	36,65			
Carboidratos solúveis (g kg^{-1})						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	42,82aA	39,09aAB	32,28aB	38,06	12,36	15,98
3 camadas	43,80aA	36,72aA	33,56aA	38,03		
Média	43,31	37,90	32,92			
pH						
	30 dias	60 dias	90 dias	Média	CV1 (%)	CV2 (%)
2 camadas	5,76aA	6,02aA	4,87aB	5,55	2,52	3,49
3 camadas	5,69aA	5,57bA	5,03aB	5,43		
Média	5,72	5,80	4,95			

CV1(%) e CV2(%) = coeficientes de variação da parcela e subparcela. Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Quaresma et al. (2010) ao avaliarem silagens de capim Tifton 85 emurchecidas em diferentes tempos (0, 1, 2, 3 e 4 horas) aos 55 dias de ensilagem, não verificaram valores significativos para NH_3/N total, com média de $73,4 \text{ g kg}^{-1}$. Neres et al. (2014), ao avaliar o perfil fermentativo em silagens de Tifton 85 aos 30 dias de ensilagem com diferentes aditivos e emurchecimento, também não observaram diferença nos teores de nitrogênio amoniacal entre os tratamentos, com média de $32,3 \text{ g kg}^{-1} \text{ NH}_3/\text{N}$ total.

Os teores de carboidratos solúveis (CHOs) diferiram ($P < 0,05$) entre os tempos de armazenamento nas silagens confeccionadas com 2 camadas de envelopamento (Tabela 6), encontrando-se abaixo dos níveis adequados ($80 \text{ a } 100 \text{ g kg}^{-1}$) preconizados por McDonald et al. (1991) para uma boa fermentação. Assim, os baixos teores de carboidratos solúveis registrados nas silagens pré-secadas de capim Tifton 85 não foram suficiente para uma adequada fermentação do material ensilado, pois em concentrações adequadas de CHOs ocorre o estabelecimento e crescimento de bactérias do gênero *Lactobacillus*, responsáveis pela produção de ácido láctico, que em níveis adequados, provoca redução no pH da silagem, inibindo a atividade proteolítica das enzimas vegetais e o desenvolvimento de micro-organismos indesejáveis (MUCK, 1988).

Os valores de carboidratos solúveis presentes nas silagens foram inferiores aos observados no material antes da ensilagem ($44,85 \text{ g kg}^{-1}$), o que indica que parte dos CHOs foi utilizado durante a fermentação pelas bactérias produtoras de ácidos. Segundo Neres et al. (2014), silagens de gramíneas tropicais apresentam concentração de carboidratos solúveis baixas entre $20 \text{ a } 50 \text{ g kg}^{-1}$, corroborando com os resultados do presente estudo.

A capacidade fermentativa (CF) do capim Tifton 85 antes da ensilagem ($37,03 \text{ g kg}^{-1}$), comprova elevado potencial de ensilabilidade da forrageira, pois de acordo com Oude Elferink (1999) valores de CF superiores a 35 g kg^{-1} garantem fermentação adequada e obtenção de silagens lácticas.

Na abertura dos silos, os valores de pH diferiram ($P < 0,05$) entre os períodos de armazenamento e camadas de envelopamento aos 60 dias de ensilagem (Tabela 6). Os valores obtidos excederam o limite superior (4,2) sugerido por McDonald et al., (1991) como favorável para a adequada conservação de alimentos na forma de silagens.

Os valores de pH obtidos são próximos aos de Castro et al. (2006), que observaram valores de pH de 5,49; 5,43 e 6,27 para silagem de capim Tifton 85 aos 32 dias de estocagem com 450; 550 e 650 g kg^{-1} de MS, respectivamente.

Conforme Weirich (2015), as forrageiras tropicais apresentam alta capacidade tamponante, o qual oferece resistência a mudança de pH, entretanto no presente estudo os valores de capacidade tampão antes da ensilagem foram baixos (16,22 meq NaOH 100 g⁻¹ de MS). A umidade elevada da forrageira na ocasião da ensilagem (540,15 g kg⁻¹ de MS) e os baixos teores de carboidratos fermentescíveis podem ter contribuído para os valores elevados de pH.

4.4 Conclusões

As silagens pré-secadas de capim Tifton 85 envelopadas com 2 e 3 camadas de filme de polietileno tiveram sua estabilidade aeróbia e perfil fermentativo prejudicados durante o armazenamento e desabastecimento dos silos portanto, as silagens obtidas não podem ser consideradas de boa qualidade.

4.5 Referências Bibliográficas

- BOLSEN, K.K.; LIN, C.; BRENT, B.E. et al. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.11, p.3066-3083, 1992.
- CASTRO, F.G.F.; NUSSIO, L.G.; HADDAD, C.M. et al. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-tifton 85 (*Cynodon* sp.) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.358-371, 2006.
- CAVIGLIONE, J.H.; KIIHL, L.R.B.; CARAMORI, P.H. et al. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina : IAPAR, 2000. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>>. Acesso em: 15/11/2015.
- CHERNEY, J.H.; CHERNEY, D.J.R. Assessing Silage Quality. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.; HARRISON, J. (Eds.) **Silage Science and Technology**. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p.141-198.
- DEGANO, L. Improvement of silage quality by innovative covering system. In: THE INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 12th, 1999, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala, 1999, p. 296-297.
- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, W.H.; Van WIKSELAAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculant with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v.56, n.4, p.330-343, 2001.

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2006. 306p.
- GIMENES, A.L.G.; MIZUBUTI, I.Y.; MOREIRA, F.B. et al. Composição química e estabilidade aeróbia em silagens de milho preparadas com inoculantes bacteriano e/ou enzimático. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.28, n.2, p.153-158, 2006.
- INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ - IAPAR. **Cartas climáticas do Paraná**. 2006. Disponível em: http://200.201.27.14/Site/Sma/Cartas_Climaticas/Classificacao_Climaticas.htm. Acesso em: 29/11/2015.
- JOHNSON, R.R.; BALWANI, T.L.; JOHNSON, L.J. et al. Corn plant maturity: II Effect on in vitro cellulose digestibility and soluble carbohydrate content. **Journal of Animal Science**, v.25, p.617-623, 1966.
- KAISER, E.; WEIB, K.; POLIP, L.V. A new concept for the estimation of the ensiling potential of forages. In: THE INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 13., 2002, Auchincruive. **Proceedings...** Auchincruive: 2002. p.344-358.
- KLEINSCHMIT, D.H.; SCHMIDT, R.J.; KUNG JR., L. The Effects of Various Antifungal Additives on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2130-2139, 2005.
- KUNG JR., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Wisconsin: ASA; CSSA; SSSA, p.305-360, 2003.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. New York: Chalcombe Publications, 1991. 339p.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Instrução Normativa nº. 8, de 25 de março de 2004. Proíbe em todo o território nacional a produção, a comercialização e a utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal. **Diário Oficial da União**, de 26 de março de 2004, Seção 1, p.1. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=178957228> Acesso em: 10/02/2016.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Instrução Normativa nº. 25, de 23 de julho de 2009. Normas sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes orgânicos simples, mistos, compostos, organominerais e biofertilizantes destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**, de 28 de julho de 2009. Seção 1, p. 18. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao>. Acesso em: 10/02/2016.

- MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.10, p.2992-3002, 1988.
- MUCK, R.E. SCHINNES, K.J. Conserved forages (silage and hay): Progress and priorities. In. INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS. XIX. 2001. São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: Brazilian Society of Animal Husbandry. 2001. p.753.-762.
- NERES, M.A.; HERMES, P.R.; AMES, J.P. Use of additives and pre-wilting in tifton 85 bermudagrass silage production. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, n.1, p.85-93, 2014.
- NERES, M.A.; ZAMBOM, M.A.; FERNANDES, T. et al. Microbiological profile and aerobic stability of Tifton 85 bermudagrass silage with different additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.42, n.6, p.381-387, 2013.
- OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; DRIEHUIS, F.; KROONEMAN, J. et al. *Lactobacillus buchneri* can improve the aerobic stability of silage via a novel fermentation pathway: the anaerobic degradation of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 12., 1999, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 1999. p.266-267.
- QUARESMA, J.P.S.; ABREU, J.G.; ALMEIDA, R.G. Recuperação de matéria seca e composição química de silagens de gramíneas do gênero *Cynodon* submetidas a períodos de pré-emurchecimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, n.5, p.1232-1237, 2010.
- RODRIGUES, J.F.H. **Aditivos químicos em ensilagem e fenação de capim-tifton 85**. 2010. 96f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- SANTOS, M.C. **Aditivos químicos para o tratamento de cana-de-açúcar in natura e ensilada (*Saccharum officinarum* L.)**. 2007. 113f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- SILVA, J.M.N. **Desenvolvimento de microrganismos e valor nutritivo de silagens de capim-tifton 85**. 2002. 88f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- SNELL, H.G.J; OBERNDORFER, C.; LUCKE, W. et al. Effects of the colour and thickness of polyethylene film on ensiling conditions and silage quality of chopped maize, as investigated under ambient conditions and mini-silos. **Grass and Forage Science**, v.57, p.342-350, 2002.
- WEIRICH, D.T. **Uso do vácuo e inoculante na produção de silagem de capim-tifton 85**. 2015. 71f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de capim Tifton 85 na produção de silagem pré-secada apresenta potencial, devido à alta produtividade destas forrageiras no oeste do Paraná. Porém, é necessário que ocorra uma fermentação adequada para que o processo de conservação deste alimento seja satisfatório.

Devido à alta incidência de fungos observada entre as camadas da massa ensilada no momento da abertura dos silos, recomenda-se que novos trabalhos sejam desenvolvidos, utilizando-se outros inoculantes e equipamentos de compactação, para minimizar a incidência fúngica nas silagens, de forma a maximizar as fermentações desejáveis, para obtenção de produtos mais estáveis e de melhor qualidade nutricional.