

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

DAIANE THAIS WEIRICH

**USO DE VÁCUO E INOCULANTE NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE CAPIM-
TIFTON 85**

Marechal Cândido Rondon

2015

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

DAIANE THAIS WEIRICH

**USO DE VÁCUO E INOCULANTE NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE CAPIM-
TIFTON 85**

Dissertação apresentada à Universidade do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Campus Marechal Cândido Rondon, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

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

Marechal Cândido Rondon

2015

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

DAIANE THAIS WEIRICH

**USO DE VÁCUO E INOCULANTE NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE CAPIM-
TIFTON 85**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Zootecnia, Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Marechal Cândido Rondon, 20/02/2015

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ulysses Cecato

Profa. Dr.^a Maximiliane Alavarse Zambom

Prof.^a Dr.^a Marcela Abbado Neres (Orientadora)

Agradeço a minha mãe Laura, meu pai Otávio, minhas irmãs Elisângela, Kelin Weirich e ao meu namorado Vinicius Cella, que são as pessoas mais importantes da minha vida, por toda compreensão e amor, sempre estiveram ao meu lado, auxiliando em toda minha trajetória.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me apoiaram e ajudaram na realização desse trabalho, de fato, realmente merecem o meu muito obrigado.

Agradeço a Deus pelo dom da vida, e pelas bênçãos que ele tem me concedido.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE e ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Zootecnia – PPZ, pela oportunidade de realizar o Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo.

À Professora Doutora Marcela Abbado Neres, pela dedicada orientação, ensinamentos, estímulo e amizade.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Zootecnia – PPZ e do Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Agronomia - PPGA, campus Marechal Cândido Rondon, pelos ensinamentos.

À minha mãe, meu pai, minhas irmãs, sobrinhos e namorado, sem eles nada teria sentido, amo vocês.

Às amigas Camila Andrine Hunoff e Sandra Mara Stöher por toda ajuda, incentivo e aos demais colegas que contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao secretário do PPZ, Paulo Henrique Morsh, na dedicação e esclarecimentos dos assuntos burocráticos.

Ao Ernesto Devs e demais funcionários do campo experimental, por todo auxílio na preparação da silagem.

Aos funcionários dos laboratórios de Nutrição Animal, Microbiologia, Fitopatologia, Química e Fertilidade do Solo.

À professora Tatiane Oldoni da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Pato Branco, pela atenção, dedicação e empréstimo do laboratório para o desenvolvimento das análises de ácidos orgânicos.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	7
1.1 INTRODUÇÃO	11
CAPÍTULO 2	13
2 Revisão Bibliográfica	13
2.1 Conservação de forragens	13
2.2 Processo fermentativo na produção de silagens.....	14
2.3 Uso de inoculantes na produção de silagem.....	18
2.4 Uso do vácuo na produção de silagem.....	19
2.5 Estabilidade aeróbia em silagens	20
2.6 Referências.....	21
CAPÍTULO 3	24
3 PERFIL FERMENTATIVO E COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DE SILAGENS DE CAPIM-TIFTON 85, PRODUZIDAS À VÁCUO E SEM VÁCUO, ADICIONADOS OU NÃO INOCULANTE MICROBIANO	24
3.1 Introdução	28
3.2 Material e Métodos	29
3.3 Resultados e Discussão	33
3.4 Conclusão	45
3.5 Referências	46
CAPITULO 4	49
4 PERFIL MICROBIOLÓGICO E ESTABILIDADE AERÓBIA EM SILAGEM DE CAPIM-TIFTON 85, À VÁCUO E SEM VÁCUO, ADICIONADOS OU NÃO INOCULANTE MICROBIANO	49
4.1 Introdução	51
4.2 Material e Métodos	52
4.3 Resultado e discussão	54
4.4 Conclusão	64
4.5 Referências	65
ANEXOS	68

CAPÍTULO 1

1 USO DE VÁCUO E INOCULANTE NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE CAPIM-TIFTON 85

RESUMO

Objetivou-se avaliar a composição bromatológica, o perfil fermentativo, perfil microbiológico e estabilidade aeróbia de silagens de capim-tifton 85, com 28 dias de ensilagem, produzidas à vácuo e sem vácuo, adicionados ou não de inoculante microbiano. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2 (aplicação ou não do vácuo e inoculante), com cinco repetições. O inoculante era composto por bactérias ácido lácticas (BAL): *Lactobacillus acidophilus*, na concentração de 3×10^9 UFC ml⁻¹ de células viáveis por ml do produto. As variáveis para a composição bromatológica foram: matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), carboidratos solúveis (CHO'S) carboidratos totais (CHO'S totais), extrato etéreo (EE) e lignina. O pH e nitrogênio amoniacal (NH₃/N total), foram avaliados antes de ensilar e após abertura da silagem. Os ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico e butírico) foram quantificados após a abertura dos silos. No perfil microbiológico, após abertura da silagem foi realizado contagem por meio de cultura da população de Clostridium, Bacillus, Enterobactérias, bactérias ácido lácticas, leveduras e fungo. A estabilidade aeróbia foi avaliada da abertura ao sexto dia de exposição da silagem ao oxigênio. Os teores de MS, PB, MM, lignina e NH₃/N total não diferiram entre os tratamentos e os teores de NH₃/N total foram baixos (média de 71,7 4g kg⁻¹). O uso de vácuo e inoculante apresentaram maiores teores de CHO'S solúveis (23,48 g kg⁻¹). Os teores de FDN, FDA, celulose e PIDA foram inferiores nos tratamentos sem inoculante à vácuo. Os teores de FDA e celulose foram inferiores quando utilizado o uso de inoculante sem vácuo. Os valores de ácidos orgânicos foram baixos para ácido lático e acético e dentro do preconizado para propiônico e butírico. Os valores de pH foram inferiores com uso do vácuo, entretanto acima do valor ideal para uma boa preservação da silagem (4,2) em todos os tratamentos, com comportamento quadrático. Não houve variação na população de bactérias lácticas entre os

tratamentos. A população de *Bacillus* foi inferior com o uso de vácuo. A população de *Clostridium* reduziu com o uso de inoculante à vácuo em comparação a sem vácuo. A população de leveduras apresentou tendência a crescimento linear em todos os tratamentos avaliados do primeiro ao sexto dia de exposição ao oxigênio e conseqüentemente o aumento de temperatura que apresentou comportamento quadrático. Não se observou crescimento de fungos nas silagens durante o período de exposição ao oxigênio. A quebra da estabilidade aeróbia ocorreu a partir do 3º dia após abertura da silagem. O uso de vácuo e inoculante são alternativas que podem ser utilizadas na produção de silagem de capim-tifton 85, pois estes promovem maior queda de pH, aceleram a fase aeróbia reduzindo consumo dos carboidratos e aumenta a população de bactérias produtoras de ácido láctico, desta forma melhora o perfil fermentativo e microbiológico, além de reduzirem teores de fibra com lenta degradação do rúmen, melhorando a composição bromatológica.

Palavras-chave: ácidos orgânicos, bactérias, fermentação, pH

1 VACUUM AND INOCULANT USE IN TIFTON 85 SILAGE PRODUCTION

ABSTRACT

The objective was to evaluate the chemical composition, the fermentation profile, microbiological profile and aerobic stability of Tifton 85 silage with 28 days of silage, produced with vacuum and without vacuum, with or without microbial inoculant. The experimental design was completely randomized in a 2x2 factorial arrangement (whether or not the vacuum and inoculant application), with five replications. The inoculant consisted of lactic acid bacteria (LAB): *Lactobacillus acidophilus* at a concentration of 3×10^9 CFU ml⁻¹ viable cells per ml of the product. The variables for the chemical composition were: dry matter (DM), mineral matter (MM), crude protein (CP), neutral detergent insoluble protein (NDIP), acid detergent insoluble protein (ADIP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), soluble carbohydrates (CHO'S) total carbohydrates (total CHO'S), ether extract (EE) and lignin. The pH and ammonia nitrogen (NH₃/Total N) were evaluated before ensiling and after opening the silage. The organic acids (lactic, acetic, propionic and butyric) were quantified after the silo opening. In the microbiological profile, after the silage opening, it was counted by culture medium of the population of *Clostridium*, *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, lactic acid bacteria, yeasts and fungi. The aerobic stability was evaluated by the opening on the sixth day of the silage exposure to oxygen. The DM, CP, MM, lignin and NH₃/total N content did not differ between treatments and the concentrations of NH₃/total N were low (average of 71.7 4g kg⁻¹). The use of vacuum and inoculant had higher levels of soluble CHO'S (23.48 g kg⁻¹). NDF, ADF, cellulose and ADIP contents were lower in treatments without inoculation with vacuum. The ADF and cellulose content were lower when using the inoculant without vacuum. The values of organic acids were low for lactic and acetic acid and within levels recommended for propionic and butyric. The pH values were lower with vacuum use, however above the ideal value for a good preservation of the silage (4.2) in all treatments, with quadratic behavior. There was no variation in the population of lactic acid bacteria between treatments. The *Bacillus* population was lower with the use of vacuum. The population of *Clostridium* reduced with the use of inoculant with vacuum compared to the one without vacuum. The population of yeast tended to linear growth in all evaluated treatments from the first to the sixth day of exposure to oxygen and consequently the increase of

temperature that showed a quadratic behavior. There was no growth of fungi in the silage during the period of exposure to oxygen. The breaking of aerobic stability occurred from the 3rd day after opening the silage. The use of vacuum and inoculant are alternatives which can be used in the production of silage Tifton 85, since they promote greater drop in pH, accelerate the aerobic phase reducing consumption of carbohydrates and increases the population of lactic acid producer bacteria, thus improving the fermentation and microbiological profile, and reducing fiber content with slow degradation of the rumen, improving the chemical composition.

Keywords: organic acids, bacteria, fermentation, pH

1.1 INTRODUÇÃO

A pastagem é a principal forma de alimentação nos sistemas de criação de ruminantes no Brasil. No entanto em algumas regiões do país existe uma estacionalidade marcante na produção forrageira, que compreende os meses de maio a setembro, onde os dias se apresentam mais curtos, as temperaturas mais baixas e índice pluviométrico reduzido. Esses fatores levam a uma queda da produção forrageira tropical além da redução na sua qualidade. Com a baixa produtividade das forrageiras não é possível atender as exigências de cada categoria animal e consequentemente ocorre atraso produtivo na pecuária.

Para minimizar os prejuízos com o déficit de produção forrageira e manter a produção animal, a conservação de forragens na forma de feno, silagem e pré-secado é uma alternativa de manejo que visa o fornecimento durante esse período, de volumoso em quantidade e qualidade quando a forragem é colhida e produzida com o mínimo de perda de nutrientes. Em algumas propriedades o uso do volumoso conservado se faz durante o ano inteiro devido ao sistema de criação confinado.

A escolha da espécie forrageira para a confecção dos volumosos conservados é importante. O milho é uma das forrageiras mais utilizadas na produção de silagens, por atender aos requisitos necessários a uma boa fermentação. No entanto, a produção de silagem de capim vem aumentando no país, em função da elevada disponibilidade de massa vegetal das forrageiras tropicais, no verão, fazendo com que o excedente seja armazenado para utilização posterior (PEREIRA et al. 2008).

Das espécies mais utilizadas na produção de silagem de capim destaca-se o capim elefante, os cultivares de *Panicum* e os capins do gênero *Cynodon*. Dentro gênero *Cynodon*, o cultivar que possui mais destaque é o capim-tifton 85 (*Cynodon* spp.) que foi desenvolvido por Burton et al. (1993), na Coastal Plain Experiment Station (USDA-University of Georgia), em Tifton, sul do Estado da Geórgia, oriundo do cruzamento de uma introdução sul-africana (PI 290884) com o capim-tifton 68.

O capim-tifton 85 tem um maior uso na produção de feno, em função das características morfológicas apresentadas como: bom perfilhamento, alta relação folha/colmo, colmos finos, baixa elevação do meristema apical e alta digestibilidade quando bem manejado. No entanto, também vem sendo utilizado na produção de silagem em função dos elevados teores de proteína,

rebrotam rápida após o corte, devido a sua característica de manter seu meristema apical próximo ao solo, permitindo cortes em intervalos de 30 a 35 dias no verão. Entretanto, apresenta limitações, como baixa concentração de carboidratos solúveis e baixo teor de matéria seca no momento do corte (PEREIRA et al. 2008).

Neres et al. (2012), ao avaliarem silagem de capim-tifton 85 obtiveram bom perfil fermentativo mesmo sem uso de aditivos, quando compararam às silagens do capim acrescidos de aditivos como casca de soja, quirera de milho e inoculante bacteriano.

Além dos fatores intrínsecos relacionados à planta, para obter uma boa fermentação faz-se necessário o manejo adequado no período de corte da planta, tamanho da partícula, compactação da massa ensilada, vedação adequada, minimizando as perdas no valor nutritivo e reduzindo a ação de microrganismos patogênicos e fermentações indesejáveis poderão ser evitadas.

Quando a compactação não ocorre de forma adequada, há prolongamento da fase aeróbia, ou seja, prolonga-se a respiração das plantas, levando ao consumo de carboidratos solúveis que será o substrato para produção de ácido lático na etapa posterior, denominada anaeróbia, onde se dá a queda acentuada de pH.

O uso de aditivos microbianos com bactérias do grupo homofermentativos e heterofermentativos tem como objetivo elevar a população destes micro-organismos tendo visto a baixa microflora epifítica presente nos capins tropicais (RODRIGUES et al. 2004). A técnica de produção de silagens à vácuo ainda é pouco utilizada, mas tem como princípio acelerar a primeira etapa do processo fermentativo, denominada fase aeróbica.

O objetivo do trabalho foi avaliar o uso da técnica de vácuo e o uso de inoculante bacteriano na produção de silagem, sobre o perfil fermentativo, valor nutricional e estabilidade aeróbia em silagens de capim-tifton 85.

CAPÍTULO 2

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Conservação de forragens

As forragens conservadas são utilizadas nos diversos sistemas de produção animal. Mesmo naqueles a pasto, o produtor deve manter um estoque de forragem conservada, em decorrência dos imprevistos causados pelas condições climáticas, pragas e doenças, além da entressafra forrageira que ocorre no início do outono quando as forrageiras de verão já apresentaram queda em sua qualidade e as forrageiras de inverno ainda não estão no estágio adequado para o pastejo (AMES, 2012).

No final do inverno as forrageiras anuais de inverno já apresentam queda na qualidade, enquanto as espécies de verão ainda não estão aptas ao pastejo, levando ao produtor a busca de alternativas para minimizar eventuais quedas de produção nas atividades dependentes do alimento volumoso, como a bovinocultura, ovinocultura e equideocultura.

A forragem disponível nas pastagens do Brasil durante o período seco não atende as necessidades quantitativas e não contém todos os nutrientes essenciais, na proporção adequada, para atender integralmente as exigências dos animais em pastejo (REIS et al. 2001). Da mesma forma na região Sul do Brasil as baixas temperaturas também limitam o crescimento das forrageiras tropicais, em consequência da estacionalidade da produção forrageira, assim o produtor tem como uma das alternativas a produção de feno e silagem.

As gramíneas tais como o milho e sorgo apresentam características favoráveis ao processo fermentativo, entretanto são silagens de alto custo de produção (EVANGELISTA et al. 2009), sendo assim, outras espécies podem ser utilizadas com alternativa na produção de silagens como cana de açúcar, milheto e os capins usados para pastejo como as forrageiras tropicais e temperadas. Entretanto, estas espécies apresentam limitações ao não atender todas as características desejáveis ao processo fermentativo adequado.

Alguns sub produtos da agroindústria também podem ser ensilados como o resíduo úmido de cervejaria, massa de mandioca e outros, sub produtos também podem ser utilizados como aditivos adsorventes na ensilagens de capins por conterem elevados teores de matéria seca,

como casca de café, casca de soja e polpa cítrica. A opção pelo uso vai depender da proximidade do local de produção e custos de aquisição.

Os primeiros estudos sobre silagens de capins no Brasil foram desenvolvidos nas décadas de 60 e 70, tendo o capim elefante como a espécie mais estudada (PEREIRA et al. 2008). Mais recentemente, outras forragens foram ganhando destaque, como os capins de clima tropical (tanzânia, mombaça, braquiária brizantha, tifton 85 e coastcross), gramíneas de clima temperado (aveia, azevém e triticale), a cana-de-açúcar e os grãos de cereais.

2.2 Processo fermentativo na produção de silagens

As forragens conservadas como feno ou silagem podem ter seu valor alimentício alterado em função dos procedimentos adotados na sua produção e armazenamento, e dos fenômenos bioquímicos e microbiológicos ocorridos durante o processo, exercendo influência marcante na composição química, ingestão e digestibilidade da forragem (JOBIM et al. 2007).

O momento ideal de corte é um dos grandes desafios na confecção de silagens de capins, pois quando as forrageiras apresentam teores adequados de MS para ensilagem e o valor nutricional é baixo. Estas para serem ensiladas devem apresentar teores de carboidratos solúveis, os quais serão usados em parte pelas bactérias lácticas responsáveis pela produção de ácidos orgânicos, promovendo a queda do pH, que irá paralisar a atividade microbiológica no silo. Entretanto com baixo teor de MS o uso de aditivos adsorventes deverá ser utilizado para elevação desta, minimizando perdas fermentativas.

Quando a forragem é colhida no estágio de elevado valor nutricional os teores de MS são baixos, com isso eleva-se a produção de efluentes e, como consequência, lixiviam grandes quantidades de nutrientes que possuem grande potencial poluente. Esperar por teores mais elevados de MS para o corte da forrageira acarretará em elevação dos teores de fibra e lignina, reduzindo a disponibilidade de nutrientes, além das dificuldades de compactação da massa ensilada.

A exposição ao sol logo após o corte faz com que o material cortado desidrate parcialmente, aumentando a concentração de matéria seca da forragem evitando perdas. Quando a gramínea é cortada estas apresentam cerca de 80% de umidade, sendo que quando expostas ao sol no campo rapidamente chegam a 65% de umidade, valor considerado ideal para a ensilagem.

O tempo de emurchecimento pode variar de 1 a 12 horas, dependendo da espécie forrageira, espessura do colmo, teor de matéria seca, intensidade da radiação solar, temperatura ambiente e ventos.

Após o corte as plantas continuam com os estômatos abertos e, como o déficit de pressão de vapor entre a forragem e o ar é alto, a perda de água é bastante rápida. Os estômatos se fecham em aproximadamente 1 hora após o corte, ou quando as plantas possuem de 65 a 70% de umidade, cerca de 20 a 30% do total de água é perdido nesta primeira fase e após o fechamento dos estômatos, inicia-se uma perda de água em ritmo mais lento, via evaporação cuticular (McDONALD & CLARK, 1987).

Outro ponto importante é o tipo de maquinário que será usado para esse processo, pois se for inadequado pode acarretar alta perda no recolhimento da forragem. Pode-se trabalhar com implementos específicos (ceifadeira-enleiradeira), ou adaptação dos implementos usados para produção de feno e silagem.

O uso de aditivos adsorventes, principalmente sub produtos da agroindústria poderá ser utilizado também, mas a escolha dependerá da disponibilidade e custo de aquisição. Estes também podem fornecer substrato para as bactérias fermentadoras, melhorando a qualidade final da silagem.

Neres et al. (2014), avaliaram adição de quirera de milho ou casquinha de soja (ambos na proporção de 12%) em silagem de capim-tifton 85 com o intuito de atingir o 32% de matéria seca, e verificaram silagens com valores de pH satisfatórios e menor teor de fibra. Da mesma forma, Souza et al. (2003) observaram que a inclusão de 17,4% de casca de café por tonelada de matéria verde de forragem foi eficiente em melhorar características nutricionais em silagem de capim-elefante com alto teor de umidade, aumentando a disponibilidade de nitrogênio e reduzindo os teores de FDN da forragem.

Uma importante variável é o tamanho médio de partícula. Partículas de tamanho elevado dificultam a compactação impedindo a expulsão do ar (oxigênio), fazendo com que a taxa respiratória e bactérias aeróbias permaneçam ativas por mais tempo provocando aumento da temperatura da massa e consumo de carboidratos solúveis, o mesmo ocorrendo com forragens em avançado estágio de maturidade (ITAVO & ITAVO, 2008). Para silagens de capim recomenda-se tamanho médio de partícula entre 8-30 mm.

A compactação é importante na confecção da silagem, pois é através dessa prática que o ar é retirado do espaço entre as partículas de silagem, sendo que quanto mais rápido e eficiente, melhor será a qualidade do produto final, com maiores teores de ácido lático, açúcares residuais e menores teores de nitrogênio amoniacal, produto da degradação da fração protéica.

A compactação ideal deve expulsar todo ar da massa ensilada, porém em caso de alto teor de umidade e compactação seja excessiva, pode haver aumento na produção de efluente, e consequente aumento nas perdas (ITAVO & ITAVO, 2008). Se o capim for corretamente emurchecido ou aditivado, esse efeito poderá ser evitado.

Quando a confecção da silagem não é realizada com correta compactação e total vedação do silo, a entrada de ar é inevitável, e a fase de fermentação anaeróbica não é completada com sucesso, além de alterar a qualidade do valor nutritivo do material ensilado, devido à ocorrência de atividades de bactérias indesejáveis, fungos e leveduras.

A qualidade da ensilagem é preservada quando ocorre fermentação por bactérias produtoras de ácido lático, os lactobacilos. O material a ser ensilado deve apresentar condições, como inibir a presença de oxigênio, maior quantidade de lactobacilos em relação a outros micro-organismos, teor de matéria seca ideal de 300 a 350 g kg⁻¹ para evitar a fermentação butírica, concentração elevadas de carboidratos solúveis para evitar fermentações indesejáveis (McDONALD et al. 1991).

As bactérias principalmente os do gênero *Clostridium* são formadoras de esporos e interferem na qualidade das silagens. Estas se desenvolvem em ambientes anaeróbios, pH superiores a 4,5, alta umidade nas forragens e são responsáveis pela descarboxilação dos aminoácidos e produção de amônia, levando à perdas no conteúdo protéico da silagem além da produção de ácido butírico.

A conservação da forragem para a produção de silagem com perfil fermentativo e valor nutritivo adequado, ocorre em algumas etapas. Essas etapas se dividem basicamente em três fases e se completam em torno de 21 dias: 1) fase aeróbia, esta ocorre em um período curto, entre 24 a 48 horas e quanto mais rápido ocorrer essa fase melhor é o perfil fermentativo da massa ensilada. Após o corte a planta apresenta geralmente pH 6,0 e continua respirando, usando os carboidratos solúveis (glicose, frutose, sacarose) através de suas enzimas e produzindo dióxido de carbono (CO₂), calor e água; 2) fase anaeróbia 1, inicia-se quando cessa o oxigênio da fase aeróbia, os carboidratos solúveis estão presentes juntamente com as bactérias lácticas, produzindo ácido

acético, álcool e ácido lático que tem uma constante elevada de dissociação de H^+ , conseguindo baixar o pH de 6,0 para 5,0; 3) a última fase é chamada de anaeróbia 2 e ocorre quando o pH passa de 5,0 para aproximadamente 4,2. Nessa etapa a produção de ácido lático destaca-se e isso ocorre com a maior presença de bactérias lácticas homofermentativas que não estão competindo com outros micro-organismos (PAHLOW et al. 1999).

Quando o pH não consegue atingir níveis inferiores a 4,2 a possibilidade de fermentação butírica aumentar e com isso a produção de nitrogênio amoniacal (NH_3/N total) e degradar a proteína por descarboxilação de aminoácidos. Desta forma a ausência de oxigênio juntamente com a queda do pH, garantem a preservação das forragens conservadas (McDONALD et al. 1991).

Quando o perfil fermentativo da silagem desejável não é alcançado à produção de ácido lático e acético diminuem e ocorre aparecimento de micro-organismos indesejáveis com o aumento do pH, com isso o surgimento de amônia é inevitável, causando deterioração aeróbia e diminuindo a estabilidade aeróbia (WOOLFORD, 1984).

A estabilidade aeróbia é capacidade da massa ensilada em manter seu valor nutritivo após a abertura do silo em maior tempo possível. Essa é medida pelo tempo necessário, decorrido após a exposição do silo, para que a temperatura da silagem exceda em $2^\circ C$ a temperatura ambiente (DRIEHUIS et al. 2001). Os carboidratos solúveis e ácidos orgânicos produzidos na fase fermentativa agem como substratos para o desenvolvimento de micro-organismos aeróbios, que contribuem para a queda mais rápida da estabilidade, pois nesse processo é produzido calor (GUIM et al. 2002).

A reação de Maillard, em silagens ocorre devido à elevação de temperatura acima de $40^\circ C$ e são favoráveis a reações enzimáticas entre carboidratos solúveis e grupos aminas dos aminoácidos, tornando-os indisponível aos animais e essa reação modifica o aspecto da forragem conservada, alterando a cor verde para tons de marrons (VAN SOEST, 1994).

O teor de carboidratos solúveis encontrados nas forrageiras tropicais é reduzido (abaixo de 80 g kg^{-1}) (GUIM et al. 1995). No processo fermentativo pode ocorrer maior produção de ácidos orgânicos que não foram produzidos pelos carboidratos solúveis, dessa forma o aumento de carboidratos solúveis podem ser resultante da hidrólise de carboidratos estruturais, por meio de ação química ou de enzimas da própria forragem, parte da hemicelulose pode ser hidrolisada

em açúcares que serão utilizadas por bactérias homofermentativas e heterofermentativa (PEREIRA et al. 2001).

Rodrigues et al. (2004), recomendam o uso de aditivos nas forragens conservadas para diminuir as perdas nas silagens por deterioração aeróbia e para otimizar o processo fermentativo.

2.3 Uso de inoculantes na produção de silagem

Nos Países como Europa e Estados Unidos, os aditivos bacterianos são os mais comuns utilizados na ensilagem de milho, gramíneas e leguminosas, as quais podem ser emurhecidas até teores superiores a 300g kg^{-1} de MS (CASTRO et al. 2006).

A aplicação de inoculantes com bactérias heterofermentativas e homofermentativas pode ocasionar efeitos benéficos em silagens, promovendo produção de lactato e acetato na fermentação e maior recuperação da matéria seca pós-fermentação, proporcionando maior estabilidade aeróbia à silagem (RODRIGUES et al. 2004).

As bactérias homofermentativas apresentam taxa de fermentação rápida, produzem maior concentração de ácido láctico e menor de acético e butírico, maior recuperação da matéria seca e energia, já as bactérias heterofermentativas usam ácido láctico e glicose para produzir ácido láctico e acético (WILKINSON & DAVIES, 2012).

A combinação entre enzimas e o tratamento com inoculantes podem ser satisfatórios na melhora da qualidade da silagem aumentando a digestibilidade da matéria orgânica da forragem, diminuindo proliferação de fungos, bactérias e leveduras (GUIM et al. 2002).

Para o inoculante ser eficiente na silagem, as bactérias inoculadas, responsáveis pela produção de ácido láctico e fermentação desejada devem desenvolver-se rapidamente no início do processo de ensilagem, impedindo o desenvolvimento de micro-organismos patogênicos (SANTOS et al. 2008).

Alguns fatores não contribuem para a eficácia do inoculante, entre eles, a presença de oxigênio na ensilagem, baixo teor de açúcar da forragem, alto teor de umidade, competição com microrganismos indesejáveis, problemas na aplicação do produto e além de que, para a queda rápida do pH é necessário 10^8 bactérias lácticas em cada grama de forragem, o que é muito maior do que a concentração encontradas nos aditivos microbiológicos (ZOPOLLATTO et al. 2009).

Apesar do inoculante ser um indicativo de melhoria na fermentação da silagem e auxiliar em manter as características nutricionais da planta, muitas vezes a silagem distribuída aos animais, na grande maioria das propriedades rurais tem apresentado deterioração aeróbia até mesmo antes de o alimento ser fornecido, prejudicando no seu desempenho (GIMENES et al. 2006).

Segundo Ávila et al. (2009), existe um grande número de estudos com uso de inoculantes em silagens, no entanto, os resultados relacionados a melhorias do processo fermentativo, ao valor nutritivo, ao consumo de matéria seca e ao ganho de peso dos animais ainda são contraditórios.

2.4 Uso do vácuo na produção de silagem

O sistema de produção de silagens a vácuo ainda é pouco utilizado, mas vem sendo difundido por empresas especializadas no comércio de embalagens e venda do produto. Os estudos ainda são escassos, mas por um lado temos cada vez mais crescentes produtores especializados no comércio de forragens conservadas. Com isso a preocupação do produtor que está adquirindo o produto relaciona-se com o valor nutricional, viabilidade econômica e qualidade sanitária do produto.

Alternativas de práticas de produção de silagem vêm sendo desenvolvidas e estudadas, como formas de armazenamento para melhor garantir a conservação do volumoso e entre eles os procedimentos de retirada do ar nos silos.

Alguns silos são bastante comuns na produção de silagem, entre eles: silo aéreo, este apresenta custo elevado e difícil manejo; silo encosta aproveita terrenos com encostas e barrancos; silos cisterna, construído abaixo da superfície do solo sem uso atualmente; silo superfície, é prático pois pode ser alocado em diferentes locais na propriedade e de menor custo e o silo trincheira, mais usado atualmente por permitir compactação eficiente e facilidade na retirada da silagem(GIMENES et al. 2006).

Entretanto novas alternativas de produção de silagem vêm aparecendo, em função da especialização de produtores em comercializar estas. Os pré-secados de forrageiras tropicais e temperadas vem sendo comercializados em silos tipo bags de 200 a 400 kg e atualmente a

silagem de milho produzida à vácuo, que apresenta-se no mercado em embalagens de 25 kg ou 1 tonelada.

Existem poucos estudos que apontam a qualidade final da forragem com o uso de conservação à vácuo, essa técnica apesar de antiga, atualmente vem ganhando espaço na produção de silagem no Brasil e estudos tanto em laboratórios como a campo já vem sendo praticados em outros países, como Austrália, Nova Zelândia, Tailândia, Estados Unidos (MOSS et al. 2002); (SILVA et al. 2014).

A produção de silagem à vácuo tem como objetivo a expulsão de todo ar dos silos, por meio de sucção (VILELA et al. 1983). Em função dos poucos estudos avaliando o uso de vácuo em silagens, há necessidade de mais pesquisas avaliando a eficiência dessa técnica.

2.5 Estabilidade aeróbia em silagens

A deterioração aeróbia da silagem está relacionada ao aumento de temperatura e pH quando estas são expostas ao oxigênio devido ao metabolismo de açúcares e ácidos orgânicos causados por leveduras e bactérias (WILKSON & DAVIES, 2012).

As silagens mais susceptíveis a deterioração aeróbia são aquelas com elevados teores de carboidratos solúveis e ácidos orgânicos como o ácido lático e a silagem de milho é a mais susceptível a deterioração, quando os procedimentos iniciais de ensilagem como tamanho de partícula e compactação da forragem não são feitos de forma adequada (CASTRO et al. 2006).

A quebra da estabilidade aeróbia se dá quando a temperatura da silagem ultrapassa em 2°C a temperatura ambiente após exposição ao oxigênio (DRIEHUIS et al. 2001).

As leveduras são os primeiros micro-organismos a atuarem após a exposição ao oxigênio e estas consomem apenas compostos solúveis (açúcares e produtos da fermentação) enquanto os fungos filamentosos degradam uma ampla variedade de nutrientes, inclusive carboidratos estruturais, como os fungos do gênero *Penicillium* (McDONALD et al. 1991).

Os fungos contaminam os volumosos sendo prejudicial para os animais, e para seu desenvolvimento é preciso: nitrogênio, energia, umidade, temperatura adequada e obrigatoriamente presença de oxigênio. Certos gêneros encontrados em silagens como *Aspergillus* e *Penicillium* requerem para seu desenvolvimento condições elevadas de temperaturas e o gênero *Fusarium* temperaturas mais baixas.

Alguns fungos produzem micotoxinas e as leveduras são responsáveis pela deterioração aeróbia das silagens, a partir da utilização dos ácidos orgânicos e açúcares (AMARAL, 2011). A superfície e laterais dos silos são mais propícios à penetração do ar e desenvolvimento de leveduras e fungos, afetando com o tempo toda massa ensilada, devido o tempo prolongado em contato com o ar que promove multiplicação das unidades formadoras de colônias (UFC).

2.6 Referências

- AMARAL, R. C. **Estratégia de controle da determinação aeróbia em silagem de milho e seu valor alimentício para vacas em lactação.** p. 175, 2011. Tese (Doutorado em Ciências Animal e Pastagens) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
- AMES, L. P. **Sistemas de produção de feno de capim Tifton 85 no inverno.** p. 81, 2012. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, PR.
- ÁVILA, C. L. S.; PINTO, J. C.; FIGUEIREDO, H. C. F. et al. Estabilidade aeróbia de silagens de capim-mombaça tratadas com *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v. 38, n. 5, p. 779-787, 2009.
- BARNETT, A. J. G. **Silage fermentation.** London Butterworths Sci. Publ. 1954.
- BURTON, G. W.; GATES, R. N.; HILL, G. M. Registration of 'Tifton 85' bermudagrass. **Crop Science.** v.33, p. 644-645, 1993.
- 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. 1, p. 358-371, 2006.
- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S. J. W. H.; VAN WIKSELAAR, P. G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science.** v. 56, p. 330-343, 2001.
- EVANGELISTA, A.R.; SIQUEIRA, G.R.; LIMA, J.A. et al. Alterações bromatológicas e fermentativas durante o armazenamento de silagens de cana-de-açúcar com e sem milho desintegrado com palha e sabugo. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v. 38, n. 1, p. 20-26, 2009.
- 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 Science Animal Science.** v. 28, n.2, p. 153-158, 2006.

- GUIM, A. RUGGIERI, A. C. ANDRADE, P. MALHEIROS, E. B. Efeito de inoculante microbiano sobre consumo, degradação *in situ* e digestibilidade aparente das silagens de capim-elefante cv. Napier (*Pennisetum purpureum* Schum). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 24, n.6, p.1045-1053, 1995.
- GUIM, A.; ANDRADE, P.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. et al. Estabilidade aeróbica de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) emurcheado e tratado com inoculante microbiano. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 31, n.6, p. 2176-2185, 2002.
- ÍTAVO, L.C.V.; ÍTAVO, C.C.B.F. Estratégias para o uso de subprodutos da agroindústria associados às silagens. In: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS. **Anais...C.C.**; CECATO, U.; CANTO, M. W. (orgs). Maringá:Masson, p.153-195. 2008.
- 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. 26, p. 101-119, Supl. Especial, 2007.
- McDONALD, A. D.; CLARK, E. A. Water and quality loss during field drying of hay. **Advances in Agronomy**.v.41, p.407-437, 1987.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**.2.ed. Marlow: Chalcombe Publications, p. 340, 1991.
- MOSS, B.R.; PAS DLACAN, J.C.; LIN PAS, D. et al. Milk Production from Cows Fed Corn, Alfalfa, or Ryegrass Silage Ensiled in Conventional, Vacuum, or Packed Systems. Moss et al. **The Professional Animal Scientist**. v. 18, p. 324-331, 2002.
- NERES, M. A.; CASTAGNARA, D. D.; SILVA, F. B. et al. Características produtivas, estruturais e bromatológicas dos capins Tifton 85 e Piatã e do feijão-guandu cv. Super N, em cultivo singular ou em associação. **Ciências Rural**. v. 42, n. 5, p. 862-869, 2012.
- NERES, M. A.; HERMES, P. R.; AMES, J. P. et al. Use of additives and pre-wilting in Tifton 85 bermudagrass silage production. **Ciências e Agrotecnologia**. v. 38, n. 1, p. 85-93, 2014.
- PAWLON, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. et al. Microbiology of ensiling. In: **Silage Science and Technology** ed. BUXTON, D. R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J. H.; MADISON, WI: American Society of agronomy; in press.p.31-93, 2003.
- PEREIRA, J. R.; REIS, R. A. Produção de silagem pré-secada com forrageiras temperadas e tropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS. **Anais do Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas**. p. 64 – 86, 2001.
- PEREIRA, O. G.; RIBEIRO, K. G.; OLIVEIRA, A. S. Produção e utilização de silagem de capim no Brasil. Eds. PERERIA, O. G.; OBEID, J. A.; FONSECA, D. M. et al. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM. **Anais...4**.p.249-278, 2008.

- REIS R. A.; MOREIRA A. L.; PEDREIRA A. S. Técnicas para produção e conservação de fenos de forrageiras de alta qualidade. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS. **Anais...** Maringá. p. 1-39, 2001,
- RODRIGUES, P. H. M.; RUZANTE, J. M.; SENADORES, A. L. et al. Avaliação do uso de inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa e nutricional da silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 33.n.23, p. 538- 545, 2004.
- SANTOS, E. M.; ZANINE, D. J. FERREIRA, J. S. et al. Inoculante ativado melhora a silagem de capim-Tanzânia (*Panicum maximum*). **Archivos Zootecnia**. v. 57, n. 217, p. 35-42, 2008.
- SILVA, M. S. J.; JOBIM, C. C.; NASCIMENTO, W. G. et al. Uso de aditivos e tempo de abertura dos silos em silagens de estilosantes campo grande. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**. v. 15, n. 2, p. 381-393, 2014.
- SOUZA, E. M. **Efeitos da irrigação e adubação nitrogenada sobre a produção de matéria seca e qualidade da forragem de cultivares de *Panicum maximum* Jacq.** p. 60, 2003. Dissertação (Mestrado em Sistemas de Produção Animal) – Faculdade de Engenharia de Ilhas Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, SP.
- SPOELSTRA, S.F.; COURTIN, M.G.; VAN BEERS, J.A.C. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of maize silage. **Journal of Agricultural Science**, v.111, p.127-132, 1988.
- VILELA, D.; RODDEN, B.; OLIVEIRA, J. S. Avaliação da silagem de capim-elefante, acondicionada a vácuo em silos de superfície, utilizando-se novilhas em sistema de auto alimentação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 18, n. 6, p. 663-673, 1983.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2ª ed. Cornell University Press, Ithaca, NY, p. 476, 1994.
- WILKINSON, J.M. & DAVIES, D.R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v.68, p.1-19, 2012.
- WOOLFORD, M. K. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker, p. 350, 1984.
- ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J. L. P.; NUSSIO, L. G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 38, p.170-189, 2009.

CAPÍTULO 3

3 PERFIL FERMENTATIVO E COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DE SILAGENS DE CAPIM-TIFTON 85, PRODUZIDAS À VÁCUO E SEM VÁCUO, ADICIONADOS OU NÃO DE INOCULANTE MICROBIANO

RESUMO

A pesquisa objetivou avaliar o perfil fermentativo e a composição bromatológica de silagens de capim-tifton 85, com 28 dias de ensilagem, produzidas à vácuo e sem vácuo, adicionados ou não de inoculante microbiano. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2 (aplicação ou não do vácuo e inoculante), com cinco repetições. O inoculante era composto por *Lactobacillus acidophilus*. As variáveis analisadas relacionadas a composição bromatológica foram: matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), carboidratos solúveis (CHO'S) carboidratos totais (CHO'S totais), extrato etéreo (EE) e lignina. O pH e nitrogênio amoniacal (NH_3/N total), foram avaliados antes de ensilar e após abertura da silagem. Os ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico e butírico) foram quantificados após a abertura dos silos. Os valores de pH foram inferiores com uso do vácuo, entretanto acima do valor ideal para uma boa preservação da silagem (4,2) em todos os tratamentos. As silagens apresentaram baixos teores de nitrogênio amoniacal (média de $71,7 \text{ g kg}^{-1}$) não diferindo entre os tratamentos. Os teores de MS, não diferiram entre os tratamentos, com média de $303,31 \text{ g kg}^{-1}$, o mesmo ocorrendo com os teores de PB, MM e lignina. As silagens produzidas com vácuo e inoculante apresentaram maiores teores de carboidratos solúveis ($23,48 \text{ g kg}^{-1}$). Os teores de FDN, FDA, celulose e PIDA foram inferiores quando não utilizado inoculante na ensilagem, mas aplicado o vácuo. Os teores de FDA e celulose quando utilizado o inoculante e ausência de vácuo mostraram-se inferiores. A produção de ácido lático não diferiu entre tratamentos, a produção de ácido acético foi superior nas silagens com inoculante e sem vácuo. A produção de ácido lático e acético foram abaixo do ideal para uma boa preservação da silagem e os elevados valores de pH podem ser atribuídos a essa baixa produção. Entretanto, a produção de ácido butírico foi baixa juntamente com a baixa produção de amônia, que são indicativos de baixa atividade de bactérias

do gênero *Clostridium*. Tanto o vácuo quanto o inoculante são alternativas que podem ser utilizadas na produção de silagens de capim-tifton 85.

Palavras-chave: ácidos orgânicos, carboidratos solúveis, conservação de forragens, matéria seca

3 FERMENTATION CHARACTERISTICS AND BROMATOLOGICAL COMPOSITION OF TIFTON 85 SILAGE VACCUM AND NON-VACCUM PRODUCED, WITH OR WHITHOUT MICROBIAL INOCULANT

ABSTRACT

The research aimed to evaluate the fermentation characteristics and chemical composition of grass silages Tifton 85, with 28 days of silage, vacuum and non-vacuum produced, with or without microbial inoculant. The experimental design was completely randomized in a 2x2 factorial design (whether or not the vacuum and inoculant application), with five replications. The inoculum consisted of *Lactobacillus acidophilus*. The variables related to the bromatological composition were: dry matter (DM), mineral matter (MM), crude protein (CP), neutral detergent insoluble protein (NDIP), acid detergent insoluble protein (ADIP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), soluble carbohydrates (CHO'S) total carbohydrates (CHO'S total), ether extract (EE) and lignin. The pH and ammonia nitrogen (NH₃/N total) were evaluated before and after opening the silage silage. Organic (lactic, acetic, propionic and butyric acids) were quantified after the silo opening. The pH values were lower with vacuum use, however above the optimal value for a good preservation of the silage (4.2) in all treatments. The silages showed low concentration of ammonia nitrogen (average of 71.7 4g kg⁻¹) and did not differ between treatments. The DM, content did not differ between treatments, with an average of 303.31 g kg⁻¹, the same occurred with the CP, MM and lignin. The silages produced with vacuum and inoculant showed higher levels of carbohydrates (23.48 g kg⁻¹). NDF, ADF, cellulose and ADIP content were lower when the inoculant was not used but it was applied vacuum. The ADF and cellulose content when using the inoculant with absence of vacuum were inferior. The lactic acid production did not differ between treatments, the production of acetic acid was higher in silages with inoculant and without vacuum. Lactic and acetic acid production were less than optimal for a good preservation of the silage and the high pH values can be attributed to the low production. However, the production of butyric acid was low with low ammonia production, which are indicative of low activity of bacterias of the genus *Clostridium*. Both the vacuum and the inoculant are alternatives that can be used to produce Tifton 85 silage.

Keywords: organic acids, soluble carbohydrates, forage preservation, dry matter

3.1 Introdução

A produção de silagem é uma técnica que visa preservar a forragem em condições anaeróbias, por meio de processo fermentativo nos quais carboidratos solúveis são convertidos em ácidos orgânicos, levando a uma redução no pH, e evitando assim mudanças no valor nutritivo da planta por ação de micro-organismos deteriorantes.

Quando a massa ensilada não é compactada adequadamente, o oxigênio presente vai prolongar a fase aeróbia do processo fermentativo pelo maior fluxo de oxigênio nas camadas, aumentando o consumo de carboidratos solúveis que servirão de substrato para as bactérias homofermentativas e heterofermentativas atuantes nas fases subseqüentes. Ao mesmo tempo a presença de porosidade na massa ensilada acarretará em perdas não só no processo fermentativo, mas também após a abertura do silo, devido ao maior desenvolvimento de fungos e leveduras, reduzindo assim o período de estabilidade aeróbia, aumentando a temperatura e pH e, promovendo perdas do valor nutritivo da forragem conservada (SILVA, 2013).

Alguns avanços tecnológicos permitiram que a produção de silagem de forrageiras tropicais fossem mais exploradas e incluídas nas dietas de animais com benefícios econômicos, através de inovações em equipamentos para processamento da forrageira.

Os primeiros estudos com silagem de capins tropicais iniciaram-se com o capim elefante (PEREIRA et al. 2008), por este apresentar alto rendimento forrageiro e teor de carboidratos solúveis dentro dos níveis desejados.

Atualmente espécies do gênero *Panicum* e *Cynodon* também estão sendo utilizadas na produção de silagem e alimentação de bovinos de corte, pois também são perenes e quando bem manejadas apresentam elevado valor nutricional e menor custo de produção em relação a silagem de milho. As forrageiras do gênero *Cynodon* spp ainda apresentam a vantagem do uso sob pastejo, feno e silagem (NERES et al. 2014).

No entanto, os capins tropicais apresentam limitações como: baixo conteúdo energético, baixo teor de carboidratos solúveis, elevado poder tampão e MS abaixo de 300 a 350 g kg⁻¹ (McDONALD et al. 1991). Quando essas características não são atendidas, aumenta a proliferação de micro-organismos deteriorantes e com isso o risco de fermentação secundária (WOOLFORD, 1984; WILKSINSON & DAVIES, 2012).

Uma alternativa para melhorar o padrão de fermentação na silagem de capins tropicais é o uso de aditivos microbianos com culturas de bactérias lácticas homofermentativas ou/e heterofermentativas devido à baixa microflora epifítica presente nessas forrageiras (VILELA, 1998). Entretanto os resultados sobre a eficiência destes sobre a melhoria do perfil fermentativo e valor nutricional ainda são contraditórios.

Deficiências na compactação da silagem retardam o início da fase anaeróbia e como consequências aumentam a taxa respiratória do ensilado, elevando o consumo de carboidratos solúveis, que posteriormente servirão de substrato das bactérias produtoras de ácido láctico.

A produção de silagem à vácuo e o uso de inoculante são estratégias que poderão atuar na melhoria da conservação das silagens de forrageiras tropicais. O vácuo promove retirada do ar nos silos, visa inibir a respiração celular da planta e impedir perdas de carboidratos solúveis, promovendo aumento da população de micro-organismos anaeróbios produtores de ácido láctico. O trabalho teve como objetivo avaliar a composição bromatológica e o perfil fermentativo da silagem de capim-tifton 85, utilizando o método de produção com e sem vácuo e o uso ou não de inoculante bacteriano.

3.2 Material e Métodos

A ensilagem foi realizada na Fazenda Experimental Antônio Carlos dos Santos Pessoa, pertencente à Universidade Estadual do Oeste Paraná – Campus Marechal Cândido Rondon – PR, no dia 01 de abril de 2014. O clima local, classificado segundo Koppen é do tipo Cfa, subtropical com chuvas distribuídas no ano e verões quentes, as temperaturas médias são de 22 e 23°C e precipitação pluvial média para a região variando de 1600 a 1800 mm. O solo da região é classificado como Latossolo Vermelho eutroférico de textura argilosa (EMBRAPA, 2006) e possui as seguintes características químicas: pH em água - 5,30; P (Mehlich) –36,10 mg/dm³; K (Mehlich) - 0,71 cmolc/dm³; Ca²⁺ + (KCl 1 mol.L⁻¹) – 5,19 cmolc/dm³; Mg²⁺ + (KCl 1 mol/L) – 1,89 cmolc/dm³; Al³⁺ + (KCl 1 mol/L) - 0,00 cmolc/dm³; H + Al (acetato de cálcio 0,5 mol/L) – 4,96 cmolc/dm³; SB – 7,79 cmolc/dm³; CTC – 12,75 cmolc/dm³ V – 61,10%, Matéria orgânica (Método Boyocus) – 23,24 g/dm³ e argila – 65%.

Os valores de temperatura e precipitação não foram favoráveis ao crescimento da forrageira (Figura 1), desta forma o tempo de rebrota para corte do capim-tifton 85 estendeu-se para 59 dias.

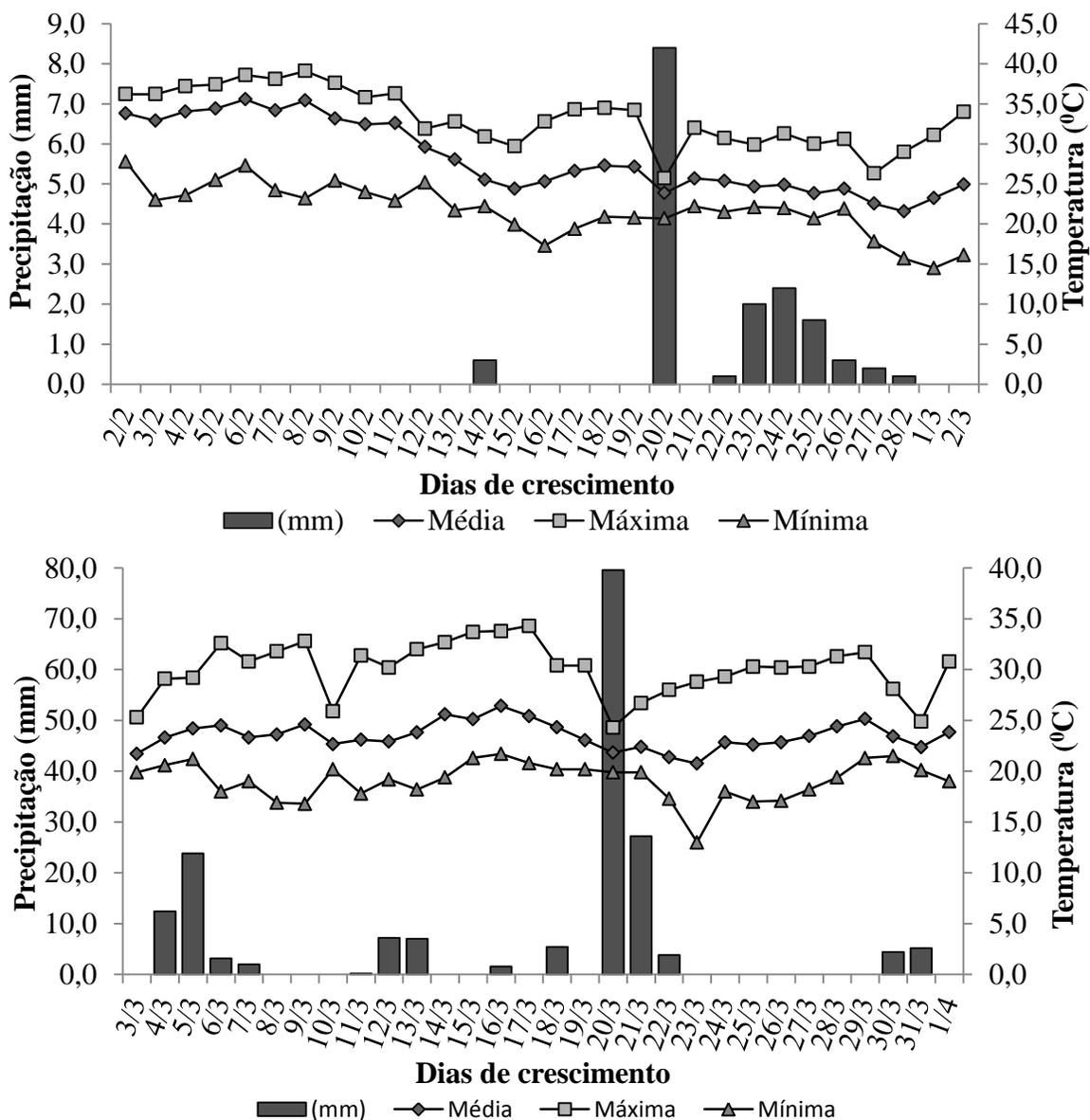


Figura 1. Dados climáticos referentes ao período de crescimento do capim-tifton 85

Fonte: Estação Meteorológica do Núcleo de Estações Experimentais da UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon – PR, 02 de fevereiro a 01 de abril de 2014

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2, com cinco repetições, com os seguintes tratamentos:

- 1) silagem a vácuo com inoculante;
- 2) silagem a vácuo sem inoculante;
- 3) silagem sem vácuo com inoculante;
- 4) silagem sem vácuo sem inoculante.

Antes do corte efetuou-se a caracterização da área de capim-tifton 85 por meio das características estruturais e teor de MS da planta, que apresentava 59 dias de rebrota. Com auxílio de uma régua graduada realizou-se as medidas de altura da planta tomando como base o solo até a curvatura da última folhado perfilho, com 5 repetições; a avaliação de folhas mortas e folhas verdes por perfilho, foi realizada em 10 perfilhos distribuídos na área destinada a produção de silagem.

O capim-tifton 85 foi cortado para ensilagem a 5 cm do solo quando apresentava 235,9g kg⁻¹ de MS às 14h do dia 1º de abril de 2014. As plantas apresentavam média de altura de 48 cm, 9 folhas verdes e 4 folhas mortas. A forragem permaneceu por 1 hora exposta ao sol, quando seus teores de matéria seca elevaram-se para 290,0 g kg⁻¹.

No corte utilizou-se uma colhedora de marca Cremasco modelo CUSTOM 930-C 11 e a forragem foi picada com tamanho médio de partículas de 3 cm. Após o emurchecimento, a forragem foi ensilada em sacos plásticos, compostos por dois sacos transparentes com 10 µ de espessura cada um e cobertas com saco plástico preto de 8 µ de espessura, para evitar exposição a claridade. Os silos apresentaram peso médio final de 8 kg.

O inoculante bacteriano foi aplicado no momento da ensilagem, de acordo com a recomendação do fabricante, por meio de pulverizador manual, buscando distribuição uniforme da massa a ser conservada e este apresentava como garantia: bactérias *Lactobacillus acidophilus*, com concentração aproximada de 3×10^9 UFC ml⁻¹.

Para a retirada do ar da silagem no tratamento a vácuo, adaptou-se um aspirador de pó com tela acoplada na porção final para impedir a entrada de silagem no equipamento. Os silos foram vedados com fita adesiva. No tratamento sem vácuo, a compactação foi feita manualmente, sendo vedados os silos com fita adesiva, identificados e utilizado uma válvula adaptada tipo Bunsen, para livre escape dos gases. Após os procedimentos de ensilagem os silos foram mantidos na temperatura ambiente em galpão coberto por 28 dias.

A determinação da MS da forrageira foi realizada com a coleta de amostras verdes as quais foram secas em estufa de ventilação forçada de ar a 55⁰C por 72 horas, pesada posteriormente e moídas no moinho do tipo faca com peneira de crivos de 1 mm. (SILVA & QUEIROZ, 2006).

Para determinação do pH, utilizou-se a metodologia proposta por Cherney e Cherney (2003), em extrato aquoso formado por uma fração de 25g de amostra misturada com 450 ml de água ionizada.

Amostras verdes foram congeladas para posterior determinação da capacidade tampão (PLAYNE & McDONALD, 1966), nitrogênio amoniacal (NH₃/N total) (BOLSEN et al. 1992).

Amostras de silagem no momento da abertura também foram congeladas para posterior determinação dos ácidos orgânicos: láctico, acético, propiônico e butírico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Os extratos foram obtidos em uma prensa hidráulica, centrifugados e acidificados com ácido sulfúrico 2 molL⁻¹. As análises foram realizadas no laboratório de Química (Central de Análises) do curso de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus de Pato Branco. Utilizou-se coluna de resina Aminex HPX-87H com 300x7,8mm (Bio-Rad). Uma solução de ácido sulfúrico 0,005 mol L⁻¹ foi utilizada como fase móvel; a temperatura do forno foi mantida a 50°C; o fluxo de 0,8 ml/min a um comprimento de onda de 210 nm, com injeção de 20 micro-litros, sendo que o tempo total por análises foi de 25 minutos (DRIEHUIS et al. 1999)

A capacidade fermentativa (CF) foi calculada de acordo com estudo da equação proposta por Jobimetal. (2007), sendo: $CF = MS + 8(CS / CT)$. Os carboidratos solúveis (CS) foram expresso em % de MS e da capacidade e tampão (CT) em meq de NaOH 100 g⁻¹ de MS. Os carboidratos totais (CT) foram obtidos pela equação proposta por Sniffen et al. (1992), sendo: $CT = 100 - (PB + EE + cinzas)$.

Após a abertura dos silos, foram coletas 300g de amostras da silagem para as análises bromatológicas, passando por secagem na estufa de ventilação forçada a ar a 55⁰C por 72 horas, depois moídas no moinho do tipo faca com peneira de crivos de 1 mm.

Com as amostras moídas antes e após abertura da ensilagem, foram determinados os teores de matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) segundo a AOAC (1990), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), de acordo com Van Soest (2006), adaptado por Rodrigues (2010). Extrato etéreo segundo Silva & Queiroz (2006). Na

determinação dos teores de lignina foi utilizado ácido sulfúrico a 72% conforme Van Soest (1994). Os carboidratos solúveis foram determinados de acordo com o método descrito por Johnson et al. (1966) que utiliza fenol e ácido sulfúrico, com leitura em espectro fotômetro com comprimento de onda de 480 mm.

Das amostras de FDN e FDA foi realizado as análises de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) expressos em proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA). Para todas as análises seguiu-se a correção a 105⁰C.

Os dados foram submetidos à análise de variância ao nível de 5% de significância e comparados pelo teste de Tukey.

3.3 Resultados e Discussão

A composição bromatológica e perfil fermentativo do capim-tifton 85 antes de ensilar encontra-se na tabela 1.

Tabela 1. Composição bromatológica e perfil fermentativo do capim-tifton 85 antes de ensilar

MS (g kg ⁻¹)	MM (g kg ⁻¹)	PB (g kg ⁻¹)	PIDN (g kg ⁻¹)	PIDA (g kg ⁻¹)
235,90	76,49	103,82	32,23	19,80
FDN (g kg ⁻¹)	FDA (g kg ⁻¹)	Hem. (g kg ⁻¹)	Cel. (g kg ⁻¹)	Lig. (g kg ⁻¹)
785,16	329,45	455,71	302,24	37,20
EE (g kg ⁻¹)	CHO'S solúveis (g kg ⁻¹)	CHO'S totais (g kg ⁻¹)	pH	NH ₃ /N total (g kg ⁻¹)
13,80	20,22	834,78	5,26	3,44
CF	CT(meqNaOH 100 g ⁻¹ MS)			
34,54	14,76			

MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; PIDN: proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA: proteína insolúvel em detergente ácido; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; Hem.: hemicelulose; Cel.: celulose; Lig.: lignina; EE: extrato etéreo; CHO'S solúveis: carboidratos solúveis; CHO'S totais: carboidratos totais; NH₃/N total: nitrogênio amoniacal; CF: capacidade fermentativa; CT: capacidade tampão

Os teores de MS após abertura dos silos não foram influenciados pelos tratamentos aplicados (inoculante e vácuo) (Tabela 2), apresentando média de 303,16 g kg⁻¹. Os teores de matéria seca (MS) obtidos estão de acordo com os teores preconizados por McDonald et al. (1991), cita que este deve estar entre 300 a 350 g kg⁻¹, para se evitar fermentações indesejáveis,

pois abaixo destes pode ocorrer aumento da população de bactérias do gênero *Clostridium* que se desenvolve melhor em silagens úmidas e de pH mais elevado.

Tabela 2. Teores de matéria seca, matéria mineral e extrato etéreo em silagens de capim-tifton 85 com e sem vácuo e uso de inoculante

Tratamento	MS (g kg ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	298,14	295,36	296,75 a
Sem vácuo	311,26	307,88	309,57 a
Média	304,70 A	301,62 A	
CV	5,42		
DMS	16,0		
Tratamento	MM (g kg ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	72,86	84,38	78,62 a
Sem vácuo	77,40	83,60	80,50 a
Média	75,13 A	83,99 A	
CV	12,12		
DMS	9,40		
Tratamento	EE (g kg ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	21,34 b B	23,84 b A	22,59
Sem vácuo	26,70 a A	27,44 a A	27,07
Média	24,02	25,64	
CV	4,38		
DMS	1,05		

MS: matéria seca; MM: matéria mineral; EE: extrato etéreo; Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna e maiúsculas distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa

Schocken-Itorrino et al. (2005) avaliaram os teores de MS em silagens de capim-tifton 85 emurchecidas ou não por uma e duas horas, incluindo ou não polpa cítrica, observaram aumento significativo da MS com o emurchecimento por duas horas, sendo a MS na abertura de 425 g kg⁻¹, chegando a 588 g kg⁻¹ após 30 dias de exposição ao ar.

Em silagem de estilosante, campo grande submetida à vácuo, com uso de inoculante e ureia, Silva et al. (2014) avaliando quatro tempos de armazenamento (14, 28, 42, 56 dias), observaram menor teor de MS no tratamentos com uso de inoculante (234,81 g kg⁻¹) e inoculante mais ureia (230,94 g kg⁻¹). Os autores obtiveram um decréscimo da MS com abertura aos 14 dias (257,64 g kg⁻¹) até os 42 dias de abertura (231,76 g kg⁻¹), aos 56 dias ocorreram aumento na MS (240,46 g kg⁻¹).

Os teores de MS adequados no presente estudo foram obtidos com uma hora de exposição ao sol e se deve as características morfológicas do capim-tifton 85, como hastes finas e maior relação folha/colmo.

De acordo com o NRC (2001) a cada 1% a mais de umidade contida em um alimento ofertado para o animal ocorre um decréscimo de 2% no consumo de MS e em silagem com teor de umidade superior a 65% existe um potencial mais elevado para o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, conseqüentemente fermentações secundárias e redução no consumo da forragem conservada pelos ruminantes. A quantidade de MS presente na silagem deve ser em torno de 300 g kg⁻¹, afetando diretamente no tipo de fermentação, aumento das perdas no valor nutritivo, e quando apresenta alto valor de MS, esta dificulta a compactação e expulsão do ar (McDONALD et al. 1991).

Os teores de MM não foram alterados pelos tratamentos ficando em média com 79,56 g kg⁻¹ (Tabela 2). A manutenção dos teores de MM próximos em todos os tratamentos demonstra que não houve oxidação da matéria orgânica das silagens durante o período fermentativo.

Wascheck et al. (2008) analisaram MM em silagem de capim Colonião em diferentes tempos de emurchecimento (0, 2, 3 e 5 horas) e verificaram que estas não diferiram, com valores de 119,1 g kg⁻¹ à 0 hora e 122,1 g kg⁻¹ com 5 horas de emurchecimento. Estes autores mencionam que em silagens o teor de MM pode ser um indicativo de boas condições de armazenamento e qualidade, pois quando ocorre fermentação inadequada ocorrem perdas da matéria orgânica, conseqüentemente aumenta os teores de matéria mineral na MS.

Ocorreu diferença no uso de vácuo e inoculante nas silagens de capim-tifton 85 para os valores de extrato etéreo (EE) (Tabela 2). As silagens com inoculante a vácuo apresentaram menor valor de EE do que as silagens com inoculante sem vácuo. As silagens sem inoculante sem vácuo apresentaram maior EE do que as silagens sem inoculante com vácuo. Nas silagens a vácuo, o uso inoculante apresentou maior valor de EE do que sem o uso de inoculante. Nas silagens sem vácuo não houve diferença no uso ou sem de inoculante.

Ferrari Junior & Lavezzo (2001) avaliaram silagens de capim-elefante no momento de ensilar, emurchecido ao sol por 8 horas, sem emurchecimento, acrescidas de farelo de mandioca em 2%, 4%, 8% e 12% e observaram que as silagens adicionadas com 12% de farelo de mandioca apresentaram teores mais baixos de EE 37,6 g kg⁻¹, respectivamente, valores superiores aos obtidos no presente estudo.

Os teores de PB não variaram entre os tratamentos (Tabela 3), tendo em média com 94,80 g kg⁻¹. Esses baixos valores se devem ao avanço do estágio vegetativo ao qual foi realizado o corte da forrageira para ensilagem, pois corte em intervalos menores proporcionam teores mais elevados no capim-tifton 85.

Tabela 3. Teores de proteína bruta, proteína insolúvel em detergente neutro, proteína insolúvel em detergente ácido e nitrogênio amoniacal em silagens de capim-tifton 85 com e sem vácuo e uso de inoculante

PB (g kg ⁻¹)			
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	94,46	89,14	91,80 a
Sem vácuo	101,76	93,84	97,80 a
Média	98,11 A	91,49 A	
CV	17,55		
DMS	16,2		
PIDN (g kg ⁻¹)			
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	29,82 b B	34,64 a A	32,23
Sem vácuo	32,84 a A	25,98 b B	29,41
Média	31,33	30,31	
CV	1,27		
DMS	0,38		
PIDA (g kg ⁻¹)			
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	17,84 a A	17,16 b A	17,50
Sem vácuo	19,24 a A	21,10 a A	19,18
Média	18,54	19,13	
CV	7,77		
DMS	1,42		
Tratamento NH ₃ /N total (g kg ⁻¹)			
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	71,66	68,86	70,26 a
Sem vácuo	70,78	75,68	73,23 a
Média	71,22 A	72,27 A	
CV	9,68		
DMS	6,8		

PB: proteína bruta; PIDN: proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA: proteína insolúvel em detergente ácido; NH₃/N total: nitrogênio amoniacal; Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna e maiúsculas distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa

Em silagem de estilo santes campo grande produzidas à vácuo, com quatro tempos de armazenamento (14, 28, 42, 56 dias) e seguintes tratamentos: com e sem inoculante, inoculante

mais ureia e somente ureia, os teores de PB apresentaram maior concentração nos tratamentos com a adição de inoculante e ureia ($179,34 \text{ g kg}^{-1}$) e somente ureia ($172,94 \text{ g kg}^{-1}$), no entanto diferiu nos tempos de armazenamento, com maior valor aos 56 dias ($172,76 \text{ g kg}^{-1}$) (SILVA et al. 2014).

Os teores de PIDN (Tabela 3), com uso de inoculante e vácuo apresentaram valores inferiores ($29,83 \text{ g kg}^{-1}$). Sem a aplicação do inoculante a ausência do vácuo promoveu valores inferiores ($25,98 \text{ g kg}^{-1}$) em relação ao tratamento com vácuo.

Castro et al. (2006) avaliaram silagem de capim-tifton 85 com concentrações de 250, 450 e 650 g kg^{-1} de MS mais aplicação de aditivo bacteriano-enzimático em diferentes tempos de armazenamento e verificaram que com 450 g kg^{-1} de MS com aditivo, os valores de PIDN foram maiores ($54,69 \text{ g kg}^{-1}$) antes de ensilar e menores ($33,81 \text{ g kg}^{-1}$) aos 32 dias de armazenamento.

Os teores de PIDA com uso de inoculante não tiveram influência do uso ou não do vácuo (Tabela 3). Sem o uso de inoculante o vácuo proporcionou valores inferiores de PIDA ($17,16 \text{ g kg}^{-1}$) em relação ao não uso do vácuo. Quando avaliado o efeito do vácuo verificou-se que o uso ou não de inoculante não interfere nos valores de PIDA.

Valores altos de PIDA podem interferir na produção de proteína microbiana e comprometer o aporte de aminoácidos no intestino delgado dos ruminantes, resultando em balanço negativo, mesmo com níveis adequados de PB nas dietas, por isso os valores de PIDA não devem ultrapassar a 100 g kg^{-1} (EUCLIDES & MEDEIROS, 2003).

O uso do vácuo e inoculante não alteraram os teores de nitrogênio amoniacal entre tratamentos, apresentando média de $71,74 \text{ g kg}^{-1}$ (Tabela 3). Os teores de NH_3/N total baixos, alcançados mesmo com os valores elevados de pH (Tabela 5), são indicativos de baixa fermentação butírica.

Os valores de nitrogênio amoniacal obtidos mostraram-se dentro dos valores preconizados por McDonald et al. (1991) que consideram satisfatórios valores inferiores a 100 g kg^{-1} , entre 100 a 150 g kg^{-1} são considerados aceitáveis e acima deste indesejável para silagens. Baixos teores de NH_3/N total indicam menor proteólise durante a fermentação das silagens, consequência do menor desenvolvimento de micro-organismos do gênero *Clostridium*. Van Soest (1994) afirma que silagens quando apresentam baixo teor de nitrogênio amoniacal, ocorre menor degradação da proteína e produção de amônia. Santos et al. (2010) em levantamento sobre perfil

fermentativo em silagens de gramíneas verificaram que em 136 silagens, estas apresentaram teores de NH_3/N total satisfatórios, ou seja, dentro dos parâmetros desejáveis ($12,40 \text{ g kg}^{-1}$).

Schocken-Iturrino et al. (2005) ao avaliarem o tempo de emurchecimento em silagens de capim-tifton 85 obtiveram teores de NH_3/N total de 98 g kg^{-1} para 1 hora de emurchecimento e 85 g kg^{-1} para 2 horas de emurchecimento. Quaresma et al. (2010) ao avaliarem silagem de capim-tifton 85 emurchecidas em diferentes tempos (0, 1, 2, 3 e 4 horas) não encontraram valores significativos para nitrogênio amoniacal, com média de $73,4 \text{ g kg}^{-1}$.

Os teores de FDN (Tabela 4), não diferiram com e sem uso de vácuo quando usado inoculante na silagem. Entretanto sem inoculante o uso do vácuo proporcionou silagem com teores inferiores de FDN em relação a ausência de vácuo na ensilagem. Com relação ao uso ou não do vácuo e sua interação com uso de inoculante verificou-se que estes não interferem nos teores de FDN.

Castro et al. (2006) avaliaram silagem de capim-tifton 85 com diferentes teores de MS (250 g kg^{-1} , 450 g kg^{-1} e 650 g kg^{-1}) mais aplicação de aditivo bacteriano-enzimático em diferentes tempos de armazenamento e observaram que os valores de FDN aumentaram do momento da ensilagem para 32 dias de armazenamento com médias de: $682,2 \text{ g kg}^{-1}$, $707,4 \text{ g kg}^{-1}$ e $709,0 \text{ g kg}^{-1}$ para os teores de MS avaliados.

Silva (2002) ao avaliar os teores de FDN em diferentes tempos após abertura do silo em silagem de capim-tifton 85 com e sem emurchecimento (0, 1, 2 e três horas), adicionadas ou não de 5% de polpa cítrica peletizada, verificaram que os valores de FDN não tiveram alterações na abertura do silo até quinze dias de exposição ao ar.

Silva et al. (2014) avaliaram silagens de estilotante campo grande submetida a vácuo, com quatro tempos de abertura após ensilagem (14, 28, 42, 56 dias) e uso de aditivos e ureia, verificaram que não ocorreu diferença para teores de FDN em função de tempo de abertura do silo com valores médios de $584,39 \text{ g kg}^{-1}$.

Quanto menor o teor de FDN na planta, maior é a disponibilidade de nutrientes no conteúdo celular, e a celulose e hemicelulose conseguem fermentar mais rapidamente no rúmen devido a menor lignificação. Teores mais elevados de FDN (acima de 600 g kg^{-1}) são limitantes de consumo (VAN SOEST, 1994), sendo os teores obtidos no presente estudo acima deste valor em função da idade de corte do capim-tifton 85 e a quantidade de folhas mortas e folhas verdes por perfilho, que apresentavam 4 e 9 folhas respectivamente.

Tabela 4. Teores de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, celulose, hemicelulose, lignina, carboidratos solúveis e carboidratos totais em silagem de capim-tifton 85 com e sem vácuo e adição ou não de inoculante

Tratamento	FDN (g kg ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	744,14 a A	744,36 b A	744,25
Sem vácuo	749,24 a A	753,28 a A	749,25
Média	746,69	748,82	
CV	0,63		
DMS	4,58		
	FDA (g kg ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	376,30 a A	362,56 b B	369,43
Sem vácuo	370,18 a B	397,58 a A	383,88
Média	372,24	380,07	
CV	2,21		
DMS	8,80		
	Celulose (g kg ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	333,46 a A	321,36 b B	327,41
Sem vácuo	327,54 a B	353,72 a A	340,63
Média	330,50	337,54	
CV	2,31		
DMS	7,50		
	Hemicelulose (g kg ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	367,84 a A	381,78 a A	374,81
Sem vácuo	379,06 a A	355,70 b B	367,38
Média	373,45	368,74	
CV	2,94		
DMS	10,63		
	Lignina (g kg ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	45,26	45,16	45,21 a
Sem vácuo	44,22	41,48	42,85 a
Média	44,74 A	43,32 A	
CV	14,64		
DMS	6,3		
	CHO'S solúveis (g kg ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	23,48 a A	14,54 a B	19,01
Sem vácuo	16,84 b A	13,37 a A	15,10
Média	20,16	13,96	
CV	27,12		
DMS	4,51		
CHO'S totais (g kg ⁻¹)			

	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	86,78	87,23	87,09 a
Sem vácuo	85,71	86,45	86,08 a
Média	86,25 A	86,84 A	
CV	1,93		
DMS	1,62		

FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; Hem.: hemicelulose; Cel.: celulose; Lig.: lignina; EE: extrato etéreo; CHO'S solúveis: carboidratos solúveis; CHO'S totais: carboidratos totais; Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna e maiúsculas distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa

Os teores de FDA (Tabela 4), não foram influenciados pelo uso ou não do vácuo quando acrescentado inoculante. Já sem inoculante com vácuo estes foram inferiores ($362,56 \text{ g kg}^{-1}$) em relação ao tratamento sem vácuo ($397,58 \text{ g kg}^{-1}$). Com o uso do vácuo ao comparar a adição ou não de inoculante verificou-se que sem inoculante os teores de FDA ficaram menores em relação ao uso do vácuo com inoculante. Sem vácuo os resultados mostraram-se menores com inoculante em relação a ausência inoculante.

Silva et al. (2014) ao avaliarem silagem de estilosante campo grande, ensiladas à vácuo, com inoculante e ureia, verificaram teores mais elevados de FDA nas silagens com inoculante $447,67 \text{ g kg}^{-1}$ e com inoculante mais ureia $453,39 \text{ g kg}^{-1}$ em relação a silagem sem inoculante.

Silva (2002) avaliando silagem de capim-tifton 85 em diferentes tempos (0, 15 e 30 dias após abertura), com e sem emurchecimento (0, 1, 2 e três horas), adicionadas ou não de 5% de polpa cítrica peletizada verificaram que não foram significativas as variações dos teores de FDA para silagens de capim-tifton 85, na abertura e durante o tempo de exposição ao ar.

Castro et al. (2006) analisaram o emurchecimento em silagem de capim-tifton 85 com diferentes teores de MS (250, 350, 450, 550 e 650 g kg^{-1}) e diferentes tempos de armazenamento (0 hora e 6, 12 horas antes da ensilagem, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 90 e 180 dias após a ensilagem) e não encontraram alterações nos teores de FDA nos tempos avaliados. Forragens que apresentam valores de FDA em torno de 300 g kg^{-1} são consideradas ideais para o consumo animal, sendo ingerida em maior quantidade. Quando estas apresentam acima de 400 g kg^{-1} o consumo é reduzido (OLIVEIRA et al. 2000).

Os teores de celulose não diferiram com e sem vácuo quando aplicado inoculante (Tabela 4). Sem inoculante a aplicação do vácuo promoveu valores inferiores quando comparado a ausência do vácuo na ensilagem. Com uso de vácuo a ausência da aplicação de inoculante reduziu os teores de celulose e sem vácuo o uso de inoculante contribuiu para reduzir. Segundo

Van Soest (1994) a celulose em gramíneas deve ser mantida entre 200 a 400 g kg⁻¹, mostrando que o teor de celulose das silagens com uso de vácuo e inoculante apresentaram teores inferiores a 400 g kg⁻¹.

Estudos realizado por Faria Junior (2012) com silagem de capim-tifton 85, avaliando diferentes dias de corte (27, 45, 56, 74 e 90 dias), apresentaram diferença à celulose com a maturidade da forragem, e os valores de celuloses quando comparados em folhas e colmos foram menores para folhas chegando até 274,7 g kg⁻¹ em relação ao colmo que obteve valores de até 338,1 g kg⁻¹.

Os teores de hemicelulose não diferiram o uso de inoculante com e sem vácuo. Sem inoculante sem vácuo apresentou teores menores de hemicelulose. Com o uso de vácuo em silagens os teores de hemicelulose não diferiram com e sem inoculante, mas sem vácuo os teores de hemicelulose foram inferiores sem inoculante.

McDonald et al. (1991) citam que as gramíneas devem apresentar valor de hemicelulose de 100 a 300 g kg⁻¹, sendo que no presente ensaio as médias ficaram em 370,34 g kg⁻¹.

Segundo Muck & Kung (1997) a redução dos teores de hemicelulose das silagens deve-se a presença de hemicelulases nas plantas ensiladas. De acordo com Woolford (1984) carboidratos estruturais tem pouca importância na fermentação, porém a hemicelulose pode atuar como reserva de açúcares fermentescíveis por meio de sua hidrólise que inicialmente é feita pelas enzimas vegetais e substituída pela hidrólise ácida. Com o pH elevado obtido no presente estudo a hidrólise ácida provavelmente não ocorreu.

Silva (2002) avaliando silagem de capim-tifton 85 em diferentes tempos (na abertura do silo, 15 e 30 dias após abertura), com e sem emurchecimento (0, 1, 2 e três horas), adicionadas ou não de 5% de polpa cítrica peletizada, encontrou valores de hemicelulose não significativos no momento da abertura do silo e durante 15 dias de exposição da silagem ao ar. No entanto, o autor obteve na silagem com 30 dias aumentos nos teores de hemicelulose, com média de 379,5 g kg⁻¹.

Balsobre et al. (2003) explicam que a hemicelulose apesar de apresentar maior degradabilidade é bastante afetada pela lignina e plantas mais velhas tem menos degradabilidade de hemicelulose em relação a celulose.

Os teores de lignina (Tabela 4), não apresentaram diferenças com uso de vácuo e inoculante, ficando com média de 44,03 g kg⁻¹. Castro et al. (2006) analisaram silagem de capim-tifton 85 com diferentes teores de MS (250 g kg⁻¹, 450 g kg⁻¹ e 650 g kg⁻¹) em diferentes tempos

de armazenamento e observaram aumento do teor de lignina aos 90 dias de armazenamento com MS de 650 g kg^{-1} sendo $85,0 \text{ g kg}^{-1}$. Zapolatto et al. (2009) adicionaram bactérias heterofermentativas em silagem de capins Marandu, Tanzânia, Napier e capim-tifton 85, e a porcentagem de lignina reduziu 2,5% com o uso do aditivo.

O uso do vácuo e inoculante influenciaram os teores de carboidratos solúveis (CHO'S). Teores de CHO'S mais elevados foram obtidos com o uso do vácuo e inoculante em comparação as silagem sem vácuo e sem inoculante (Tabela 4), quando comparado com silagem não inoculada, mostrando que a rápida expulsão do oxigênio e a adição de bactérias produtoras de ácido lático, reduziram a taxa respiratória das plantas e, conseqüentemente, o consumo de carboidratos solúveis, resultando em maior substrato para bactérias lácticas. Os valores de carboidratos solúveis sem vácuo e com e sem inoculante foram inferiores aos obtidos antes da ensilagem ($20,2 \text{ g kg}^{-1}$), mostrando que estes foram utilizados no processo respiratório das plantas e pelos micro-organismos presentes na silagem.

Vilela et al. (1983) avaliaram silagem de capim elefante produzidas em silos de superfície com e sem vácuo e verificaram que o silo à vácuo promoveu menores teores de CHO'S solúveis com média de 10 g kg^{-1} , e silos de superfície valores de $13,2 \text{ g kg}^{-1}$, sendo que no presente estudo, quando acrescentado o inoculante, ocorreu aumento de $9,52 \text{ g kg}^{-1}$ nos teores de CHO'S solúveis na silagem a vácuo.

Silagens de gramíneas tropicais apresentam menor concentração de carboidratos solúveis em relação a gramíneas temperadas (McDONALD et al. 1991). Baixos teores de CHO'S interferem na conservação da forragem, pois esses auxiliam na fermentação por serem substratos para bactérias lácticas, produzindo ácidos, impedindo a ação de bactérias deteriorantes (ÁVILA et al. 2006).

Não ocorreu diferença no uso de vácuo e inoculante para os teores de carboidratos totais (CHO'S totais), com média de $86,54 \text{ g kg}^{-1}$. Carvalho et al. (2007) avaliaram silagem de capim-elefante após a abertura do silo, observaram que os teores de CHO'S totais das silagens de capim-elefante não emurchecidos ou crescidos de 7% de farelo de cacau ($79,6 \text{ g kg}^{-1}$) foram superiores as silagens emurchecidas ($76,8 \text{ g kg}^{-1}$).

Na abertura dos silos os valores de pH (Tabela 5), foram mais elevados nas silagens sem aplicação do vácuo, diferindo do tratamento com uso do vácuo. O uso ou não de inoculante não interferiu nos valores de pH na abertura. Os valores de pH mostraram-se altos, acima dos

preconizados por McDonald et al. (1991) que consideram abaixo de 4,2 ideal para uma boa conservação e inibição da ação dos microrganismos.

Tabela 5. Teores de pH e concentração de ácidos orgânicos na abertura da silagem de capim-tifton 85 com e sem vácuo e adição ou não de inoculante

Tratamento	pH		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	4,93 b A	4,96 b A	4,94
Sem vácuo	5,06 a A	5,11 a A	5,01
Média	4,99	5,03	
CV	1,83		
DMS	0,09		
Ácido Lático (g kg ⁻¹)			
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	2,20	2,75	2,47 a
Sem vácuo	2,74	2,29	2,51 a
Média	2,47 A	2,52 A	
CV	19,22		
DMS	0,47		
Ácido Acético (g kg ⁻¹)			
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	4,31 a A	3,19 a B	3,75
Sem vácuo	3,36 b A	2,82 a A	3,09
Média	3,83	3,00	
CV	13,55		
DMS	0,45		
Ácido Propiônico (g kg ⁻¹)			
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	0,81 b A	0,60 a B	0,70
Sem vácuo	1,13 a A	0,33 b B	0,73
Média	0,97	0,46	
CV	22,60		
DMS	0,16		
Ácido Butírico (g kg ⁻¹)			
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	0,46 bB	0,78 aA	0,62
Sem vácuo	0,80 aA	0,41 bB	0,60
Média	0,63	0,59	
CV	14,65		
DMS	0,088		

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna e maiúsculas distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa

Forrageiras tropicais apresentam alta capacidade tamponante, que seria uma barreira a queda do pH, entretanto no presente estudo os valores de capacidade tampão antes da ensilagem ficaram em 14,76 meq NaOH 100 g⁻¹ de MS. A baixa produção de ácidos orgânicos (Tabela 5), pode ter contribuído para os valores elevados de pH. Os valores obtidos foram inferiores aos obtidos por Neres et al. (2014) em silagem de capim-tifton 85, os quais obtiveram poder tampão de 28 meq 100 g⁻¹ MS e pH inferior na abertura (4,24). Schocken-Iturrino et al. (2005) obtiveram valores de pH de 4,7 para silagens de capim-tifton 85 emurhecidas por 1 hora com MS de 391,0 g kg⁻¹.

Não houve diferenças entre tratamentos: inoculante e vácuo, na abertura da silagem, para concentração de ácido láctico (Tabela 5), com média de 2,49 g kg⁻¹. As concentrações de ácido láctico e acético foram baixas. De acordo com os critérios estabelecidos por Roth & Undersander (1995) uma silagem para ser classificada com padrão de fermentação ideal, deverá apresentar: ácido láctico de 40 a 60 g kg⁻¹; ácido acético inferior a 20 g kg⁻¹; ácido propiônico inferior a 5,0 g kg⁻¹ e butírico tendo como limite de 1,0 g kg⁻¹.

Coan et al. (2005) também obtiveram valores reduzidos de ácidos láctico e acético em silagem de capim-tifton 85 emurhecida por 1 hora e com MS de 42,5%. Os autores obtiveram para ácido láctico 2,7 g kg⁻¹ e acético 2,8 g kg⁻¹. Schocken-Iturrino et al. (2005) verificaram baixas concentrações de ácido láctico e acético para silagem de capim-tifton 85 emurhecidas por 1 hora e com MS de 37,7% com 0,9 e 0,8 g kg⁻¹ para láctico e acético, respectivamente. Os dois autores citados acima atribuem às baixas concentrações de ácidos láctico e acético, ao elevado teor de MS no momento de ensilar, pois teores elevados restringem o processo fermentativo em razão da alta pressão osmótica, o que não ocorreu no presente estudo.

No momento da ensilagem a forragem apresentava 303,16 g kg⁻¹, entretanto baixa concentração de carboidratos solúveis o que pode ter restringido substrato para bactérias lácticas homofermentativas e heterofermentativas. Woolford (1984) sugere uma razão de carboidratos solúveis/capacidade tampão superior a 3 enquanto no presente estudo a relação ficou em 1,15.

O uso de inoculante e vácuo diferenciaram na determinação de ácido acético, na abertura da silagem (Tabela 5). As silagens com inoculante à vácuo, apresentaram maior quantidade de ácido acético em relação as silagens com inoculante sem vácuo. Sem o uso de inoculante a concentração de ácido acético não diferiu. No estudo do uso do vácuo com inoculante mostrou

que este elevou a produção de ácido acético em relação ao tratamento à vácuo sem inoculante. Sem o vácuo, o uso de inoculante não diferiram em concentração ficando em $3,09 \text{ g kg}^{-1}$.

O uso de inoculante e vácuo diferenciaram na determinação de ácido propiônico (Tabela 5). A concentração de ácido propiônico foi inferior no tratamento sem uso de inoculante, entretanto quando se usa o inoculante, o tratamento com vácuo apresenta concentração de ácido propiônico menor do que a silagem sem vácuo.

Os tratamentos: vácuo e inoculante diferenciaram na quantidade de ácido butírico na abertura da silagem (Tabela 5). As silagens sem vácuo com inoculante apresentaram mais ácido butírico. A concentração de ácido butírico com uso de inoculante à vácuo e sem inoculante sem vácuo foram inferiores. Em relação ao uso de vácuo, as silagens sem inoculantes apresentaram maior concentração de ácido butírico.

Vendramini et al. (2010) obtiveram em silagem de capim-tifton 85 concentração de $1,2 \text{ g kg}^{-1}$ de ácido butírico, valor superior ao obtido no presente estudo.

As concentrações de ácido propiônico e butírico foram baixas e baixas concentrações de ácido butírico indicam reduzida atividade das bactérias do gênero *Clostridium*, estas baixas concentrações corroboram com a menor produção de amônia (Tabela 3).

3.4 Conclusão

O uso do vácuo na produção de silagens de capim-tifton 85 promove maior queda de pH, entretanto estes mostram-se elevados, acima do recomendado.

Em silagens de capim-tifton 85 produzidas sem inoculante, à adição de vácuo promove redução dos teores de FDA, celulose e PIDA.

O uso do vácuo e inoculante em silagens de capim-tifton 85 não alteram os teores de MS, PB, lignina e matéria mineral.

O uso ou não de vácuo e inoculante na produção de silagens de capim-tifton 85 não afetam a concentração de ácido láctico da silagem. As concentrações de ácidos orgânicos láctico e acético em silagens de capim-tifton 85 nas condições estudadas são baixas.

A concentração de ácido butírico e amônia nas silagens estudadas são baixas indicando baixa atividade de clostridium e degradação de proteína.

3.5 Referências

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 15. ed., Virginia: Arlington. p. 1117, 1990.
- ÁVILA, C. L. S.; PINTO, J. C.; TAVARES, V. B.; et al. Avaliação dos conteúdos de carboidratos solúveis do capim-tanzânia ensilado com aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 35, n. 3, p. 648-654, 2006.
- BALSALOBRE, M. A. A.; CORSI, M.; SANTOS, P. M.; et al. Cinética da degradação ruminal do capim Tanzânia irrigado sob três níveis de resíduo pós-pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 32, n. 6, p. 1747-1762, 2003.
- 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 spp.*) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 35, n. 1, p. 358-371, 2006.
- CHERNEY, J. H.; CHERNEY, D. J. R. Assessing Silage Quality. In: Buxton *et al.* **Silage Science and Technology**. Madison, Wisconsin, USA. p.141-198, 2003.
- DRIEHUIS, F.; OUDE ELEFERINK S. J. W. H.; SPOELSTRA, S. F. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. **Journal of Applied Microbiology**. v. 87, p. 583-594, 1999.
- EUCLIDES, V.P.B.; MEDEIROS, S.R. **Valor nutritivo das principais gramíneas cultivadas no Brasil**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPQC. p. 43, 2003. (Documentos. EMBRAPA-CNPQC, 139).
- FARIA JÚNIOR, W. G. **Valor nutricional de silagens de capim-Tifton 85 em diferentes idades**. p. 199, 2012. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- 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. 26, p. 101-119, Supl. Especial, 2007.
- JOHNSON, R. R. BALWANI, T. L. JOHNSON, L. J. Corn plant maturity. II. Effect on in vitro cellulose digestibility and soluble carbohydrate content. **Journal of Animal Science**. v. 25, p. 617-623, 1966.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington, D.C.: p. 381, 2001.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publications, p. 340, 1991.
- MUCK, R.E.; KUNG JR., L. Effects of silage additives on ensiling. In: SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK NORTH AMERICA CONFERENCE, 1997, Hershey. **Proceedings...** Hershey: NRAES, p.187-199. 1997.
- NERES, M. A.; HERMES, P. R.; AMES, J. P.; et al. Use of additives and pre-wilting in Tifton 85 bermuda grass silage production. **Ciências e Agrotecnologia**. v. 38, n. 1, p. 85-93, 2014.
- PEREIRA, O. G.; RIBEIRO, K. G.; OLIVEIRA, A. S. Produção e utilização de silagem de capim no Brasil. Eds. PEREIRA, O. G.; OBEID, J. A.; FONSECA, D. M.; et al. In: **IV SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM**. p. 249-278, 2008.
- PLAYNE, M. J.; McDONALD, P. The buffering constituents of herbage and of silage. **Journal Science Food and Agriculture**, v. 17, n. 2, p. 264-268, 1966.
- QUARESMA, J. P. S.; ABREU, J. G.; ALMEIDA, R. G.; et al. Recuperação de matéria seca e composição química de silagens de gramíneas do gênero *Cynodon* submetidas a períodos de pré-emurchecimento. **Revista Ciências Agrotécnica**. v. 34, n. 5, p. 1232-1237, 2010.
- RODRIGUES, R. C. **Métodos de análises bromatológicas de alimentos: Métodos físicos, químicos e bromatológicos**. Documentos, EMBRAPA: Clima temperado, p.177, 2010.
- ROTH, G.; UNDERSANDER, D. **Silage additives**. In: CORN SILAGE PRODUCTION MANAGENT AND FEEDINF. MADISON: Madison American Society of Agronomy. p.27-29,1995
- SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; REIS, R. A.; COAN, R. M. et al. Alterações químicas e microbiológicas nas silagens de capim-Tifton 85 após a abertura dos silos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 34, n. 2, p. 464-471, 2005.
- SANTOS, M. V. F.; CASTRO, A. G.; PEREA, J. M.; et al Fatores que afetam o valor nutritivo da silagens de forrageiras tropicais. **Archive Zootecnia**. v. 59, p. 25-43, 2010.
- SILVA, J. M. N. **Desenvolvimento de microrganismos e valor nutritivo de silagens de capim-Tifton 85**. 2002. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Ed UFV, p. 235, 2006.

- SILVA, M. W. R. **Características estruturais, produtivas e bromatológicas das gramíneas Tifton 85, Marundu e Tanzânia submetidas à irrigação.** p. 55, 2009. Dissertação (Mestre em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga, BA.
- SILVA, N. C. **Aditivo como controladores da deterioração aeróbia em silagem de milho na região periférica de silo trincheira.** p. 70, 2013. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- SILVA, M. S. J.; JOBIM, C. C.; NASCIMENTO, W. G. et al. Uso de aditivos e tempo de abertura dos silos em silagens de estilosantes campo grande. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal.** v. 15, n. 2, p. 381-393, 2014.
- SNIFFEN, C. J.; O’CONOR, J. S.; VAN SOEST, P. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science.** v. 70, p. 3562-3577, 1992.
- VAN SOEST, PJ **Nutritional ecology of the ruminant.** 2^a ed. Cornell University Press, Ithaca, NY, p. 476, 1994.
- VILELA, D. Aditivos para silagem de plantas de clima tropical. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, p. 73-108, 1998.
- VILELA, D.; RODDEN, B.; OLIVEIRA, J. S. Avaliação da silagem de capim-elefante, acondicionada a vácuo em silos de superfície, utilizando-se novilhas em sistema de auto alimentação. **Pesquisa agropecuária brasileira.** v. 18, n. 6, p. 663-693, 1983.
- ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J. L. P.; NUSSIO, L. G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v. 38, p.170-189 (Supl. especial), 2009.
- WASCHEK, R. C.; MOREIRA, P. C. COSTA, D. S.; et al. Características da silagem de capim colômbio submetido a quatro tempo de emurchecimento pré-ensilagem. **Revista Estudos.** v. 35, n. 3, p. 385-399, 2008.
- WILKINSON, J. M. & DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science.** v. 68, p.1-19, 2012.
- WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation.** New York: Marcel Dekker, p. 350, 1984.

CAPITULO 4

4 PERFIL MICROBIOLÓGICO E ESTABILIDADE AERÓBIA EM SILAGEM DE CAPIM-TIFTON 85, A VÁCUO E SEM VÁCUO, ADICIONADOS OU NÃO INOCULANTE MICROBIANO

RESUMO

A pesquisa objetivou avaliar o perfil microbiológico e a estabilidade aeróbia em silagens de capim tifton 85, a vácuo e sem vácuo, adicionados ou não inoculante microbiano. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2, sendo os tratamentos com e sem vácuo e com e sem adição de inoculante, com cinco repetições. O inoculante era composto por bactérias ácido lácticas (BAL): *Lactobacillus acidophilus*, na concentração de 3×10^9 UFC ml⁻¹ de células viáveis por ml do produto. As variáveis analisadas foram o perfil microbiológico após abertura da silagem e a estabilidade aeróbia da abertura ao sexto dia de exposição da silagem ao oxigênio. Verificou-se que não houve variação na população de bactérias lácticas entre os tratamentos aplicados. A população de Bacillus foi inferior tanto com aplicação quanto sem aplicação de inoculante desde que aplicado o vácuo. A população de Clostridium quando aplicado o inoculante, o sistema a vácuo reduziu a população em comparação ao sistema sem vácuo. Sem a aplicação de inoculante o sistema sem vácuo reduziu a população de Clostridium. A população de leveduras apresentou tendência a crescimento linear em todos os tratamentos avaliados do primeiro ao sexto dia de exposição ao oxigênio o que pode ter contribuído para as altas temperaturas observadas no período de exposição ao ar. Não se observou crescimento de fungos nas silagens durante o período de exposição ao ar. A quebra da estabilidade aeróbia ocorreu a partir do 3º dia após abertura da silagem. O pH ficou abaixo do preconizado para uma boa conservação da silagem na abertura e durante a exposição ao oxigênio, com comportamento quadrático, o mesmo ocorrendo com a temperatura no período avaliado. Silagens de capim-tifton 85 nas condições avaliadas perdem a estabilidade após o terceiro dia de exposição ar.

Palavras-chave: bactérias lácticas, fermentação, leveduras, temperatura

4 MICROBIOLOGICAL PROFILE AND AEROBIC STABILITY OF TIFTON 85 SILAGE, VACCUM AND NON-VACCUM, WITH OR WITHOUT MICTOBIAL INOCULANT

ABSTRACT

The research aimed to evaluate the microbiological profile and aerobic stability in grass silage Tifton 85, vacuum and non-vacuum, with or without microbial inoculant. The experimental design was completely randomized in a 2x2 factorial design, with the treatments with and without vacuum and with and without inoculant addition, with five replications. The inoculum consisted of lactic acid bacteria (LAB): *Lactobacillus acidophilus*, at a concentration of 3×10^9 CFU ml⁻¹ viable cells per ml of the product. The variables analyzed were the microbiological profile after opening the silage and aerobic stability of the opening on the sixth day of the silage exposure to oxygen. It was found that no variation occurred in the population of lactic acid bacteria between the applied treatments. The *Bacillus* population was lower whether applying or not the inoculant since it was applied vacuum. The population of *Clostridium* when applied the inoculant the vacuum system reduced the population compared to the non-vacuum system. Without applying the inoculant the non-vacuum system reduced the population of *Clostridium*. The yeast population tended to show a linear growth in all evaluated treatments from the first to the sixth day of exposure to air, which may have contributed to the high temperatures observed in the air exposure period. There was no growth of fungi in the silage during the period of exposure to oxygen. The breaking of the aerobic stability occurred from the 3rd day after opening the silage. The pH was below the level considered to a good silage preservation at the opening and during the exposure to oxygen, with quadratic behavior, the same occurred to the temperature during the studied period. Silages of Tifton 85 under the conditions evaluated lose stability after the third day of exposure to air.

Keywords: lactic acid bacteria, fermentation, yeast, temperature

4.1 Introdução

O processo de ensilagem de capins tropicais apresenta limitações quanto aos teores de matéria seca da forragem, baixa concentração de carboidratos solúveis, elevado poder tampão e baixa microflora epifítica (McDONALD et al. 1991). Baixas concentrações de carboidratos solúveis e valores altos de capacidade tampão na MS são fatores que induz a deterioração da forragem conservada, através do aumento do número de micro-organismos patogênicos como fungos, leveduras e bactérias (DRIEHUIS et al. 1999).

A abertura e a remoção da silagem torna o ambiente do silo de anaeróbio para aeróbio e com isso o desenvolvimento de micro-organismos indesejáveis poderá ocorrer em função do perfil fermentativo da silagem, além da densidade desta. A deterioração pode ser percebida pelo aumento da temperatura, alteração no odor, aparecimento de mofos e coloração nas silagens (CASTRO et al. 2006).

Os carboidratos solúveis, ácidos orgânicos e compostos nitrogenados são usados pelos micro-organismos indesejáveis, como leveduras, fungos e algumas espécies de bactérias para seu desenvolvimento, levando a perda de nutrientes digestíveis e energia, além de aumentar os teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e cinzas (McDONALD et al. 1991).

O desenvolvimento de leveduras leva ao consumo dos açúcares e produtos da fermentação, o crescimento de fungos reduz o valor nutricional, além de agir na quebra dos açúcares e ácido lático, hidrolisam e metabolizam componentes da parede celular como carboidratos estruturais e lignina (WOOLFORD, 1984).

A presença de leveduras na silagem oxida os ácidos orgânicos e elevam o valor de pH, sendo quase sempre as responsáveis pelo início da deterioração, juntamente com as bactérias clostrídicas (WILKINSON & DAVIES, 2012). Os fungos quando presentes na silagem podem produzir micotoxinas, afetando a saúde dos animais que a consomem (SCHOCKEN-ITURRINO et al. 2005).

Quando a silagem é exposta ao ar, fermentações indesejáveis podem ocorrer, a temperatura do silo aumenta juntamente com o pH, a estabilidade aeróbia é reduzida, ultrapassando 2^oC a temperatura ambiente e a deterioração da forragem conservada ocorre mais rápida (DRIEHUIS et al. 2001).

As bactérias lácticas homofermentativas estão presentes nos inoculantes microbianos e são utilizadas em silagem de capins tropicais em função da baixa microflora epifítica presente. Muck & Kung Jr. (1997) atribuem ao insucesso da utilização de inoculantes em silagens, a atividade competitiva de população epifítica da planta originada a partir de cepas selvagens e ao baixo teor de açúcares da forragem.

O ácido acético tem sua ação após a abertura da silagem inibindo o desenvolvimento de fungos alcançando efeitos positivos ao manter a estabilidade aeróbia (AMARAL, 2011). O uso do vácuo no processo de ensilagem visa acelerar a primeira etapa do processo fermentativo denominada aeróbia e com isso reduzir a taxa respiratória das plantas e o consumo de carboidratos solúveis que servem de substrato para as BAL (bactérias ácido lácticas).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil microbiológico da silagem capim-tifton 85 com e sem vácuo, adicionado ou não inoculante e sua estabilidade aeróbia da silagem por seis dias de exposição ao ar.

4.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual do Oeste Paraná – Campus de Marechal Cândido Rondon – PR, no dia 01 de abril de 2014.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2, com cinco repetições, com os seguintes tratamentos:

- 1) silagem a vácuo com inoculante;
- 2) silagem a vácuo sem inoculante;
- 3) silagem sem vácuo com inoculante;
- 4) silagem sem vácuo sem inoculante.

O capim tifton 85 foi cortado para ensilagem a 5cm do solo quando apresentava 235,9 g kg⁻¹ de MS às 14 horas do dia 1º de abril de 2014. A forragem permaneceu por 1 hora exposta ao sol, quando seus teores de matéria seca elevaram-se para 290,0 g kg⁻¹.

No corte utilizou-se uma colhedora de marca Cremasco modelo CUSTOM 930-C 11 e a forragem foi picada com tamanho médio de partículas de 3cm. Após o corte a forragem foi ensilada em sacos plásticos, compostos por dois sacos transparentes com 10 µ de espessura cada

um e cobertas com saco preto de 8 μ de espessura, para evitar exposição a claridade. Os silos apresentaram peso médio final de 8 kg.

O inoculante bacteriano foi aplicado no momento da ensilagem, de acordo com a recomendação do fabricante, por meio de pulverizador manual, buscando distribuição uniforme da massa a ser conservada e este apresentava como garantia: bactérias *Lactobacillus acidophilus*, com concentração aproximada de 3×10^9 UFC ml⁻¹ de número de células viáveis por ml do produto.

Na retirada do ar no tratamento a vácuo, adaptou-se um aspirador com tela acoplada na porção final para impedir a entrada de silagem no equipamento. Os silos foram vedados com fita adesiva e no tratamento sem vácuo, a compactação foi feita manualmente, vedado o silo, identificados e utilizado uma válvula adaptada tipo modelo Bulsen, para livre escape dos gases. Após os procedimentos de ensilagem os silos foram mantidos na temperatura ambiente em galpão coberto por 28 dias. Após abertura os silos permaneceram no laboratório de microbiologia à temperatura ambiente e aberta para aeração.

Antes da ensilagem foram coletadas amostras de forragem para análises de pH e microbiológica. O pH foi determinado com uso de um potenciômetro no extrato aquoso formado por uma fração de 25g de amostras misturadas em 450ml de água deionizada segundo a metodologia de Cherney & Cherney (2003). A determinação da população de bactérias foi realizada na abertura dos silos e após 6 dias de exposição ao tempo.

Para análise microbiológica, as amostras foram coletadas de forma asséptica e acondicionadas em sacos plásticos e posteriormente transportadas ao Laboratório de Microbiologia e Bioquímica da UNIOESTE, onde foram processadas.

O preparo das amostras consistiu de uma diluição prévia por meio da coleta de 25g de amostra. As populações microbianas foram determinadas por meio de técnicas de culturas seletivas: aos 25g de amostras foram adicionadas 225 ml de água destilada. Da solução obtida pipetou-se 1ml, com diluições que variaram de 10^1 a 10^9 usando-se tubos de ensaio para água de diluição contendo 9ml de água destilada estéril.

As populações de bactérias, foram determinadas por meio de técnicas de cultura segundo Silva et al. (1997), utilizando os seguintes meios: *Lactobacillus* MRS Broth para contagem de *Lactobacillus*, 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*, mantendo-se as placas em incubação anaeróbia a 36°C por 24 horas. O desenvolvimento de *Bacillus* foi realizado conforme Speck (1984), utilizando-se o meio Nutrient Agar, mantendo-se as placas em incubação a 30°C por 72 horas.

Os fungos foram isolados por indução de crescimento do micélio em meio de cultivo: Batata Dextrose Agar (BDA) por esporulação induzida ou por isolamento direto dos sinais (estruturas reprodutivas) do patógeno a partir das amostras coletadas (FERNANDEZ, 1993). O período de incubação foi de 7 dias em temperatura ambiente.

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 obtidos na diluição selecionada, sendo expressos em log. Na contagem de leveduras o meio BDA foi acidificado com ácido tartárico 10%, ajustando o pH para 3,5 (BRACKETT & SPLITTSTOESSER, 1992).

Na abertura dos silos, ao sexto dia de exposição ao ar, foi realizada a avaliação da estabilidade aeróbia, por meio do tempo em que a temperatura da silagem exposta ao oxigênio ultrapassou 2°C a temperatura ambiente (DRIEHUIS et al.2001). As medições de temperatura (ambiente e dos silos) e pH foram realizadas diariamente as 14 horas, com um termômetro digital tipo espeto e coletadas amostras de cada silo para analisar o pH (CHERNEY & CHERNEY, 2003).

Os dados foram submetidos à análise de variância ao nível de 5% de significância e as médias comparadas pelo teste de Tukey. O estudo das variações de pH e a temperatura no tempo foram analisados por meio de regressão.

4.3 Resultado e discussão

O capim-tifton 85 apresentou pH de 5,26 antes da ensilagem, sendo que a população de bactérias lácticas (Tabela 1) foi inferior a 10^8 conforme propõe McDonald et al. (1991) com o mínimo necessário para uma boa fermentação aliado a uma concentração de carboidratos solúveis entre 80 a 100 g kg⁻¹ MS.

Tabela 1. População de bactérias (log UFC g⁻¹) presentes no capim-tifton 85 antes de ensilar, com e sem inoculante

	Com inoculante	Sem inoculante
Lática	6,42	6,09
Bacillus	3,52	3,06
Enterobactérias	4,65	4,50
Clostridium	7,25	6,28

UFC: Unidade Formadora de Colônias

Com uso de inoculante, aplicação ou não de vácuo na ensilagem não interferiu na população das bactérias láticas (Tabela 2). Sem o uso de inoculante o tratamento com vácuo apresentou maior contagem de bactérias láticas. Ao avaliar o afeito do vácuo com e sem inoculante verificou-se que com vácuo não houve diferenças na população de bactérias láticas, mas sem vácuo o uso de inoculante promoveu aumento da população.

Alfonzo et al. (2011) trabalhando em silagens de capim-tifton 85 avaliaram os tempos de abertura dos silos de 28 e 56 dias, e aos 56 dias de ensilagem ocorreu maior contagem de bactérias produtoras de ácido lático (5,4 log UFC g⁻¹), sendo estes inferiores ao presente estudo.

Coan et al. (2007) avaliaram silagem de capim Marandu e Tanzânia com adição de 0,5 e 10% de polpa cítrica peletizada e após a ensilagem ocorreu aumento no desenvolvimento de bactérias láticas, do primeiro dia até ao sétimo dia, chegando a uma população maior que 8,00 log UFC g⁻¹ para as silagens de capim Marandu e maior que 10,00 log UFC g⁻¹ para as silagens de capim Tanzânia.

A população de *Bacillus* com uso de inoculante a vácuo e sem vácuo apresentou aumento nos tratamentos sem vácuo (Tabela 2). Com o uso do vácuo a adição ou não de inoculante não interferiu. Sem vácuo o uso de inoculante promoveu redução na população de *Bacillus*, comparados ao tratamento sem inoculante.

Segundo Lindgren (1999) micro-organismos do gênero *Bacillus*, após abertura do silo degradam o ácido lático, produzindo álcool, ácido acético, dióxido de carbono e ocorre aquecimento na massa ensilada.

As populações de enterobactérias não mostraram variações entre tratamentos (Tabela 2), ficando em média de 5,86 log UFC g⁻¹.

Tabela 2. População de bactérias na abertura da silagem de capim-tifton 85, com e sem vácuo, adicionados ou não inoculante

Tratamento	Láticas (log UFC g ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	7,70 a A	7,72 a A	7,71
Sem vácuo	7,84 a A	7,18 b B	7,51
Média	7,77	7,45	
CV	2,90		
DMS	0,22		
	<i>Bacillus</i> spp (log UFC g ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	4,54 b A	4,60 b A	4,57
Sem vácuo	5,64 a B	7,08 a A	6,36
Média	5,09	5,84	
CV	2,23		
DMS	0,12		
	Enterobactérias (log UFC g ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	5,94	5,80	5,87 a
Sem vácuo	5,76	5,94	5,85 a
Média	5,85 A	5,87 A	
CV	3,42		
DMS	0,19		
	Clostridium (log UFC g ⁻¹)		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	7,94 b A	7,93 a A	7,94
Sem vácuo	8,32 a A	7,68 a B	7,84
Média	7,97	7,81	
CV	2,42		
DMS	0,19		

UFC: Unidade Formadora de Colônias; Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna e maiúsculas distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa

Quanto a contagem de Clostridium o tratamento com inoculante a vácuo promoveu redução (Tabela 2), mostrando que a combinação de vácuo e inoculante contribuíram para reduzir a população. Sem o inoculante não houve diferença entre uso ou não do vácuo. O mesmo foi observado para os tratamentos a vácuo que não diferenciaram com o uso ou não de inoculante. Sem o vácuo a ausência de inoculante promoveu redução dos Clostridium.

Neres et al. (2013) obtiveram aumento da população de Clostridium de 3,19 log UFC g⁻¹ em capim-tifton 85 antes de ensilar para 6,68 log UFC g⁻¹ na abertura aos 30 dias.

McDonald et al. (1991) afirmam que silagem com condições anaeróbias, juntamente com pH superior a 4,2, favorece desenvolvimento de bactérias que dominam a fermentação indesejável, como Clostridium, Enterobactérias e algumas espécies de Bacillus e leveduras. Dessa forma com o pH médio de 6,17 (Tabela 4) este pode estar relacionado com o crescimento desses micro-organismos após abertura da silagem.

Neres et al. (2013) avaliaram silagem de capim-tifton 85, sem aditivos, com adição de casca de soja, grãos de milho, inoculante, pré-secados ao sol e sal sobre a camada superior da silagem e observaram que para o Clostridium, seu desenvolvimento mostrou-se maior após a abertura do silo ($7,00 \log \text{ UFC g}^{-1}$), em relação a forragem antes de ensilar ($3,19 \log \text{ UFC g}^{-1}$). No entanto não ocorreu desenvolvimento de enterobactérias após abertura do silo.

Alfonzo et al. (2011) avaliaram a qualidade microbiológica em silagem de capim-tifton 85, em diferentes dias de abertura do silo (28 e 56 dias) e observaram que o desenvolvimento de Clostridium não foi significativo entre os tratamentos e para enterobactérias ocorreu maior desenvolvimento após 56 dias de ensilagem ($4,16 \log \text{ UFC g}^{-1}$).

Coan et al.(2007) avaliaram a dinâmica fermentativa e microbiológica de silagem de capim Tanzânia com adição de 0,5 ou 10% de polpa cítrica peletizada, 1, 4, 7, 14, 21, 28 e 56 dias após a ensilagem e observaram diferença no crescimento de Enterobactérias, nas silagens de capim Tanzânia, a partir do primeiro dia de fermentação até o quarto dia, alcançando população de $5,00 \log \text{ UFC g}^{-1}$, após o quarto dia não foi observado desenvolvimento desses micro-organismos. A população de Clostridium aumentou 24 horas após a ensilagem do capim Tanzânia, chegando a $5,00 \log \text{ UFC g}^{-1}$.

Segundo McDonald et al. (1991) quanto à preservação, silagens inadequadas são aquelas onde Clostridium e/ou enterobactérias dominam a fermentação, enquanto silagens satisfatórias seriam aquelas contendo uma população apropriada de bactérias lácticas.

O uso de inoculante e vácuo não alterou a população média de leveduras na silagem de capim-tifton 85 (Tabela 3) com média de $5,10 \log \text{ UFC g}^{-1}$.

Tabela 3. População média de leveduras na silagem de capim-tifton 85, com e sem vácuo, adicionados ou não inoculante

Tratamentos	Leveduras (log UFC g ⁻¹)
Com inoculante a vácuo	4,98 ^{ns}
Sem inoculante a vácuo	4,81
Com inoculante sem vácuo	5,33
Sem inoculante sem vácuo	5,32
Média	5,10
CV1 (%)	15,31
CV 2 (%)	22,23
DMS	0,76

CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa ns: não significativo pelo teste Tukey (5%); UFC: unidade formadora de colônia

Ocorreu crescimento linear das leveduras em todos os tratamentos avaliados do primeiro até o sexto dia de exposição da silagem ao oxigênio (Figura 1). O aumento destes micro-organismos com a exposição ao ar pode estar relacionado ao fato de que as leveduras crescem positivamente em ambientes com presença de oxigênio e considerando que o pH após a abertura manteve-se elevado, estas mesmo com pouca disponibilidade de oxigênio antes da abertura podem não ter paralisado por completo seu crescimento.

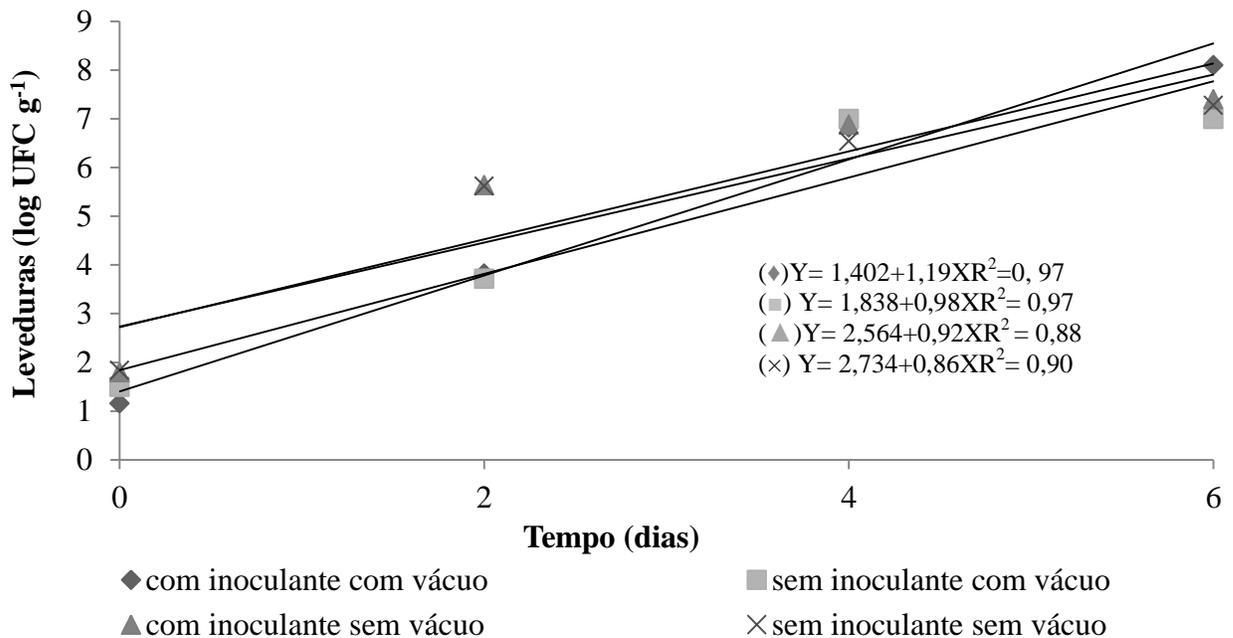


Figura 1. População de Leveduras (log UFC g⁻¹) em silagem de capim-tifton 85, com ou sem vácuo, adicionado ou não inoculante

Rodrigues et al. (2009) avaliaram silagem emurchecida de capim tifton 85, sem inclusão de aditivos, com adição de ácido propiônico a 1% e adição de ureia e também não encontraram diferenças na contagem de leveduras no momento da abertura do silo e cinco dias de exposição ao ar. Para o nono dia da abertura da silagem, os tratamentos com ureia e ácido propiônico não diferenciaram com médias de 1,42 e 1,16 log UFC g⁻¹, respectivamente, porém o uso de aditivo apresentaram menor desenvolvimento de leveduras do que silagem não aditivada com 6,73 log UFC g⁻¹.

McDonald et al. (1991) ressaltam que em silagem a contagem de leveduras e fungos é indesejável, pois esses são os maiores responsáveis pela deterioração aeróbia. Segundo Schalatter & Smith (1999) a presença de fungos altera a palatabilidade e os níveis de nutrientes, principalmente carboidratos solúveis e vitaminas.

Os fungos não apresentaram contagem significativa em todos os tratamentos, ou seja, os valores foram inferiores a 30 UFC por placa.

Os valores de pH (Tabela 4) não foram diferentes entre os tratamentos na abertura até o segundo dia de exposição ao ar. Após esse período, no terceiro e quarto dia as silagens produzidas com vácuo e inoculante apresentaram valores inferiores aos demais tratamentos. No quinto e sexto dia os tratamentos não se diferenciaram.

Tabela 4. Valores de pH no período de seis dias após exposição aeróbia da silagem de capim-tifton 85 com e sem vácuo, adicionados ou não inoculante

Tratamentos	Tempo (dias após abertura do silo)						
	0	1	2	3	4	5	6
Com inoculante a vácuo	4,93	4,78	4,78	4,99 b	5,81 c	7,51	7,53
Sem inoculante a vácuo	4,96	4,84	4,86	5,34ab	6,48 bc	7,76	7,73
Com inoculante sem vácuo	5,06	4,86	5,18	6,36ab	8,04a	8,09	8,04
Sem inoculante sem vácuo	5,11	4,89	5,80	6,54 a	7,38ab	7,45	7,68

Média 6,17

CV 1 (%) 13,16

CV 2 (%) 8,26

DMS 0,57

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); CV: coeficiente de variação

Os tratamentos nos diferentes tempos apresentaram valores pH superiores a 4,2, não sendo ideal para uma boa preservação da silagem (McDONALD et al. 1991). Quanto à avaliação do pH no tempo, houve comportamento quadrático para vácuo e inoculante (Figura 2).

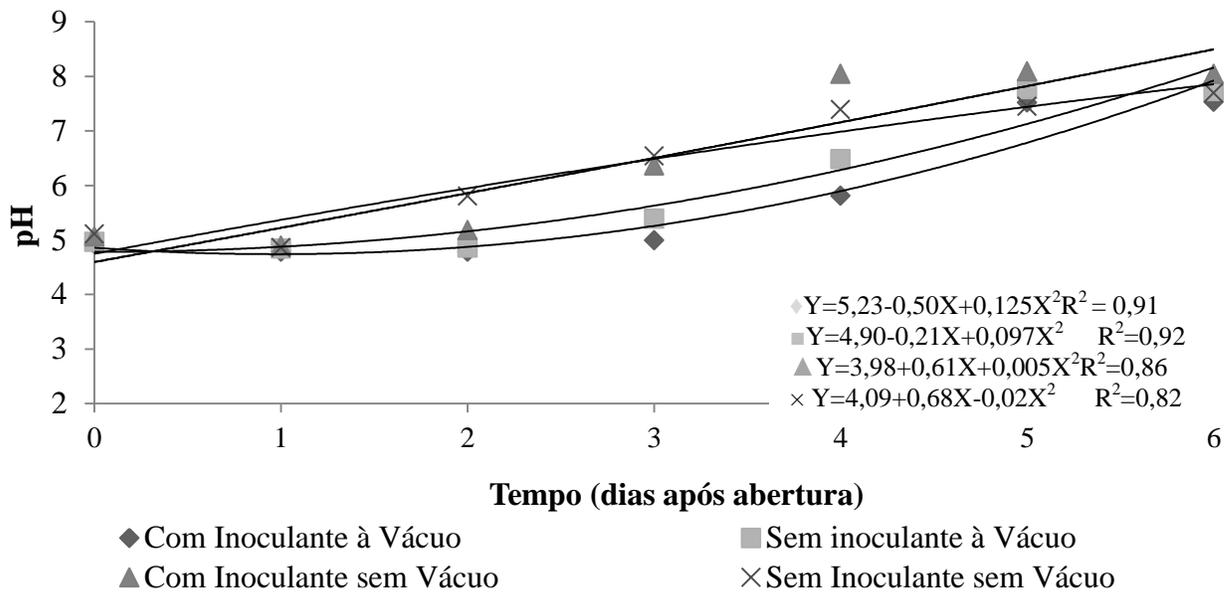


Figura 2. pH durante 6 dias de exposição aeróbia de silagem de capim-tifton 85, com ou sem vácuo, adicionado ou não inoculante

Guim et al. (2002) avaliaram silagens de capim elefante emurchecido com e sem inoculante microbiano no tempo zero, dois, quatro, seis e oito dias de abertura dos silos e observaram que o valor de pH das silagens inoculadas (4,83) foi menor que das silagens sem o aditivo (5,83). Castro et al. (2006) avaliaram a silagem de capim-tifton 85 com concentrações de 250, 450 e 650 g kg⁻¹ de MS mais aplicação de aditivo bacteriano-enzimático em diferentes tempos de armazenamento (32, 90 e 180 dias) e observaram que os valores de pH foram reduzidos ao longo do período de armazenamento. Penteadó et al. (2007) avaliaram silagem de capim Mombaça com diferentes concentrações de inoculante e cinco períodos de abertura da silagem e observaram que ocorreu redução do pH entre os dias 0 e 1.

As temperaturas das silagens com e sem vácuo e inoculante microbiano não diferenciaram após a abertura dos silos, primeiro, segundo e terceiro dia de exposição da silagem ao ar (Tabela 5).

No quarto dia as silagens sem inoculante e com vácuo apresentaram temperatura mais elevada. No quinto dia as silagens com vácuo apresentaram as temperaturas mais elevadas e no sexto dia estas foram mais elevadas na silagem com inoculante e com vácuo (Tabela 5).

Tabela 5. Temperatura (°C) durante seis dias de exposição ao ar em silagem de capim-tifton 85 com e sem vácuo, adicionados ou não inoculante

Tratamentos	Tempo (dias após abertura do silo)						
	0	1	2	3	4	5	6
Com inoculante a vácuo	21,9	23,1	24,9	27,3	30,9 ^b	39,5 ^a	39,1 ^a
Sem inoculante a vácuo	22,1	23,3	25,3	29,1	36,7 ^a	39,5 ^a	36,5 ^{ab}
Com inoculante sem vácuo	22,5	23,7	26,1	29,9	34,1 ^{ab}	32,1 ^b	30,9 ^b
Sem inoculante sem vácuo	22,5	23,7	25,7	29,9	33,1 ^{ab}	37,7 ^b	33,5 ^{ab}
Média	29,45						
CV 1 (%)	10,30						
CV 2 (%)	5,73						
DMS	2,15						

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); CV: coeficiente de variação

Os valores de temperatura apresentaram comportamento quadrático (Figura 3), em função dos tempos avaliados e após o terceiro dia as temperaturas das silagens excederam 2°C a temperatura ambiente, caracterizando como quebra da estabilidade aeróbia.

De acordo com Driehuis et al. (2001) a quebra da estabilidade aeróbia se inicia quando a temperatura da silagem ultrapassa 2°C em relação a temperatura ambiente. A deterioração aeróbia das silagens é indesejável por estar associada à grande perda de nutrientes, resultando em baixo consumo e até mesmo em rejeição completa desse alimento pelos animais (McDONALD et al. 1991).

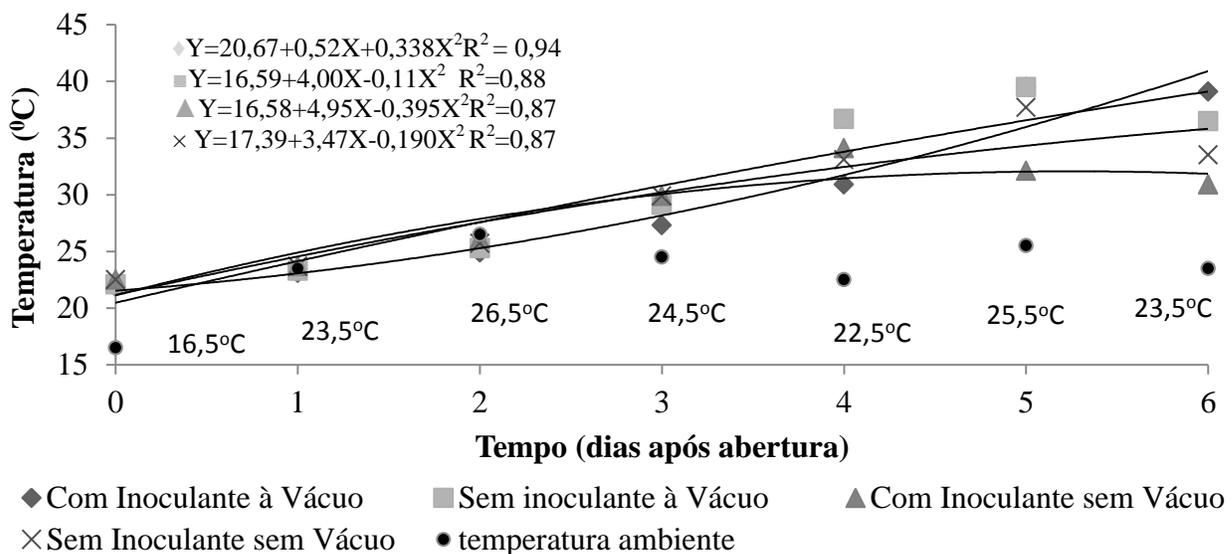


Figura 3. Temperatura da silagem de capim tifton 85, após exposição ao oxigênio com ou sem vácuo, adicionado ou não inoculante

O uso de inoculante e vácuo interferiu na temperatura máxima, pH máximo e dias para alcançar a temperatura e o pH máximo das silagens de capim-tifton 85 após abertura dos silos (Tabela 6).

Tabela 6. Temperatura máxima, pH máximo, dias para alcançar temperatura máxima e pH máximo após abertura da silagem de capim-tifton 85 com e sem vácuo e inoculante, durante seis dias de aeração

Tratamento	Temperatura máxima		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	40,1 a A	39,7 a A	39,9
Sem vácuo	34,1 b B	37,7 a A	35,9
Média	37,1	38,7	
CV	5,71		
DMS	2,11		
	pH máximo		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	7,65 b A	7,90 a A	7,77
Sem vácuo	8,27 a A	7,82 a A	8,04
Média	7,96	7,86	
CV	2,30		
DMS	0,18		
	Dias para obtenção de temperatura máxima		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	5,2 a A	4,8 a A	5,0
Sem vácuo	4,0 b B	4,8 a A	4,4
Média	4,6	4,9	
CV	8,01		
DMS	0,36		
	Dias para obtenção de pH máximo		
	Com inoculante	Sem inoculante	Média
Com vácuo	5,6	5,6	5,6 a
Sem vácuo	5,0	4,8	4,9 a
Média	5,3 A	5,2 A	
CV	17,56		
DMS	0,89		

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna e maiúsculas distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa

As silagens com inoculante a vácuo apresentaram maior valor de temperatura máxima do que as silagens com inoculante sem vácuo. As silagens sem inoculante sem vácuo não diferenciaram em temperatura máxima. Nas silagens a vácuo o uso ou não de inoculante não

influenciou na temperatura máxima. Nas silagens sem vácuo apresentaram menor temperatura máxima quando adicionadas inoculante.

As silagens com inoculante a vácuo apresentaram menor valor de pH quando comparadas com as silagens com inoculante sem vácuo. As silagens sem inoculante a vácuo não diferiram nos valores de pH quando comparadas com as silagens sem inoculante sem vácuo. Tanto no uso a vácuo como sem vácuo, a adição ou não de inoculante não influenciou nos valores de pH.

As silagens com inoculante a vácuo apresentaram máxima de temperatura ao 5,2 dias, enquanto as silagens com inoculante sem vácuo apresentaram máxima aos 4,0 dias. As silagens sem inoculante a vácuo e sem vácuo, não apresentaram diferença nos dias de máxima de temperatura. Nas silagens com e sem vácuo, o uso ou sem de inoculante não diferenciou nos dias de temperatura máxima.

Não ocorreu diferenças entre tratamentos entre os dias para alcançar a temperatura máxima, com valor máximo de pH após 5,25 dias da abertura dos silos.

Neres et al. (2013) avaliaram silagem de capim-tifton 85 sem aditivos, com adição de casca de soja, adição de quireira de milho, adição de inoculante bacteriano-enzimático e silagem emurchedida ao sol por 2 horas, após abertura da silagem, no tempo zero até 168 horas e observaram que o não houve diferença nos valores de temperatura para todas as silagens avaliadas nos diferentes tempos, mostrando que apresentam alta estabilidade aeróbia.

Amaral et al. (2008) avaliaram a estabilidade aeróbia de silagens de capim marandu, submetidas a diferentes intensidades de compactação (100, 120, 140 e 160 kg MS m³) e verificaram valores acima da temperatura ambiente.

Castro et al. (2006), avaliaram silagem de capim-tifton 85 com concentrações de 250, 450 e 650 g kg⁻¹ de MS, mais aplicação de aditivo bacteriano-enzimático em diferentes tempos de armazenamento (32, 90 e 180 dias), constataram redução da temperatura máxima entre 32 e 90 dias e aumento entre 90 e 180 de ensilagem, sendo as temperaturas dos silos semelhantes as temperaturas do ambiente. As silagens com menores teores de MS apresentaram maiores temperaturas.

4.4 Conclusão

Silagens de capim-tifton 85 produzidas com e sem vácuo e com e sem inoculante apresentam quebra de estabilidade aeróbia após o terceiro dia após exposição ao ar.

A população de BAL é superior quando aplicado o vácuo e na produção desta não se usa inoculante. Sem o uso de vácuo na ensilagem a adição de inoculante aumenta a população de BAL.

As leveduras apresentam crescimento linear após exposição das silagens com e sem vácuo e inoculante.

4.5 Referências

- ALFONZO, E. P. M.; FERNANDES, T.; CASTAGNARA, D. D. et al. Qualidade microbiológica da silagem de capim tifton 85 com e sem pré-secagem ao sol. In: **XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA**, Alagoas, 2011.
- AMARAL, R. C.; BERNARDES, T. F.; SIQUEIRA, G. R. et al. Estabilidade aeróbia de silagens do capim-marandu submetidas a diferentes intensidades de compactação na ensilagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 37, p. 977-983, 2008.
- AMARAL, R. C. **Estratégia de controle da determinação aeróbia em silagem de milho e seu valor alimentício para vacas em lactação**. p. 175, 2011. Tese (Doutorado Ciências Animal e Pastagens) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
- BERNARDES, T. F. **Controle da deterioração aeróbia em silagens**. p. 116, 2006. Tese (Doutorado Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal, SP.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. New York: Macmillan Publishing Company, p. 218, 1987.
- BRACKETT, R. E.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Vanderzant, C. Splittstoesser, D.F. (Eds.) (3rd ed.), American Public Health Association (APHA), Washington, DC, p. 919-927, 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 ssp.*) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 35, p.358-371, 2006.
- CARMICHAEL, J. W.; KENDRICK, W. B.; CONNERS, I. L. et al. **Genera of Hyphomycetes**. Manitoba: Hignell Printing, p. 386, 1980.
- CHERNEY, J. H.; CHERNEY, D. J. R. Assessing Silage Quality. In: Buxton *et al.* **Silage Science and Technology**. Madison, Wisconsin, USA. p.141-198, 2003.
- 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 (supl.).
- DRIEHUIS, F.; ELFERINK, S. J. W. H. O.; SPOELSTRA, S. F. Anaerobic lactic degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves stability. **Journal of Applied Microbiology**. v. 87, p. 583-594, 1999.

- DRIEHUIS, F.; ELFERINK, S. J. W. H. O; VAN WIKSELAAR, P. G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v. 56, p. 330-343, 2001.
- FERNANDEZ, M. R. **Manual para Laboratório de Fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, p. 128,1993.
- GUARRO, J.; GENÉ, J.; STCHIGEL, A. M. Developments in fungal taxonomy. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 3, p. 454-500, 1999.
- GUIM, A.; ANDRADE, P. ITUTTINO-SCHOCKEN, R. P. et al. Estabilidade aeróbica de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) emurcheado e tratado com inoculante microbiano. **Revista Brasileira Zootecnia**. v. 31, n. 6, p. 2176-2185, 2002.
- LINDGREN, S. Can HACCP principles be applied for silage safety? In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., 1999, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, p. 51-66, 1999.
- 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 Zootecnia**. v. 42, n. 6, p. 381-387, 2013.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**.2.ed. Marlow: Chalcombe Publications, p. 340, 1991.
- MUCK, R.E.; KUNG, Jr. L. Effects of silage additives on ensiling. **Silage: field to feed bunk**. NRAES-99. Hershey; North America Conference, Ithaca: p. 187-199, 1997.
- RODRIGUES, J. F. H.; JUN ITi YOKOO, M.; BASSO, F. C. et al. Efeito de aditivos químicos no perfil fermentativo e microbiológico de silagens emurcheadas de capim-tifton 85 no pós abertura, produzidas na primavera. In: **XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA**. Águas de Lindóia, 2009.
- SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J.; C. et al. **Introduction to Food-Borne Fungi**. Baarn: CBS, p. 322, 1995.
- SCHLATTER, L.K., SMITH, K. Effects of mold grow on nutrient availability in animal feeds. **In:Four-State Applied Nutrition and Management Conference**. Iowa State University-Extension, University of Illinois-Extension, University Minnesota-Extension, University of Wisconsin-Extension. p. 139-144, 1999.
- SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; REIS, R. A.; COAN, R. M. et al. Alterações Químicas e Microbiológicas nas Silagens de Capim-Tifton 85 após a Abertura dos Silos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 34, p. 464-471, 2005.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise de alimentos**. São Paulo. Livraria Varela, p. 295,1997.

SPECK, M. L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 2. ed. Washington DC : American Public Health Association. p. 914, 1984.

WILKISON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**. p. 68:1-19, 2012.

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

ANEXOS



Figura 1. Corte e picagem do capim-tifton 85 antes da ensilagem



Figura 2. Aplicação do vácuo na produção de silagem de capim-tifton 85



Figura 3. Fechamento dos silos produzidos à vácuo



Figura 4. Abertura dos silos com capim-tifton 85

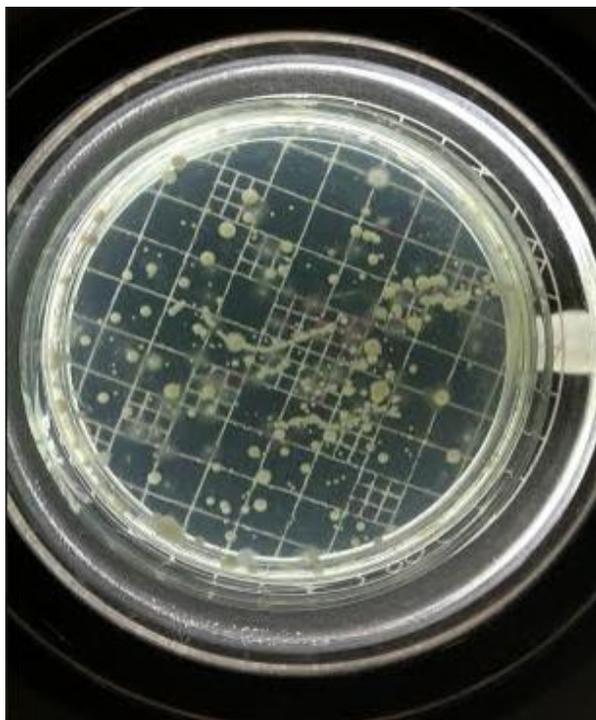


Figura 5. Placa com colônias de leveduras

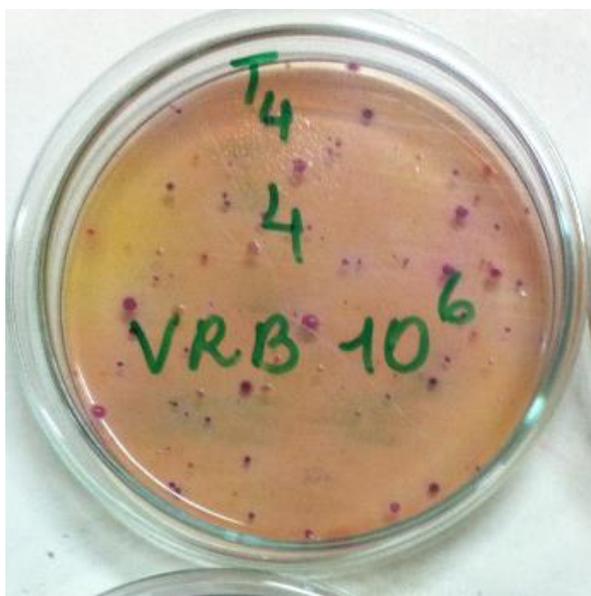


Figura 6. Placa com colônias de Enterobactérias



Figura 7. Placa com colônias de Bacillus



Figura 8. Placa com colônias de (BAL) bactérias ácido lácticas