

**USO DE PRÉ-EMURCIMENTO, INOCULANTE BACTERIANO-
ENZIMÁTICO OU ÁCIDO PROPIÔNICO NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE
TIFTON 85 (*Cynodon* sp.)**

FLÁVIO GERALDO FERREIRA CASTRO

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia, Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Janeiro - 2002

**USO DE PRÉ-EMURCHECIMENTO, INOCULANTE BACTERIANO-
ENZIMÁTICO OU ÁCIDO PROPIÔNICO NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE
TIFTON 85 (*Cynodon* sp.)**

FLÁVIO GERALDO FERREIRA CASTRO

Médico Veterinário

Orientador: Prof. Dr. **CLÁUDIO MALUF HADDAD**

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura
“Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em Agronomia, Área
de concentração: Ciência Animal e Pastagens.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Janeiro – 2002

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Castro, Flávio Geraldo Ferreira

Uso de pré-emurchecimento, inoculante bacteriano-enzimático ou ácido propiônico na produção de silagem de Tifton 85 (*Cynodon* sp.) / Flávio Geraldo Ferreira. - - Piracicaba, 2002.

136 p.

Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.
Bibliografia.

1. Capins 2. Secagem 3. Silagem 4. Variedade vegetais I. Título

CDD 636.08552

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Aos meus pais,

Damião e Maria Zélia,

Minha irmã,

Roberta,

Meu irmão, cunhada e sobrinho,

Marcus, Ana Cristina e Artur,

Minhas avós,

Vovó Ana e Vovó Fia

OFEREÇO.

À todos que me incentivaram e apoiaram nesta caminhada,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Cláudio M. Haddad pela orientação, amizade e exemplo de vida.

Ao Prof. Dr. Luiz Gustavo Nussio pela orientação na elaboração do projeto, condução do experimento, análises laboratoriais e redação da Tese.

Ao Dr. José Manuel de Corrêa Simas pelo auxílio na elaboração do projeto, condução do experimento e análise laboratoriais.

Ao colega de curso Rodrigo Michelin Coelho pela amizade e auxílio na condução do experimento e análises laboratoriais.

À colega de curso Carla Maris Bittar Nussio pela amizade e orientação nas análises laboratoriais.

Aos colegas de curso Lucas, Maurício e Solidete pelo auxílio na condução do experimento.

Ao funcionário do Laboratório de Bromatologia da ESALQ/USP Carlos César Alves pela orientação e ajuda na realização das análises laboratoriais.

Aos professores e funcionários do Departamento de Produção Animal da ESALQ/USP que contribuíram de alguma forma para a realização do presente trabalho.

Aos Profs Drs. Benedito Corrêa e Jorge Timenetky do Departamento de Microbiologia do ICB/USP pelo auxílio na determinação do perfil microbiológico das silagens.

À Profa. Dra. Denise de Garcia Santana da Universidade Federal de Uberlândia pelo auxílio na análise estatística.

À Fazenda Água Comprida que possibilitou a realização do experimento, inclusive financiando a fase experimental e as análises laboratoriais.

À equipe da Fazenda Água Comprida pelo auxílio na realização do experimento.

Aos estagiários de Clube de Práticas Zootécnicas (CPZ/ESALQ/USP) pelo auxílio na condução do experimento.

Aos Srs. Gilson Lemos e Ricardo Coutinho pela compreensão e apoio na conclusão do doutoramento.

Aos amigos Éberson Castilho Barnabé, Miguel Cavalcante e Soraia Vanessa Matarazzo pela amizade e companheirismo durante essa fase.

À todos os colegas dos cursos de Pós-graduação e Graduação da ESALQ/USP pela amizade e companheirismo.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ix
SUMMARY	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Uso de forrageiras tropicais na produção de silagem.....	3
2.2 Alterações na composição química da forragem durante a ensilagem.....	4
2.3 Crescimento de microrganismos desejáveis.....	6
2.4 Crescimento de microrganismos indesejáveis.....	7
2.5 Pré-emurhecimento.....	12
2.6 Perdas associadas à produção e utilização da silagem pré-emurhecida.....	19
2.7 Inoculantes bacteriano-enzimáticos.....	22
2.8 Deterioração aeróbica após a abertura do silo.....	26
3 CARACTERÍSTICAS DE FERMENTAÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SILAGEM DE TIFTON 85 (<i>Cynodon</i> sp.) SOB EFEITO DE PRÉ- EMURCHECIMENTO, INOCULANTE BACTERIANO-ENZIMÁTICO OU ÁCIDO PROPIÔNICO.....	31
Resumo.....	31
Summary.....	32
3.1 Introdução.....	32
3.2 Material e Métodos.....	35
3.2.1 Condução do experimento.....	35

3.2.2 Amostragem e preparo das amostras para determinações laboratoriais.....	37
3.2.3 Parâmetros avaliados e metodologias empregadas.....	38
3.2.4 Análise estatística.....	39
3.3 Resultados e Discussão.....	40
3.3.1 Perfil de fermentação.....	40
3.3.2 Composição química.....	46
3.4 Conclusões.....	58
4 EFEITO DO CONTEÚDO DE MATÉRIA SECA, INOCULANTE BACTERIANO-ENZIMÁTICO OU ÁCIDO PROPIÔNICO SOBRE O PERFIL MICROBIOLÓGICO, PARÂMETROS FÍSICO E A ESTABILIDADE AERÓBICA DA SILAGEM DE TIFTON 85 (<i>Cynodon</i> sp).	59
Resumo.....	59
Summary.....	60
4.1 Introdução.....	60
4.2 Material e Métodos.....	64
4.2.1 Condução do experimento.....	64
4.2.2 Amostragem e preparo das amostras para determinações laboratoriais.....	66
4.2.3 Parâmetros avaliados e metodologias empregadas.....	68
4.2.4 Análise estatística.....	69
4.3 Resultados e Discussão.....	70
4.4 Conclusões.....	91
5 EFICIÊNCIA DO PROCESSO DE ENSILAGEM NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE TIFTON 85 (<i>Cynodon</i> sp.) SOB EFEITO DE PRÉ-EMURCHECIMENTO, INOCULANTE BACTERIANO-ENZIMÁTICO OU ÁCIDO PROPIÔNICO.....	92
Resumo.....	92
Summary.....	93

5.1	Introdução.....	93
5.2	Material e Métodos.....	95
5.2.1	Condução do experimento.....	95
5.2.2	Parâmetros avaliados e metodologias empregadas.....	97
5.2.3	Análise estatística.....	98
5.4	Resultados e Discussão.....	98
5.5	Conclusões.....	107
6	CONCLUSÕES GERAIS.....	109
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110
	APÊNDICES.....	121

USO DE PRÉ-EMURCHECIMENTO, INOCULANTE BACTERIANO-ENZIMÁTICO OU ÁCIDO PROPIONICO NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE TIFTON 85 (*Cynodon sp.*)

Autor: FLÁVIO GERALDO FERREIRA CASTRO

Orientador: Prof. Dr. CLÁUDIO MALUF HADDAD

RESUMO

Os objetivos desse estudo foram avaliar os efeitos do pré-emurhecimento e da aplicação de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) ou ácido propiônico tamponado (APT) sobre as características de fermentação, composição química, perfil microbiológico, parâmetros físicos, estabilidade aeróbica e eficiência no processo de ensilagem de Tifton 85 (*Cynodon sp.*) na produção de silagem armazenada na forma de fardos grandes revestidos por filme plástico. Silagens com cinco níveis de matéria seca (250 g kg⁻¹, 350 g kg⁻¹, 450 g kg⁻¹, 550 g kg⁻¹ e 650 g kg⁻¹ MS) foram confeccionadas na ausência de IBE. Outros três tratamentos consistiram de níveis de matéria seca (250 g kg⁻¹, 450 g kg⁻¹ e 650 g kg⁻¹ MS) na presença de aditivo bacteriano-enzimático (IBE), e um tratamento adicional, onde os fardos foram submetidos à pré-emurhecimento até atingir o maior nível de MS (650 g kg⁻¹ MS), foi pulverizada uma solução contendo APT. As amostras foram tomadas imediatamente antes (zero hora) e às 6, 12 horas e 1, 2, 4, 8, 16, 32, 90 e 180 dias após a ensilagem, para estabelecer curvas de tendência temporal para as características qualitativas de fermentação. As amostras coletadas à zero hora e aos 8, 16, 32, 90 e 180 dias após a ensilagem também foram usadas para determinação

da composição química-bromatológica. Nas amostras tomadas à zero hora e aos 32 e 180 dias após a ensilagem foram determinados o perfil microbiológico e alguns parâmetros físico-químicos. A avaliação de perdas foi mensurada indiretamente através da estabilidade aeróbica, nas amostras coletadas aos 32, 90 e 180 dias após a ensilagem. O processo de ensilagem, com o teor de matéria seca de 550 g kg⁻¹ MS foi o mais eficiente, por associar: tempo de emurchecimento intermediário, alta densidade de matéria seca, baixa perda de matéria seca por recolhimento, e por apresentar o maior valor para recuperação de massa digestível, durante a ensilagem. Os tratamentos de maior conteúdo de matéria seca (650 g kg⁻¹ MS) também apresentaram bom desempenho para os parâmetros avaliados, entretanto por necessitarem de um período superior a 24 horas de exposição para atingir o emurchecimento desejado, se submeteram à riscos potencialmente elevados originados de chuvas de ocorrência noturna. O uso de pré-emurchecimento à nível médio de MS, 450 g kg⁻¹ MS, favoreceu as características qualitativas de fermentação e a composição química das silagens de Tifton 85. O uso de APT não melhorou as características qualitativas de fermentação e a composição química das silagens. A utilização de IBE apresentou mínimos benefícios somente nas silagens contendo elevado teor de matéria seca, sendo ineficiente para forragens contendo alta umidade. A ensilagem direta da forragem, sem pré-emurchecimento, produziu uma silagem de menor qualidade, caracterizada por alto conteúdo de nitrogênio amoniacal e uma baixa estabilidade aeróbica. O uso de pré-emurchecimento a conteúdos de matéria seca superiores a 550 g kg⁻¹ MS, levou a restrição no crescimento de microrganismos e consequentemente redução na fermentação, resultando em maior estabilidade aeróbica das silagens produzidas. O uso de IBE foi efetivo quando associado ao conteúdo intermediário de MS (450 g kg⁻¹ MS), resultando em maior estabilidade aeróbica da silagem. O uso de APT, nas silagens com elevado teor de MS (650 g kg⁻¹ MS), não apresentou vantagens em relação aos similares.

USE OF WILTING, MICROBIOLOGICAL ADDITIVE OR PROPIONIC ACID ON PRODUCTION OF TIFTON 85 (*Cynodon* sp.) SILAGE

Author: FLÁVIO GERALDO FERREIRA CASTRO

Adviser: Prof. Dr. CLÁUDIO MALUF HADDAD

SUMMARY

The objectives of this work were to study the effects of wilting and microbiological additive or buffered propionic acid (BPA) on the fermentation characteristics, chemical composition, microbiological profile, physical parameters, aerobic stability and efficiency of the ensiling process of Tifton (*Cynodon* sp.) silage stored in plastic wrapped square bales. The treatments were: five forage dry matter contents (250, 350, 450, 550 and 650 g kg⁻¹ DM), three forage dry matter contents (250, 350 and 650 g kg⁻¹ DM) sprayed with bacterial-enzymatic additive (BEA) and wilted forage (650 g kg⁻¹ DM) sprayed with BPA. Core samples were taken 0, 6 and 12 hours and 1, 2, 4, 8, 16, 32, 90 and 180 days of storage. The chemical composition was determined on samples taken 0, 8, 16, 32, 90 and 180 days of storage and the microbiological and physical-chemical parameters on samples taken 0, 32 and 180 days of storage. Aerobically stability was used to indirectly estimate losses on 32, 90 and 180 days of storage. The 550 g kg⁻¹ forage dry matter showed the highest silage efficiency production, due to intermediary wilting time, high dry matter density, low dry matter losses during raking and harvesting, and large digestible mass recovery. The treatments with 650 g kg⁻¹ DM were efficient as well, however, they needed longer time to achieve

this final dry matter content (longer than 24 hours) may elevate the risk of rain damage. Wilting to 450 g kg⁻¹ DM favored fermentation qualitative traits and silage quality. BPA showed no effects and BEA did increase aerobic stability in the intermediary silage dry matter (450 g kg⁻¹) and showed slight benefits only on higher dry matter silages. The very poor quality direct cut silage showed high levels N-NH₃ and low aerobic stability. Microorganism growth and fermentation intensity were inhibited in the wilted silages with 550 and 650 g kg⁻¹ DM, which enhanced aerobic stability. The addition of BPA showed no positive results in the silages with 650 g kg⁻¹ DM.

1 INTRODUÇÃO

As forragens tropicais caracterizam-se por apresentar elevada produção de matéria seca com estacionalidade marcante entre as estações das “águas” e “seca”. A estacionalidade determina uma distribuição desuniforme da produção ao longo do ano, indicando um grande potencial para conservação de forragens através da ensilagem e/ou fenação. Entretanto, essas forragens apresentam baixas porcentagens de matéria seca e de carboidratos solúveis nos estágios de crescimento em que apresentam um bom valor nutritivo, colocando em risco o processo de conservação, devido à possibilidade de surgirem fermentações secundárias. Limitações dessa natureza podem ser parcialmente compensadas pelo aumento na porcentagem de matéria seca da forragem através do pré-emurhecimento, antes da ensilagem, ou pela utilização de aditivos que contribuam para acelerar e estabilizar a fermentação, como no caso dos inoculantes bacterianos e enzimas fibrolíticas.

A produção de silagem pré-emurhecida é considerada atualmente uma ferramenta indispensável para viabilizar os sistemas de produção de feno nas condições tropicais. Como as chuvas são intensas durante o período de verão, a possibilidade de produção de silagem além de feno, surge como uma alternativa para reduzir as perdas de feno por chuvas, neste período em que produção de forragem é favorecida pelas condições ambientais. Dessa forma, a produção de silagem pré-emurhecida associada à produção de feno, maximiza a colheita de forragem por hectare e reduz o custo fixo do feno produzido ao longo do ano.

Os objetivos desse estudo foram os de determinar se o pré-emurchecimento e o uso de aditivo bacteriano-enzimático ou ácido propiônico tamponado, na ensilagem, alterariam a eficiência do processo de ensilagem, as características de fermentação, a composição química, o perfil microbiológico e a estabilidade aeróbica na silagem de Tifton 85 (*Cynodon* sp.). Os resultados obtidos foram divulgados na forma de três artigos científicos, que constituem os capítulos 3, 4 e 5 dessa tese:

- 1) “Características de fermentação e composição química da silagem de Tifton 85 (*Cynodon* sp.) sob efeito de pré-emurchecimento, inoculante bacteriano-enzimático ou ácido propiônico”;
- 2) “Efeito do conteúdo de matéria seca, inoculante bacteriano-enzimático ou ácido propiônico sobre o perfil microbiológico, parâmetros físicos e a estabilidade aeróbica da silagem da Tifton 85 (*Cynodon* sp.)”;
- 3) “Eficiência do processo de ensilagem na produção de silagem de Tifton 85 (*Cynodon* sp.) sob efeito de pré-emurchecimento, inoculante bacteriano-enzimático ou ácido propiônico”.

O projeto foi desenvolvido de forma cooperativa entre o Departamento de Produção Animal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” /Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) e a Fazenda Água Comprida (Água Comprida-MG). A Fazenda Água Comprida confeccionou e forneceu as silagens, além de custear todos os reagentes necessários para as determinações laboratoriais e as análises do perfil microbiológico. Já o DPA (ESALQ/USP) forneceu os recursos de mão-de-obra e infraestrutura (equipamentos e laboratórios) necessários para coleta de dados, processamento das amostras, determinações laboratoriais, análise estatística e redação final dos trabalhos científicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Uso de forrageiras tropicais na produção de silagem

As forrageiras tropicais caracterizam-se por apresentar elevada produção de matéria seca, com estacionalidade marcante entre as estações das “águas” e “seca”. A distribuição desuniforme de produção das forrageiras indica grande potencial para sua conservação, através da ensilagem e/ou da fenação (Faria & Corsi, 1992). Entretanto, somente nos últimos anos, a silagem de gramíneas tropicais vem conquistando seu lugar nos sistemas de produção de bovinos no país, apesar de estudos específicos envolvendo a ensilagem dessas gramíneas serem realizados desde o final da década de 60 (Balsalobre et al., 2001). O provável motivo do uso restrito de silagens de gramíneas tropicais, até recentemente, parece ter sido a falta de máquinas apropriadas para a tarefa de cortar e colher plantas de alto potencial de produção. Nos últimos quinze anos, algumas empresas nacionais passaram a desenvolver e produzir equipamentos de maior capacidade operacional, o que tem viabilizado o uso de silagens em maior escala. Nos países da Europa mais de 90% da forragem produzida é armazenada na forma de silagem (Stefanie et al., 2000).

Para um planta produzir uma boa silagem existem algumas premissas que devem ser respeitadas. A capacidade de fermentação da forragem é definida como relação entre o teor de carboidratos solúveis (CHO's) e o teor de umidade e o poder tampão, presentes na sua composição (Balsalobre et al., 2001).

Quantidades adequadas de substrato fermentescível (carboidratos solúveis), poder tampão relativamente reduzido e porcentagem de matéria seca acima de 300 g kg⁻¹ são reconhecidas como características importantes para obtenção de padrões desejáveis

de fermentação e conservação de forragens através da ensilagem (McDonald et al., 1991). Em situações adversas, deve-se procurar estimular a produção de ácido láctico, inibindo a fermentação secundária. Nesse caso, a presença de carboidratos solúveis, assim como a população de bactérias lácticas são importantes para o sucesso do processo (Vilela, 1998).

Considerando-se a importância dos fatores, inerentes à forragem, mencionados anteriormente, na ensilagem de forragens tropicais, deve-se considerar que as mesmas, apresentam concentrações marginais de carboidratos solúveis na matéria seca (inferior aos das gramíneas temperadas) e baixos teores de matéria seca, nos estádios de crescimento em que apresentam um bom valor nutritivo (McDonald et al., 1991; Vilela, 1998 e Umaña et al., 1991). Essas características colocam em risco o processo de conservação, com probabilidade de ocorrerem fermentações secundárias, refletindo negativamente nas perdas de matéria seca (Vilela, 1998). Limitações dessa natureza podem ser parcialmente controladas pelo aumento na porcentagem de matéria seca, através do pré-emurchecimento, ou pela utilização de aditivos que contribuam para acelerar e estabilizar a fermentação, como no caso dos inoculantes bacterianos e enzimas. Essas técnicas têm sido bastante usadas com a finalidade de atenuar esses problemas, tanto da umidade quanto da concentração de açúcares, nos Estados Unidos e na Europa (Kautz, 1990).

2.2 Alterações na composição química da forragem durante a ensilagem

A ensilagem é um método de preservação de forragem baseado em fermentação láctica espontânea sob condições de anaerobiose (Stefanie et al., 2000). As bactérias lácticas epifíticas fermentam os CHO's da forragem à ácido láctico e, em menor extensão, ácido acético. Devido à produção desses ácidos, o pH do material ensilado decresce e os microrganismos indesejáveis são inibidos.

As mudanças na composição química da forragem, que ocorrem durante o processo de ensilagem, são resultado de uma série atividades de biológicas, pois embora

um grupo particular de microrganismos possam eventualmente dominar a fermentação, outros organismos co-participam do processo, particularmente nos primeiros estágios da ensilagem (McDonald et al., 1991).

As principais transformações químicas que ocorrem durante a fermentação das silagens incluem a produção de ácidos orgânicos pela degradação dos carboidratos solúveis encontrados nas forragens e a lise da proteína em nitrogênio não-protéico, com redução do valor nutritivo do alimento (Monteiro, 1999).

McDonald et al. (1991) dividiram as silagens em inadequadas e satisfatórias em relação à preservação. Silagens inadequadas são aquelas onde *Clostridium* sp. e/ou Enterobactéria dominam a fermentação. Silagens satisfatórias seriam aquelas produzidas a partir de forragens ricas em CHO's e contendo uma população apropriada de bactérias lácticas. Entretanto, a composição química e o valor nutritivo dessas silagens são influenciados pelo conteúdo de matéria seca da forragem ensilada.

As silagens de gramíneas satisfatórias caracterizam-se por valores baixos de pH (3,7 e 4,2) e altas concentrações de ácido láctico (80 a 120 g kg⁻¹ Matéria Seca (MS)). O conteúdo de CHO's remanescente após a fermentação é baixo (menos de 20 g kg⁻¹ MS) e composto principalmente por amido e açúcares produzidos pela ação das enzimas vegetais. Pequenas quantidades de acetato, propionato e butirato também estão presentes nessas silagens. A fração nitrogenada encontra-se principalmente na forma de nitrogênio solúvel, em contraste com a forragem original, onde 70 a 90% do nitrogênio total está na forma de proteína. O nitrogênio protéico residual situa-se, geralmente, entre 250 g kg⁻¹ a 450 g kg⁻¹ Nitrogênio Total (NT), e a maior parte do nitrogênio não-protéico está na forma de aminoácidos.

As silagens inadequadas são produzidas a partir de forragens ensiladas muito úmidas e/ou com baixos conteúdos de CHO's. Estas silagens caracterizam-se por apresentar altos valores de pH (5,0 a 7,0). Os principais ácidos resultantes da fermentação são acético e butírico. O ácido láctico e os CHO's estão presentes em baixas concentrações ou freqüentemente ausentes. Os níveis de amônia são altos, muitas vezes acima de 200 g kg⁻¹ NT. Essa amônia, que é derivada do catabolismo de aminoácidos, é

acompanhada por outros produtos de degradação como as aminas, responsáveis, parcialmente, pelo baixo consumo voluntário característico apresentado pelos animais.

A meta a ser alcançada na preservação de forragem é conservar a fibra digestível, proteína e energia e manter a proteína numa forma que possa ser utilizada eficientemente pelo ruminante (Pitt, 1990). Isto envolve a restrição da ação de bactérias indesejáveis, leveduras, fungos e enzimas da planta, assim como restringir a ocorrência da reação de “Maillard”.

2.3 Crescimento de microrganismos desejáveis

As bactérias lácticas fazem parte da microflora epifítica das plantas. Sua população aumenta, substancialmente, entre a colheita e a ensilagem da forragem, devido principalmente à reativação de células dormentes (Stefanie et al., 2000). As características das plantas, incluindo o conteúdo e composição de CHO's e teor de matéria seca, combinadas com as propriedades das bactérias lácticas como ácido e osmo-tolerância, e utilização do substrato, vão decisivamente influenciar a competitividade das bactérias lácticas durante a fermentação da silagem (McDonald et al., 1991 e Stefanie et al., 2000).

Essas bactérias são aneoróbicas facultativas e pertencem aos gêneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enteronostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Streptococcus*. A maioria destas bactérias é mesofílica, com uma temperatura ótima de crescimento entre 25 e 40 °C. Elas têm capacidade de reduzir o pH da silagem para valores entre 4,0 e 5,0 dependendo da espécie e tipo de forragem (Stefanie et al., 2000). Baseado na forma como metabolizam os carboidratos, as bactérias lácticas podem ser classificadas em homofermentadoras obrigatórias, heterofermentadoras facultativas e heterofermentadoras obrigatórias (Stefanie et al., 2000).

O domínio da fermentação pelas bactérias lácticas depende da interação entre vários fatores, incluindo o suprimento de substrato disponível para fermentação, poder

tampão da forragem e número, tipo e atividade das bactérias lácticas desejáveis e outros microrganismos indesejáveis (O'kiely et al., 1999c).

Estas bactérias fermentam os CHO's da forragem principalmente a ácido láctico e ácido acético (Pitt, 1990). As espécies homofermentativas produzem principalmente ácido láctico, enquanto as heterofermentativas produzem ácido láctico, mas também quantidades expressivas de ácido acético, manitol, etanol e dióxido de carbono. Como o ácido láctico tem maior efeito na redução de pH que o ácido acético, esse ácido é mais eficiente no processo de preservação. Assim, como as espécies homofermentativas produzem principalmente ácido láctico, são preferíveis no processo de ensilagem.

2.4 Crescimento de microrganismos indesejáveis

Uma das premissas, a ser seguida, durante o processo de ensilagem é inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis (McDonald et al., 1991).

Os microrganismos anaeróbicos (bactérias lácticas, Enterobactéria, *Clostridium* sp., algumas espécies de *Bacillus* e leveduras) começam seu crescimento e competem por substrato depois de alcançada a condição de aneroiose no silo (McDonald et al., 1991). As alterações ocorridas nos primeiros dias após a ensilagem são críticas para o sucesso da fermentação subsequente. Se as condições são apropriadas, as bactérias lácticas vão rapidamente acidificar o meio a uma extensão que os microrganismos competidores não seriam capazes de sobreviver, e o resultado final será uma silagem estável com baixo pH. Se o pH não abaixar rapidamente o suficiente, os microrganismos indesejáveis (principalmente Enterobactéria, *Clostridium* sp. e leveduras) poderão competir pelos nutrientes, reduzindo as chances de obtenção de uma silagem estável, uma vez que muitos dos seus produtos finais não auxiliam na preservação.

É importante destacar que a taxa de produção de ácido láctico é um importante fator de inibição do crescimento de bactérias indesejáveis, e conseqüentemente na redução das perdas durante a fermentação, e essa depende da população inicial de bactérias

láticas na massa ensilada e da disponibilidade de substrato fermentescível (McDonald et al., 1991).

As Enterobactérias são consideradas gram-negativas, não formadoras de esporos, anaeróbicas facultativas, que fermentam carboidratos a ácido acético, principalmente. Esses microrganismos também têm habilidade para degradar aminoácidos, podendo ser responsáveis pela maior parte da amônia produzida durante a ensilagem. A população pode aumentar substancialmente durante os primeiros dias após a ensilagem, alcançando contagens máximas tão altas como 10^8 a 10^{10} g⁻¹ silagem. O desenvolvimento das bactérias láticas e o subsequente declínio no pH, normalmente determinam um rápido decréscimo em sua população. Entretanto, sob certas circunstâncias, as Enterobactérias podem persistir, por exemplo, quando a fermentação é demorada. O pré-emurchecimento tende a decrescer a contagem de Enterobactérias (McDonald et al., 1991).

Os *Clostridium* sp. são microrganismos pertencentes ao grupo gram-positivos, esporulados, que crescem sob condições estritamente anaeróbicas e fermentam açúcares, ácidos orgânicos ou proteínas (McDonald et al., 1991). O crescimento destes microrganismos é estimulado por alta temperatura de estocagem, baixo conteúdo de matéria seca, baixo conteúdo de CHO's e alto poder tampão da forragem (McDonald et al., 1991). Se o baixo pH da silagem não é alcançado, a atividade de *Clostridium* sp. é estimulada, levando a uma fermentação secundária.

A presença de *Clostridium* sp. é indesejável porque atua contra a preservação, através da destruição do ácido láctico, ou seja, a partir de dois moles de ácido láctico produzem um mol de ácido butírico, que é um ácido mais fraco, levando a um aumento no pH. Além disso, a fermentação clostrídica pode resultar em subprodutos da degradação de proteínas, como as aminas, que têm sido relacionadas com a redução no consumo voluntário de silagens (McDonald et al., 1991 e Stefanie et al., 2000).

As principais perdas por fermentação durante a ensilagem, tanto em relação a matéria seca como de energia, são promovidas pela atuação de *Clostridium* sp. Os principais produtos finais desse tipo de fermentação são o ácido butírico, a água e o dióxido de carbono

que, em conjunto, podem assinalar perdas da ordem de 50 e 18% para matéria seca e energia, respectivamente (McDonald et al., 1991).

Os *Clostridium* sp. têm sua máxima eficiência em ambientes com alta atividade de água (Aa), elevado pH e alta temperatura. Desse modo, práticas de manejo que promovam a redução do teor de umidade e a rápida queda do pH, reduzem os efeitos negativos da ação dessas bactérias, uma vez que, provocarão redução da Aa, menores pH e temperatura da massa ensilada (Martha Jr., 2000).

As bactérias láticas fermentam os açúcares presentes na forragem ensilada gerando, predominantemente, ácido lático. O ácido lático produzido aumenta a concentração hidrogeniônica a um nível em que as bactérias indesejáveis são inibidas (McDonald et al., 1991). Esta inibição é causada não apenas pela concentração de íon hidrogênio, mas também pelos ácidos não-dissociados. É difícil determinar um valor crítico de pH da silagem a partir do qual este efeito inibitório ocorra, devido à inibição não depender apenas do pH, mas também do conteúdo de matéria seca da forragem (McDonald et al., 1991).

Desta forma, a maneira mais comum de inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis é promovendo a fermentação lática. Um método alternativo para inibição do crescimento de bactérias indesejáveis é reduzir o conteúdo de matéria seca da forragem pelo pré-emurchecimento antes da ensilagem (McDonald et al., 1991). A redução na Aa pode ter um efeito sinérgico adicional à queda no pH (Lindgren, 1999). As bactérias láticas têm relativamente alta tolerância a condições de baixa umidade e são hábeis para dominar a fermentação em materiais ensilados com alto conteúdo de matéria seca. Já os *Clostridium* sp. precisam de condições de umidade para crescer, e sua atividade é restrita se a forragem for pré-emurchecida até atingir conteúdos de matéria seca superiores a 300 g kg⁻¹. Para silagem armazenada na forma de fardos grandes envolvidos por lona plástica, 350 g kg⁻¹ MS suprimiu a atividade de *Clostridium* sp., mas foi requerido um conteúdo de MS superior a 400 g kg⁻¹ MS, para completa inibição (McDonald et al., 1991). O crescimento destes microrganismos é inibido quando a Aa se situa abaixo de 0,94, e são mais sensíveis que as bactérias láticas a baixa Aa. O nível crítico de pH, abaixo do qual *Clostridium* sp. não deverá se desenvolver varia com a Aa da forragem (McDonald et al., 1991).

Um outro fator de importância na inibição de *Clostridium* sp. é o poder tampão da forragem (McDonald et al., 1991). Quanto maior o poder tampão de um material, mais ácido láctico será necessário para alcançar o nível de pH crítico para inibir o crescimento dessas bactérias. Nessa situação, pode-se lançar mão do pré-emurhecimento ou uso de aditivo.

As leveduras são outro grupo de microorganismos indesejáveis durante a ensilagem (McDonald et al., 1991). Além, desses microorganismos estarem associados com a deterioração aeróbica, eles competem com as bactérias lácticas por substrato, tendo como principal produto final da fermentação o etanol, que pouco contribui para a preservação da silagem. Dessa forma, estes microorganismos estão principalmente relacionados com a deterioração aeróbica das silagens.

A contagem de leveduras nas forragens frescas varia na ordem de 10^1 a 10^7 g⁻¹ (Lindgren et al., 1985). A população destes microorganismos frequentemente aumenta durante o pré-emurhecimento, em parte devido às condições favoráveis de crescimento, mas também como um resultado da contaminação por solo (Henderson et al., 1972). Depois de atingida a condição de anaerobiose no silo, as espécies de levedura aeróbicas são sucedidas pelas leveduras fermentativas, compostas principalmente pelas espécies de *Candida*, *Hansenula*, *Saccharomyces* e *Torulopsis*. O nível de anaerobiose alcançado vai determinar quais as espécies deverão se estabelecer durante a ensilagem (Jonsson & Pahlow 1984). Se ocorrer penetração de ar durante a fermentação, leveduras fermentadoras de lactato dos gêneros *Candida* e *Hansenula* serão dominantes. Se condições de anaerobiose são alcançadas e mantidas, essas são reduzidas para 15% do total, e o restante composta principalmente por *Saccharomyces* sp. que também é fermentativa, mas não é capaz de fermentar lactato. O uso de inoculante bacteriano (*L.plantarum*), sob condição de anaerobiose, resulta numa redução mais rápida na contagem total de leveduras, particularmente das espécies utilizadoras de lactato (Jonsson & Pahlow, 1984).

A maioria das leveduras cresce em temperaturas entre 0 e 37°C, mas poucas podem crescer acima de 45°C. Elas são menos sensíveis ao conteúdo de matéria seca que as bactérias, geralmente crescendo a níveis de Aa abaixo de 0,9. As leveduras são estimuladas

em silagens sob elevado conteúdo de matéria seca na massa ensilada, assim como os fungos, mas exigem uma umidade superficial para se desenvolverem (McDonald et al., 1991).

As contagens totais de leveduras nas silagens de gramíneas geralmente são baixas, mas podem atingir valores acima de 10^5 g^{-1} em certas situações, como silagens com alto conteúdo de CHO's residual, devido a tratamentos como ácido fórmico, assim como em silagens pré-emurchecidas (McDonald et al., 1991). Silagens com contagens de leveduras totais dessa grandeza podem ser instáveis em aerobiose e mais susceptíveis a deterioração. Entretanto, essa instabilidade aeróbica está associada ao tipo de levedura presente, sendo as leveduras assimiladoras de lactato as principais responsáveis pela instabilidade das silagens na presença de ar.

Os fungos, juntamente com as leveduras, são responsáveis pela deterioração das silagens de gramíneas em exposição ao ar (McDonald et al., 1991). Condições de silo associadas com silagens bem preservadas (baixo pH, anaerobiose) são desfavoráveis ao crescimento de fungos. Esses microrganismos estão associados a áreas expostas ao ar, como a superfície dos silos. Sua presença é indesejável devido utilizarem açúcares e ácido láctico pelas vias normais de respiração, mas também por hidrolisar e metabolizar celulose e outros constituintes da parede celular, além de alguns fungos produzirem micotoxinas prejudiciais ao homem e aos animais. Um grande número de espécies de fungos têm sido isoladas de silagens deterioradas, incluindo membros dos gêneros *Monascus*, *Geotrichum*, *Byssochlamys*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*.

O crescimento da maioria dos fungos é inibido por valores de Aa inferiores a 0,7. A temperatura ótima está entre 25 e 35°C, e o pH em torno de 5. Entretanto, mudanças no pH podem alterar as respostas dos fungos a outros fatores limitantes, como Aa. O crescimento fúngico geralmente é inibido em silagens tratadas com ácidos (McDonald et al., 1991).

2.5 Pré-emurchecimento

McDonald et al. (1991) destacaram que há várias desvantagens em ensilar forragem com alto conteúdo de água. Inicialmente, o pH crítico abaixo do qual o crescimento de *Clostridium* sp. é inibido, varia diretamente com o conteúdo de matéria seca da forragem a ser ensilada e, a menos que o conteúdo de CHO's seja excepcionalmente alto, a ensilagem de forragem com alto conteúdo de umidade promoverá fermentação indesejável, resultando em grandes perdas de matéria seca e uma silagem de baixo valor nutritivo. Mesmo que o conteúdo de CHO's seja adequado para assegurar uma fermentação láctica, silagens excessivamente úmidas podem ser nutricionalmente indesejáveis devido o consumo voluntário de matéria seca ser baixo. Além disso, a ensilagem de forragem úmida resulta na produção de grandes volumes de efluente, levando a perda de nutrientes digestíveis.

A técnica de pré-emurchecimento possibilita a ensilagem de plantas forrageiras colhidas com baixo teor de matéria seca, num processo simples em que as fermentações indesejáveis são facilmente controladas através da diminuição da Aa ou elevação da pressão osmótica (Faria & Corsi, 1992 e McDonald et al., 1991). O pré-emurchecimento reduz a concentração de CHO's necessária para a produção de ácido láctico e estabilização do processo, e, além disso, essa técnica pode proporcionar uma redução na produção de efluentes e aumento no consumo de matéria seca (Raymond et al., 1986).

O tempo de secagem do material a campo é totalmente dependente das condições climáticas locais, principalmente da intensidade de radiação solar, velocidade do vento, umidade relativa do ar e temperatura (Monteiro, 1999). É importante que a ceifa não seja efetuada muito rente ao solo, devido ao risco de haver contaminação por terra e impurezas no material a ser ensilado, alterando seu padrão fermentativo.

Segundo McDonald et al. (1991) parte dos CHO's são catabolizados a dióxido de carbono durante o pré-emurchimento da forragem, devido à atividade das enzimas vegetais. No entanto, estes mesmos autores destacaram que os resultados dos estudos avaliando os efeitos da redução do conteúdo de água sobre a respiração são conflitantes. Tem-se observado que a redução no conteúdo de água pode causar aumento, redução ou até

ausência de alteração na taxa de respiração das plantas. Entretanto, a opinião da maioria dos autores parece ser de redução na taxa de respiração com aumento do teor de matéria seca. É importante destacar que as perdas por respiração são diretamente proporcionais ao conteúdo inicial de umidade e inversamente proporcionais à taxa de secagem (McDonald et al., 1991). Assim, sob condições favoráveis de secagem, quando o aumento no teor de matéria seca é rápido, as perdas por respiração serão baixas. Já sob condições desfavoráveis (alta umidade), as perdas podem ser expressivas. Apesar de algumas perdas de matéria seca serem inevitáveis, o pré-emurchecimento sob boas condições é benéfico à qualidade fermentativa da silagem e geralmente resulta em uma redução na perda total de matéria seca (McDonald et al., 1991).

O conteúdo de umidade presente na forragem ensilada afeta a contagem total de bactérias e a taxa de fermentação (McDonald et al., 1991). O pré-emurchecimento retarda o crescimento bacteriano em silagens de gramíneas, especialmente de *Lactobacillus* e organismos gram-negativos. Esta técnica também pode influenciar o crescimento relativo entre bactérias lácticas homofermentativas e heterofermentativas, durante a ensilagem. Se o conteúdo de CHO's for muito elevado em forragens úmidas, as bactérias lácticas vão ser extremamente ativas, resultando em uma silagem com baixo pH e alto conteúdo de ácido láctico. O decréscimo do conteúdo de umidade reduz a atividade das bactérias lácticas e de outros microrganismos, refletindo em inibição da fermentação, caracterizada por maiores valores de pH e CHO's e, geralmente, menores níveis de ácido láctico, acético e butírico em silagens pré-emurchecidas.

Muck (1990) avaliando a qualidade da silagem de alfafa resultante da variação dos teores de matéria seca do material a ensilar (170 a 730 g kg⁻¹ MS), observou que a amplitude mais favorável quanto ao teor de matéria da forragem a ser ensilada estaria entre 400 e 550 g kg⁻¹ MS, considerando o maior teor de ácido láctico alcançado nesse intervalo. Se o material fosse ensilado com conteúdo de matéria seca inferior a 350 g kg⁻¹ MS as perdas poderiam ser elevadas, devido a produção de efluente e o crescimento de *Clostridium* sp. Por outro lado, se o material fosse ensilado com mais de 600 g kg⁻¹ MS também não resultaria em

produto adequado, dificultando a compactação, provocando perdas no armazenamento, com indução a aquecimento excessivo da massa, tornando parte do nitrogênio insolúvel.

Monteiro (1999) destacou que a técnica de pré-emurchecimento poderia reduzir o elevado poder tampão, característica de algumas forrageiras, favorecendo as condições para a atuação das bactérias lácticas.

O pré-emurchecimento pode ser benéfico, mas durante condições climáticas adversas a secagem pode ser prolongada, levando a ocorrência de silagem de baixa qualidade devido a proteólise pelas enzimas vegetais, que é traduzido por uma menor proporção de proteína verdadeira na forragem e, conseqüentemente, maior proporção de amônia na silagem Mühlbach (2000).

Na forragem fresca, 75 a 90% do nitrogênio total está presente na forma de proteína, sendo os 10 a 25% restantes principalmente peptídeos, aminoácidos livres, amidas, ureídas, nucleotídeos, clorofila e nitrato (McDonald et al., 1991). Logo após a colheita ocorre rápida proteólise do material. A extensão da degradação da proteína verdadeira varia de acordo com a espécie vegetal, a taxa e extensão de alteração de pH, a temperatura e o teor de matéria seca. Numa silagem bem preservada a redução no conteúdo de proteína verdadeira, devido à proteólise, está em torno de 50 a 60%. Essas mudanças nos componentes nitrogenados afetam negativamente a utilização subsequente do nitrogênio pelos ruminantes, e inibe o processo de acidificação durante a fermentação da silagem. Essa proteólise rápida e extensa só pode ser interrompida alcançando-se um elevado teor de matéria seca ou um baixo pH. Entretanto, durante o período de emurchecimento ocorre proteólise, até que um conteúdo de matéria seca de 400 a 450 g kg⁻¹ seja alcançado. Dessa forma, a composição final da fração nitrogenada vai depender das condições climáticas durante o pré-emurchecimento. Pequena proteólise ocorre durante secagem rápida e um grande incremento no conteúdo de aminoácidos e amidas resulta de um emurchimento lento e úmido. Os principais produtos da hidrólise da proteína durante o pré-emurchecimento são peptídeos, aminoácidos livres e amidas. É importante destacar que se a secagem for rápida o conteúdo de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) não sofreria alteração, mas se o emurchecimento for prolongado, grande proporção de amônia poderia ser formada devido à atividade

microbiana (McDonald et al., 1991). Berto & Mühlbach (1997) observaram redução significativa no conteúdo de nitrogênio amoniacal com o pré-emurchecimento de aveia preta, em comparação ao material ensilado com umidade original (118 e 84 g kg⁻¹ Nitrogênio (N), respectivamente).

O processo de pré-emurchecimento pode alterar a composição química das silagens produzidas, sendo fortemente influenciado pelas condições climáticas durante a secagem (McDonald et al., 1991). Sob condições ambientais desfavoráveis, o conteúdo de matéria seca pode aumentar muito pouco e se o período de secagem for longo (vários dias), os conteúdos de CHO's e de nitrogênio-protéico podem ser reduzidos e a deaminação aumentada. Quando a pré-murcha é realizada sob condições climáticas adequadas, a fermentação é restringida com o aumento do conteúdo de matéria seca, resultando numa silagem com maiores valores para pH e CHO's residuais e menores conteúdos de ácidos orgânicos. O nitrogênio-protéico também tende a ser preservado com o aumento no teor de MS.

Wyss (1999a) observou efeitos positivos do pré-emurchecimento sob a ensilagem de gramíneas temperadas. Os conteúdos de ácido butírico e amônia reduziram com o incremento do teor de matéria seca da silagem (300, 400 e 450 g kg⁻¹ MS). O uso de inoculante bacteriano foi efetivo nos três níveis de matéria seca, reduzindo o pH, amônia e perdas gasosas, e incrementando o conteúdo de ácido láctico das silagens. O'kiely (1999) também observou que o pré-emurchecimento de *Lolium perene* favoreceu a fermentação láctica e que o uso de inoculante bacteriano amplificou o efeito do pré-emurchecimento, entretanto a estabilidade aeróbica foi reduzida pelo uso de inoculante.

Wyss (1999b) aplicou o processo de pré-emurchecimento visando atingir níveis crescentes de matéria seca na ensilagem gramíneas temperadas (250, 350, 450, 550 e 650 g kg⁻¹ MS). O tratamento mais úmido apresentou o menor valor de densidade (114 kg MS m⁻³), enquanto o maior valor foi observado com 500 g kg⁻¹MS (200 kg MS m⁻³). O aumento do conteúdo de matéria seca da forragem reduziu a intensidade de fermentação, ou seja, os teores de nitrogênio amoniacal e de ácidos orgânicos diminuíram com o aumento da matéria seca enquanto que o teor de açúcares residuais e o pH foram elevados. A contagem de

leveduras na silagem foi maior com os maiores conteúdos de matéria seca. A estabilidade aeróbica das silagens também diminuiu com o aumento do conteúdo de matéria seca. O autor atribuiu este comportamento da estabilidade aeróbica aos maiores conteúdos de açúcares, resultado de fermentação menos intensa, menores conteúdos de ácido acético, maiores contagens de leveduras nos tratamentos com maior conteúdo de matéria seca.

O efeito do pré-emurchecimento na digestibilidade da silagem é fortemente influenciado pelas condições climáticas (McDonald et al., 1991). Se a secagem é prolongada e sob condições desfavoráveis, as perdas de nutrientes digestíveis através de oxidação e lixiviação, podem ser relativamente elevadas, resultando em redução da digestibilidade da matéria seca. Andrade et al. (2001) estudando a conservação de capim Coast-cross, observaram que a silagem pré-emurchecida apresentou maior concentração de nutrientes digestíveis totais (NDT) e maior consumo voluntário de matéria seca quando comparada a forragem conservada na forma de feno ou silagem.

Segundo McDonald et al. (1991) poder-se-ia assumir que, como as silagens produzidas a partir de forragem com alto conteúdo de matéria seca (pré-emurchecidas) apresentam relativamente maiores conteúdos de nitrogênio-protéico e CHO's, essas devem se estabelecer como um substrato mais adequado para síntese de proteína microbiana ruminal. No entanto, há pouca evidência para indicar que os componentes nitrogenados nas silagens pré-emurchecidas são utilizados mais eficientemente por ruminantes, que aqueles das silagens contendo maior umidade.

O aumento no consumo de silagem, geralmente obtido pelo pré-emurchecimento, nem sempre se traduz em aumento do desempenho do animal, sendo que freqüentemente os efeitos têm sido inferiores ou até negativos (Burstedt & Murphy, 1999 e Wilkins et al., 1999). Essa variação na resposta ao pré-emurchecimento, observada em diferentes experimentos, está provavelmente relacionada às condições climáticas durante a secagem (Burstedt & Murphy, 1999). O total de água perdida, a taxa de secagem e a baixa concentração de nitrogênio amoniacal da silagem pré-emurchecida, são variáveis correlacionadas positivamente com o aumento de consumo. Um melhor desempenho dos animais irá depender de um

possível aumento no consumo de energia metabolizável com o incremento do consumo de matéria seca (Wright et al., 2000).

Os efeitos favoráveis dessa técnica sobre a qualidade de forragens tropicais são comprovados por dados de literatura (Umaña et al. 1991). Avaliando os impactos do pré-emurchecimento e o uso de aditivos (bactérias lácticas homofermentativas e melação) sobre a fermentação e digestibilidade de silagens de Tifton 81, Umaña et al. (1991) concluíram que o pré-emurchecimento da forragem melhorou o valor nutritivo da silagem, e que o uso dos aditivos amplificou esse efeito. O pré-emurchecimento reduziu a taxa de declínio do pH e produziu silagens com maiores concentrações de ácido láctico, menores conteúdos de ácido acético e nitrogênio amoniacal, maiores coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria orgânica e da FDA. Entretanto, essas silagens foram menos estáveis sob condições aeróbicas, devido a maiores temperaturas das silagens e maiores contagens de leveduras e mofos.

Evangelista et al. (2000) avaliando os efeitos do pré-emurchecimento sobre a silagem de grama estrela roxa (*Cynodon nlemfuensis* Vanderyst), observaram elevação do pH e dos conteúdos de cinza, cálcio e fósforo e redução no teor de FDN com o aumento do conteúdo de matéria seca da forragem. As concentrações de PB, FDA e EB não foram alteradas pelo pré-emurchecimento.

O pré-emurchecimento da forragem de aveia preta (*Avena Strigosa* Schreb.) determinou menor produção de ácidos orgânicos totais, com maior relação ácido láctico: acético, reduziu a produção de amônia, restringiu a produção de ácido butírico na silagem e economizou carboidratos solúveis, além de diminuir a solubilização do nitrogênio protéico e evitar a produção de efluentes (Berto & Mühlbach, 1997).

Tosi et al. (1995) trabalhando com capim elefante anão (*Pennisetum purpureum* Schum., cv. Mott), observaram efeitos positivos do pré-emurchecimento sobre a silagem produzida. A forragem emurchecida apresentou aumento no conteúdo de CHO's e do poder tampão, com o incremento do conteúdo de matéria seca. A silagem apresentou elevação do pH, manutenção da PB e redução de nitrogênio amoniacal em função da secagem.

Segundo Vilela (1998), os resultados experimentais decorrentes da prática de emurchecimento, após o corte manual do capim elefante, têm sido contraditórios. Em alguns

trabalhos, não se verificou vantagem no emprego dessa prática; já em outros, verificou-se melhoria nos aspectos qualitativos e nutricionais das silagens. Quando o capim elefante é submetido ao emurchecimento por 4 a 6 horas, o teor de MS não se eleva além de 3 a 8 unidades percentuais. Os pequenos aumentos no teor de MS do capim elefante, com o emurchecimento, decorrem da resistência física que a parede celular da planta exerce em evitar a perda de umidade, fazendo com que essa prática nem sempre seja tão eficiente. Um outro agravante é a falta de equipamentos eficientes para o corte e recolhimento das gramíneas tropicais após o emurchecimento, dificultando essa prática. Balsalobre et al. (2001) destacaram que o uso de forragens pré-emurchecidas para ensilagem, divulgada desde o início da década de 70, tinha como grande limitação a operacionalização do processo, o que dificultava a adoção do pré-emurchecimento em grande escala.

Monteiro (1999) destacou que a técnica do pré-emurchecimento permitiu a produção de silagens de boa qualidade a partir de forrageiras que apresentavam como limitação principal, o reduzido teor de matéria seca no momento do corte, como no caso das gramíneas e, somado a isso, o elevado poder tampão, no caso das leguminosas. Entretanto, sugeriu que a elevação no teor de matéria para 350 a 400 g kg⁻¹ MS, seria um fator determinante da boa qualidade da silagem pré-emurchecida. Entre as forrageiras mais utilizadas para produção de silagem pré-emurchecida estariam: azevém, triticale, aveia, centeio, cevada, alfafa, Tifton 85 e Coast-cross. A região de Castro e Carambeí, PR, é atualmente a região que mais utiliza a técnica do pré-emurchecimento, no Brasil.

Monteiro (1999), em trabalho de revisão de literatura, concluiu que comparado com o feno, a silagem pré-emurchecida permite redução do tempo de secagem e dos riscos de perdas no campo. Além de ser uma alternativa eficiente para promover redução na Aa da forragem, promovendo silagens com padrão de fermentação desejável (Balsalobre et al., 2001).

Muck (1988) destacou a importância de não desidratar excessivamente o material a ser ensilado, alertando para a possibilidade de perdas no campo ao redor de 10%, e enfatizou o surgimento de nutrientes indigestíveis, como o NIDA (Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido) no processo de ensilagem, devido ao aquecimento do material no silo (reação de

“Maillard”). Assim, a secagem excessiva tende a elevar os valores de NIDA na silagem, que geralmente estão abaixo de $50 \text{ g kg}^{-1} \text{ N}$, nas silagens bem preservadas (Monteiro, 1999). Berto & Mühlbach (1997) obtiveram elevação nos teores de NIDA, na comparação entre a produção de silagem de aveia fresca e de aveia pré-emurhecida (87 e $117 \text{ g kg}^{-1} \text{ N}$, respectivamente).

De acordo com Lindgren (1999) o pré-emurhecimento da forragem tem efeitos conflitantes no sucesso do processo de ensilagem. O pré-emurhecimento reduz a quantidade de água transportada para o silo e a produção de efluentes. Essa técnica também é importante para aumentar a concentração de CHO's na fase líquida da forragem, resultando em potencial maior de prevenção devido ao incremento na concentração de ácidos dessa fase. O pré-emurhecimento tem efeito seletivo no crescimento de microrganismo contaminantes, desde que a demanda de água difere entre os microrganismos. Uma redução da Aa retarda a competição entre as Enterobactérias e *Clostridium* sp. Entretanto, secagem excessiva pode incrementar o crescimento de leveduras e mofos, microrganismos capazes de se desenvolverem sob menores valores de Aa que as bactérias.

2.6 Perdas associadas à produção e utilização da silagem pré-emurhecida

O processo de conservação de forragem implica em perdas, algumas resultantes da ação mecânica, outras a partir de processos biológicos. As perdas totais acumuladas desde o corte da forragem até o fornecimento aos animais, geralmente representam de 20 a 30% do total de matéria seca disponível de forragem (Pitt, 1990). Durante a confecção de feno, a maior parte das perdas ocorre no campo como resultado de ação mecânica e/ou chuvas. Já no caso de silagem, as perdas ocorrem principalmente durante o processo de fermentação, armazenamento e fornecimento. À medida que aumenta o conteúdo de matéria seca da forragem ocorre incrementos nas perdas à campo e conseqüente redução nas perdas durante armazenamento e alimentação (perdas fermentativas). Ensilando o material entre 300 e $500 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$, as perdas totais seriam minimizadas, assim, tanto as perdas à campo, quanto as ocorridas durante o armazenamento seriam reduzidas. Minimizar as perdas no processo

geralmente resulta em menor custo por tonelada de matéria seca de silagem produzida (Wilkins et al., 1999). Dessa forma, no caso das gramíneas tropicais, a conservação na forma de silagem pré-emurhecida poderia se comportar como uma eficiente opção de preservação da forragem.

Segundo Wilkins et al. (1999) o armazenamento sob a forma de fardos grandes envolvidos por camadas de filme plástico vem permitindo a produção de silagem pré-emurhecida com baixos níveis de perdas por aerobiose. Além disso, o pré-emurhecimento reduz a perda total de matéria seca durante a ensilagem de 18,6 para 16,5% da MS, devido a redução das perdas por efluente de 3,2 para zero % da MS e outras perdas no silo de 12,9 para 8,5 e 12,9% da MS, apesar dessa técnica aumentar as perdas à campo de 2,5 para 8,5% da MS. Entretanto, segundo esses autores, o sistema de produção de silagem pré-emurhecida necessita de desenvolvimento nas áreas de adensamento/compactação da forragem e revestimento do fardo.

As perdas iniciais, associadas ao processo de ensilagem, são mecânicas, originadas na colheita da forragem (Balsalobre et al., 2001). Igarasi (2002) utilizando colhedora de forragem, com rotor colhedor e repicador, observou perdas de colheita de 3,2 e 5,3% do total de forragem disponível, para as operações de ensilagem de capim Tanzânia, com umidade original, em cortes realizados no inverno e no verão, respectivamente. O pré-emurhecimento da forragem, por cinco horas, elevou os índices de perdas na colheita da forragem para 12,2% no inverno e para 20% no verão, gerando questionamentos sobre o benefício da prévia desidratação da forragem.

Balsalobre et al. (2001) destacaram que essas perdas por recolhimento são bastante influenciadas pela espécie forrageira e principalmente pelo sistema da colheita do equipamento utilizado.

Na Europa é bastante difundida a técnica de ensilagem na forma de fardos grandes revestidos por filme plástico. Neste sistema, a forragem a ser ensilada é enfardada na forma de grandes fardos retangulares ou ovais, e posteriormente revestida com quatro a seis camadas de filme plástico. Na Irlanda, por exemplo, essa técnica é utilizada em um terço da área total destinada a produção de silagem (O'kiely et al., 1999b). Naquele país, a técnica do

revestimento externo do fardo, normalmente está associada ao pré-emurhecimento, visando facilitar a obtenção de boa preservação da silagem, eliminar a produção de efluentes, reduzir o número de fardos por hectare e o peso individual dos fardos, além de melhorar estabilidade aeróbica desses (O'kiely et al., 1999b; O'kiely et al., 1999a). Nas fazendas irlandesas, os fardos revestidos, normalmente apresentam conteúdo médio de matéria seca de 324 g kg⁻¹ MS, indicando que o pré-emurhecimento é alcançado com sucesso, pH médio de 4,8 e coeficiente de digestibilidade de 656 g kg⁻¹ MS. Enquanto isso, a silagem produzida no sistema tradicional, não emurhecida (219 g kg⁻¹ MS), apresenta menor pH (4,0) e digestibilidade ligeiramente superior (673 g kg⁻¹ MS). Geralmente não se utiliza aditivos nesse sistema de ensilagem, e o uso de inoculantes bacterianos tende a reduzir a estabilidade aeróbica deste tipo de silagem (O'kiely et al., 1999a). O crescimento fúngico, visível na forma de micélio, parece ser um problema particular de silagem emurhecida revestida com filme plástico, causando redução no conteúdo de energia, qualidade da proteína e consumo potencial de matéria seca da silagem (O'kiely et al., 1999b). Durante a produção desse tipo de silagem é importante que o pré-emurhecimento seja rápido para minimizar as perdas mecânicas e nutricionais. A taxa de secagem depende do tipo de gramínea, produção da forragem, condições climáticas e condicionamento mecânico da massa ceifada. O uso de ceifadoras de disco equipadas com condicionadores tem aumentado a velocidade de secagem em 20 a 40% (Wilkins et al., 1999).

De acordo com White¹, apesar de haver excelentes resultados com o uso de fardos grandes revestidos, os insucessos na sua aplicação, são mais frequentes. Como a silagem apresenta uma extensa área superficial em relação à massa ensilada, se o conteúdo de matéria seca for marginal para a fermentação, seria mais interessante usar ácido propiônico tamponado, que utilizar inoculante bacteriano como aditivo. Se a vedação for comprometida, haverá movimentação de ar na massa, causando deterioração. A rápida taxa de deterioração após a abertura determina a necessidade da silagem ser fornecida aos animais o mais breve possível. Gonzalez et al. (2000) observaram redução no consumo voluntário de matéria seca

¹ WHITE, J. Sioux Center, IA. Comunicação pessoal, 2001. (jswhite@MTCNET.NET)

com o aumento da extensão da exposição aeróbica para silagem de *Panicum maximum* confeccionada em fardos revestidos com plástico, com peso médio de 350 kg.

O'kiely et al. (1999b), estudando os efeitos do pré-emurhecimento de silagem enfardada e revestida, observaram aumento no conteúdo de CHO's com o incremento do teor de matéria seca da forragem, devido a evaporação da água contida no tecido vegetal. A densidade dos fardos (matéria seca) também aumentou com a elevação no conteúdo de matéria seca. Se o conteúdo de matéria seca for inferior a 231 g kg⁻¹ MS pode ocorrer produção de efluente nesse tipo de fardo com revestimento plástico externo.

2.7 Inoculantes bacteriano-enzimáticos

Os aditivos são usados na ensilagem com os objetivos de melhorar a qualidade da fermentação no silo, reduzir a perda de nutrientes, aumentar o consumo de matéria seca e melhorar o desempenho de animais (Wilkinson, 1998).

Os aditivos podem ser divididos em dois grandes grupos, de acordo com seu papel no processo de fermentação. Os estimulantes aumentam o crescimento de bactérias lácticas e a produção de ácidos orgânicos, que reduzem o pH (Pitt, 1990). Os inibidores atuam tanto seletivamente, sobre microrganismos e processos indesejáveis, tais como o crescimento aeróbico ou solubilização de proteína, ou indistintamente sobre todos os processos (Pitt, 1990). Vale ressaltar que aditivos não devem ser utilizados com o objetivo de compensar práticas inadequadas na produção e utilização de silagens (Mahanna, 1993; Muck, 1993 e Pitt, 1990).

No grupo dos estimulantes, os inoculantes bacterianos são adicionados em silagens para estimular a fermentação láctica, resultando em uma rápida e intensiva produção de ácido láctico, acelerando o declínio do pH, melhorando a preservação e minimizando perdas (Weinberg et al. 1995 e Pitt, 1990). A maioria dos inoculantes de silagens consistem de culturas viáveis de bactérias lácticas homofermentativas dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Pediococcus* (Mahanna, 1993 e Pitt, 1990).

O uso de inoculantes tem demonstrado ser eficiente em acelerar o processo de fermentação, reduzir a perda de nutrientes, melhorar a digestibilidade de fibra e reduzir a degradação de proteína; melhorando dessa forma o valor nutritivo de silagens (Mahanna, 1993). Em um levantamento de estudos publicados no período de 1990 a 1995, sobre o uso de inoculantes em silagens de gramíneas e leguminosas, Muck & Kung (1997) concluíram que em 60% dos casos houve redução do pH e mudança na fermentação, levando a aumento na produção de ácido lático. Além disso, os níveis de amônia foram reduzidos com o mesmo grau de intensidade, indicando maior preservação da proteína nas silagens inoculadas.

Haigh et al. (1996), realizaram um levantamento contendo 22 experimentos com silagem de azevém e trevo branco em silos envolvidos por lona plástica na Inglaterra e País de Gales, e observaram que as silagens contendo inoculante bacteriano apresentavam menor pH, menor concentração de amônia e maior teor de ácido lático em relação ao controle; no entanto, apesar de ter havido tendência de redução na perda de matéria seca com o uso de inoculante bacteriano, essa não foi significativamente menor. Essas alterações positivas na fermentação produziram poucos benefícios em termos de consumo de matéria seca e ganho de peso nos animais.

Além de alterar a fermentação, o uso de inoculantes pode modular o desempenho do animal. Em um levantamento de estudos publicados no período de 1985-1992, sobre a influência dos inoculantes na fermentação, valor nutritivo da silagem e desempenho do animal, concluiu-se que esse último fator sofreu menor influência (Muck, 1993). O consumo e o ganho médio diário em bovinos e ovinos aumentaram significativamente em 25% dos experimentos. A produção de leite e eficiência alimentar foram melhoradas em menos de 50% dos estudos. Quando foram observados efeitos significativos, o consumo de matéria seca, ganho médio diário, produção de leite e eficiência alimentar foram amplificados em 11, 11,5 e 9%, respectivamente (Muck, 1993). Os benefícios sobre o desempenho foram explicados principalmente por aumentos na digestibilidade (Muck, 1993).

O'kiely et al.(1999c) conduziram uma série de estudos para verificar os efeitos dos inoculantes bacterianos, contendo bactérias lácticas homofermentativas, na fermentação e no valor nutritivo em condições desfavoráveis para ensilagem (forragem com alto conteúdo de

umidade, baixa concentração de CHO's e alto poder tampão). Os inoculantes bacterianos não apresentaram efeitos positivos sobre a fermentação ou valor nutritivo das silagens. Os autores concluíram que não há vantagem em usar inoculantes durante a confecção de silagem, sob condições desfavoráveis, e que os efeitos dos inoculantes parecem estar fortemente ligados ao conteúdo de CHO's da forragem.

As enzimas também são aditivos que pertencem ao grupo dos estimulantes e as classes mais comuns em produtos comerciais são as celulasas e hemicelulasas (Muck & Kung, 1997). São incluídas em silagens na tentativa de aumentar a disponibilidade de substrato para bactérias produtoras de ácido lático, pela degradação de carboidratos complexos em carboidratos solúveis, e também contribuem para reduzir o conteúdo de fibra da forragem (FDA e FDN) (Muck & Kung, 1997 e Mahanna, 1993). As enzimas, através de processo de hidrólise, transformam os carboidratos estruturais em substrato fermentecível para bactérias lácticas (McDonald et al., 1991). Em um levantamento de estudos conduzidos entre 1990-1995 sobre os efeitos de enzimas na composição e fermentação de silagens observou-se que em 90% dos casos esses produtos foram efetivos na redução do conteúdo de fibra de silagens de gramíneas. Entretanto, a fermentação, avaliada através do pH, concentração de amônia e da relação ácido lático:ácido acético, foi alterada favoravelmente em menos de 50% dos casos (Muck & Kung, 1997). Quanto a produção do animal, à partir de resultados apresentados em revisão de literatura, concluiu-se que o uso de enzimas apresentou efeitos positivos sobre o consumo de matéria seca, ganho de peso, produção de leite e eficiência alimentar em 21, 40, 33 e 27% do casos, respectivamente (Kung & Muck, 1997 e Nussio et al, 1997).

Tomando por base a premissa de que a baixa concentração de carboidratos solúveis representa um fator limitante para o desenvolvimento de bactérias lácticas homofermentativas presentes nos inoculantes para silagens, pode-se especular que a associação de inoculantes e enzimas deve estimular a fermentação de forragens pobres em substratos prontamente fermentescíveis (gramíneas tropicais). O uso de inoculantes e enzimas, isoladamente ou associados, na ensilagem do Tifton 85 e Coastal Bermunda foi estudado por Mandebvu et al. (1997). Esses autores concluíram que o desaparecimento da matéria seca *in vitro* e *in situ*, a

concentração e a recuperação de fibra, não foram afetados pelos tratamentos. Porém, em avaliação similar, a digestibilidade da fibra foi significativamente aumentada pelo uso de inoculante durante a ensilagem (Mandebvu et al. 1998). Nesse mesmo trabalho, não foi observado efeito associativo entre inoculantes e enzimas. Já Berto & Mühlbach (1997) observaram efeito adicional das enzimas aos lactobacilos, reduzindo o pH e apresentando maior conteúdo de CHO's residual na silagem. O uso de inoculante bacteriano, sem adição de enzimas, foi positivo para a fermentação, determinando menor produção de ácido butírico, relação ácido láctico: acético mais favorável, menor solubilização do nitrogênio protéico e menor produção de amônia.

Lindgren (1999), em trabalho de revisão de literatura, concluiu que os aditivos bacterianos são mais efetivos quando utilizados em forragem situadas dentro da amplitude de 200 a 350 g kg⁻¹ MS. Sob menores teores de matéria seca, associados ao reduzido conteúdo de CHO's, adição de enzimas ou açúcares pode auxiliar no suprimento de substrato. O uso de aditivos ácidos, em silagem com níveis de matéria seca superiores a 350 g kg⁻¹ MS, pode ser questionado, uma vez que a distribuição do ácido na silagem não é efetiva, podendo inclusive estimular a produção de micotoxina sob elevados teores de matéria seca.

Os dados disponíveis na literatura quanto ao uso de inoculante bacteriano-enzimático em condições tropicais são contraditórios. Henrique & Bose (1992), não observaram alteração na composição química, pH, nitrogênio amoniacal, consumo de matéria seca e digestibilidade, na silagem de capim elefante devido ao uso de inoculante bacteriano-enzimático. Já Meeske et al. (1999) verificaram efeitos positivos deste tipo de aditivo em silagem pré-emurchecida de *Digitaria eriantha* (388 g kg⁻¹ MS). O uso de inoculante resultou em uma queda mais rápida no pH, maior nível de ácido láctico e contagem de bactérias lácticas, menor quebra de proteína e menor contagem de Enterobactéria, leveduras, fungos e esporos de *Clostridium* sp. O consumo voluntário de matéria seca e a digestibilidade *in vivo* da matéria orgânica foram estimulados pelo uso de inoculante. A estabilidade aeróbica, medida pela produção de dióxido de carbono, também foi melhorada pelo uso de inoculante.

Na Europa e nos EUA, os inoculantes bacterianos atualmente são os aditivos mais comumente utilizados na ensilagem de milho, gramíneas e leguminosas, que podem ser pré-emurchecidas a níveis superiores a 300 g kg⁻¹ MS (Stefanie et al., 2000). Essa associação entre pré-emurchecimento e o uso de inoculante visa melhorar a fermentação e o valor nutritivo da silagem (Mühlbach, 2000).

Balsalobre et al. (2001), em trabalho de revisão de literatura, destacaram que os inoculantes bacterianos promovem queda mais acentuada de pH e com isso têm maior capacidade de inibir a fermentação por *Clostridium* sp., sendo portanto, uma alternativa no controle das perdas em silagens. No entanto, não há consistência nas respostas dos inoculantes no controle das perdas em silagens. Os autores destacam que essas diferentes respostas em silagens adicionadas com inoculante podem ser explicadas devido à variação na população epifítica em forragens antes da ensilagem.

2.8 Deterioração aeróbica após a abertura do silo

Quando o silo é aberto e a silagem removida do painel, o ambiente que antes era anaeróbico passa a condição de aeróbico. Sob esta condição, microrganismos que permaneceram dormentes na ausência de oxigênio, multiplicam-se, resultando na deterioração da silagem. Na prática, essa deterioração é geralmente manifestada pelo aumento na temperatura e pelo aparecimento de mofos. A taxa de deterioração varia bastante entre diferentes silagens (McDonald et al., 1991). Algumas silagens apresentam pico de temperatura poucas horas após a exposição ao ar, enquanto outras silagens permanecem estáveis na presença de oxigênio por vários dias ou até semanas.

As perdas após a abertura do silo estão associadas ao manejo imposto ao mesmo, entretanto, a extensão de deterioração do material após a abertura, está associada à estabilidade aeróbica da silagem (Balsalobre et al., 2001).

A deterioração aeróbica das silagens é indesejável devido a grande perda de nutrientes associada com a mesma, resultando em baixo consumo do material e até mesmo rejeição completa da silagem pelos animais (McDonald et al., 1991). Nos primeiros estágios

de deterioração os conteúdos de fibra, proteína bruta e cinzas não são afetados, apesar da tendência de elevação no teor de matéria seca. Já nos estágios avançados, a fibra e algumas vezes a proteína, se decompõem. O metabolismo dos ácidos láctico e acético pelos microrganismos aeróbicos resulta em um incremento em pH, que está bem correlacionado com elevação de temperatura e perda de matéria seca. Os aminoácidos catabolizados e a amônia liberada após a deaminação podem contribuir para a elevação do pH.

As silagens mais susceptíveis a deterioração aeróbica são silagens ricas em carboidratos, como a silagem de milho, aquelas em que a fermentação foi restringida pelo uso de aditivos e silagens excessivamente pré-emurchecidas. Silagens com população de leveduras acima de 10^5 organismos por grama de forragem são mais susceptíveis a deterioração, especialmente se os tipos de leveduras presentes podem utilizar ácidos graxos. Silagens com altos conteúdos de ácido butírico são estáveis. Isto ocorre, devido os produtos finais da atividade butírica, ácido butírico e amônia, estarem positivamente correlacionados com a estabilidade aeróbica (McDonald et al., 1991).

Os dois principais microrganismos responsáveis pela deterioração aeróbica são as leveduras e os fungos. Esses microrganismos estão presentes na própria silagem, ou seja, não se trata de invasores após a exposição ao ar (McDonald et al., 1991). O crescimento dos fungos ocorre em seguida ao crescimento das leveduras, resultando em dois picos de temperatura que podem ser detectados durante a deterioração aeróbica. O primeiro pico, que pode ocorrer dois a três dias após a exposição aeróbica, é causado pelas leveduras, enquanto o segundo pico de temperatura, ocorrendo três a quatro dias depois, pode ser atribuído aos fungos. A ação desses microrganismos também está associada com um significativo aumento no pH, característico dos estágios avançados de deterioração.

Os ácidos láctico e acético e os CHO's são as principais fontes de energia para os microrganismos envolvidos na deterioração das silagens (McDonald et al., 1991). A oxidação desses nutrientes resulta na produção de dióxido de carbono, e água e liberação de calor. O ácido láctico é o principal oxidado no caso de silagens não-aditivadas e bem preservadas, os CHO's se destacam no caso de silagens tratadas com aditivos químicos ou resultante de um intenso pré-emurchecimento.

Os microrganismos aeróbicos, como fungos, leveduras e *Bacillus*, degradam o ácido láctico com facilidade, após a abertura do silo, gerando dióxido de carbono, etanol e ácido acético, além de grande liberação de calor (Lindgren, 1999 e Kung, 2000).

O tratamento sofrido pela forragem antes da ensilagem é um importante fator que posteriormente influencia a estabilidade aeróbica da silagem (McDonald et al., 1991). O pré-umurecimento prolongado, enchimento lento e atraso no fechamento do silo são procedimentos que podem resultar em um aumento na população de microrganismos aeróbicos, que permanecem dormentes até a abertura do silo.

McDonald et al. (1991) destacaram que, apesar da literatura apontar que silagens com alto conteúdo de matéria seca seriam mais susceptíveis à deterioração aeróbica, há algumas evidências sugerindo que a deterioração seria reduzida em silagens com conteúdo de matéria seca excedendo 500 g kg⁻¹.

Segundo Lindgren (1999) não há aditivos eficientes para o controle da instabilidade aeróbica das silagens. Adição de ácido propiônico e ácido benzóico podem, em alguma extensão, melhorar a estabilidade. Os resultados dos inoculantes bacterianos geralmente são negativos. Algumas silagens bem fermentadas, confeccionadas com inoculante e com altos níveis de ácido láctico e açúcares remanescentes, parecem contrariamente estar sujeitas a rápida deterioração aeróbica. O aumento no conteúdo de ácido acético após inoculação da forragem com *Lactobacillus buchneri* tem melhorado a estabilidade aeróbica das silagens (Driehuis et al., 1999).

O uso de inoculante bacteriano-enzimático reduz a estabilidade aeróbica das silagens de gramíneas tropicais (Veiga et al., 2000 e Balsalobre et al., 2001), ou seja, torna as silagens mais susceptíveis a deterioração aeróbica (Mühlbach, 2000). O provável motivo da menor estabilidade de silagens inoculadas ou contendo fontes de carboidratos, como aditivos, está relacionado ao maior teor de ácido láctico dessas gramíneas.

Os ácidos acético e propiônico são melhores inibidores do crescimento das leveduras que o ácido láctico, e as misturas de ácido láctico, propiônico ou acético têm um efeito inibitório sinérgico (Moon, 1983). O ácido acético é também melhor inibidor do crescimento de fungos do que o ácido láctico (Lindgren, 1999). Dessa forma, novos aditivos vem sendo desenvolvidos na tentativa de reduzir o efeito negativo da fermentação homolática sobre a estabilidade aeróbica das silagens (Stefanie et al., 2000).

Mayrhuber et al. (1999) avaliaram o efeito do uso de inoculante bacteriano contendo bactéria láctica homofermentativa ou heterofermentativa. Com os dois tipos de inoculante houve declínio mais acentuado do pH. As silagens inoculadas com cultura homofermentativa apresentaram os maiores conteúdos de ácido láctico, porém sua estabilidade aeróbica foi reduzida. Já as silagens tratadas com cultura heterofermentativa apresentaram os maiores conteúdos de ácido acético e aumento na estabilidade aeróbica.

O ácido propiônico inibe a atividade aeróbica nas silagens sendo utilizado como aditivo na prevenção da deterioração aeróbica das silagens (Pitt, 1990 e McDonald et al., 1991). Esse ácido tem sido bastante usado com intuito de preservar feno enfardado com alta umidade (720-800 g kg⁻¹MS). Aplicações de 10 a 20 mL kg⁻¹ feno têm reduzido o crescimento de fungos, conseqüentemente reduzindo o aquecimento de feno contendo alta umidade (Pitt, 1990 e Rotz et al., 1992). Apesar desse ácido diminuir as perdas durante os primeiros meses de estocagem, as perdas são superiores aquelas observadas em feno enfardado com adequado conteúdo de matéria seca. Dessa forma, as perdas de matéria seca e alterações durante a estocagem são semelhantes às de feno de alta umidade não-tratado. Geralmente, o uso desse ácido causa redução no conteúdo de FDA e NIDA, devido à redução do aquecimento da massa. Em função do ácido propiônico ser bastante corrosivo, foram desenvolvidos produtos tamponados, obtidos pela mistura do ácido propiônico com amônia ou outro composto químico compatível para aumentar o pH do produto, e

consequentemente reduzir a corrosão. Essas misturas são eficientes quando aplicadas em dosagem semelhantes às recomendadas de ácido propiônico (10 a 20 mL kg⁻¹ feno), mas são ineficientes quando aplicadas em taxas inferiores a 5 mL kg⁻¹ feno (Rotz et al., 1992).

A aplicação de aditivos inibidores da fermentação, como ácido propiônico, tem sido efetiva em prevenir a deterioração aeróbica nas silagens tratadas no momento da ensilagem (Pitt, 1990; Stefanie et al., 2000).

3 CARACTERÍSTICAS DE FERMENTAÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SILAGEM DE TIFTON 85 (*Cynodon sp.*) SOB EFEITO DE PRÉ-EMURCHECIMENTO, INOCULANTE BACTERIANO-ENZIMÁTICO OU ÁCIDO PROPIÔNICO

Resumo

Os objetivos desse estudo foram avaliar os efeitos do pré-emurhecimento e da aplicação de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) ou ácido propiônico tamponado (APT) sobre as características de fermentação e a composição química da silagem de Tifton 85 (*Cynodon sp.*) armazenada na forma de fardos grandes revestidos por filme plástico. Silagens com cinco níveis de matéria seca (250 g kg^{-1} , 350 g kg^{-1} , 450 g kg^{-1} , 550 g kg^{-1} e 650 g kg^{-1} MS) foram confeccionadas na ausência de IBE. Outros três tratamentos consistiram de níveis de matéria seca (250 g kg^{-1} , 450 g kg^{-1} e 650 g kg^{-1} MS) na presença de aditivo bacteriano-enzimático (IBE), e um tratamento adicional, onde os fardos foram submetidos à pré-emurhecimento até atingir o maior nível de MS (650 g kg^{-1} MS), foi pulverizada uma solução contendo APT. As amostras foram tomadas imediatamente antes (zero hora) e às 6, 12 horas e 1, 2, 4, 8, 16, 32, 90 e 180 dias após a ensilagem, para estabelecer curvas de tendência temporal para as características de fermentação e composição química. O uso de pré-emurhecimento à níveis médios de MS, 450 g kg^{-1} MS, favoreceu as características qualitativas de fermentação e a composição química das silagens de Tifton 85. O uso de APT não melhorou as características qualitativas de fermentação e a composição química das silagens. A utilização de IBE apresentou mínimos benefícios somente nas silagens

contendo elevado teor de matéria seca, sendo ineficiente para forragens contendo alta umidade.

EFFECTS OF WILTING, MICROBIOLOGICAL ADDITIVE OR PROPIONIC ACID ON FERMENTATION CHARACTERISTICS AND CHEMICAL COMPOSITION OF TIFTON 85 (*Cynodon* sp.) SILAGE

Summary

The objectives of this work were to study the effects of wilting and microbiological additive or buffered propionic acid (BPA) on the fermentation characteristics and chemical composition of Tifton (*Cynodon* sp.) silage stored in plastic wrapped square bales. The treatments were: five forage dry matter contents (250, 350, 450, 550 and 650 g kg⁻¹ DM), three forage dry matter contents (250, 350 and 650 g kg⁻¹ DM) associated with bacterial-enzymatic additive (BEA) and wilted forage (650 g kg⁻¹ DM) sprayed with BPA. Core samples were taken 0, 6 and 12 hours and 1, 2, 4, 8, 16, 32, 90 and 180 days of storage. Wilting to 450 g kg⁻¹ did improve fermentation parameters and chemical composition of silages. BPA addition showed no effect on silage fermentation parameters and chemical composition. The addition of BEA showed slight benefits only in the higher dry matter content silages.

3.1 Introdução

As forragens tropicais caracterizam-se por apresentar elevada produção de matéria seca, com estacionalidade marcante entre as estações das “águas” e “seca”. A distribuição desuniforme de produção, indica grande potencial para conservação de forragens, seja através da ensilagem e/ou da fenação (Faria & Corsi, 1992). Entretanto, somente nos últimos anos, a

silagem de gramíneas tropicais vem conquistando seu lugar nos sistemas de produção de bovinos no país, apesar de estudos específicos envolvendo a ensilagem dessas gramíneas terem sido realizados desde o final da década de 60 (Balsalobre et al., 2001). O provável motivo da reduzida utilização de silagens de gramíneas tropicais em maior escala, até recentemente, parece ter sido a falta de equipamentos apropriados para a tarefa de cortar e colher plantas de alto potencial de produção. Nos últimos quinze anos, algumas empresas nacionais passaram a desenvolver e produzir equipamentos de maior capacidade operacional, o que tem viabilizado o uso de silagens em maior escala. Nos países da Europa mais de 90% da forragem produzida é armazenada na forma de silagem (Stefanie et al., 2000).

Para uma planta produzir uma boa silagem existem algumas premissas que devem ser respeitadas. A capacidade de fermentação da forragem é definida como a relação entre o teor de CHO's, o teor de umidade e o poder tampão presentes na sua composição (Balsalobre et al., 2001).

Quantidades adequadas de substrato fermentescível (CHO's), poder tampão relativamente reduzido e conteúdo de matéria seca acima de $300 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$, são reconhecidos como características importantes para obtenção de padrões desejáveis de fermentação e conservação de forragens através da ensilagem (McDonald et al., 1991).

Considerando-se a importância dos fatores inerentes à forragem, mencionados anteriormente, na ensilagem de forragens tropicais deve-se considerar que, as mesmas apresentam concentrações marginais de CHO's na matéria seca (inferior aos das gramíneas temperadas) e baixos teores de matéria seca, nos estágios de crescimento em que apresentam um bom valor nutritivo (McDonald et al., 1991; Vilela, 1998 e Umaña et al. 1991).

Essas características colocam em risco o processo de conservação, com probabilidade de surgirem fermentações secundárias, refletindo negativamente nas perdas de matéria seca (Vilela, 1998). Limitações dessa natureza podem ser parcialmente controladas pelo aumento na porcentagem de matéria seca, através do pré-emurchecimento, ou pela utilização de aditivos que contribuam para acelerar e estabilizar a fermentação, como no caso dos inoculantes bacterianos e enzimas. Essas técnicas têm sido bastante usadas com a

finalidade de atenuar esses problemas, tanto da umidade, quanto da concentração de açúcares, nos Estados Unidos e Europa (Kautz, 1990).

A técnica do pré-emurhecimento possibilita a ensilagem de plantas forrageiras cortadas com baixo teor de matéria seca, num processo simples, em que as fermentações indesejáveis são facilmente controladas através da diminuição da Aa ou elevação da pressão osmótica (McDonald et al., 1991 e Faria & Corsi, 1992). Com o pré-emurhecimento reduz-se a produção de ácido láctico e a concentração de ácido láctico necessária para estabilização do processo, e, além disso, essa técnica pode proporcionar uma redução na produção de efluentes e aumento no consumo voluntário de matéria seca (Raymond et al., 1986).

Monteiro (1999), destacou que a técnica da pré-emurhecimento permite a produção de silagem de boa qualidade a partir de forrageiras que apresentem, como limitação principal, o reduzido teor de matéria seca no momento do corte, como no caso das gramíneas e, somado a isso, elevado poder tampão, no caso das leguminosas. Dessa forma, sugere que a elevação no teor de matéria para 350 a 400 g kg⁻¹ MS, seria um fator determinante da boa qualidade da silagem pré-emurhecida.

Os inoculantes bacterianos são adicionados em silagens para estimular a fermentação láctica, resultando em uma rápida e intensiva produção de ácido láctico, acelerando a queda de pH, melhorando a preservação e minimizando perdas (Weinberg et al., 1995 e Pitt, 1990). O uso de inoculantes tem demonstrado ser eficiente em acelerar o processo de fermentação, reduzir a perda de nutrientes, melhorar a digestibilidade de fibra e reduzir a degradação de proteína; melhorando dessa forma o valor nutritivo das silagens (Mahanna, 1993).

Na Europa e nos EUA, os inoculantes bacterianos, atualmente, são os aditivos mais comumente utilizados na ensilagem de milho, gramíneas e leguminosas, que podem ser pré-emurhecidas a níveis superiores a 300 g kg⁻¹ MS (Stefanie et al., 2000). Essa associação entre pré-emurhecimento e o uso de inoculante visa melhorar a fermentação e o valor nutritivo da silagem (Mühlbach, 2000).

Os objetivos desse estudo foram determinar se o pré-emurhecimento e o uso de aditivo bacteriano-enzimático ou ácido propiônico tamponado na ensilagem alterariam as

características de fermentação e a composição química na silagem de Tifton 85 (*Cynodon* sp.).

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Condução do experimento

O experimento foi conduzido na Fazenda Água Comprida (Água Comprida/MG), localizada sob as coordenadas 19° 56' 45" S de latitude e 48° 02' 15" W de longitude. Essa região apresenta solos de textura muito argilosa, classificados como Latossolo Roxo Distrófico (Prado, 1997). De acordo com o sistema de Köppen, o clima da região pode ser classificado como Aw, isto é, clima tropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco. Apresenta precipitação média anual entre 1200 e 1500 mm e temperaturas médias entre 21 e 22 °C (Prado, 1997).

A área escolhida para colheita da forragem destinada a confecção das silagens foi uma gleba destinada a produção de feno, estabelecida em 1996, com Tifton 85 (*Cynodon* sp.). Essa área havia sido fertilizada previamente com 358 kg hectare⁻¹ (kg ha⁻¹) da fórmula 30-00-20 (N-P₂O₅- K₂O) logo após o último corte que antecedeu o ensaio, além do solo receber fertilização corretiva anual visando 30 ppm de P₂O₅, 75% de saturação por bases e nível de potássio em torno de 5% da capacidade de troca catiônica.

As silagens foram confeccionadas entre os dias 15 e 21 de fevereiro de 2000. As condições climáticas predominantes nesses dias foram satisfatórias, com temperatura média em torno de 26,5 °C e umidade relativa média do ar em torno de 73%.

A forragem foi colhida com idade fisiológica equivalente a 35 dias de crescimento vegetativo. O material foi ceifado com uma Segadora Condicionadora, marca CASE, modelo 8850 HP, equipada com condicionador de rolos de metal. O material foi submetido à pré-murcha visando obter níveis crescentes de matéria seca na ensilagem. O monitoramento do

teor de matéria seca do material exposto no campo, foi realizado através de uso do forno de microondas. Quando o teor de matéria seca pretendido foi alcançado, o material foi picado (oito cm) e enfardado (Enfardadora, marca CLAAS, modelo Quadrant 1200 RC) na forma de fardos cúbicos (140 cm comprimento x 120 cm de largura x 70 cm de altura). Imediatamente, os fardos foram envolvidos (Embaladora, marca REKORD, modelo Q-Pack 120) com seis camadas de filme plástico (TRIOPLAST AB, modelo Triowrap, 75 cm x 0,0025 cm) com 50 % de sobreposição.

Os tratamentos consistiram de níveis crescentes de matéria seca (MS) associados ou não a presença de aditivo bacteriano-enzimático, arrançados num esquema fatorial 5 x 2 incompleto, com três repetições cada. Silagens com cinco níveis de amplitude do teor de matéria seca (200-300 g kg⁻¹, 300-400 g kg⁻¹, 400-500 g kg⁻¹, 500-600 g kg⁻¹ e 600-700 g kg⁻¹ MS) foram confeccionadas, na ausência de aditivo. Outros três tratamentos consistiram dos teores de matéria seca baixo, médio e alto (200-300 g kg⁻¹, 400-500 g kg⁻¹ e 600-700 g kg⁻¹ MS, respectivamente) na presença de aditivo bacteriano-enzimático comercial (Sil-All - ALLTECH INC.).

O inoculante utilizado apresentou os seguintes níveis de garantia declarados: 1,0 x 10⁹ unidades formadoras de colônias (UFC) de *Streptococcus faecium*/g; 1,0 x 10⁹ UFC de *Lactobacillus plantarum*/g; 1,0 x 10⁸ UFC de *Pediococcus acidilactici*/g e as enzimas hemicelulase, celulase e amilase. Dois litros e meio de solução a 5 g L⁻¹, foram aplicados por tonelada de forragem. Essa solução foi aspergida utilizando-se de um sistema de bomba de diafragma ligada a dois bicos aspersores acoplados à boca de recolhimento da enfardadeira, imediatamente antes ao enfardamento da forragem.

Em um tratamento adicional, fardos submetidos ao pré-emurhecimento, até atingir o maior nível de MS (600-700 g kg⁻¹ MS) foram pulverizados externamente com 0,011 mL por centímetro quadrado, de ácido propiônico tamponado, APT (Alfa-save – ALLTECH INC.), imediatamente antes do revestimento com filme plástico. Dessa forma, os tratamentos avaliados foram: 1) 200-300 g kg⁻¹ MS sem aditivo (250SA); 2) 300-400 g kg⁻¹ MS sem aditivo (350SA); 3) 400-500 g kg⁻¹ MS sem aditivo (450SA); 4) 500-600 g kg⁻¹ MS sem

aditivo (550SA); 5) 600-700 g kg⁻¹ MS sem aditivo (650SA); 6) 200-300 g kg⁻¹ MS com aditivo (250CA); 7) 400-500 g kg⁻¹ MS com aditivo (450CA); 8) 600-700 g kg⁻¹ MS com aditivo (650CA); 9) 600-700 g kg⁻¹ MS com alfa-save (650APT).

3.2.2 Amostragem e preparo das amostras para determinações laboratoriais

Os fardos foram amostrados empregando-se um amostrador do tipo “core sampler” (50 cm de comprimento x 6 cm diâmetro) acoplado a uma moto-serra. Amostras foram tomadas imediatamente antes (zero hora) e às 6, 12 horas e 1, 2, 4, 8, 16, 32, 90 e 180 dias após o momento em que ocorreu o revestimento dos fardos com filme plástico, para estabelecer curvas de tendência temporal para as características de fermentação: temperatura interna do fardo; pH; teor de matéria seca; nitrogênio amoniacal na MS e poder tampão, além da composição química. Para cada momento de amostragem, foram utilizados três fardos por tratamento, tomando-se 12 sub-amostras por fardo, para formação de uma amostra composta, representativa de cada fardo. Após a coleta das amostras, os fardos foram descartados, pois perdiam a condição de anaerobiose e começavam a deteriorar. Dessa forma, em cada tempo de amostragem foram utilizados três fardos diferentes por tratamento, não caracterizando assim medidas repetidas na mesma unidade experimental.

Também foram coletadas amostras da forragem que deu origem a cada tratamento, no momento da ceifa do material. Os dados obtidos foram utilizados como covariável para a avaliação da evolução temporal dos tratamentos.

As amostras compostas, obtidas de cada fardo, foram levadas para um laboratório, montado na propriedade, homogêneas e fracionadas da seguinte forma:

- a) Uma primeira fração de 25 g de amostra foi misturada a 450 mL de água deionizada, para obtenção de um extrato aquoso do qual foi realizada a determinação do pH com o uso de um potenciômetro, marca Digimed;

- b) Uma segunda fração de aproximadamente 250 g de amostra foi acondicionada em saco plástico e imediatamente armazenada em freezer (-4°C) para posterior determinação do teor de matéria seca, concentração de nitrogênio amoniacal na MS e poder tampão;
- c) Uma terceira fração de aproximadamente 500 g de amostra foi acondicionada em saco plástico e imediatamente armazenada em freezer (-4°C) para posterior análise da composição química-bromatológica.

Na porção superior de cada fardo, no momento da amostragem, foi colocado um termômetro de bulbo mercúrio com o auxílio de uma sonda e tomada a temperatura interna do fardo (°C).

Nas amostragens ocorridas aos 90 e 180 dias não foram amostrados os tratamentos: 350SA; 250CA e 650APT. Isso ocorreu devido o experimento ter sido planejado para encerrar as avaliações aos 32 dias, e posteriormente decidiu-se pela continuidade da coleta de dados até 90 e 180 dias após a confecção das silagens. Assim, os fardos correspondentes a esses tratamentos foram submetidos às amostragens ocorridas até 32 dias após a vedação dos silos.

As amostragens foram realizadas na Fazenda Água Comprida e as amostras, posteriormente, transportadas congeladas para o Laboratório de Bromatologia do Departamento de Produção Animal (DPA) da ESALQ/USP (Piracicaba/SP), onde foram realizadas as determinações laboratoriais. Entretanto, os fardos amostrados aos 90 e 180 dias foram transportados para DPA da ESALQ/USP (Piracicaba/SP) e amostrados naquele local.

3.2.3 Parâmetros avaliados e metodologias empregadas

Após o descongelamento, as amostras do material original (ceifa) e as coletadas imediatamente antes (zero hora), 6, 12 horas e 1, 2, 4, 8, 16, 32, 90 e 180 dias após a ensilagem, foram utilizadas para determinação do nitrogênio amoniacal (N-NH₃) na MS, teor de matéria seca (TMS) e poder tampão (PT).

O TMS foi determinado pela secagem da amostra em estufa de ar forçado, submetida a 55°C, seguida de correção à 105°C. O teor N-NH₃ (g kg⁻¹ MS) foi obtido segundo Chaney & Marbach (1962) e o poder tampão pelo método descrito por Playne & McDonald (1966).

As amostras da forragem original (ceifa) e as coletadas antes do revestimento (zero hora) e aos 8, 16, 32, 90 e 180 dias após a ensilagem, também foram usadas para determinação da composição química: proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas (AOAC, 1984); N-NH₃ (g kg N⁻¹) (Chaney & Marbach, 1962). As frações fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina foram avaliadas segundo o método sequencial de determinação da fração fibrosa descrito por Holden (1999), utilizando o equipamento ANKON (ANKON Technology, INC). A determinação das frações nitrogênio ligado à fibra detergente neutro (NFDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) foram realizados de acordo com Krishnamoorth et al. (1982). A fração B3 foi calculada através da subtração da fração NIDA da fração NFDN. A concentração de Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) foi estimada a partir da equação descrita por Weiss et al. (1992), ajustado pelo NRC (2001).

3.2.4 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições, em esquema de parcelas subdivididas no tempo, sendo os fatores das parcelas os tratamentos (250SA, 350SA, 450SA, 550SA, 650SA, 250CA, 450CA, 650CA e 650APT) e as interações e o fator atribuído à subparcela, o tempo (zero, 6, 12 horas e 1, 2, 4, 8, 16, 32, 90 e 180 dias). Além dos fatores foram incorporadas ao modelo duas covariáveis, uma correspondentes a composição original da forragem (ceifa) e uma segunda covariável foi definida como o teor de matéria seca original obtida nos fardos amostrados.

O modelo proposto foi analisado pelo PROC GLM do SAS (SAS, 1988) e os valores médios foram estimados pelo LSMEANS do mesmo sistema. Para comparações

específicas de grupos de tratamentos, aplicou-se o teste F para contrastes, a partir do desdobramento dos graus de liberdade. Os objetivos foram comparar tratamentos com e sem aditivos, comparar o tratamento 650APT, individualmente com os respectivos, sem (650SA) e com (650CA) aditivo bacteriano-enzimático.

3.3 Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta a composição química da forragem fresca. O material apresentava um baixo conteúdo de matéria seca associado a um alto poder tampão, característico de gramíneas tropicais, limitando a produção de silagem de qualidade a partir da ensilagem direta após o corte, devido ao risco de surgirem fermentações secundárias (McDonald et al., 1991 e Vilela, 1998). Entretanto, o valor observado para o poder tampão foi inferior e o conteúdo de matéria seca superior aos valores verificados para forragens tropicais (Henrique & Bose, 1992; Tosi et al., 1995 e Berto & Mühlbach, 1997), apesar de Coan et al. (2001) terem observado valores inferiores para o poder tampão dos capins Tanzânia e Mombaça.

3.3.1 Perfil de fermentação

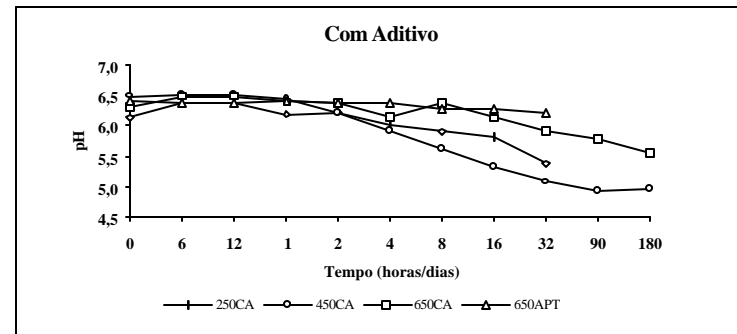
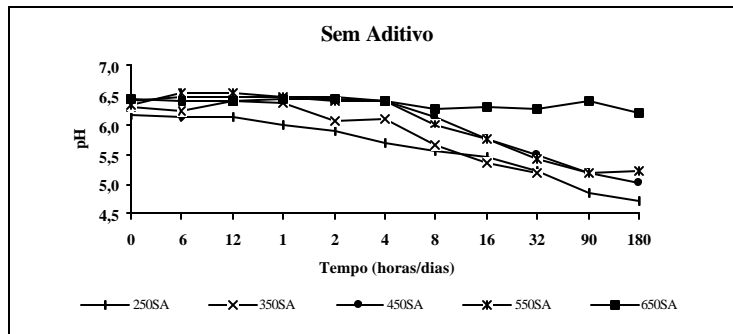
O pH foi influenciado pelo conteúdo de matéria seca das silagens, havendo declínio mais acentuado e menores valores finais de pH, para as silagens dentro da amplitude compreendida entre teores de MS de 250 a 550 g kg⁻¹ MS (Figura 1). No maior conteúdo de matéria seca, tanto na silagem sem inoculante bacteriano-enzimático (650SA) como na tratada com ácido propiônico tamponado (650APT), o pH permaneceu praticamente inalterado. Dessa forma, o pré-emurchecimento determinou menor intensidade do processo de fermentação, traduzido pelo aumento do pH, com o incremento do conteúdo de MS da forragem ensilada, corroborando com a literatura (Umaña et al., 1991; Tosi et al., 1995; Wyss, 1999b e Evangelista et al., 2000).

Tabela 1. Composição química da forragem fresca.

Parâmetro	Valor médio
PH	6,02
Poder tampão (e mg kg ⁻¹ MS)	210
N-NH ₃ (g kg ⁻¹ MS)	1,28
MS (g kg ⁻¹ MS)	241,9
PB (g kg ⁻¹ MS)	94,7
NFDN (g kg ⁻¹ N)	487,1
NIDA (g kg ⁻¹ N)	98,5
B ₃ (g kg ⁻¹ N)	388,6
N-NH ₃ (g kg ⁻¹ N)	85,8
FDN (g kg ⁻¹ MS)	706,9
FDA (g kg ⁻¹ MS)	464,7
HEMIC (g kg ⁻¹ MS)	242,2
LIG (g kg ⁻¹ MS)	79,4
EE (g kg ⁻¹ MS)	11,2
Cinzas (g kg ⁻¹ MS)	82,8
NDT (g kg ⁻¹ MS)	513,8

Isso provavelmente ocorreu porque o incremento do conteúdo de matéria seca teve efeito direto sobre a contagem total de bactérias lácticas e a taxa de fermentação (McDonald et al., 1991). Nos conteúdos de matéria seca entre 450 e 550 g kg⁻¹ MS, foram observadas condições favoráveis para o declínio do pH. Pela análise de contrastes (Apêndice 1), o uso de IBE, favoreceu a queda de pH, apenas nas silagens com médio e alto conteúdo de matéria seca (450 e 650 g kg⁻¹ MS), nas amostragens ocorridas aos 4 e 90 dias após a ensilagem (P<0,05). O uso de APT não alterou o pH (P>0,05) em relação ao tratamento 650SA, em nenhum dos tempos de estocagem estudados; entretanto,

pH



Poder tampão

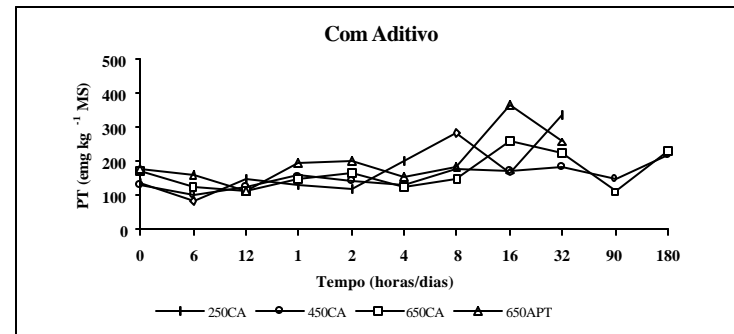
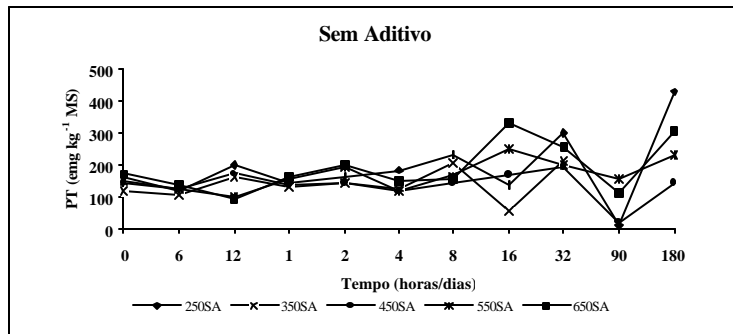


Figura 1- Tendência temporal do pH e do poder tampão das silagens submetidas ao pré-emurchecimento e ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (CA) e ácido propiônico tamponado (APT).

elevou ($P < 0,05$), esse parâmetro, com relação ao tratamento 650CA, à zero hora e aos 4 dias e 32 dias de estocagem.

Esse comportamento do pH das silagens devido ao uso de IBE está de acordo com literatura, que aponta a efetividade deste tipo de aditivo em reduzir o pH, apenas quando associado a adequado conteúdo de matéria seca da forragem ensilada. No presente estudo, o uso IBE foi efetivo nos conteúdos de matéria seca médio e alto. Henrique & Bose (1992) e O'kiely et al. (1999c) não observaram efeitos positivos de inoculantes sobre o pH quando aplicados em condições desfavoráveis, ou seja, alto conteúdo de umidade, baixa concentração de CHO's e alto poder tampão. Coan et al. (2001) não observaram efeito do uso de IBE sobre o pH das silagens de capim Tanzânia e capim Mombaça. Umaña et al. (1991) verificaram maior efetividade do inoculante bacteriano em reduzir o pH quando aplicado em silagem pré-emurhecida de grama bermuda. Haigh et al. (1996), Wyss (1999a) e Meeske et al. (1999) observaram que o uso de inoculante bacteriano foi efetivo em reduzir o pH de silagens pré-emurhecidas. Mühlbach (2000) destacou que na Europa e nos EUA, os inoculantes bacterianos são usados principalmente associados a forragem pré-emurhecida contendo teores de MS superiores a 300 g kg^{-1} MS.

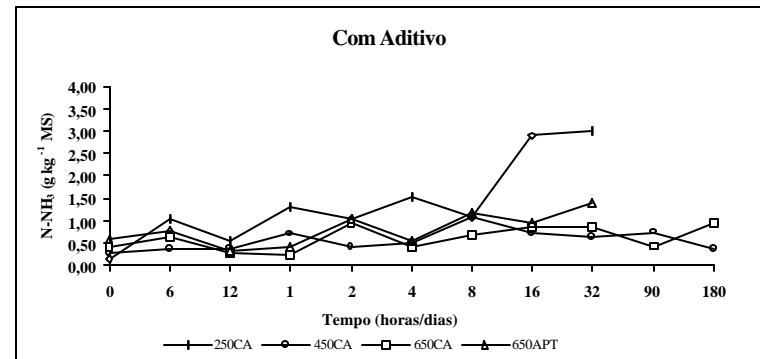
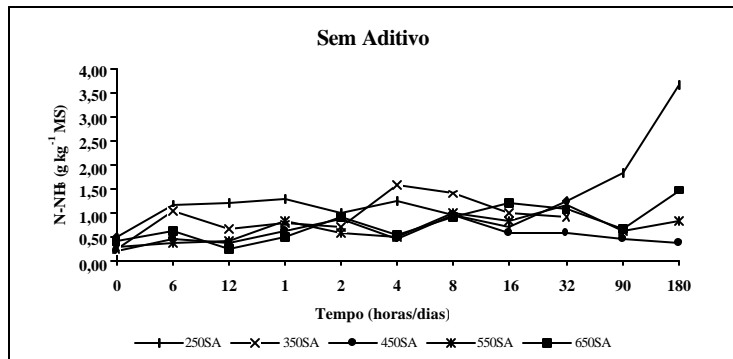
O poder tampão (PT) das silagens manteve-se praticamente estável até 8 dias após ensilagem, posteriormente apresentando grande oscilação (Figura 1). O incremento do conteúdo de MS reduziu ($P < 0,05$) o poder tampão, às 12 horas e aos 8 e 180 dias (Apêndice 2). Estes menores valores de PT provavelmente se devem à menor atividade de *Clostridium* sp., menor N-NH_3 e uma maior atividade de bactérias lácticas. Também, a maior produção de ácidos orgânicos fracos, em silagens mais úmidas, poderiam elevar o poder tampão. Os dados da literatura, quanto aos efeitos do pré-emurhecimento sobre o PT são conflitantes. Berto & Mühlbach (1997) verificaram redução no PT com o incremento da MS da aveia preta, enquanto Tosi et al. (1995) observaram aumento no PT devido ao pré-emurhecimento do capim elefante. Dessa forma, o efeito do pré-emurhecimento sobre o PT parece estar associado à espécie vegetal, teor de MS inicial e final. Pela análise de contrastes, o uso de IBE elevou ($P < 0,05$) PT aos 4 e 180 dias de estocagem, para os conteúdos de matéria seca baixo

e médio, e reduziu ($P < 0,05$) o PT no maior conteúdo de MS, nos mesmos tempos de amostragem. O uso de APT não alterou ($P > 0,05$) o PT das silagens 650SA e 650CA, durante todo o período estudado (Apêndice 2).

O teor de N-NH₃, expresso com base na matéria seca, apresentou maiores valores para os tratamentos mais úmidos, 250 e 350 g kg⁻¹ MS, a partir de 12 horas (Figura 2). O menor nível de MS (250 g kg⁻¹ MS) mostrou aumento marcante no conteúdo de N-NH₃, após 8 e 32 dias, na presença e ausência de IBE, respectivamente. Isso ocorreu provavelmente em função da falta de pH estável que permitiu o crescimento de microrganismos proteolíticos do gênero *Clostridium* (Umaña et al., 1991). Esse comportamento do conteúdo de N-NH₃ demonstrou que o pré-emurchecimento foi efetivo em inibir o crescimento de *Clostridium* sp. quando o conteúdo de MS foi superior a 350 g kg⁻¹ MS, conforme está documentado na literatura (McDonald et al., 1991; Umaña et al., 1991; Tosi et al., 1995; Berto & Mühlbach, 1997; Wyss, 1999a e Wyss, 1999b). O uso de IBE elevou ($P < 0,05$) a produção de N-NH₃ nas silagens de baixo e médio conteúdo de MS (250 e 450 g kg⁻¹ MS) a partir dos 16 dias de estocagem, apesar de ter reduzido ($P < 0,05$) o conteúdo de N-NH₃ no maior teor de MS, no mesmo período (Apêndice 3). Henrique & Bose (1992), O'kiely et al. (1999c) e Coan et al. (2001) não observaram efeitos positivos de inoculantes sobre o teor de N-NH₃, quando aplicados em forragens com alto teor de umidade. Entretanto, Berto & Mühlbach (1997) observaram redução do nitrogênio amoniacal devido ao uso de inoculante, aplicados em forragem não emurchecidas. Haigh et al. (1996) observaram redução no conteúdo de nitrogênio amoniacal de silagens de gramíneas pré-emurchecidas, devido o uso de inoculante. O uso de APT não alterou ($P > 0,05$) a concentração de N-NH₃ em relação aos tratamentos de mesmo conteúdo de MS (650SA e 650CA), durante o todo período avaliado.

A temperatura interna das silagens decresceu com ao longo do tempo (Figura 2). Os tratamentos do maior conteúdo de matéria seca, 650 g kg⁻¹ MS sem IBE e com APT, apresentaram maiores valores de temperatura, provavelmente devido à maior aeração da massa (McDonald et al., 1991). O uso de IBE foi efetivo ($P < 0,05$) em reduzir a

N-NH₃



Temperatura

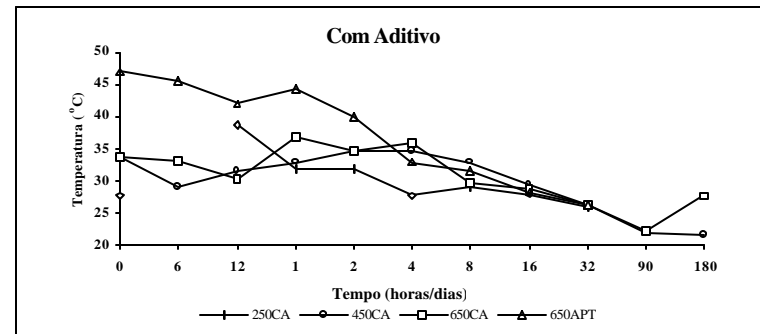
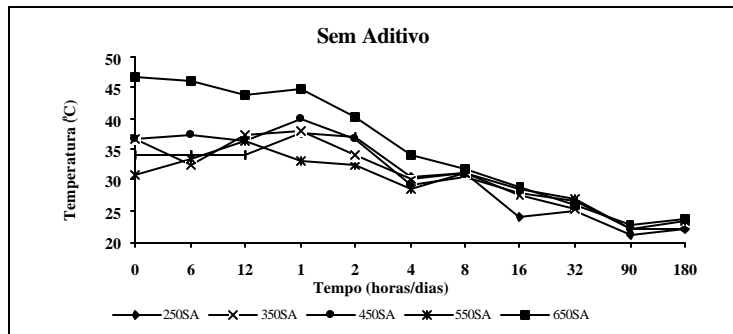


Figura 2 - Tendência temporal do N-NH₃ e da temperatura (°C) das silagens submetidas ao pré-emurchecimento e ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (CA) e ácido propiônico tamponado (APT).

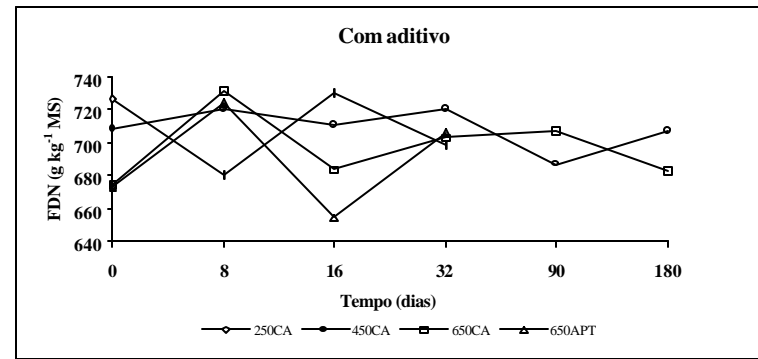
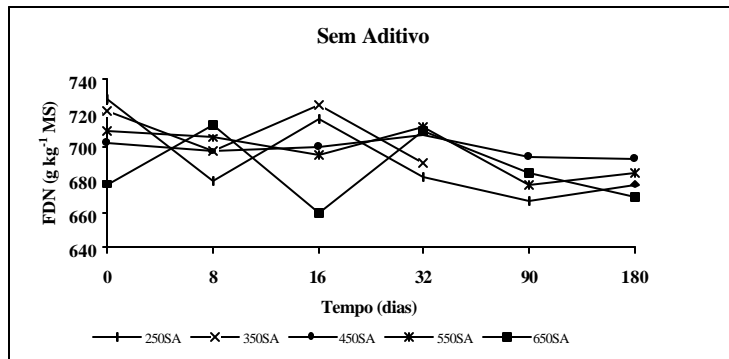
temperatura interna das 12 horas até 8 dias de estocagem, a partir deste momento não houve mais efeito ($P>0,05$) dos tratamentos sobre esse parâmetro (Apêndice 4). O uso de APT não alterou ($P>0,05$) a temperatura interna em relação ao tratamento 650SA, entretanto elevou ($P<0,05$) este parâmetro em relação ao tratamento 650CA, às 12 horas e aos 1, 2 e 8 dias de estocagem. Dessa forma, o uso de APT não apresentou efeito esperado de redução na temperatura da massa (Pitt, 1990 e Rotz et al., 1992), provavelmente devido a aplicação ter ocorrido apenas na superfície externa do fardo.

3.3.2 Composição química

O teor de FDN sofreu decréscimo ($P<0,05$) com o aumento do conteúdo de matéria seca das silagens, à zero hora e 16 dias após a ensilagem, no entanto, esse parâmetro sofreu acréscimo ($P<0,05$) com o incremento do conteúdo de MS aos 8 e 32 dias. Aos 90 e 180 dias de estocagem não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre tratamentos (Figura 3 e Apêndice 5). Evangelista et al. (2000) verificaram redução no FDN com o aumento do conteúdo de MS da forragem ensilada para grama estrela roxa (*Cynodon nlemfuensis*). Os valores observados por estes autores são superiores aos do presente estudo. O uso de IBE elevou ($P<0,05$) o teor de FDN aos 8 dias, não sendo efetivo ($P>0,05$) nos demais tempos de estocagem. O uso de APT não alterou ($P>0,05$) o conteúdo de FDN das silagens. Berto & Mühlbach (1997) não observaram efeito do pré-emurchecimento e uso de IBE sobre o conteúdo de FDN de silagem de aveia preta. Meeske et al. (1999) também não observaram alteração no FDN devido ao uso de IBE em silagem pré-emurchecida.

O pré-emurchecimento e o uso de IBE não alteraram ($P>0,05$) o conteúdo de FDA das silagens (Figura 3 e Apêndice 6). Os resultados observados no presente estudo estão de acordo com Evangelista et al. (2000) que não observaram variação nos teores FDA das silagens, devido ao pré-emurchecimento, de grama estrela, entretanto, verificaram menores valores que os aqui apresentados. Berto & Mühlbach (1997) não observaram efeito do pré-emurchecimento e uso de IBE sobre o conteúdo de FDA de

FDN



FDA

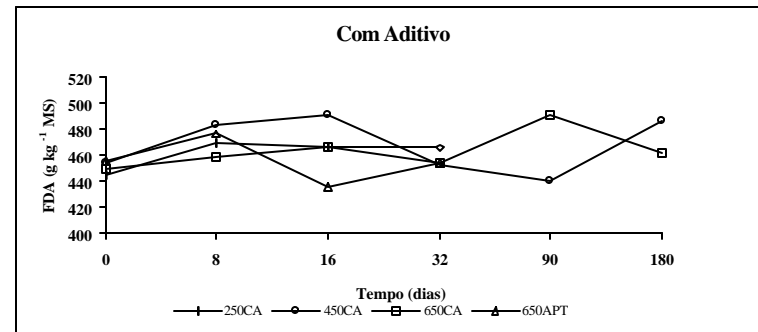
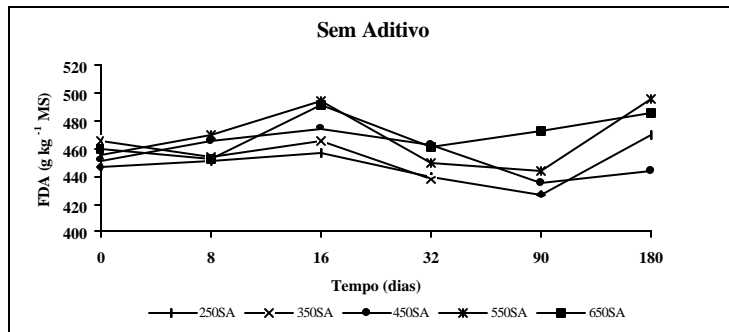


Figura 3 - Tendência temporal do FDN e FDA das silagens submetidas ao pré-emurchecimento e ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (CA) e ácido propiônico tamponado (APT).

silagem de aveia preta. Henrique & Bose (1992) não observaram variação nos teores de FDN e FDA, devido ao uso de IBE, na ensilagem de capim elefante, e os valores obtidos estão próximos aos verificados no presente estudo.

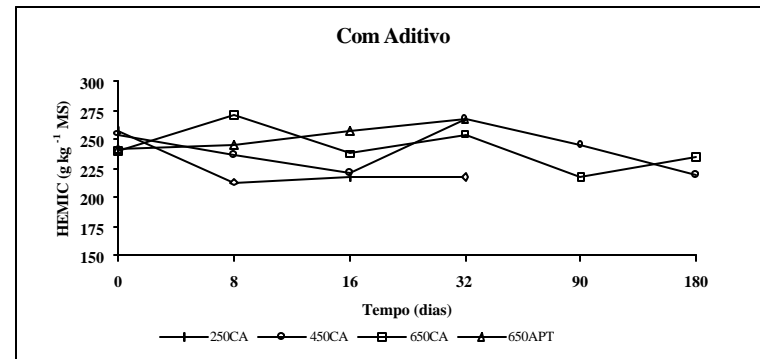
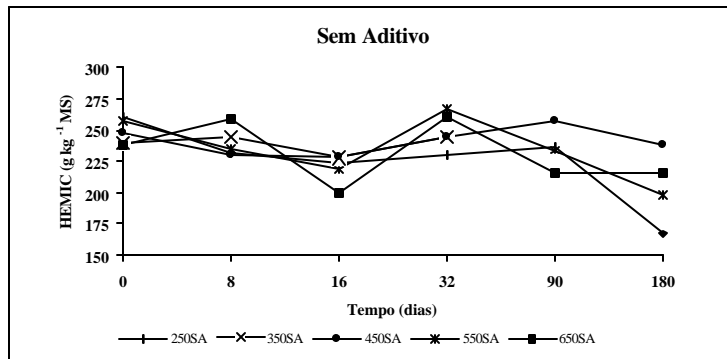
O uso de APT reduziu ($P < 0,05$) a concentração de FDA da silagem em relação ao tratamento 650SA aos 16 dias, não tendo efeito ($P > 0,05$) nos demais tempos de estocagem.

O pré-emurchecimento e do uso de IBE não alteraram ($P > 0,05$) o conteúdo de HEMIC das silagens, durante o período de estocagem estudado (Figura 4 e Apêndice 7). O uso de APT aumentou ($P < 0,05$) o teor de HEMIC na avaliação aos 16 dias após a ensilagem. Dessa forma, a HEMIC seguiu o mesmo comportamento do FDA. Berto & Mühlbach (1997) não observaram efeito do pré-emurchecimento e uso de IBE sobre o conteúdo de HEMIC de silagem de aveia preta. Coan et al. (2001) também não observaram alterações nos conteúdos de FDN, FDA e HEMIC devido ao uso de IBE em silagens de capim Tanzânia e Mombaça.

As enzimas são incluídas nos inoculantes, na tentativa de aumentar a disponibilidade de substrato para as bactérias produtoras de ácido láctico, pela degradação de carboidratos complexos em carboidratos solúveis, e também, contribuir na redução do conteúdo de fibra da forragem (Muck & Kung, 1997). Dessa forma, a presença de enzimas no inoculante não foi efetiva no presente estudo, ou seja, o uso de inoculante bacteriano-enzimático não reduziu o conteúdo de fibra das silagens (FDN e FDA).

O pré-emurchecimento elevou ($P < 0,05$) o conteúdo de LIG nas avaliações à zero hora e aos 16 e 90 dias (Figura 4 e Apêndice 8). Esse resultado, está de acordo com Berto & Mühlbach (1997) que também observaram efeito negativo do pré-emurchecimento sobre o teor de LIG na silagem de aveia preta. No entanto, contraria Crestana et al. (2001) que não observaram alteração no teor de LIG devido ao pré-emurchecimento do capim Tanzânia. O uso de IBE reduziu ($P < 0,05$) o conteúdo de LIG das silagens inoculadas na avaliação aos 16 dias de estocagem, não tendo efeito ($P > 0,05$) nos demais tempos de amostragem. Berto & Mühlbach (1997) observaram efeito negativo do uso de IBE, sobre o conteúdo de LIG de silagem de aveia preta. Coan et al.

HEMIC



LIG

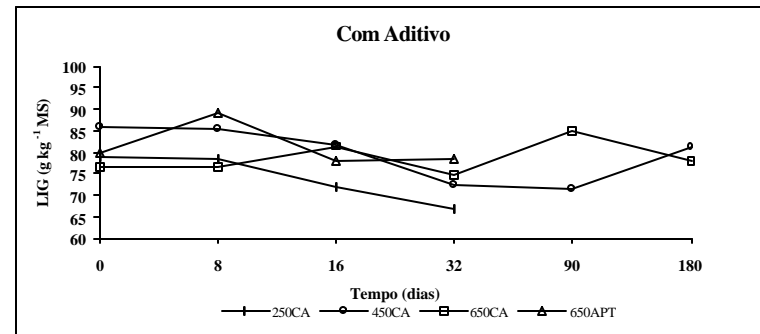
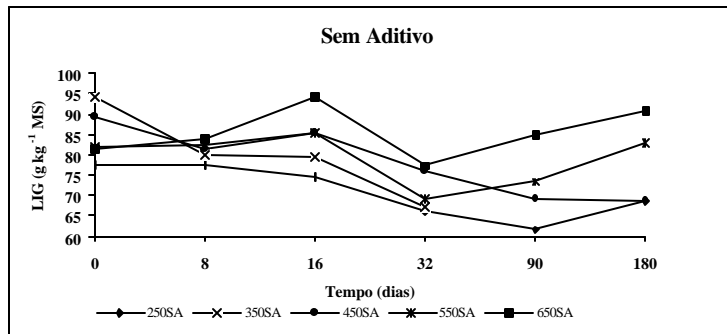


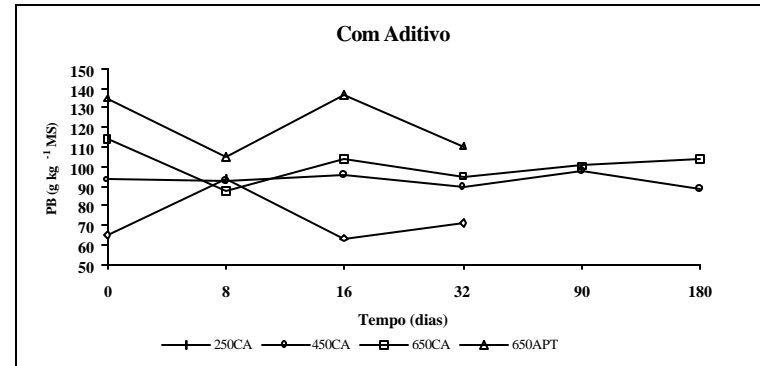
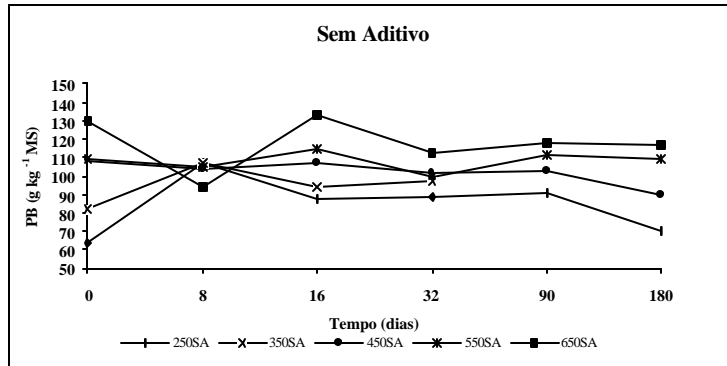
Figura 4 - Tendência temporal da HEMIC e LIG das silagens submetidas ao pré-emurchecimento e ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (CA) e ácido propiônico tamponado (APT).

(2001) não observaram alteração no conteúdo de LIG, devido ao uso de IBE, em silagens de capim Tanzânia e Mombaça. O uso de APT reduziu ($P<0,05$) o teor de LIG aos 16 dias em relação ao tratamento 650SA e aumentou ($P<0,05$) aos 8 dias em relação ao tratamento 650CA.

Para o conteúdo de PB, houve efeito significativo de tratamento ($P<0,05$), porém a interação tratamento x tempo de estocagem não foi significativa ($P>0,05$), por isso foi calculada a média geral por tratamento (Apêndice 9). O conteúdo de PB das silagens foi influenciado pelo pré-emurchecimento, havendo incremento ($P<0,05$) nesse parâmetro com o aumento do conteúdo de matéria seca da silagem (Figura 5 e Apêndice 9). Tal comportamento provavelmente está associado a redução na concentração de CHO's durante o emurchecimento, proporcionando aumento no teor de PB. Além do aumento no conteúdo de MS provocar redução na proteólise. Tosi et al. (1995) e Evangelista et al. (2000) não observaram efeito do pré-emurchecimento sobre o conteúdo de PB de gramíneas tropicais. As silagens tratadas com IBE apresentaram menores ($P<0,05$) conteúdos de PB, em relação às não tratadas, em todos os níveis de matéria seca estudados. Berto & Mühlbach (1997) observaram efeito positivo do pré-emurchecimento sobre o teor de PB, embora o uso de IBE não alterou esse parâmetro na silagem de aveia preta. O uso de APT não diferiu ($P>0,05$) do tratamento 650SA, entretanto, elevou ($P<0,05$) o teor de PB nas avaliações aos 8 e 16 dias e na média geral, em relação ao tratamento 650CA.

O conteúdo de N-NH₃ sofreu acréscimos no tempo para o menor conteúdo de MS (Figura 5). Os maiores ($P<0,05$) valores de N-NH₃ nas silagens com menor conteúdo de MS (250 g kg⁻¹ MS), tanto sem IBE quanto com IBE, demonstraram que houve proteólise intensa nos materiais mais úmidos (Apêndice 10). Tosi et al. (1995) e Wyss (1999b) observaram redução no conteúdo de nitrogênio amoniacal com o aumento do conteúdo de MS da silagem. O uso de IBE aumentou ($P<0,05$) o teor N-NH₃ nos materiais com baixo e médio conteúdo de MS (250 e 450 g kg⁻¹ MS) e reduziu ($P<0,05$) no teor mais elevado de matéria seca (650 g kg⁻¹ MS) aos 16, 32, 90 e 180 dias de estocagem. Berto & Mühlbac (1997) observaram redução nesse parâmetro devido o

PB



N-NH₃

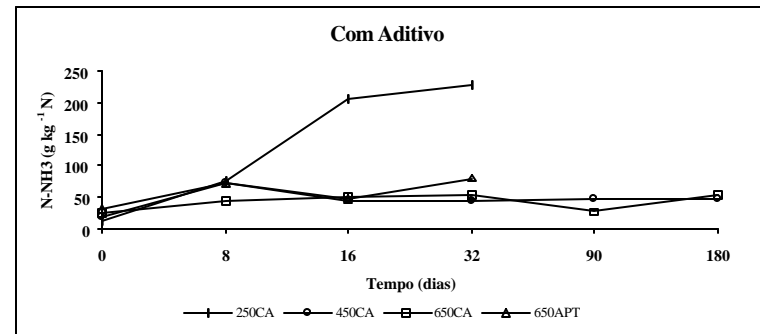
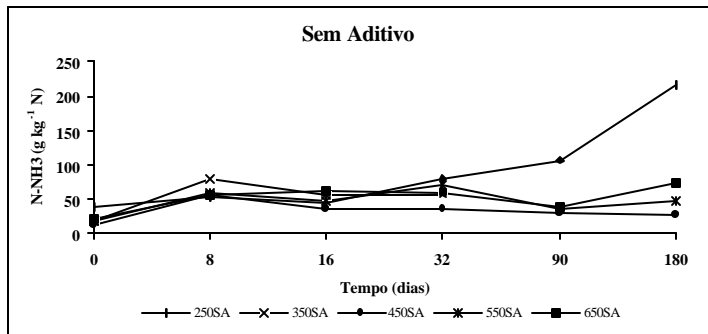


Figura 5 - Tendência temporal da PB e do N-NH₃ das silagens submetidas ao pré-emurchecimento e ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (CA) e ácido propiônico tamponado (APT).

pré-emurchecimento e o uso de IBE. O uso de APT não alterou ($P>0,05$) este parâmetro em relação aos tratamentos 650SA e 650CA.

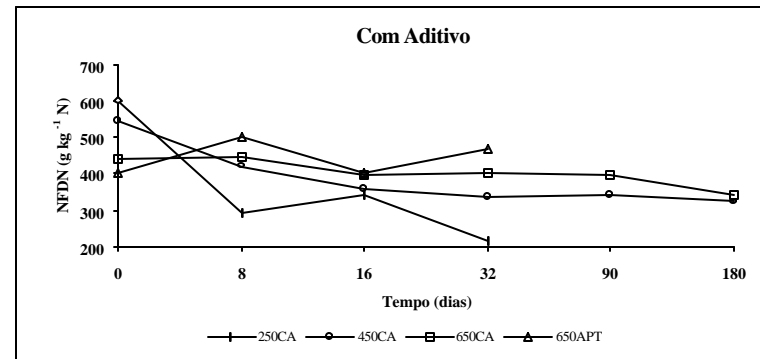
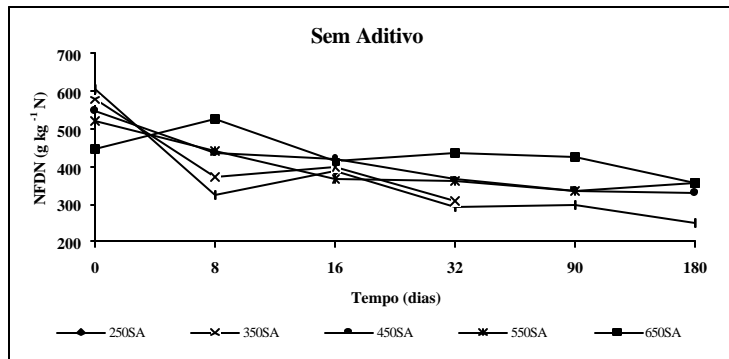
Henrique & Bose (1992) não observaram variação nos teores de PB e $N-NH_3$ devido ao uso de IBE na ensilagem de capim elefante, e os valores obtidos foram superiores aos verificados no presente estudo. Meeske et al. (1999) também não observaram alterações nos conteúdos de PB e $N-NH_3$ devido o uso de IBE em silagem pré-emurchecida de gramínea subtropical. Coan et al. (2001) não observaram alteração no conteúdo de $N-NH_3$ devido ao uso de IBE em silagens de capim Tanzânia e Mombaça, apesar da redução no teor de PB.

Wyss (1999b) verificou redução no nitrogênio amoniacal de silagens pré-emurchecidas devido ao uso de inoculante bacteriano. Umaña et al. (1991) observaram maior estabilidade do conteúdo de PB de silagens pré-emurchecidas durante o tempo de estocagem, havendo menor incremento no nitrogênio amoniacal durante a estocagem e menor média geral. Não houve diferenças nesses parâmetros devido ao uso de inoculante bacteriano.

Haigh et al. (1996) observaram manutenção do teor de PB e redução do nitrogênio amoniacal com uso de inoculante bacteriano em silagem pré-emurchecida e revestida por lona plástica. Esses autores sugeriram um limite de 80 a 100 $g\ kg^{-1}\ N$, como critério para silagens adequadamente fermentadas. Os valores observados, no presente estudo, estão abaixo deste limite, com exceção das silagens não emurchecidas, demonstrando que o pré-emurchecimento foi efetivo em inibir a proteólise.

O nitrogênio ligado a fração fibra insolúvel em detergente neutro (NFDN) mostrou tendência de redução ao longo do tempo (Figura 6). O conteúdo de NFDN apresentou maiores valores ($P<0,05$) nas silagens com conteúdos de matéria seca elevado, a partir da amostragem aos 8 dias (Apêndice 11), demonstrando menor atividade proteolítica no NFDN nessas silagens. O uso de IBE reduziu ($P<0,05$) os conteúdos de NFDN, entre 8 e 90 dias. Isso ocorreu provavelmente devido as enzimas presentes no inoculante agirem sobre o nitrogênio ligado a parede celular. O uso de APT não alterou

NFDN



NIDA

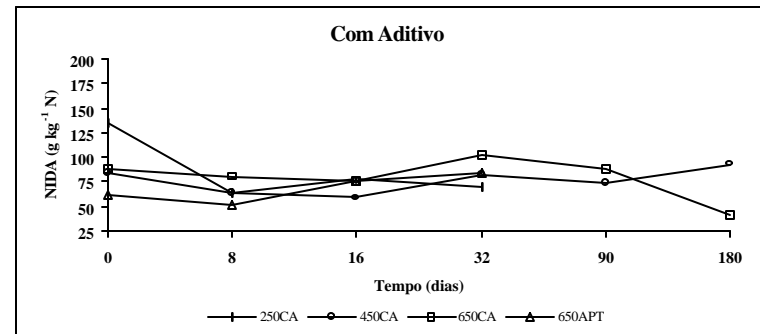
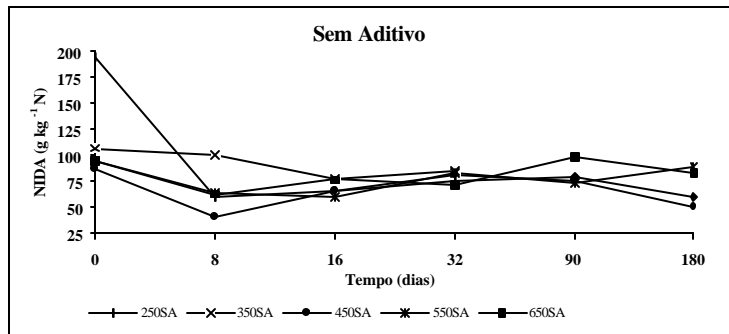


Figura 6 - Tendência temporal do NFDN e NIDA das silagens submetidas ao pré-emurchecimento e ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (CA) e ácido propiônico tamponado (APT).

($P > 0,05$) o NFDN em relação ao tratamento 650SA, porém elevou ($P < 0,05$) os valores de NFDN em relação ao tratamento 650CA.

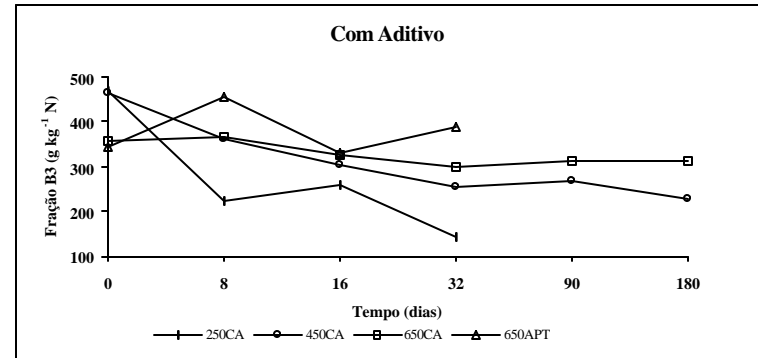
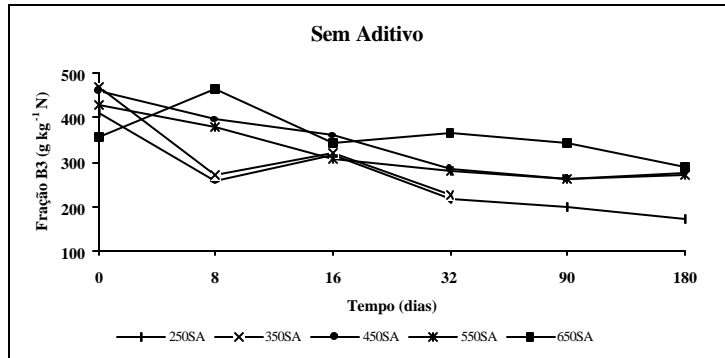
O teor de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) apresentou valores superiores ($P < 0,05$) para as silagens com maiores conteúdos de matéria seca, a partir da amostragem aos 8 dias (Figura 6 e Apêndice 12). O uso de IBE reduziu ($P < 0,05$) o teor de NIDA à zero hora e aumentou ($P < 0,05$) aos 32 dias (Apêndice 12). Berto & Mühlbach (1997) observaram que o uso de IBE aumentou o NIDA, e não alterou o NFDN, enquanto o pré-emurchecimento aumentou o NFDN e não alterou o NIDA, evidenciando que o emurchecimento reduziu a proteólise. O efeito do pré-emurchecimento sobre a proteólise deve-se à menor concentração de água que impede a ação enzimática. Umaña et al. (1991) não observaram alteração no conteúdo de NIDA, durante a estocagem, devido ao pré-emurchecimento ou uso de inoculante bacteriano.

O uso de APT reduziu ($P < 0,05$) o conteúdo de NIDA à zero hora em relação tratamentos 650SA e 650CA, no entanto, aos 32 dias, o APT aumentou ($P < 0,05$) o teor de NIDA em relação ao tratamento 650SA e reduziu ($P < 0,05$) em relação ao tratamento 650CA.

Silagens com elevados teores de MS estão sujeitas a elevação da temperatura da massa ensilada, predispondo à ocorrência de reações não enzimáticas entre os carboidratos solúveis e grupos amins dos aminoácidos. Dessa forma, o aquecimento em silagens promove diminuição acentuada na digestibilidade da proteína, devido a aumentos nos teores de NIDA, o qual é indisponível para os microrganismos do rúmen (Van Soest, 1994).

A fração B3 apresentou tendência geral de redução no tempo (Figura 7). Os valores dessa fração aumentaram ($P < 0,05$) com o incremento do conteúdo de matéria seca das silagens a partir de 8 dias (Apêndice 13), demonstrando ter havido menor atividade proteolítica nessas silagens. Apesar dessas silagens apresentarem maiores valores de NIDA, elas também apresentavam maiores valores de NFDN. As silagens tratadas com IBE apresentaram menores ($P < 0,05$) valores de B3 em todos os níveis de MS estudados, provavelmente devido as menores valores de NFDN. O uso de ATP não

Fração B3



Cinzas

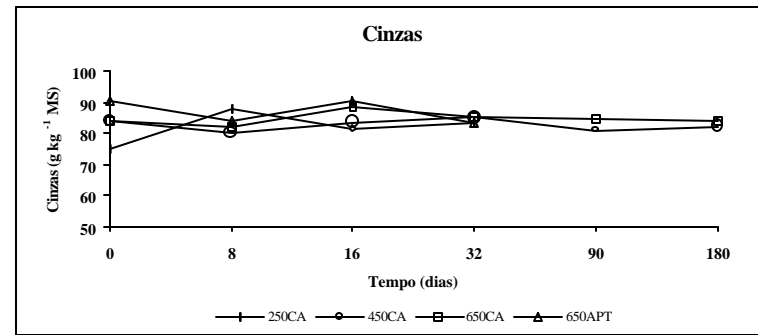
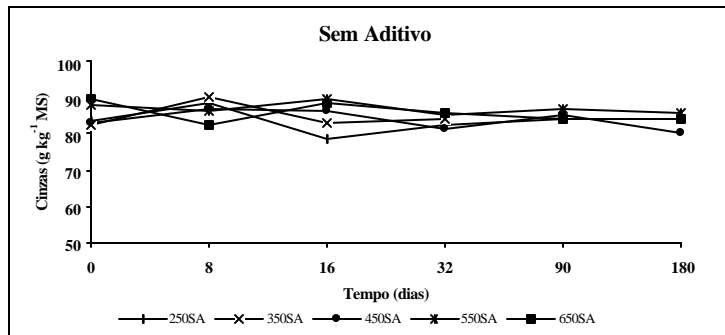


Figura 7 - Tendência temporal da fração B₃ e das cinzas das silagens submetidas ao pré-emurchecimento e ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (CA) e ácido propiônico tamponado (APT).

alterou ($P>0,05$) o conteúdo de B3 em relação ao tratamento 650SA, porém aumentou ($P>0,05$) esse parâmetro em relação ao tratamento 650CA, por apresentar maiores valores de NFDN em relação a esse tratamento. A fração B3 representa uma porção importante da proteína, visto que é potencialmente degradável e está intimamente relacionada ao crescimento microbiano do rúmen (Van Soest, 1994). Berto & Mühlbach (1997) concluíram que o uso de IBE e o emurchecimento melhoraram as características fermentativas e diminuíram a solubilização da fração nitrogenada da silagem de aveia.

O conteúdo de cinzas não sofreu alteração no decorrer do tempo (Figura 7). Os tratamentos aplicados não influenciaram ($P>0,05$) o teor de cinzas das silagens (Apêndice 14).

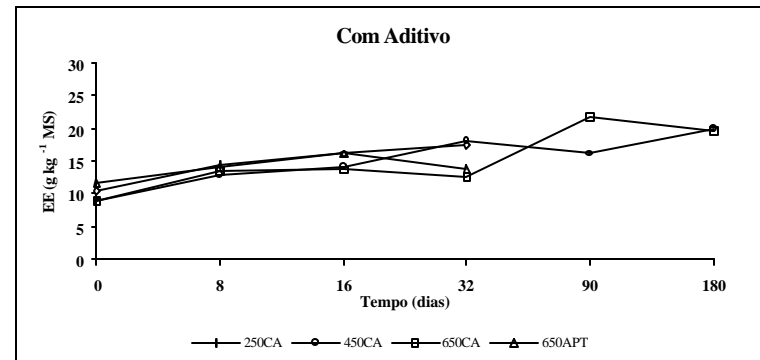
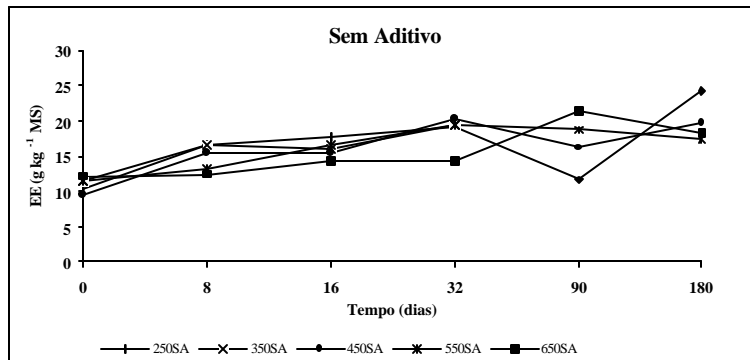
O conteúdo de EE apresentou tendência de aumento em função do tempo de estocagem (Figura 8). As silagens mais úmidas apresentaram teor de EE mais elevado ($P<0,05$) (Apêndice 15). O uso de IBE reduziu ($P<0,05$) os valores de EE, entre zero hora e 32 dias. O uso de APT elevou ($P<0,05$) o teor de EE nos tratamentos 650SA aos 16 dias de estocagem, e 650CA à zero hora.

O conteúdo de nutrientes digestíveis totais (NDT) das silagens apresentou tendência de aumento no decorrer do tempo (Figura 8). Este comportamento provavelmente se deve a tendência de redução nos teores de FDN, NFDN e NIDA e aumento no conteúdo de EE com o tempo. Umaña et al. (1991) verificaram incrementos na digestibilidade da MO e FDA durante a ensilagem. Esses autores atribuíram este comportamento a ação de microrganismos nos carboidratos estruturais, tornando a MO e FDA mais disponível para a flora ruminal.

O teor de NDT das silagens sofreu decréscimo ($P<0,05$) com o aumento do conteúdo de MS a partir de 16 dias (Apêndice 16), devido a tendência de aumento nos conteúdos de FDA, LIG, NFDN e NIDA e redução no teor de EE, com o aumento do teor de MS da silagem. Andrade et al. (2001) observaram aumento no teor de NDT, com pré-emurchecimento, em relação a ensilagem direta da forragem.

O uso de IBE reduziu ($P<0,05$) o NDT das silagens contendo 250 e 450 g kg⁻¹ MS, aos 32 dias de estocagem, entretanto não teve efeito ($P<0,05$) no material contendo

EE



NDT

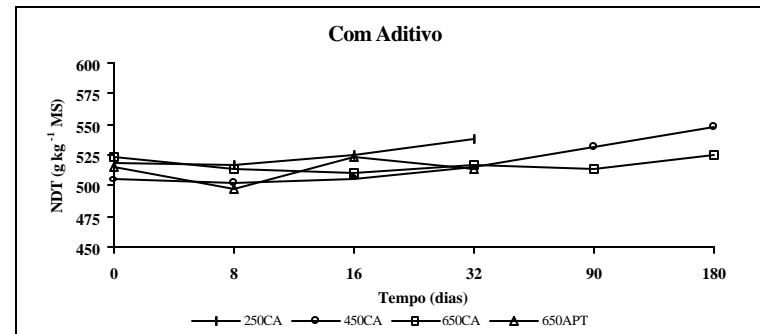
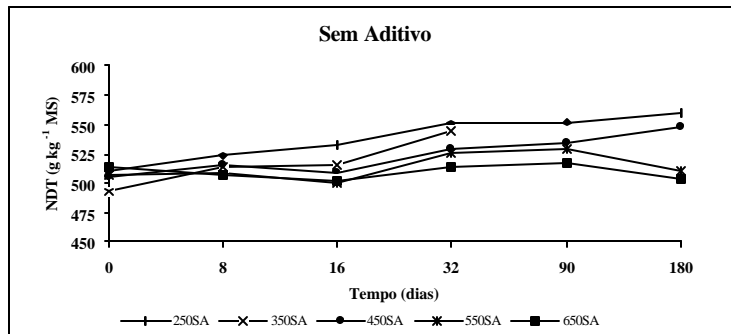


Figura 8 - Tendência temporal do EE e do NDT das silagens submetidas ao pré-emurchecimento e ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (CA) e ácido propiônico tamponado (APT).

650 g kg⁻¹ MS. Isso se deve, provavelmente, a tendência de aumento no teor de FDN e redução no conteúdo de PB devido ao uso de IBE. Henrique & Bose (1992) não observaram efeito do uso do IBE sobre o conteúdo de NDT de silagem de capim elefante. Coan et al. (2001) não observaram alteração na digestibilidade *in vitro* da matéria seca devido ao uso de IBE em silagens de capim Tanzânia e Mombaça. Meeske et al. (1999) também não verificaram alteração na digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica de silagem pré-emurhecida devido ao uso de IBE.

O uso de APT elevou ($P < 0,05$) o teor NDT das silagens, aos 16 dias em relação ao tratamento 650SA, provavelmente em função de redução nos teores de FDA e LIG e aumento no conteúdo de EE.

3.4 Conclusões

A adoção da prática de pré-emurhecimento sob teores de matéria seca intermediários, 450 g kg⁻¹ MS, favoreceu as características qualitativas de fermentação e a composição química das silagens de Tifton 85.

O uso de APT não melhorou as características qualitativas de fermentação e a composição química das silagens. A utilização de IBE apresentou mínimos benefícios somente nas silagens contendo elevado teor de matéria seca, sendo ineficiente para forragens contendo alta umidade.

**4 EFEITO DO CONTEÚDO DE MATÉRIA SECA, INOCULANTE
BACTERIANO-ENZIMÁTICO OU ÁCIDO PROPIÔNICO SOBRE O PERFIL
MICROBIOLÓGICO, PARÂMETROS FÍSICOS E A ESTABILIDADE
AERÓBICA DA SILAGEM DE TIFTON 85 (*Cynodon* sp.)**

Resumo

Os objetivos desse trabalho foram avaliar os efeitos do pré-emurchecimento e da aplicação de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) ou ácido propiônico tamponado (APT) sobre o perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbica da silagem de Tifton 85 (*Cynodon* sp.) na forma de fardos grandes revestidos por filme plástico. Silagens com cinco níveis de matéria seca (250 g kg⁻¹, 350 g kg⁻¹, 450 g kg⁻¹, 550 g kg⁻¹ e 650 g kg⁻¹ MS – tratamentos 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente) foram confeccionadas na ausência de IBE. Outros três tratamentos consistiram de níveis de matéria seca (250 g kg⁻¹, 450 g kg⁻¹ e 650 g kg⁻¹ MS – tratamentos 6, 7 e 8, respectivamente) na presença de IBE, e um tratamento adicional, onde os fardos foram submetidos à pré-emurchecimento até atingir o maior nível de MS (650 g kg⁻¹ MS – tratamento 9), foi pulverizada uma solução contendo APT. Os tratamentos 4, 5, 7, 8 e 9, quando comparados aos tratamentos 1, 2, 3, e 6, apresentaram menores contagens de bactérias, e valores intermediários para atividade de água (Aa) e conteúdo de N-NH₃, e maiores valores para condutividade elétrica (CE), Aa/U e pH e melhor estabilidade aeróbica. Esses resultados sugerem que o aumento no conteúdo de MS da forragem reduziu a Aa levando a restrição no crescimento de bactérias e conseqüentemente redução na fermentação. O uso de IBE apresentou alguns efeitos positivos somente sobre.

o tratamento 7, principalmente aos 32 dias de estocagem, enquanto a adição de APT não apresentou vantagens.

**EFFECTS OF DRY MATTER CONTENT, BACTERIAL-ENZYMATIC
ADDITIVE OR PROPIONIC ACID ON MICROBIOLOGICAL PROFILE,
PHYSICAL PARAMETERS AND AEROBIC STABILITY OF TIFTON 85
(*Cynodon* sp.) SILAGE**

Summary

The objectives of this work were to study the effects of wilting and microbiological additive or buffered propionic acid (BPA) on the microbiological profile, physical parameters and aerobic stability of Tifton 85 (*Cynodon* sp.) silage stored in plastic wrapped squared bales. The treatments were: five forage dry matter levels (250, 350, 450, 550 and 650 g kg⁻¹ DM - treatments 1, 2, 3, 4, and 5, respectively), three forage dry matter levels (250, 450 and 650 g kg⁻¹ DM - treatments 6, 7, and 8, respectively) associated with bacterial-enzymatic additive (BEA) and wilted forage (650 g kg⁻¹ DM - treatment 9) sprayed with BPA. Treatments 4, 5, 7, 8 and 9 as compared to treatments 1, 2, 3, and 6 showed lower bacterial counts, intermediary values of water activity (Aw) and N-NH₃, and higher values of electrical conductivity (EC), Aw/moisture (M) and pH and higher aerobic stability. These results suggest the increase in forage dry matter decreased the Aw which inhibited microorganism growth and fermentation intensity. The BEA showed some positive effects on treatment 7, mainly 32 days of storage, whereas BPA addition showed no effect.

4.1 Introdução

Quantidades adequadas de substrato fermentescível (CHO's), poder tampão relativamente reduzido e porcentagem de matéria seca acima de 300 g kg⁻¹, são reconhecidas como características importantes para obtenção de padrões desejáveis de fermentação e conservação de forragens através da ensilagem (McDonald et al., 1991). Na

ensilagem de forragens tropicais deve-se considerar que as mesmas apresentam concentrações marginais de CHO's na matéria seca (inferior aos das gramíneas temperadas) e baixos teores de matéria seca, nos estádios de crescimento em que apresentam um bom valor nutritivo (McDonald et al., 1991; Vilela, 1998 e Umaña et al. 1991). Essas características colocam em risco o processo de conservação, com probabilidade de surgirem fermentações secundárias, resultando em maiores perdas de matéria seca (Vilela, 1998). Limitações dessa natureza podem ser parcialmente controladas pelo aumento na porcentagem de matéria seca, através do pré-emurchecimento, ou pela utilização de aditivos que contribuam para acelerar e estabilizar a fermentação, como no caso dos inoculantes bacterianos e enzimas. Essas técnicas têm sido bastante usadas com a finalidade de atenuar esses problemas, tanto da umidade quanto da concentração de açúcares, nos Estados Unidos e Europa.

Um importante aspecto a ser seguido, durante o processo de ensilagem é inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis (McDonald et al., 1991). Os microrganismos anaeróbicos (bactérias lácticas, Enterobactéria, *Clostridium* sp., algumas espécies de *Bacillus* e leveduras) iniciam seu crescimento e competem por substrato, após alcançada a condição de aneroiose no silo (McDonald et al., 1991). As alterações ocorridas nos primeiros dias após a ensilagem são críticas para o sucesso da fermentação subsequente. Se as condições são apropriadas, as bactérias lácticas vão rapidamente acidificar o meio, a uma extensão em que os microrganismos competidores não serão capazes de sobreviver, e o resultado final deverá ser uma silagem estável, com baixo pH. Se o pH não for reduzido rapidamente, os microrganismos indesejáveis (principalmente Enterobactérias, *Clostridium* sp. e leveduras) poderão ser capazes de competir pelos nutrientes, reduzindo as chances de obtenção de uma silagem estável. Dessa forma, a maneira mais efetiva de inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis é promovendo a fermentação láctica. Um método alternativo para inibição do crescimento de bactérias indesejáveis seria o de reduzir o conteúdo de matéria seca da forragem, pelo pré-emurchecimento antecedendo a ensilagem (McDonald et al., 1991). A redução na atividade de água (Aa) pode ter um efeito sinérgico adicional a queda no pH (Lindgren, 1999). As bactérias lácticas têm uma

alta tolerância relativa a condição de baixa umidade e são hábeis para dominar a fermentação em materiais ensilados com alto conteúdo de matéria seca. Os *Clostridium* sp. precisam de condições de umidade para crescer, e sua atividade é restrita se a forragem atingir conteúdos de matéria seca superiores a 300 g kg⁻¹ através do emurchecimento. Para silagem armazenada na forma de fardos grandes revestidos por lona plástica, 350 g kg⁻¹ MS, a atividade de *Clostridium* sp. foi inibida parcialmente, mas foi requerido um conteúdo de MS superior a 400 g kg⁻¹ MS para completa inibição (McDonald et al., 1991).

De acordo com Lindgren (1999) o pré-emurchecimento da forragem apresenta efeitos conflitantes no sucesso da ensilagem. O pré-emurchecimento reduz a quantidade de água transportada para o silo e a produção de efluentes. Essa técnica também é importante para aumentar a concentração de CHO's na fase líquida da forragem, resultando em melhor controle de microrganismos indesejáveis devido ao incremento na concentração de ácidos dessa fase. Entretanto, o pré-emurchecimento exerce efeito seletivo no crescimento de microrganismos contaminantes, uma vez que a demanda de água difere entre os microrganismos. A redução na Aa retarda a competição entre as Enterobactérias e *Clostridium* sp. Entretanto, a desidratação excessiva pode incrementar o crescimento de leveduras e fungos, microrganismos capazes de se desenvolver sob menores valores de Aa, que as bactérias.

Os inoculantes bacterianos são adicionados em silagens para estimular a fermentação láctica, resultando em uma rápida e intensiva produção de ácido láctico, acelerando a queda de pH, melhorando a preservação e minimizando perdas (Pitt, 1990 e Weinberg et al., 1995). A maioria dos inoculantes de silagens consistem de culturas viáveis de bactérias lácticas homofermentativas dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Pediococcus* (Pitt, 1990 e Mahanna, 1993).

Quando o silo é aberto e a silagem removida para o fornecimento aos animais, o ambiente que antes era anaeróbico, passa a condição de aeróbico. Sob essa condição, microrganismos que permaneceram dormentes na ausência de oxigênio, multiplicam-se, resultando na deterioração da silagem. Na prática, essa deterioração é geralmente

manifestada pelo aumento na temperatura e pelo aparecimento de fungos. A taxa de deterioração varia bastante entre silagens (McDonald et al., 1991). Algumas silagens apresentam pico de na temperatura poucas horas após a exposição ao ar, enquanto outras silagens permanecem estáveis na presença de oxigênio por vários dias ou até semanas.

A deterioração aeróbica das silagens é indesejável devido a grande perda de nutrientes associada com a mesma, resultando em baixo consumo voluntário do material, e até mesmo rejeição completa da silagem pelos animais (McDonald et al., 1991).

As silagens mais susceptíveis a deterioração aeróbica são ricas em carboidratos, como a silagem de milho, àquelas em que a fermentação foi restringida pelo uso de aditivos, e por silagens excessivamente pré-emurchecidas. McDonald et al. (1991) destacaram que apesar da literatura apontar que silagens com alto conteúdo de matéria seca apresentarem maior susceptibilidade à deterioração aeróbica, existem algumas evidências sugerindo que a deterioração é reduzida em silagens com conteúdo de matéria seca excedendo 500 g kg⁻¹ MS.

Os principais microrganismos responsáveis pela deterioração aeróbica são as leveduras e os fungos. Esses microrganismos estão presentes na própria silagem, ou seja, não se trata de oportunistas colonizando a massa após a exposição ao ar (McDonald et al., 1991). O crescimento dos fungos ocorre em seguida ao crescimento das leveduras, resultando em dois picos de temperatura, que podem ser detectados durante a deterioração aeróbica. O primeiro pico, que pode ocorrer dois a três dias após a exposição aeróbica, é causado pelas leveduras, enquanto o segundo pico de temperatura, ocorrendo três a quatro dias depois, pode ser atribuído aos fungos. Esses microrganismos também estão associados com um significativo aumento no pH, característico dos estágios avançados de deterioração.

Segundo Lindgren (1999) não existem aditivos eficientes para controlar à instabilidade aeróbica das silagens. Adição de ácido propiônico e ácido benzóico podem melhorar parcialmente a estabilidade. Os resultados dos inoculantes bacterianos são geralmente negativos em relação a estabilidade sob aerobiose. Algumas silagens bem fermentadas, confeccionadas com inoculante, com altos níveis de ácido lático, parecem

contrariamente estar sujeitas a rápida deterioração aeróbica. As silagens de gramíneas tropicais geralmente têm sua estabilidade aeróbica reduzida pelo uso de inoculante bacteriano-enzimático (Mühlbach, 2000; Veiga et al., 2000 e Balsalobre et al., 2001).

O ácido propiônico inibe a atividade aeróbica nas silagens, sendo utilizado como aditivo na prevenção da deterioração aeróbica das silagens (Pitt, 1990; McDonald et al., 1991).

Os objetivos desse estudo foram determinar se o pré-emurchecimento e o uso de aditivo bacteriano-enzimático ou ácido propiônico tamponado na ensilagem alterariam o perfil microbiológico, os parâmetros físico-químicos e a estabilidade aeróbica na silagem de Tifton 85 (*Cynodon* sp.).

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Condução do experimento

O experimento foi conduzido na Fazenda Água Comprida (Água Comprida/MG), localizada sob as coordenadas 19° 56' 45" S de latitude e 48° 02' 15" W de longitude. Essa região apresenta solos de textura muito argilosa, classificados como Latossolo Roxo Distrófico (Prado, 1997). De acordo com o sistema de Köppen, o clima da região pode ser classificado como Aw, isto é, clima tropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco. Apresenta precipitação média anual entre 1200 e 1500 mm e temperaturas médias entre 21 e 22 °C (Prado, 1997).

A área escolhida para colheita da forragem destinada a confecção das silagens foi uma gleba destinada a produção de feno, estabelecida em 1996, com Tifton 85 (*Cynodon* sp.). Essa área havia sido fertilizada previamente com 358 kg hectare⁻¹ (kg ha⁻¹) da fórmula 30-00-20 (N-P₂O₅- K₂O) logo após o último corte que antecedeu o ensaio, além do solo receber fertilização corretiva anual visando 30 ppm de P₂O₅, 75% de saturação por bases e nível de potássio em torno de 5% da capacidade de troca catiônica.

As silagens foram confeccionadas entre os dias 15 e 21 de fevereiro de 2000. As condições climáticas predominantes nesses dias foram satisfatórias, com temperatura média em torno de 26,5 °C e umidade relativa média do ar em torno de 73%.

A forragem foi colhida com idade fisiológica equivalente a 35 dias de crescimento vegetativo. O material foi ceifado com uma Segadora Condicionadora, marca CASE, modelo 8850 HP, equipada com condicionador de rolos de metal. O material foi submetido à pré-murcha visando obter níveis crescentes de matéria seca na ensilagem. O monitoramento do teor de matéria seca do material exposto no campo, foi realizado através de uso do forno de microondas. Quando o teor de matéria seca pretendido foi alcançado, o material foi picado (oito cm) e enfardado (Enfardadora, marca CLAAS, modelo Quadrant 1200 RC) na forma de fardos cúbicos (140 cm comprimento x 120 cm de largura x 70 cm de altura). Imediatamente, os fardos foram envolvidos (Embaladora, marca REKORD, modelo Q-Pack 120) com seis camadas de filme plástico (TRIOPLAST AB, modelo Triowrap, 75 cm x 0,0025 cm) com 50 % de sobreposição.

Os tratamentos consistiram de níveis crescentes de matéria seca (MS) associados ou não a presença de aditivo bacteriano-enzimático, arrançados num esquema fatorial 5 x 2 incompleto, com três repetições cada. Silagens com cinco níveis de amplitude do teor de matéria seca (200-300 g kg⁻¹, 300-400 g kg⁻¹, 400-500 g kg⁻¹, 500-600 g kg⁻¹ e 600-700 g kg⁻¹ MS) foram confeccionadas, na ausência de aditivo. Outros três tratamentos consistiram dos teores de matéria seca baixo, médio e alto (200-300 g kg⁻¹, 400-500 g kg⁻¹ e 600-700 g kg⁻¹ MS, respectivamente) na presença de aditivo bacteriano-enzimático comercial (Sil-All - ALLTECH INC.)

O inoculante utilizado apresentou os seguintes níveis de garantia declarados: 1,0 x 10⁹ unidades formadoras de colônias (UFC) de *Streptococcus faecium*/g; 1,0 x 10⁹ UFC de *Lactobacillus plantarum*/g; 1,0 x 10⁸ UFC de *Pediococcus acidilactici*/g e as enzimas hemicelulase, celulase e amilase. Dois litros e meio de solução a 5 g L⁻¹, foram aplicados por tonelada de forragem. Essa solução foi aspergida utilizando-se de um sistema de bomba de diafragma ligada a dois bicos aspersores acoplados à boca de recolhimento da enfardadeira, imediatamente antes ao enfardamento da forragem.

Em um tratamento adicional, fardos submetidos ao pré-emurchecimento, até atingir o maior nível de MS (600-700 g kg⁻¹ MS) foram pulverizados externamente com 0,011 mL por centímetro quadrado, de ácido propiônico tamponado, APT (Alfa-save – ALLTECH INC.), imediatamente antes do revestimento com filme plástico. Dessa forma, os tratamentos avaliados foram: 1) 200-300 g kg⁻¹ MS sem aditivo (250SA); 2) 300-400 g kg⁻¹ MS sem aditivo (350SA); 3) 400-500 g kg⁻¹ MS sem aditivo (450SA); 4) 500-600 g kg⁻¹ MS sem aditivo (550SA); 5) 600-700 g kg⁻¹ MS sem aditivo (650SA); 6) 200-300 g kg⁻¹ MS com aditivo (250CA); 7) 400-500 g kg⁻¹ MS com aditivo (450CA); 8) 600-700 g kg⁻¹ MS com aditivo (650CA); 9) 600-700 g kg⁻¹ MS com alfa-save (650APT).

4.2.2 Amostragem e preparo das amostras para determinações laboratoriais

Os fardos foram amostrados empregando-se um amostrador do tipo “core sampler” (50 cm de comprimento x 6 cm diâmetro) acoplado a uma moto-serra. Amostras foram tomadas imediatamente antes (zero hora) e aos 32, 90 e 180 dias após o momento em que ocorreu revolvimento dos fardos com filme plástico. Para cada momento de amostragem, foram utilizados três fardos por tratamento, tomando-se 12 sub-amostras por fardo para formação de uma amostra composta, representativa de cada fardo. Durante a coleta das amostras na fazenda, tomou-se o cuidado de esterilizar o amostrador e usar luvas durante o manuseio das amostras, com o intuito de evitar a contaminação externa. Após a coleta das amostras, os fardos foram descartados, pois perdiam a condição de anaerobiose e começavam a deteriorar. Dessa forma, em cada tempo de amostragem foram utilizados três fardos diferentes por tratamento.

As amostras compostas obtidas de cada fardo foram levadas para um laboratório, montado no local, homogeneizadas e fracionadas da seguinte forma:

- a) Uma primeira fração de 25 g de amostra foi misturada a 450 mL de água deionizada para obtenção de um extrato aquoso do qual foi realizada a determinação do pH com o uso de um potenciômetro, marca Digimed;
- b) Uma segunda fração de aproximadamente 250 g de amostra foi acondicionada em saco plástico e imediatamente armazenada em freezer (-4°C) para posterior determinação do teor de matéria seca (TMS), umidade (U), condutividade elétrica (CE) e o conteúdo de nitrogênio amoniacal (N-NH₃);
- c) Uma terceira fração de aproximadamente 100 g foi acondicionada em saco plástico, mantida sob refrigeração (geladeira) e imediatamente enviada para o Setor de Bactérias Oportunistas do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP (São Paulo/SP) para determinação do perfil bacteriológico das silagens. Essa determinação foi realizada apenas nas amostras obtidas dos fardos, imediatamente antes da vedação dos fardos, e aos 32 e 180 dias após a ensilagem;
- d) Uma quarta fração de aproximadamente 50 g foi acondicionada em saco de papel, mantida sob refrigeração (geladeira) e imediatamente enviada para o Laboratório de Fungos Toxicogênicos e Micotoxinas, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (São Paulo/SP) para determinação do perfil micológico das silagens. Esta determinação foi realizada apenas nas amostras obtidas dos fardos, imediatamente antes da vedação dos fardos e aos 32 e 180 dias após a ensilagem;
- e) Uma quinta fração, de aproximadamente 1 kg, foi acondicionada em um balde plástico, mantida a temperatura ambiente e usada para determinar a estabilidade aeróbica (EA) das silagens. Essa determinação foi realizada apenas nas amostras obtidas dos fardos aos 32, 90 e 180 dias após a ensilagem.

Nas amostragens de 90 e 180 dias de estocagem não foram amostrados os tratamentos: 350SA; 250CA e 650APT. Isso ocorreu devido o experimento ter sido planejado para que as avaliações tivessem duração de 32 dias e posteriormente decidiu-se coletar dados aos 90 e 180 dias após a confecção das silagens. Assim, os fardos

submetidos a esses tratamentos só permitiram avaliação até a amostragem de 32 dias pós-ensilagem.

As amostragens foram realizadas na Fazenda Água Comprida e as amostras, posteriormente, transportadas congeladas para o Laboratório de Bromatologia do Departamento de Produção Animal (DPA) da ESALQ/USP (Piracicaba/SP), onde foram realizadas as determinações laboratoriais. Entretanto, os fardos amostrados 90 e 180 dias foram transportados para DPA da ESALQ/USP (Piracicaba/SP) e ali mesmo amostrados.

4.2.3 Parâmetros avaliados e metodologias empregadas

Após o descongelamento à sombra, as amostras tomadas imediatamente antes (zero hora) e aos 32 e 180 dias, após a ensilagem foram utilizadas para determinação do teor de matéria seca (TMS), umidade (U), condutividade elétrica (CE) e o conteúdo de nitrogênio amoniacal (N-NH₃).

O teor de matéria seca (g kg⁻¹ MS) foi determinado em estufa de ar forçado (55°C), seguida de correção à 105°C. O teor de N-NH₃ (g kg⁻¹ N) foi determinado pela metodologia descrita por Chaney & Marlach (1962). A Umidade (U) foi calculada por diferença (1000-TMS). A condutividade elétrica (CE μs cm⁻¹) foi determinada por meio de um condutivímetro CA150 (MS Tecnopon Instrumentação), seguindo a metodologia descrita por Kraus et al. (1997).

As amostras enviadas para Setor de Bactérias Oportunistas do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP (São Paulo/SP), para contagem de bactérias foram submetidas à três meios de cultura: a) Agar Sangue em BHI (cultura em anaerobiose - ANAERO); b) Tryptic Soy Agar (cultura em aerobiose - AERO) e MacConkey (meio seletivo p/ "Enterobacteriaceae" - ENTERO).

Nas amostras enviadas para o Laboratório de Fungos Toxicogênicos e Micotoxinas, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (São Paulo/SP), para contagem, isolamento e identificação da microbiota fúngica, foi utilizada a metodologia descrita por Swanson et al. (1992). Nessas

amostras também foi determinada a atividade de água (Aa) através do medidor de atividade de água Aqualab CX2 (Decagon Devices, Inc. Pullman, Washington, USA).

A avaliação de perdas foi mensurada indiretamente através da estabilidade aeróbica, nas amostras coletadas aos 32, 90 e 180 dias após a ensilagem. O material foi colocado em balde plástico, imediatamente após a amostragem dos fardos, e mantido a temperatura ambiente, numa sala. As temperaturas das silagens e do ambiente foram monitoradas, tomando-as de 12 em 12 horas, ou seja, no início da manhã e final da tarde. Os parâmetros determinados foram: pico de temperatura ($^{\circ}\text{C}$); dias para atingir o pico de temperatura (dias); acúmulo de temperatura acima da temperatura ambiente ($^{\circ}\text{C}$), até 5 e 10 dias após a abertura dos fardos. A avaliação da estabilidade aeróbica seguiu a metodologia descrita por O'Kiely et al. (1999c).

4.2.4 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições, em esquema de parcelas subdivididas no tempo, sendo o fator da parcela os tratamentos (250SA, 350SA, 450SA, 550SA, 650SA, 250CA, 450CA, 650CA e 650APT) e as interações e o fator da subparcela o tempo (zero hora e 32, 90 e 180 dias). Além dos fatores foi incorporado ao modelo, como covariável, o conteúdo de matéria seca obtido nos fardos amostrados.

O modelo proposto foi analisado pelo PROC GLM do SAS (SAS, 1988) e os valores médios foram estimados pelo LSMEANS do mesmo sistema. Para comparações específicas de grupos de tratamentos, aplicou-se o teste F para contrastes, a partir do desdobramento dos graus de liberdade. Os objetivos foram comparar tratamentos com e sem aditivos, comparar o tratamento 650APT, individualmente, com os respectivos sem (650SA) e com (650CA) aditivo bacteriano-enzimático. Também foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros estudados, utilizando o mesmo pacote estatístico.

4.3 Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta a evolução da contagem de bactérias ao longo do tempo de estocagem. A contagem de bactérias nas silagens foi realizada em três meios de cultura seletivos para microorganismos aeróbios (AERO), anaeróbios (ANAERO) e enterobactérias (ENTERO).

No caso de AERO, houve efeito significativo do teor de MS ($P < 0,05$), porém a interação teor de MS x tempo de estocagem não foi significativa ($P > 0,05$), por isso foi calculada a média geral por tratamento (Tabela 1). Os valores de AERO foram inferiores para os tratamentos contendo maior teor de matéria seca (650SA, 650CA e 650APT) e superiores para os tratamentos com maior umidade (250CA e 350SA), com exceção do tratamento 250SA. Esse comportamento de AERO contraria a literatura, segundo a qual há tendência de aumentos na contagem de AERO com o aumento do conteúdo de MS, devido a maior aeração do material, uma vez que compactação fica dificultada (McDonald et al., 1991). Entretanto, quando se avalia a silagem confeccionada na forma de fardos grandes, a pressão elevada exercida pelo equipamento, minimiza o risco de compactação insatisfatória. O crescimento desse tipo de bactérias é indesejável por estarem relacionadas com a deterioração do material (McDonald et al., 1991). O uso de IBE aumentou a contagem de AERO no menor conteúdo de MS (250 g kg^{-1}), porém não apresentou efeito nos demais conteúdos de MS. Entretanto, pelo teste de contrastes, aplicado sobre a média dos teores de MS, o uso de IBE não alterou ($P > 0,05$) a contagem de AERO. A utilização de APT também não alterou a contagem de AERO ($P > 0,05$) em relação aos tratamentos 650SA e 650CA, pelo teste de contrastes, contrariando a literatura que aponta redução no crescimento microbiano com o uso de APT (Pitt, 1990). Nos tratamentos sem IBE, houve tendência de redução na contagem de AERO ao longo do tempo, com exceção do tratamento 650SA. Nos tratamentos contendo IBE houve aumento na contagem entre zero hora e 32 dias, e redução entre 32 e 180 dias.

Tabela 1. Médias dos quadrados mínimos da contagem de bactérias (Log UFC g⁻¹ silagem) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes de teores de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático e ácido propiônico tamponado (APT).

	TMS g kg ⁻¹ MS									Contrastes		
	Sem Inoculante					Com Inoculante			APT	SAxCA	APT×SA	APT×CA
	250	350	450	550	650	250	450	650	650			
Aeróbios												
0 hora	7,96	8,21	7,73	8,55	6,79	7,84	7,72	6,92	7,37			
32 dias	7,07	7,69	7,63	8,13	7,07	7,93	7,96	7,51	6,43			
180 dias	5,69	ND ²	7,10	6,80	6,65	ND	6,10	6,46	ND			
Média	6,51 b ¹	7,95 a	7,49 ab	7,82ab	6,50 b	7,88 a	7,26 ab	6,96 b	6,90 b	ns ³	ns	ns
Anaeróbios												
0 hora	8,77 ab	8,95 ab	9,19 a	8,37ab	6,52 d	8,42 ab	7,85 bc	6,62 cd	6,77 cd	* ⁴	ns	ns
32 dias	8,06 a	8,08 a	7,78 ab	7,89	7,17 bc	7,67 ab	8,31 a	7,61 ab	6,67 c	ns	*	*
180 dias	5,63 a	ND	6,53 a	6,41 a	5,83 a	ND	5,99 a	5,69 a	ND	ns	ND	ND
Enterobactérias												
0 hora	7,36	7,25	7,61	6,88	6,22	7,70	6,46	6,29	5,76			
32 dias	3,16	2,77	1,37	1,60	4,42	4,05	2,08	3,89	4,11			
180 dias	0,00	ND	0,00	1,13	0,92	ND	1,20	0,00	ND			
Média	3,51 a	5,01 a	2,99 a	3,20 a	3,85 a	5,88 a	3,24 a	3,39 a	4,93 a	ns	ns	ns

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo LSmeans (P> 0,05).

²ND= não determinado; ³ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05); ⁴*= significativo pela análise de contrastes (P<0,05).

O uso de APT levou a redução na contagem AERO, ao longo do tempo. Esse comportamento de evolução temporal, provavelmente, está relacionado às condições mais restritivas para o crescimento dos microrganismos aos 180 dias, com menores valores de pH e Aa (McDonald et al., 1991).

A contagem de ANAERO apresentou menores valores ($P < 0,05$) para o maior teor de MS (650SA, 650CA, 650APT) no tempo zero hora e 32 dias, com exceção do tratamento 650CA aos 32 dias (Tabela 1). A contagem de ANAERO se apresentou negativamente correlacionada com o pH ($r = -0,8614$) e Aa/U ($r = -0,7029$) aos 32 dias. A umidade, por sua vez, se apresentou negativamente correlacionada com o pH ($r = -0,7683$) e a Aa/U ($r = -0,9303$). Com isso, o aumento no conteúdo de MS restringiu o crescimento de microrganismos anaeróbicos (McDonald et al., 1991). Aos 180 dias não houve diferença ($P > 0,05$) na contagem de ANAERO entre os tratamentos, provavelmente devido às condições restritivas de meio em todos os tratamentos (McDonald et al., 1991). Pela análise de contrastes, o uso de IBE reduziu ($P < 0,05$) a contagem de ANAERO à zero hora, no entanto, não alterou ($P > 0,05$) esse parâmetro aos 32 e 180 dias após a ensilagem. O uso de APT não alterou ($P > 0,05$), a contagem de ANAERO, em relação aos tratamentos de mesmo conteúdo de MS (650SA e 650CA) à zero hora, porém reduziu ($P < 0,05$) esse parâmetro na avaliação aos 32 dias, corroborando com a literatura (Pitt, 1990). Nos tratamentos sem o uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) houve tendência de redução na contagem de ANAERO ao longo do tempo, com exceção do tratamento 650SA. Nos tratamentos com uso de IBE houve aumento na contagem entre zero hora e 32 dias e redução entre 32 e 180 dias. Isso demonstra que o uso de IBE favoreceu o crescimento microbiano nas silagens num primeiro momento, e posteriormente, houve redução no número de microrganismos provavelmente devido condições restritivas do meio (pH, substrato, Aa). A utilização de APT levou a redução na contagem ANAERO ao longo do tempo, mostrando que o APT restringiu o crescimento destes microrganismos. A avaliação da contagem de ANAERO, em conjunto, sem a identificação dos microrganismos é passível de distorções de interpretação, pois fazem parte desse grupo, tanto bactérias de crescimento desejável, como as bactérias lácticas, quanto bactérias de

crescimento indesejável, como *Clostridium* sp. e as Enterobactérias (McDonald et al., 1991).

Na contagem relativa às ENTERO não houve efeito significativo ($P>0,05$) do teor de MS e a interação do teor de MS x tempo de estocagem, também não foi significativa ($P>0,05$), por isso foi calculada a média geral por tratamento (Tabela 1). Pela análise de contrastes, não houve alteração na contagem de ENTERO devido ao uso de IBE ($P>0,05$). Tanja & Juha (1999) também não verificaram alteração nas contagens de Enterobactérias devido o uso de inoculante bacteriano. Meeske et al. (1999) observaram menor contagem para enterobactérias na silagem pré-emurchecida de *Digitaria eriantha* (388 g kg⁻¹ MS) devido ao uso de IBE. O uso de APT também não alterou ($P>0,05$) a contagem de ENTERO em relação os tratamentos 650SA e 650CA. As contagens médias encontradas sofreram grande redução ao longo dos tempos de estocagem, havendo praticamente ausência de ENTERO aos 180 dias. Este fato caracteriza as condições restritivas ao crescimento de ENTERO, em praticamente todos os tratamentos, nos menores conteúdos de matéria seca, provavelmente devido à redução do pH; e nos maiores conteúdos de matéria seca, devido a redução da Aa (McDonald et al., 1991). Meeske et al. (1999) também observaram redução na contagem de ENTERO ao longo do tempo de armazenamento, havendo ausência após 44 dias de ensilagem. O crescimento de Enterobactérias é indesejável uma vez que esses microrganismos fermentam carboidratos a ácido acético, e também apresentam habilidade para degradar aminoácidos. A contagem de ENTERO não esteve significativamente ($P>0,05$) correlacionada ao conteúdo de nitrogênio amoniacal, em nenhum dos tempos de armazenagem estudados. Dessa forma, o aumento no nitrogênio amoniacal ao longo do tempo não pode ser atribuído a ação destes microrganismos. Um possível aumento na população de *Clostridium* sp., provavelmente foi responsável pelos incrementos no conteúdo de nitrogênio amoniacal, a medida que foi menor o conteúdo de MS (250SA e 250CA), devido às condições não restritivas de meio (pH e Aa).

As Tabelas 2, 3 e 4 apresentam as contagens de leveduras e fungos ao longo do tempo de estocagem. Os fungos que cresceram foram isolados e identificados nos seguintes

grupos: *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp., *Penicillium* sp., dematiáceos e fungos não-esporulados (FNE). Os teores de MS estudados não influenciaram ($P>0,05$) as contagens dos grupos de fungos e leveduras. Como as interações entre teor de MS x tempo de estocagem não foram significativas ($P>0,05$), foram calculadas as médias gerais por tratamentos. Pela análise de contrastes, não houveram alterações nas contagens de leveduras e fungos devido ao uso de IBE ($P>0,05$). O uso de APT também não alterou ($P>0,05$) esses parâmetros em relação os tratamentos 650SA e 650CA, pela análise de contrastes. A contagem de *Geotrichum* esteve positivamente correlacionada ao pH ($r=0,7012$), Aa ($r=0,7461$) e Aa/U ($r=0,8039$) aos 180 dias. O pH e Aa apresentaram correlações positivas com a umidade ($r=0,8467$ e $r=0,8047$, respectivamente) nesse tempo de estocagem. O que pôde ser caracterizado foi uma alteração na população de fungos ao longo do tempo. Leveduras, *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. apresentaram contagem praticamente nula à zero hora e ausência nos demais tempos estocagem (32 e 180 dias). *Fusarium* sp., dematiáceos e FNE apresentaram baixa contagem à zero hora e ausência nos demais tempos de estocagem. A contagem de *Geotrichum* sp. foi nula à zero hora e apresentou valores consideráveis posteriormente aos 32 e 180 dias. Dessa forma, no primeiro momento (zero hora) houve ausência de *Geotrichum* sp. e mínima contagem dos demais. Nos demais tempos de estocagem (32 e 180 dias) houve crescimento de *Geotrichum* sp. e ausência dos demais grupos. Umaña et al. (1991) e Meeske et al. (1999) observaram redução nas contagens de leveduras e fungos com o aumento do tempo de estocagem das silagens. Altas contagens de fungos e leveduras são indesejáveis pelo fato desses microrganismos serem os principais responsáveis pela deterioração aeróbica das silagens, após a abertura do silo (McDonald et al., 1991). Os gêneros de fungos isolados nesse estudo estão de acordo com a ocorrência em silagens, concordando com a literatura (McDonald et al., 1991). Esse comportamento do gênero *Geotrichum* demonstrou que esses fungos são mais tolerantes as condições restritivas de meio ($<Aa$) que os demais gêneros isolados. Geralmente o crescimento de leveduras é restringido por valores de Aa inferiores a 0,88 e dos fungos 0,80 (Leitão, 1997), entretanto pelos valores de Aa verificados no presente

Tabela 2. Médias dos quadrados mínimos da contagem de fungos (Log UFC g⁻¹ silagem) de silagens de Tifton 85 pré-emurhecidas sob níveis crescentes de teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático e ácido propiônico tamponado (APT).

	TMS g kg ⁻¹ MS											
	Sem Inoculante					Com Inoculante			APT	contrastes		
	250	350	450	550	650	250	450	650	650	SAxCA	APTxSA	APTxCA
<i>Leveduras</i>												
0 hora	0,00	0,00	1,34	1,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
32 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
180 dias	0,00	ND ²	0,00	0,00	0,00	ND	0,00	0,00	ND			
Média	0,00 a ¹	0,00 a	0,44 a	0,44 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	ns ³	ns	ns
<i>Aspergillus sp.</i>												
0 hora	2,43	1,43	0,00	0,00	2,77	0,00	2,00	0,00	0,00			
32 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
180 dias	0,00	ND	0,00	0,00	0,00	ND	0,00	0,00	ND			
Média	0,81 a	0,67 a	0,00a	0,00 a	0,92 a	0,00 a	0,67 a	0,00 a	0,00 a	ns	ns	ns
<i>Fusarium sp.</i>												
0 hora	1,60	1,16	3,77	3,82	2,50	2,34	0,00	2,22	2,51			
32 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
180 dias	0,00	ND	0,00	0,00	0,00	ND	0,00	0,00	ND			
Média	0,39 a	0,58 a	1,25 a	1,27 a	0,83 a	1,17 a	0,00 a	0,74 a	1,26 a	ns	ns	ns

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo LSmeans (P> 0,05).

²ND= não determinado; ³ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05).

Tabela 3. Médias dos quadrados mínimos da contagem de fungos (Log UFC g⁻¹ silagem) de silagens de Tifton 85 pré-emurhecidas sob níveis crescentes de teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático e ácido propiônico tamponado (APT).

	TMS g kg ⁻¹ MS											
	Sem Inoculante					Com Inoculante			APT	contrastes		
	250	350	450	550	650	250	450	650	650	SAxCA	APTxSA	APTxC
	A											
<i>Geotrichum sp.</i>												
0 hora	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
32 dias	8,22	5,97	3,43	3,78	3,71	2,85	6,34	6,30	4,40			
180 dias	4,31	ND ²	2,34	5,17	3,93	ND	4,97	8,25	ND			
Média	4,18 a ¹	2,98 a	1,92 a	2,98 a	2,54 a	1,43 a	3,77 a	4,85 a	2,20 a	ns ³	ns	ns
<i>Penicillium sp.</i>												
0 hora	0,00	0,00	0,00	1,34	1,34	0,00	0,00	0,00	0,00			
32 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
180 dias	0,00	ND	0,00	0,00	0,00	ND	0,00	0,00	ND			
Média	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,44 a	0,44 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	ns	ns	ns

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo LSmeans (P> 0,05).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05).

Tabela 4. Médias dos quadrados mínimos da contagem de fungos (Log UFC g⁻¹ silagem) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes de teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático e ácido propiônico tamponado (APT).

	TMS g kg ⁻¹ MS											
	Sem Inoculante					Com Inoculante			APT	contrastes		
	250	350	450	550	650	250	450	650	650	SAxCA	APTxSA	APTxC
	A											
Dematiáceos												
0 hora	2,34	3,98	1,34	2,98	0,00	1,16	3,43	1,34	2,57			
32 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
180 dias	0,00	ND	0,00	0,00	0,00	ND	0,00	0,00	ND			
Média	0,78 a	1,99 a	0,44 a	0,99 a	0,00 a	0,58 a	1,14 a	0,44 a	1,28 a	ns ³	ns	ns
Fungos não esporulados												
0 hora	0,00	3,82	0,00	1,34	1,34	0,00	2,67	1,77	2,49			
32 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
180 dias	0,00	ND	0,00	0,00	0,00	ND	0,00a	0,00	ND			
Média	0,00 a	1,91 a	0,00 a	0,44 a	0,44 a	0,00 a	0,88 a	0,59 a	1,25 a	ns	ns	ns

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo LSmeans (P> 0,05).

²ND= não determinado; ³ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05).

trabalho há grande variação entre os gêneros de fungos quanto a tolerância a baixos valores de Aa. Em condições onde os valores Aa ($<0,80$) supostamente limitariam o crescimento de fungos, houve crescimento, e o oposto também ocorreu. Apesar do pré-emurchecimento e uso de IBE não terem alterado as contagens de leveduras e fungos, na literatura existem relatos de alteração nas contagens desses microrganismos, pela adoção dessas práticas. O'kiely et al. (1999c) e Wyss (1999b) observaram aumento na contagem de leveduras devido ao pré-emurchecimento de gramíneas temperadas. Umaña et al. (1991) também verificaram incremento na contagem de leveduras e fungos devido ao pré-emurchecimento. Meeske et al. (1999) observaram menores contagens para leveduras e fungos na silagem pré-emurchecida de *Digitaria eriantha* ($388 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$), devido ao uso de IBE. Já Tanja & Juha (1999) não verificaram alteração nas contagens de leveduras e fungos devido ao uso de inoculante bacteriano.

A condutividade elétrica (CE) sofreu incremento no intervalo de zero a 32 dias de armazenamento, a partir da confecção das silagens; no entanto, decresceu de 32 para 180 dias (independente do uso de IBE e APT). Como a interação entre teor de MS x tempo de amostragem não foi significativa ($P>0,05$) foi calculada a média geral por tratamento (Tabela 5). Pela média geral, os tratamentos com maiores conteúdos de MS (550 e $650 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$) apresentaram maiores valores ($P<0,05$) para CE, demonstrando que houve maior lise celular para os maiores conteúdos de MS (Balsalobre et al., 2001). O uso de IBE reduziu ($P<0,05$) a CE apenas no nível intermediário de MS ($450 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$), entretanto, pela análise das médias dos teores de MS, o uso de IBE não alterou ($P>0,05$) a CE. A utilização de APT não alterou ($P>0,05$) a CE, em relação ao tratamento 650SA, sendo superior ($P<0,05$) ao tratamento 650CA, pela análise de contrastes.

A atividade de água (Aa) apresentou comportamento semelhante à CE ao longo do tempo, para as silagens não inoculadas (Tabela 5). Inclusive a CE esteve correlacionada à Aa, à zero hora ($r=-0,7114$) e aos 180 dias ($r=-0,7516$). Nas silagens tratadas com IBE e APT houve tendência de aumento da Aa ao longo do tempo.

Tabela 5. Médias dos quadrados mínimos da condutividade elétrica (CE) e Atividade de água (Aa) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes de teores de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático e ácido propiônico tamponado (APT).

	TMS g kg ⁻¹ MS											
	Sem Inoculante					Com Inoculante			APT	contrastes		
	250	350	450	550	650	250	450	650	650	SAxCA	APT×SA	APT×CA
CE												
(μs cm ⁻¹)												
0 hora	711	803	896	1147	997	688	743	866	1058			
32 dias	1120	1041	1134	1200	1177	1078	1006	1100	1230			
180 dias	781	ND ²	677	940	921	ND	760	789	ND			
Média	871 c ¹	922 ab	902 b	1096 a	1032 a	883 c	836 c	918 ab	1144 a	ns ³	ns	* ⁴
Aa												
0 hora	0,82 ab	0,86 ab	0,77 ab	0,63 b	0,69 ab	0,88 a	0,76 ab	0,70 ab	0,69 ab	ns	ns	ns
32 dias	0,95 a	0,94 ab	0,91 abc	0,85 abc	0,81 c	0,96 a	0,86 abc	0,82 bc	0,80 c	ns	ns	ns
180 dias	0,70 a	ND	0,38 b	0,41 b	0,38 b	ND	0,86 a	0,90 a	ND	*	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo LSmeans (P > 0,05).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05).

⁴*= significativo pela análise de contrastes (P<0,05).

Quanto ao efeito dos teores de MS sobre a Aa, à zero hora, praticamente não houve diferença entre tratamentos, entretanto na avaliação aos 32 dias, as silagens com o menor conteúdo de MS ($250 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$) apresentaram os maiores valores ($P < 0,05$) de Aa. Pela análise de contrastes, o uso de IBE ou APT não alterou ($P > 0,05$) os valores da Aa até 32 dias pós-ensilagem. Na avaliação aos 180 dias, para as silagens sem IBE, o menor nível de matéria seca ($250 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$) apresentou valor superior ($P < 0,05$) ao dos demais, que não diferiram entre si. Nas silagens inoculadas não houve redução na Aa com o incremento do teor de MS, e os valores apresentados são superiores aos valores médios verificados para os respectivos teores de MS, na ausência de IBE. Assim, pela análise de contrastes, a Aa foi aumentada ($P < 0,05$) pelo uso de IBE. O Aa esteve positivamente correlacionada com a umidade aos 32 dias ($r = 0,7850$) e aos 180 dias ($r = 0,8047$) de estocagem e ao pH ($0,7855$) aos 180 dias. Dessa forma, o incremento de conteúdo de MS reduziu a Aa nas silagens, concordando com os relatos presentes na literatura (McDonald et al., 1991 e Leitão, 1997). A aplicação de IBE levou a incrementos nos valores finais de Aa (180 dias), criando condições mais favoráveis ao crescimento de microrganismos indesejáveis. A Aa forneceu uma indicação segura do teor de água livre do alimento, sendo essa a única forma de água possível de utilização por parte dos microrganismos. No entanto, o comportamento desses frente à Aa é extremamente variável, dependendo da espécie ou cepa microbiana considerada, do substrato na qual se encontra e da relação entre a Aa e os outros fatores intrínsecos ou extrínsecos (Leitão, 1997). As bactérias, leveduras e fungos normalmente necessitam de valores de Aa superiores a 0,9, 0,88 e 0,80, respectivamente, para que haja crescimento satisfatório (Leitão, 1997). Entretanto, esses limites não foram respeitados no presente estudo. É importante destacar que Aa esteve positivamente correlacionada às contagens de *Geotrichum* ($r = 0,7461$) aos 180 dias depois da ensilagem. Leitão (1997) destacou que alimentos com valores de Aa inferiores a 0,6 estariam livres da possibilidade de deterioração microbiana, embora não significando a necessária eliminação dos microrganismos contaminantes (Leitão, 1997). Dessa forma, a presença de microrganismos, sob baixos valores Aa, não significa que os mesmos estejam ativos.

O teor de umidade das silagens foi calculado com intuito de permitir evidenciar a relação Aa/U e determinar as correlações do conteúdo de umidade com os outros parâmetros avaliados (Tabela 6). A relação Aa/U apresentou comportamento semelhante ao da Aa. Para as silagens não inoculadas aumentou entre zero e 32 dias e reduziu posteriormente. Já para as silagens inoculadas, essa relação aumentou entre zero e 180 dias. Quanto ao efeito dos teores de MS sobre a Aa/U, à zero hora, o tratamento 250SA apresentou valor inferior ($P < 0,05$) aos tratamentos 650SA e 650APT, sendo os demais tratamentos similares. Nesse primeiro tempo de estocagem, pela análise de contrastes, não houve efeito ($P > 0,05$) do uso de IBE ou APT. A Aa/U apresentou correlação negativa ($r = -0,8519$) com o conteúdo de umidade à zero hora, entretanto, na avaliação aos 32 dias, as silagens de baixo conteúdo de MS (250 e 350 g kg⁻¹ MS) apresentaram menores valores ($P < 0,05$) para a relação Aa/U que as silagens de maior conteúdo de MS (650 g kg⁻¹ MS). O uso de IBE não afetou ($P < 0,05$) esse parâmetro aos 32 dias, entretanto, o tratamento 650APT apresentou valor superior ($P < 0,05$) ao tratamento 650CA. A Aa/U apresentou correlação negativa com o conteúdo de umidade ($r = -0,9303$) e positiva com o pH ($r = 0,8138$) aos 32 dias de estocagem. Na avaliação aos 180 dias, não houve efeito ($P > 0,05$) da presença de IBE sobre a relação Aa/U. Aos 180 dias de estocagem a relação Aa/U esteve positivamente correlacionada com a Aa ($r = 0,9484$), CE ($r = 0,7663$) e pH ($r = 0,8174$). Os valores verificados para esta relação demonstraram que apesar do aumento no conteúdo de MS ter levado a menores valores de Aa, esse fato não correspondeu a uma redução na relação entre Aa e o conteúdo de umidade da forragem, pelo contrário, foi aumentada.

A deterioração aeróbica das silagens é indesejável devido a grande perda de nutrientes associada com a mesma, resultando em baixo consumo do material e até mesmo rejeição completa da silagem pelos animais (McDonald et al., 1991). As perdas após a abertura do silo estão associadas ao manejo imposto ao silo, entretanto a extensão de deterioração do material está associada à estabilidade aeróbica (EA) da silagem (Balsalobre et al., 2001).

Tabela 6. Médias dos quadrados mínimos do conteúdo de umidade (U) e da relação atividade de água e a umidade (Aa/U) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes de teor de matéria seca submetidas, ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático e ácido propiônico tamponado (APT).

	TMS g kg ⁻¹ MS											
	Sem Inoculante					Com Inoculante			APT	contrastes		
	250	350	450	550	650	250	450	650	650	SAxCA	APT×S	APT×CA
	A											
Umidade (g kg ⁻¹ MO)												
0 hora	743,1a ¹	676,4a	558,3b	499,6bc	358,0d	740,4a	529,9b	393,5cd	322,4d	ns ³	ns	* ⁴
32 dias	713,7a	662,4ab	555,4bc	470,7cd	369,9de	746,6a	539,3c	458,3cd	334,2e	ns	ns	*
180 dias	742,4a	ND ²	579,4b	460,1c	350,8d	ND	533,7bc	437,4cd	ND	ns	ND	ND
Aa/U												
0 hora	0,0011c	0,0013bc	0,0014bc	0,0013bc	0,0019ab	0,0012bc	0,0014abc	0,0018abc	0,0022a	ns	ns	ns
32 dias	0,0013c	0,0014c	0,0017bc	0,0018bc	0,0022ab	0,0023c	0,0016c	0,0018bc	0,0024a	ns	ns	*
180 dias	0,0009b	ND	0,0006b	0,0009b	0,0011b	ND	0,0016a	0,0020a	ND	*	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo LSmeans (P > 0,05).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05).

⁴*= significativo pela análise de contrastes (P<0,05).

MO = matéria original.

Na Tabela 7 estão os dados referentes ao pico de temperatura. Houve tendência de redução nos picos de temperatura entre 32 e 90 dias, e aumento entre 90 e 180 dias de estocagem, comportamento semelhante ao apresentado pela temperatura ambiente. Harrison et al. (1999) verificaram que o incremento da temperatura ambiente (15, 25 e 35°C) apresentou efeito negativo sobre a EA da silagem de milho, resultando em menor tempo para perda da estabilidade e aumento da temperatura média das silagens. Nos primeiros momentos de avaliação (32 e 90 dias), foram observados maiores picos de temperatura para os tratamentos com o menor teor de MS (250SA e 250CA). Aos 180 dias, o maior pico de temperatura foi observado para o tratamento 450SA. Pela análise de contrastes o uso de IBE não alterou ($P>0,05$) os picos de temperatura das silagens aos 32 e 90 dias, no entanto, reduziu ($P<0,05$) esses valores aos 180 dias. O pico de temperatura (°C), aos 32 dias, apresentou correlação positiva com o conteúdo de umidade ($r=0,7548$) e N-NH₃ ($r=0,8420$), confirmando os maiores valores para as silagens mais úmidas. Aos 180 dias, o pico de temperatura em (°C) foi positivamente correlacionado com o conteúdo de umidade ($r=0,9015$), Aa ($r=0,8102$) e contagem de *Geotrichum* (0,6818). O número de dias necessários para alcançar o pico de temperatura aumentou entre 32 e 90 dias, e reduziu posteriormente entre 90 e 180 dias. Esse comportamento também pode ser explicado pelo comportamento da temperatura ambiente que foi similar. Dessa forma, as silagens apresentaram maior estabilidade aos 90 dias quando a temperatura ambiente foi mais amena. Como a interação teor de MS x tempo de estocagem não foi significativa ($P>0,05$) foi calculada a média geral por tratamento. Os tratamentos 550SA e 450CA apresentaram os maiores tempos para ocorrer pico de temperatura, demonstrando efeito positivo do uso de IBE nessa amplitude de teor de MS. No entanto, pela análise de contrastes, o uso de IBE ou APT não alterou ($P>0,05$) esse parâmetro para a média dos teores de MS estudados. O tempo necessário para atingir o pico de temperatura apresentou correlação positiva com o conteúdo de umidade ($r=0,7947$), pH ($r=0,7590$) e pico de temperatura em °C ($r=0,7864$) aos 180 dias após a ensilagem.

Tabela 7. Médias dos quadrados mínimos dos Picos de Temperatura medidos durante a determinação da estabilidade aeróbica de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes de teor de matéria seca submetidas, ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático e ácido propiônico tamponado (APT).

	TMS g kg ⁻¹ MS											
	Sem Inoculante					Com Inoculante			APT	contrastes		
	250	350	450	550	650	250	450	650	650	SAxCA	APTxSA	APTxCA
Pico Temperatura												
(°C)												
32 dias ²	35,3 ab ¹	34,7 b	30,7 bc	31,7 bc	32,7 bc	40,0 a	29,3 c	30,3 bc	29,0 c	ns ⁶	ns	ns
90 dias ³	25,7 a	ND ⁵	23,7 b	22,7 b	23,0 b	ND	23,0 b	23,3 b	ND	ns	ND	ND
180 dias ⁴	23,0 b	ND	26,0 a	24,7 ab	24,7 ab	ND	24,0 ab	25,0 ab	ND	* ⁷	ND	ND
Pico Temperatura												
(dias)												
32 dias ²	4,2	4,3	4,5	7,2	5,5	4,0	7,7	3,3	6,5			
90 dias ³	8,2	ND	7,5	8,5	5,5	ND	9,5	6,5	ND			
180 dias ⁴	7,2	ND	4,0	5,5	4,3	ND	3,8	4,8	ND			
Média	6,5 ab	4,3 b	5,3 b	7,0 a	5,1 a	4,0 b	7,0 a	4,9 b	6,5 ab	ns	ns	ns

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo LSmeans (P > 0,05).

²Média da temperatura ambiente (18 a 28/03/2000) = 25,5°C.

³Média da temperatura ambiente (18 a 28/05/2000) = 21,0°C.

⁴Média da temperatura ambiente (18 a 28/08/2000) = 23,5°C.

⁵ND= não determinado; ⁶ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05); ⁷*= significativo pela análise de contrastes (P<0,05).

A Tabela 8 apresenta a soma de graus acumulados acima da temperatura ambiente, entre 0-5 dias e 0-10 dias de exposição. Os valores alcançados reduziram ao longo do tempo, provavelmente devido a variação da temperatura ambiente e maior estabilidade das silagens. Para o parâmetro temperatura acumulada (graus) entre zero e cinco dias de exposição para silagem amostrada após 32 dias, podem ser divididas em dois grupos. Um primeiro grupo com os maiores acúmulos de temperatura composto por 250SA, 250CA, 350SA e 450SA. Um segundo grupo com menores acúmulos de temperatura composto por 450CA, 550SA, 650SA, 650CA e 650APT. Demonstrando a efetividade do uso de IBE para o teor intermediário de MS, 450 g kg⁻¹ MS. Nos demais tempos de estocagem não houveram efeitos de tratamentos. Pela análise de contrastes, considerando à média dos teores de MS, o uso de IBE não alterou ($P>0,05$) esse parâmetro à zero hora, 32 e 180 dias de estocagem. O uso de APT aumentou ($P<0,05$) o acúmulo de temperatura aos 32 dias. Esse parâmetro apresentou correlação positiva com o conteúdo de umidade ($r=0,8329$), pico de temperatura em °C ($r=0,8782$), Aa ($r=0,7322$) e o conteúdo de nitrogênio amoniacal ($r=0,7526$) aos 32 dias. Para o parâmetro temperatura acumulada, entre zero e dez dias de exposição, realizada aos 32 dias após a ensilagem, as silagens podem ser divididas em dois grupos. Um primeiro grupo com maiores acúmulos de temperatura composto por 250SA, 250CA e 350SA, e o segundo grupo com menores acúmulos de temperatura composto por 450SA, 450CA, 550SA, 650SA, 650CA e 650APT. Pela análise de contrastes, esse parâmetro não foi alterado ($P>0,05$) pelo uso, de IBE e APT, aos 32 dias de estocagem. Durante esse período de estocagem, houve correlação positiva com o conteúdo de umidade ($r=0,8455$), nitrogênio amoniacal ($r=0,8139$), Aa ($r=0,6993$), pico de temperatura em °C ($r=0,9235$), e graus acumulados de 0-5 dias ($r=0,9635$) e negativa com Aa/U ($r=-0,6943$). Na avaliação ocorrida aos 90 dias não houve efeito de tratamentos. Uso de IBE não alterou ($P>0,05$) esse parâmetro durante 90 dias de estocagem. Na avaliação ocorrida aos 180 dias o tratamento 450SA apresentou média superior aos demais, e o uso de IBE reduziu ($P<0,05$) o acúmulo de temperatura, havendo correlação positiva com os graus acumulados entre 0-5 dias ($r=-0,7536$). Concluindo, houve uma tendência de

Tabela 8. Médias dos quadrados mínimos das somas de temperatura acumuladas acima da temperatura ambiente, medidas durante a determinação da estabilidade aeróbica de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes de teores matéria seca submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático e ácido propiônico tamponado (APT).

	TMS g kg ⁻¹ MS											
	Sem Inoculante					Com Inoculante			APT	contrastes		
	250	350	450	550	650	250	450	650	650	SAxCA	APT×SA	APT×CA
Temp. acum. (°C)												
0-5 dias												
32 dias ²	18,9 a ¹	18,2 a	8,7 a	0,7 c	6,4 bc	23,2 a	2,4 bc	6,8 bc	6,8 bc	ns ⁶	* ⁷	*
90 dias ³	1,7 a	ND ⁵	2,0 a	0,8 a	1,8 a	ND	0,5 a	3,3 a	ND	ns	ND	ND
180 dias ⁴	0,0 a	ND	1,5 a	0,2 a	0,8 a	ND	0,3 a	0,1 a	ND	ns	ND	ND
Temp. acum. (°C)												
0-10 dias												
32 dias ²	34,3 ab	37,4 a	20,5 bc	11,5 c	18,28 c	47,55 a	13,22 c	15,50 c	9,72 c	ns	ns	ns
90 dias ³	11,3 a	ND	6,0 a	2,3 a	4,6 a	ND	1,3 a	5,7 a	ND	ns	ND	ND
180 dias ⁴	0,5 b	ND	7,8 a	2,7 b	2,8 b	ND	1,8 b	2,8 b	ND	*	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo LSmeans (P > 0,05).

²Média da temperatura ambiente (18 a 28/03/2000) = 25,5°C.

³Média da temperatura ambiente (18 a 28/05/2000) = 21,0°C.

⁴Média da temperatura ambiente (18 a 28/08/2000) = 23,5°C.

⁵ND= não determinado; ⁶ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05); ⁷*= significativo pela análise de contrastes (P<0,05).

aumento da EA ao longo do tempo de estocagem, provavelmente devido a redução da temperatura ambiente. Quanto à estabilidade aeróbica os tratamentos podem ser divididos em dois grupos: um primeiro grupo composto por silagens de menor EA, 250SA, 250CA, 350SA e 450SA; e outro grupo composto por 450CA, 550SA, 650SA, 650CA e 650APT, com maior EA. Dessa forma, o pré-emurhecimento à teores de MS superiores a 550 g kg⁻¹ MS determinou aumento na EA das silagens. O'kiely (1999) e O'kiely et al. (1999c) também observaram melhoria na EA das silagens de gramíneas temperadas com o pré-emurhecimento. Wyss (1999b) observou redução na EA com incremento de MS das silagens (250 a 650 g kg⁻¹ MS). Esse autor atribuiu esse comportamento da EA aos maiores conteúdos de carboidratos, resultante da fermentação menos intensa, menores conteúdos de ácido acético e maiores contagens de leveduras nos tratamentos com maiores conteúdos de MS. Umaña et al. (1991) também verificaram redução na EA das silagens submetidas ao pré-emurhecimento, apresentando maiores temperaturas e maiores contagens de fungos e leveduras. McDonald et al. (1991) destacaram que apesar da literatura sugerir que silagens com alto conteúdo de MS, poderiam ser mais susceptíveis à deterioração aeróbica, existem evidências constatando que a deterioração é reduzida em silagens com conteúdo de MS superior a 500 g kg⁻¹ MS.

O uso de IBE no teor intermediário de MS (450 g kg⁻¹ MS) também foi efetivo em aumentar a EA da silagem. Meeske et al. (1999) também observaram melhoria na EA de silagem pré-emurhecida de *Digitaria eriantha* (388 g kg⁻¹ MS) resultante da utilização de IBE, e associaram essa melhoria aos menores teores de carboidratos solúveis e ácido láctico e baixa contagem de leveduras assimiladoras de lactato. O'kiely et al. (1999a) não observaram alteração na EA de silagem de gramínea temperada pré-emurhecida (384 g kg⁻¹ MS) como resultado do uso de inoculante bacteriano. Entretanto, O'kiely (1999) observou que o uso de inoculante bacteriano reduziu a EA de silagem de *Lolium perene*. Tanja & Juha (1999), avaliando os dados provenientes de 11 estudos com gramíneas temperadas tratadas com inoculante bacteriano, verificaram melhorias na fermentação devido ao uso de inoculante (< pH, < N-NH₃ e > ácido láctico), no entanto essas silagens apresentaram menor estabilidade aeróbica.

O uso de IBE tem causado redução na estabilidade aeróbica das silagens de gramíneas tropicais (Veiga et al., 2000; Mühlbach, 2000 e Balsalobre et al., 2001). O provável motivo da menor estabilidade aeróbica de silagens inoculadas está relacionado ao maior conteúdo de ácido láctico dessas silagens, uma vez que as bactérias lácticas inoculadas são homofermentativas. Os microrganismos aeróbicos, como fungos, leveduras e *Bacillus*, degradam o ácido láctico com facilidade após abertura do silo, gerando dióxido de carbono, etanol e ácido acético, além de grande liberação de calor (Lindgren, 1999).

Na Tabela 9, os valores de pH foram reduzidos ao longo do período de armazenamento. O incremento no conteúdo de MS das silagens determinou aumentos ($P < 0,05$) no pH. O pH aos 32 dias apresentou correlação negativa com a umidade ($r = -0,7683$) e positiva com a Aa/U ($r = 0,8138$). Dessa forma, o pré-emurhecimento determinou redução no processo de fermentação, refletido pelo aumento do pH da silagem, com o incremento do conteúdo de MS da forragem ensilada, concordando com a literatura (McDonald et al., 1991; Umaña et al., 1991 e Wyss, 1999b). Pela análise de contrastes, o uso de IBE não alterou ($P > 0,05$) o pH da silagem nos tempos: zero hora, 32 e 180 dias. Tanja & Juha (1999) observaram redução no pH das silagens úmidas como resultado do uso de inoculante bacteriano. Umaña et al. (1991), Meeske et al. (1999) e Wyss (1999a) observaram que o uso de inoculante bacteriano foi efetivo em reduzir o pH quando aplicado em forragem pré-emurhecida. Entretanto, O'kiely et al. (1999a) não observaram alteração no pH de silagens pré-emurhecidas, de gramínea temperada, devido ao uso de inoculantes. O'kiely et al. (1999c) não verificaram alteração no pH das silagens devido ao uso de inoculante bacteriano, quando aplicados em condições desfavoráveis (alto conteúdo de umidade, baixa concentração de CHO's e alto poder tampão). Pela análise de contrastes, o tratamento 650APT foi superior ($P < 0,05$) ao tratamento 650CA, à zero hora e aos 32 dias. Esse comportamento pode ser explicado pelo APT se tratar de um produto tamponado, levando a um maior pH final da silagem (Pitt, 1990). Aos 180 dias o pH apresentou correlação positiva com a relação Aa/U ($r = 0,8174$) e CE ($r = 0,9753$).

Tabela 9. Médias dos quadrados mínimos do pH e conteúdo de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes de teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático e ácido propiônico tamponado (APT).

	TMS g kg ⁻¹ MS											
	Sem Inoculante					Com Inoculante			APT	contrastes		
	250	350	450	550	650	250	450	650	650	SAxCA	APTxSA	APTxCA
pH												
0 hora	6,2 d ¹	6,3 c	6,4 abc	6,3 bc	6,4 ab	6,1 d	6,5 a	6,3 bc	6,4 abc	ns ³	ns	* ⁴
32 dias	5,2 bc	5,2 bc	5,5 b	5,4 bc	6,3 a	5,4 bc	5,1 c	5,9 a	6,2 a	ns	ns	*
180 dias	4,7 c	ND ²	5,0 bc	5,2 bc	6,2 a	ND	4,9 bc	5,6 ab	ND	ns	ND	ND
N-NH ₃												
0 hora	37,8 a	17,5 a	12,3 a	18,5 a	21,7 a	13,3 a	17,9 a	24,8 a	31,7 a	ns	ns	ns
32 dias	79,8 b	57,6 b	36,6 b	72,0 b	60,2 b	228,5 a	44,2 b	54,0 b	80,2 b	*	ns	ns
180 dias	217,0 a	ND	27,5 b	47,7 b	74,2 b	ND	45,5 b	54,1 b	ND	*	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo LSmeans (P > 0,05).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05).

⁴*= significativo pela análise de contrastes (P<0,05).

O teor de nitrogênio amoniacal apresentou tendência de aumento com o tempo de estocagem e sofreu redução ($P < 0,05$) com o incremento do conteúdo de MS. Ainda, apresentou correlação positiva com o conteúdo de umidade, à zero hora ($r = 0,7107$) e 32 dias ($r = 0,7339$) de estocagem. Essa tendência do N-NH₃ está de acordo com a literatura (McDonald et al., 1991; Umaña et al., 1991; O'kiely, 1999 e Wyss, 1999b). Pela análise de contrates, o teor de N-NH₃ foi superior ($P < 0,05$) nos tratamentos com IBE, nos tempos 32 e 180 dias de estocagem. O'kiely et al. (1999a) não observaram alteração no pH de silagens pré-emurhecidas, de gramínea temperada, devido ao uso de inoculantes. Umaña et al. (1991) e Meeske et al. (1999) não observaram alteração no teor de N-NH₃ resultado do uso de inoculante bacteriano em silagem pré-emurhecidas de gramíneas tropicais. Entretanto, O'kiely (1999) e Wyss (1999a) verificaram redução no teor de N-NH₃ em silagens pré-emurhecidas de gramíneas temperadas, em resposta ao uso de inoculante bacteriano. Tanja & Juha (1999) e O'kiely (1999) observaram redução no teor de N-NH₃, das silagens úmidas, com a aplicação de inoculante bacteriano. O'kiely et al. (1999c) não observaram redução na concentração de N-NH₃ em silagens, em função do uso de inoculante bacteriano, quando aplicados em condições desfavoráveis. Os resultados do presente estudo demonstram que o uso de IBE não reduz o N-NH₃, quando aplicado à forragem úmida.

Levando-se em conta todos os parâmetros apresentados anteriormente, as silagens podem ser divididas em dois grupos. O primeiro grupo é composto pelos tratamentos 450CA, 550SA, 650SA, 650CA e 650APT. Esse grupo caracteriza-se por apresentar um melhor comportamento para os parâmetros estudados, ou seja, menores contagens de bactérias e valores médios para Aa e N-NH₃, associados a maiores valores para CE, Aa/U, pH e melhor EA. Dessa forma, o aumento no conteúdo de MS reduziu a Aa levando a restrição no crescimento de bactérias e conseqüentemente redução na fermentação. O uso de IBE apresentou alguns efeitos positivos somente sobre silagens contendo teor intermediário de MS (450 g kg⁻¹ MS), principalmente aos 32 dias. O segundo grupo é composto pelos tratamentos 250SA, 250CA, 350SA e 450SA, caracterizado por um pior comportamento dos parâmetros avaliados. Esses parâmetros

avaliados, nessas silagens, tiveram um comportamento contrário ao das silagens do primeiro grupo, ou seja, maiores valores para contagens de bactérias e Aa, N-NH_3 e menores valores para CE, Aa/U, EA e pH, além de menor estabilidade aeróbica.

4.4 Conclusões

A ensilagem direta da forragem sem o uso de pré-emurchecimento produziu uma silagem de menor qualidade, caracterizada por alto conteúdo de nitrogênio amoniacal e uma baixa estabilidade aeróbica.

O uso de pré-emurchecimento à conteúdos de matéria seca superiores a 550 g kg^{-1} MS levou a restrição no crescimento de microrganismos e consequentemente redução na fermentação, resultando em maior estabilidade aeróbica das silagens produzidas.

O uso de inoculante bacteriano-enzimático foi efetivo quando associado ao conteúdo intermediário de MS (450 g kg^{-1} MS), resultando em maior estabilidade aeróbica da silagem.

A aspersão de ácido propiônico tamponado na superfície externa da silagem contendo elevado teor de MS, não apresentou vantagens em relação aos similares.

5 EFICIÊNCIA DO PROCESSO DE ENSILAGEM NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE TIFTON 85 (*Cynodon sp.*) SOB EFEITO DE PRÉ- EMURCHECIMENTO E DE INOCULANTE BACTERIANO-ENZIMÁTICO

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos do pré-emurhecimento e da aplicação de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) ou ácido propiônico tamponado (APT) sobre a eficiência do processo de ensilagem de Tifton 85 (*Cynodon sp.*) na produção de silagem armazenada na forma de fardos grandes revestidos por filme plástico. Silagens com cinco níveis de matéria seca (250 g kg⁻¹, 350 g kg⁻¹, 450 g kg⁻¹, 550 g kg⁻¹ e 650 g kg⁻¹ MS) foram confeccionados na ausência de IBE. Outros três tratamentos consistiram dos níveis de matéria seca (250 g kg⁻¹, 450 g kg⁻¹ e 650 g kg⁻¹ MS) na presença de IBE, e um tratamento adicional, onde os fardos foram submetidos à pré-emurhecimento até atingir o maior nível de MS (650 g kg⁻¹ MS), foi pulverizada uma solução contendo APT. Como a estimativa do NDT foi realizada no momento do revestimento dos fardos, logo após a aplicação dos aditivos (IBE e APT), as médias observadas, não se devem aos aditivos, mas ao conteúdo de matéria seca. O processo de ensilagem, com o teor de matéria seca de 550 g kg⁻¹ MS foi o mais eficiente, por associar: tempo de emurhecimento intermediário, alta densidade de matéria seca, baixa perda de matéria seca por recolhimento, e apresentar o maior valor para recuperação de massa digestível, durante a ensilagem. Os tratamentos do maior conteúdo de matéria seca (650 g kg⁻¹ MS) também apresentaram bom desempenho para os parâmetros

avaliados, entretanto, por necessitarem de um período superior a 24 horas de exposição para atingir o emurchecimento desejado, se submeteram à riscos potencialmente elevados originados de chuvas de ocorrência noturna.

EFFECTS OF WILTING, MICROBIOLOGICAL ADDITIVE OR PROPIONIC ACID ON THE ENSILING EFFICIENCY PROCESS OF TIFTON 85 (Cynodon sp.)

Summary

The objectives of this work were to study the effects of wilting and microbiological additive or buffered propionic acid (BPA) on the efficiency of the ensiling process of Tifton (Cynodon sp.) silage production stored in plastic wrapped square bales. The treatments were: five forage dry matter contents (250, 350, 450, 550 and 650 g Kg⁻¹ DM), three forage dry matter contents (250, 450 and 650 g Kg⁻¹ DM) associated with bacterial-enzymatic additive (BEA) and wilted forage (650 g Kg⁻¹) sprayed with BPA. The TDN was estimated from samples taken at the moment of baling immediately after additive application (BEA and BPA). Therefore additive effect was not taking into account. The 550 g Kg⁻¹ forage dry matter showed the highest silage efficiency production, due to intermediary wilting time, high dry matter density, low dry matter losses during raking and harvesting, and large digestible mass recovery. The treatments with 650 g Kg⁻¹ DM were efficient as well, however, the needed longer time to achieve this final dry matter content (longer than 24 hours) may elevate the risk of rain damage.

5.1 INTRODUÇÃO

O processo de conservação de forragem implica em perdas, algumas resultantes da ação mecânica, e outras a partir de processos biológicos. As perdas totais decorrentes da colheita da forragem até o fornecimento aos animais, geralmente, representam de 20 a 30% do total de matéria seca de forragem disponível (Pitt, 1990).

Durante a confecção de feno, a maior parte das perdas ocorrem no campo como resultado de ação mecânica e/ou das chuvas. No caso da produção de silagem, as perdas ocorrem principalmente durante o armazenamento e o fornecimento, ou seja, à medida que aumenta o conteúdo de matéria seca da forragem, ocorrem incrementos nas perdas à campo e redução nas perdas inerentes ao armazenamento e o fornecimento aos animais (Pitt, 1990; McDonald et al., 1991). Ensilando o material contendo entre 300 e 500 g kg^{-1} MS as perdas totais seriam minimizadas, ou seja, tanto as perdas no campo quanto às perdas durante armazenamento seriam reduzidas, resultado em diminuição do custo por tonelada de matéria seca de silagem produzida (Pitt, 1990). Dessa forma, no caso das gramíneas tropicais, a conservação na forma de silagem pré-emurhecida seria a forma mais eficiente de preservação da forragem. Uma vez que as forragens tropicais apresentam concentrações marginais de carboidratos solúveis na matéria seca associados a baixos teores de matéria seca, nos estádios de crescimento em que apresentam um bom valor nutritivo (McDonald et al., 1991; Vilela, 1998 e Umaña et al. 1991), existe risco de insucesso no processo de conservação, com probabilidade de surgirem fermentações secundárias, e elevação nas perdas de matéria seca (Vilela, 1998). Limitações dessa natureza podem ser parcialmente controladas pelo aumento na porcentagem de matéria seca, através do pré-emurhecimento, ou pela utilização de aditivos que contribuam para acelerar e estabilizar a fermentação, como no caso dos inoculantes bacterianos e enzimas.

Na Europa é bastante difundida a técnica de ensilagem, onde a forragem a ser ensilada é enfardada, na forma de grandes fardos retangulares ou ovais, e posteriormente revestida com quatro a seis camadas de filme plástico. Na Irlanda, por exemplo, a técnica de revestimento com lona plástica aplicada aos fardos é utilizada em um terço da área total destinada a produção de silagem (O'Kiely et al., 1999b). Naquele país, a técnica da vedação do fardo normalmente está associada ao pré-emurhecimento visando facilitar a obtenção de boa preservação da silagem, eliminar a produção de efluentes, reduzir o número de fardos produzidos por hectares e o peso individual dos fardos, além de melhorar a estabilidade aeróbica dos mesmos (O'Kiely et al., 1999b; O'Kiely et al., 1999c).

Segundo Wilkins et al. (1999) o enfardamento e o revestimento externo permitiram a produção de silagem pré-emurchecida com baixos níveis de perdas por processos aeróbicos. Além disso, o pré-emurchecimento reduziu as perdas totais de matéria seca durante a ensilagem de 18,6 para 16,5% da MS, devido a redução das perdas por efluente de 3,2 para 0% da MS e outras perdas na fermentação de 12,9 para 8,5% da MS, apesar de aumentar as perdas à campo de 2,5 para 8,0% da MS.

Os objetivos desse estudo foram determinar se o pré-emurchecimento e o uso de inoculante bacteriano-enzimático ou ácido propiônico tamponado alterariam a eficiência do processo de ensilagem na produção de fardos grandes revestidos por lona plástica na silagem de Tifton 85 (*Cynodon* sp.).

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Condução do experimento

O experimento foi conduzido na Fazenda Água Comprida (Água Comprida/MG), localizada sob as coordenadas 19° 56' 45" S de latitude e 48° 02' 15" W de longitude. Esta região apresenta solos de textura muito argilosa, classificados como Latossolo Roxo Distrófico (Prado, 1997). De acordo com o sistema de Köppen, o clima da região pode ser classificado como Aw, isto é, clima tropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco. Apresenta precipitação média anual entre 1200 e 1500 mm e temperaturas médias entre 21 e 22 °C (Prado, 1997).

A área escolhida para colheita da forragem destinada a confecção das silagens foi uma gleba destinada a produção de feno, estabelecida em 1996, com Tifton 85 (*Cynodon* sp.). Essa área havia sido fertilizada previamente com 358 kg hectare⁻¹ (kg ha⁻¹) da fórmula 30-00-20 (N-P₂O₅- K₂O₅) logo após o último corte que antecedeu o ensaio, além do solo receber adubação corretiva anual visando 30 ppm de P₂O₅, 75% de saturação por bases e nível de potássio em torno de 5% da capacidade de troca catiônica.

As silagens foram confeccionadas entre os dias 15 e 21 de fevereiro de 2000. A forragem foi colhida com idade fisiológica equivalente a 35 dias de crescimento

vegetativo. O material foi ceifado com uma Segadora Condicionadora, marca CASE, modelo 8850 HP, equipada com condicionador de rolos de metal. O material foi submetido à pré-murcha visando obter níveis crescentes de matéria seca na ensilagem. O monitoramento do teor de matéria seca do material exposto no campo foi realizado através de uso de forno de microondas. Quando o teor de matéria seca pretendido foi alcançado, o material foi picado (oito cm) e enfardado (Enfardadora, marca CLAAS, modelo Quadrant 1200 RC) na forma de fardos cúbicos (140 cm comprimento x 120 cm de largura x 70 cm de altura). Imediatamente, os fardos foram envolvidos (Embaladora, marca REKORD, modelo Q-Pack 120) com seis camadas de filme plástico (TRIOPLAST AB, modelo Triowrap, 75 cm x 0,0025 cm) com 50 % de sobreposição.

Os tratamentos consistiram de níveis crescentes de matéria seca (MS) associados ou não a presença de aditivo bacteriano-enzimático, arrançados num esquema fatorial 5 x 2 incompleto, com três repetições cada. Silagens com cinco níveis de amplitude de teor de matéria seca (200-300 g kg⁻¹, 300-400 g kg⁻¹, 400-500 g kg⁻¹, 500-600 g kg⁻¹ e 600-700 g kg⁻¹ MS) foram confeccionadas, na ausência de aditivo. Outros três tratamentos consistiram dos teores de matéria seca baixo, médio e alto (200-300 g kg⁻¹, 400-500 g kg⁻¹ e 600-700 g kg⁻¹ MS, respectivamente) na presença de aditivo bacteriano-enzimático comercial (Sil-All- ALLTECH INC.)

O inoculante utilizado apresentou os seguintes níveis de garantia declarados: 1,0 x 10⁹ unidades formadoras de colônias (UFC) de *Streptococcus faecium*/g; 10 x 10⁹ UFC de *Lactobacillus plantarum*/g; 1,0 x 10⁸ UFC de *Pediococcus acidilactici*/g e as enzimas hemicelulase, celulase e amilase. Dois litros e meio de solução a 5 g l⁻¹ foram aplicados por tonelada de forragem. Esta solução foi aspergida utilizando-se de um sistema de bomba de diafragma ligada a dois bicos aspersores acoplados à boca de recolhimento da enfardadeira, imediatamente antes ao enfardamento da forragem.

Em um tratamento adicional, fardos submetidos à pré-emurchecimento até atingir o maior nível de MS (600-700 g kg⁻¹ MS) foram pulverizados externamente com 0,011 ml por centímetro quadrado de ácido propiônico tamponado, APT (Alfa-save – ALLTECH INC.),

imediatamente antes do revestimento com filme plástico. Dessa forma, os tratamentos avaliados foram: 1) 200-300 g kg⁻¹ MS sem aditivo (250SA); 2) 300-400 g kg⁻¹ MS sem aditivo (350SA); 3) 400-500 g kg⁻¹ MS sem aditivo (450SA); 4) 500-600 g kg⁻¹ MS sem aditivo (550SA); 5) 600-700 g kg⁻¹ MS sem aditivo (650SA); 6) 200-300 g kg⁻¹ MS com aditivo (250CA); 7) 400-500 g kg⁻¹ MS com aditivo (450CA); 8) 600-700 g kg⁻¹ MS com aditivo (650CA); 9) 600-700 g kg⁻¹ MS com alfa-save (650APT).

5.2.2 Parâmetros avaliados e metodologias empregadas

Durante a confecção das silagens foram tomadas algumas medidas visando determinar a eficiência de recuperação de forragem durante o processo ensilagem. Os parâmetros determinados foram: Massa de Forragem Disponível Pré-corte (MFDPC); Resíduo Pós-corte (R); Massa Ceifada Disponível para Recolhimento (MCDR); Massa Ceifada Digestível Disponível para Recolhimento (MCDDR); Perdas no Recolhimento/enfardamento (%) (PR); Massa Forragem Ensilada (MFE); Teor de Matéria Seca (TMS) e Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) no momento da ceifa e revestimento dos fardos com filme plástico; Massa Digestível Ensilada (MDE); Recuperação de Massa Digestível (RPMDE).

O teor de MS foi determinado por desidratação em estufa de ar forçado a 55°C por 72 horas, e corrigido pela Ms obtida em estufa a 105°C. O teor de NDT foi determinado seguindo a metodologia descrita por Weiss et al. (1992), modificada pelo NRC (2001). A MFDPC foi medida de forma direta utilizando-se o método do quadrado. O valor de RES foi determinado através de medida indireta, usando o método do prato ascendente. A equação de regressão ajustada para determinar a massa residual foi, a seguinte: $MF \text{ (kg MS ha}^{-1}\text{)} = 1023,05 + 45,04 * \text{LEITURA}$, com $R^2 = 0,89$.

A Massa Ceifada Disponível para Colheita (MCDC) é o resultado da MFDPC subtraído do resíduo (RES), apresentado em kg MS ha⁻¹. A produção de Massa Ceifada Digestível Disponível para Colheita (MCDDC) foi calculada multiplicando-se a MCDC pelo NDT (ceifa), e o resultado apresentado em kg NDT ha⁻¹. As perdas ocorridas (PR) foram

amostradas em três áreas de 32 m² (16m x 2m) por tratamento. Após a captação da forragem pela enfardadora, cada área foi rastelada e o material ceifado remanescente foi recolhido, quantificado e determinado o teor de matéria seca, e em seguida calculadas as perdas percentuais em relação a MCDC. A Massa Forragem Ensilada (MFE) foi calculada subtraindo-se a PR da MCDC. Multiplicando-se o valor obtido pelo NDT (calculado nas amostras obtidas no momento do fardo), obteve-se a Massa Digestível Ensilada (MDE), expressa em KG NDT há⁻¹. A Recuperação de Massa Digestível (RPMD) foi calculada pelo quociente entre a MDE e a MCDDC e multiplicado por 100.

Também foram tomados os tempos de pré-emurchecimento (horas) obtidos para atingir o teor de MS desejado em cada tratamento, bem como, peso médio dos fardos por tratamento, e calculada a densidade média dos fardos.

5.2.3 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramento casualizado arranjado num esquema fatorial 5x2 incompleto com três repetições. Como os dados de cada tratamento foram originados de um mesmo talhão, que deu origem aos fardos do respectivo tratamento, não havia repetição experimental. Dessa forma, os parâmetros estudados foram submetidos apenas a estatística descritiva.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão apresentados os tempos de pré-emurchecimento (horas) necessários para atingir os conteúdos de matéria seca desejados. As condições climáticas durante o emurchecimento foram boas, com temperatura média em torno de 26,5°C e umidade relativa média em torno de 73%, típicas da região Brasil Central durante o verão.

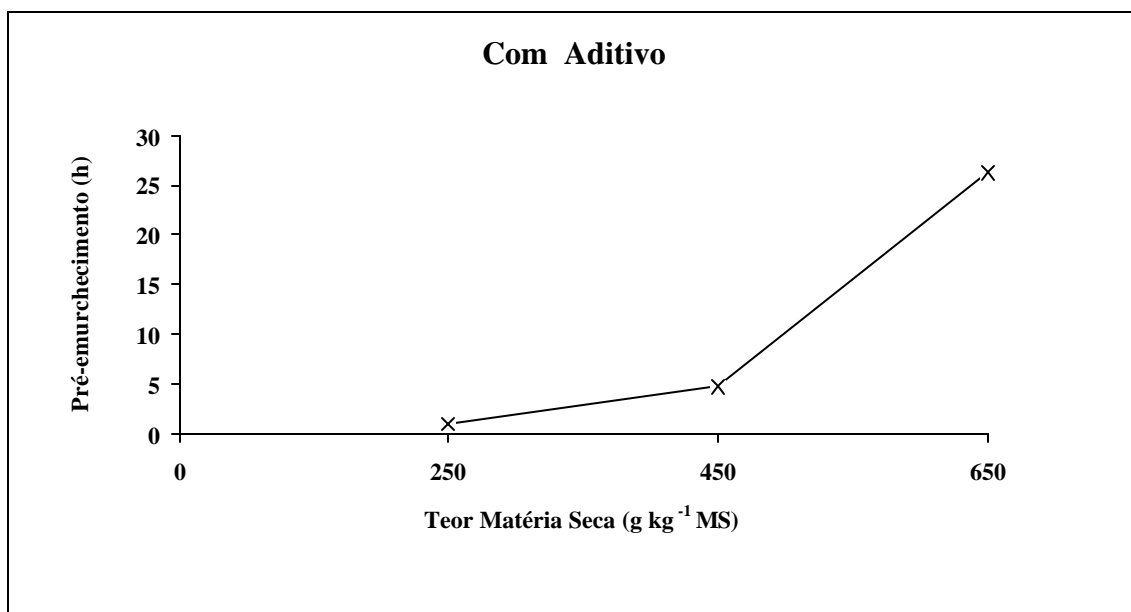
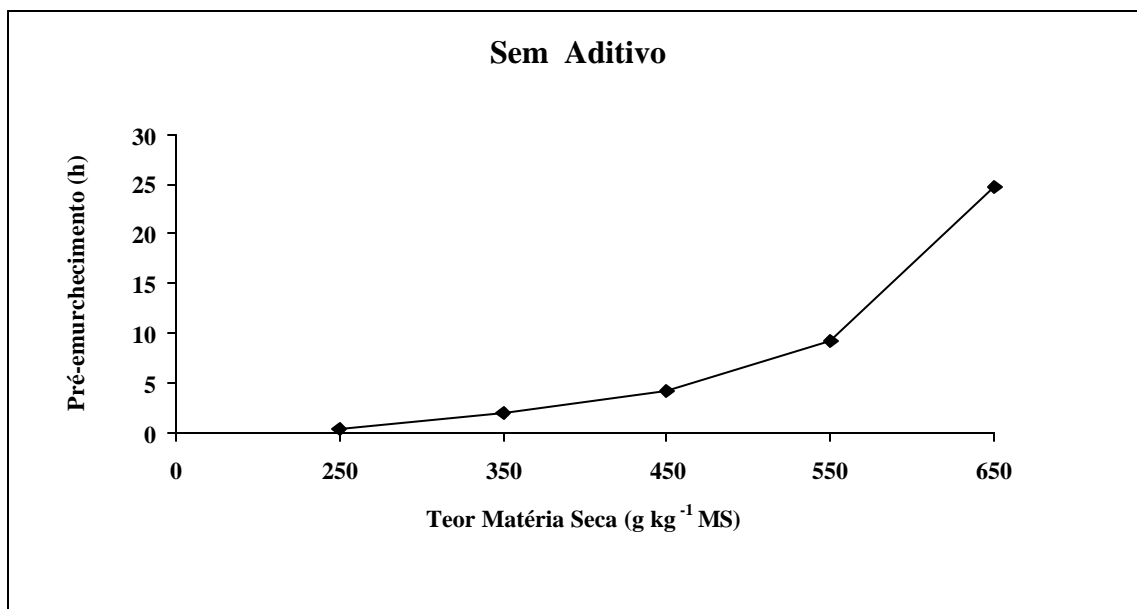


Figura 1 - Tempo de pré-emurhecimento (horas) necessário para atingir os conteúdos de matéria seca desejados, na presença ou ausência de aditivo (inoculante bacteriano-enzimático).

O conteúdo médio de matéria seca da forragem ceifada foi 249,1 g kg⁻¹ MS. Dessa forma, nos tratamentos 250SA e 250CA o material foi ensilado logo após a ceifa, não requerendo emurchecimento. O tratamento 350SA necessitou de 2,1 horas de pré-emurchecimento. Os tratamentos 450SA e 450CA passaram por 4,3 e 4,8 horas de emurchecimento, respectivamente. O tratamento 550SA, por sua vez, necessitou de 9,2 horas de emurchecimento, enquanto que os tratamentos do maior conteúdo de MS (650 g kg⁻¹ MS), 650SA e 650CA, necitaram de 24,7 e 26,2 horas de pré-emurchecimento, respectivamente.

Estes resultados demonstram que o uso do pré-emurchecimento visando atingir conteúdos de matéria seca até 450 g kg⁻¹ MS foi o mais eficiente, uma vez que os riscos do material receber chuvas à campo durante a exposição foram menores, uma vez que o conteúdo de matéria seca foi alcançado em pouco tempo de pré-emurchecimento, ou seja, em torno de 4,5 horas. Se o objetivo fosse o de atingir conteúdo de matéria seca de 550 g kg⁻¹ MS, seriam necessárias 9,2 horas de pré-emurchecimento e o material poderia ser ensilado no mesmo dia da ceifa, entretanto, o risco do material receber chuva à campo seria superior, considerando que a forragem permaneceu mais tempo exposta no campo. Para atingir o maior conteúdo de matéria seca (650 g kg⁻¹ MS) foram necessárias mais de 24 horas de exposição ao pré-emurchecimento, havendo, inclusive, necessidade da forragem permanebte à noite no campo. Dessa forma, os riscos de material receber chuvas foram muito elevados, além do aumento de mão-de-obra para enleirar o material à noite, e espalhar novamente no dia seguinte na tentativa de minimizar as perdas.

Na Tabela 1 estão os pesos dos fardos confeccionados em cada tratamento experimental. O incremento do conteúdo de matéria seca da silagem levou a redução no peso em matéria verde dos fardos e respectiva elevação no peso absoluto em matéria seca dos fardos. Com isso verificou-se que o aumento no conteúdo de matéria seca da silagem reduziu o número de fardos por tonelada de matéria seca (O'Kiely et al., 1999b; O'Kiely et al., 1999c).

Tabela 1. Peso dos fardos de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de aditivos, logo após a ensilagem.

TMS g kg ⁻¹ MS	Peso dos Fardos	
	Kg MV	Kg MS
Sem inoculante bacteriano-enzimático		
250	364	102
350	373	127
450	368	169
550	344	182
650	254	163
Com inoculante bacteriano-enzimático		
250	352	99
450	329	155
650	294	170
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado		
650	250	169

Figura 2 apresenta os valores de densidade das silagens em matéria verde (MV) e matéria seca (MS), expressos em kg m⁻³. A densidade em MV, foi reduzida com incremento do conteúdo de matéria seca das silagens, tanto na presença, quanto na ausência de inoculante bacteriano-enzimático (IBE). Na ausência de IBE o maior valor de densidade observado foi de 317 kg MV m⁻³, para o tratamento 350SA e o menor valor foi 216 kg MV m⁻³, para o tratamento 650SA, enquanto que nos tratamentos contendo

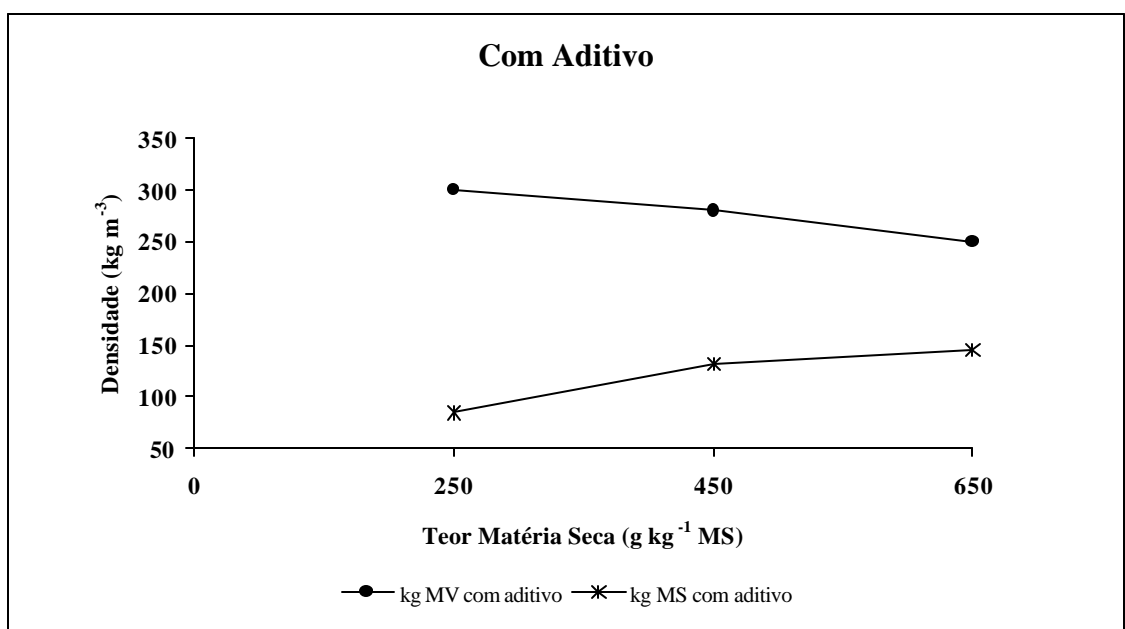
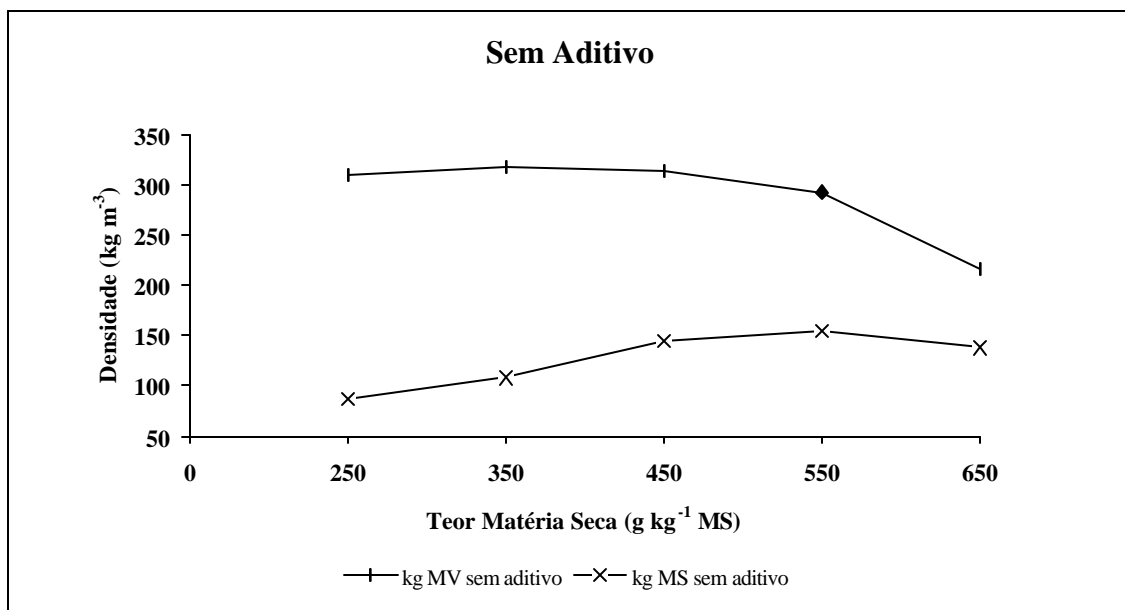


Figura 2 – Valores de densidade das silagens em kg MV m³ e kg MS m³ na presença ou ausência de aditivo (inoculante bacteriano-enzimático).

IBE, o maior valor foi de 300 kg MV m^{-3} , para o tratamento 250CA, e o menor valor foi de 250 kg MV m^{-3} para o tratamento 650CA.

A densidade em MS apresentou comportamento oposto ao da densidade em MV, de forma que, a densidade das silagens em MS aumentou com o incremento do conteúdo de MS, para os tratamentos com e sem o uso de IBE. Para os tratamentos sem IBE, o menor valor densidade foi de 87 kg MS m^{-3} , para o tratamento 250SA, e o maior valor foi 155 kg MS m^{-3} , para o tratamento 550SA. O menor valor observado para a densidade de MS foi de 84 kg MS m^{-3} , para o tratamento 250CA, e o maior de 145 kg MS m^{-3} , no tratamento 650CA, na presença de IBE. Essa tendência de aumento da densidade em MS, com o incremento do conteúdo de MS da silagem corrobora com a literatura (Trioplast AB, 1995; O'Kiely et al., 1999b; Wyss, 1999b). Wyss (1999b) estudando níveis crescentes de MS (220 a $680 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$), também observou aumento da densidade em MS com o incremento do conteúdo de MS da forragem ensilada, tendo os valores de densidade variado entre 114 e 200 kg MS m^{-3} . Os tratamentos submetidos à menor intensidade de pré-emurchecimento apresentaram os menores valores de densidade de MS. O maior valor de densidade foi verificado para silagem com $500 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$. O que está de acordo com os resultados do presente estudo, apesar dos valores obtidos por esse autor terem sido superiores. Essa diferença em magnitude de valores médios, provavelmente, está relacionada à espécie forrageira e ao método de ensilagem. Wyss (1999b) trabalhou com gramínea temperada ensilada em sacos de polietileno (30 kg), enquanto o presente estudo foi realizado com gramínea tropical ensilada na forma de fardos grandes revestidos com lona plástica. Apesar das médias se situarem dentro da amplitude reportada pela empresa Trioplast AB (1995), ou seja, de 150 e 200 kg MS m^{-3} para fardos revestidos, contendo teor de MS de $500 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$, o maior índice de acomodação de gramíneas temperadas permite atingir densidades superiores aquelas das gramíneas tropicais.

A densidade da silagem também está diretamente relacionada com o grau de compactação da forragem (Trioplast AB, 1995). No caso forragens úmidas, a enfardadeira não consegue exercer grande pressão sobre a massa por haver resistência da parede celular.

Entretanto, se as células já tiverem sido desidratadas parcialmente, a enfardadeira tem a chance de produzir fardos densos e bem compactados. É importante destacar que à medida que aumenta a densidade dos fardos, diminui o número de fardos por tonelada de MS e conseqüentemente, a quantidade de filme plástico por tonelada de MS, gerando economia no sistema (Trioplast AB, 1995).

Muck & Holmes (2001) avaliando silagens confeccionadas em silos tubulares revestidos com lona plástica, produzidas em três fazendas experimentais (Madison) observaram valores de densidade variando de 206 a 233 kg MS m³ para silagem pré-emurhecida de alfafa, e de 167 a 246 kg MS m³, para silagem de milho. A densidade da matéria seca aumentou linearmente com o conteúdo de matéria seca. As densidades das silagens decresceram entre 3,0 e 5,0 kg MS m³, por unidade percentual de matéria seca reduzida na massa de forragem, respectivamente para silagem de alfafa e de milho. Os autores atribuíram essa variação a diferenças estruturais no equipamento de ensilagem, habilidade do operador e características da cultura ensilada. Para efeito de comparação, foram calculados os decréscimos nas densidades das silagens avaliadas no presente estudo. As silagens sofreram redução de 1,5 kg MS m³ por unidade percentual de MS decrescida, na presença ou ausência de IBE. As médias observadas, tanto para densidade das silagens, quanto para os decréscimos na densidade, com a redução do teor de matéria seca, foram inferiores aos verificados pelos referidos autores. Essa diferença que caracterizam o menor adensamento da massa de forragem no presente estudo, provavelmente estão relacionadas ao método de ensilagem utilizado e as características da espécie forrageira ensilada.

A Tabela 2 apresenta os parâmetros de eficiência do processo de ensilagem durante a confecção das silagens de Tifton 85 (*Cynodon* sp.). É importante destacar que essas medidas descrevem apenas a fase inicial da confecção das silagens, até o momento do revestimento dos fardos. Dessa forma, os valores apresentados não incluem a fase fermentativa do processo de ensilagem, pois não foram tomadas medidas de recuperação de matéria seca após a vedação dos fardos e durante o fornecimento aos animais. Essas

Tabela 2. Medida da eficiência do processo de conservação de silagens Tifton 85 pré-emurchecidas em níveis crescentes de matéria seca submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

TMS	Medidas da Eficiência de Colheita										
	MFDPC ¹	R ²	MCDR ³	NDT ⁴	MCDDR ⁵	PRP ⁶	MFE ⁷	NDT ⁸	MDE ⁹	RPMD ¹⁰	RPMD
g kg ⁻¹	KgMS ha ⁻¹	KgMS ha ⁻¹	KgMS ha ⁻¹	g kg ⁻¹ MS	KgNDT ha ⁻¹	%MCDR	KgMS ha ⁻¹	g kg ⁻¹ MS	KgNDT ha ⁻¹	%MDF	Relativo
Sem inoculante bacteriano-enzimático											
250	4586	1467	3119	514,1	1603	9,03	2837	511,0	1450	90,5	100,0
350	4586	1533	3053	522,0	1594	6,90	2843	492,6	1400	87,8	97,0
450	4385	1588	2796	510,4	1387	7,21	2595	505,2	1311	94,52	104,4
550	4127	1698	2429	496,1	1205	3,48	2344	507,1	1189	98,77	109,1
650	4471	1632	2840	524,0	1488	6,23	2663	514,2	1369	92,0	101,7
Com inoculante bacteriano-enzimático											
250	4336	1508	2828	519,6	1469	8,31	2592	518,1	1343	91,4	101,0
450	4959	1360	3600	507,6	1827	8,12	3307	504,5	1668	91,3	100,9
650	5667	1564	4203	525,0	2154	4,91	3901	524,0	2044	94,9	104,9
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado											
650	4471	1632	2840	506,0	1437	6,23	2663	515,7	1373	95,5	105,5

¹MFDPC=Massa de forragem disponível pré-corte; ²R=Resíduo pós-corte; ³MCDR= Massa ceifada disponível para recolhimento; ⁴NDT=Nutrientes digestíveis totais (ceifa); ⁵MCDDR=Massa ceifa digestível disponível para recolhimento; ⁶PRP=Perdas percentual por recolhimento; ⁷MFE=Massa forragem ensilada; ⁸NDT=Nutrientes digestíveis totais (vedação); ⁹MDE=Massa digestível ensilada; ¹⁰RPMD=Recuperação percentual de massa digestível.

fases têm sido reconhecidas como importantes na contabilidade de perdas, especialmente para forragem submetidas à manejo satisfatório durante a ensilagem.

O primeiro parâmetro de eficiência do processo ensilagem, importante para ser avaliado é aquele que se refere às perdas por recolhimento (PR). Esse parâmetro apresentou tendência de redução com a elevação do teor de matéria seca das silagens. O maior valor observado foi 9,03% para o tratamento 250SA, e o menor foi 3,48% para o tratamento 550SA. Esse comportamento das perdas ocorridas durante o recolhimento, contraria a literatura que apontou aumento nas perdas de matéria seca à campo com o incremento do conteúdo de matéria seca da forragem (Pitt, 1990; McDonald et al., 1991; Wilkins et al., 1999). Igarasi (2002) utilizando colhedora de forragem, com rotor colhedor e repicador, observou perdas de colheita de 3,2 e 5,3% do total de forragem disponível, para as operações de ensilagem de capim Tanzânia com umidade original, em corte ocorridos no inverno e verão, respectivamente. O uso de pré-emurchecimento da forragem por cinco horas, elevou os índices de perdas na colheita da forragem para 12,2% no inverno e 20% no verão. Wilkins et al. (1999) observaram aumentos nas as perdas no campo, de 2,5 para 8,0% da MS, devido ao pré-emurchecimento da silagem de gramínea temperada. A diferença de comportamento de perdas à campo, observada no presente estudo, em relação aos trabalhos revisados (Wilkins et al., 1999 e Igarasi, 2002), provavelmente, ocorreu devido às características das espécies forrageiras e principalmente, no sistema de recolhimento existente no equipamento utilizado, fatores esses, que apresentaram grande influência sobre as perdas por recolhimento (Balsalobre et al., 2001).

Outro parâmetro importante de medida de eficiência do processo de ensilagem é a recuperação de massa digestível (RMD), pois associa as perdas de matéria seca por recolhimento, àquelas ocorridas no valor nutritivo (NDT), durante a ensilagem (emurchecimento e recolhimento). Esse parâmetro expressa a recuperação de nutrientes digestíveis no momento de ensilagem, em relação aos nutrientes disponíveis no momento da ceifa. A menor eficiência foi verificada para o tratamento 350SA, em função de apresentar drástico declínio no teor de NDT, além valor intermediário para o índice PR.

Os tratamentos 250SA, 250CA e 450CA também apresentaram baixos valores de RMD, resultante de altos índices de perdas no recolhimento (PR), apesar de apresentarem pequenas variações nos valores de NDT. O tratamento 650SA, também apresentou um valor insatisfatório de RMD, devido uma considerável redução no teor de NDT. Os tratamentos 450SA e 650APT, apresentaram valores satisfatórios de RMD, por resultarem de valores intermediários de perdas no recolhimento (PR), associados a incrementos significativos nos teores de NDT. O tratamento 650CA também apresentou valor satisfatório de RMD por conciliar baixo valor de PR associado à manutenção de NDT. O maior valor de RMD foi constatado no tratamento 550SA que pôde ser atribuído à minimização do valor de PR conjuntamente à elevação do teor de NDT. Dessa forma, os tratamentos que apresentaram comportamento satisfatório para esse parâmetro foram: 450SA, 550SA, 650CA e 650APT. Como a determinação do NDT foi realizada na forragem amostrada logo após a aplicação dos aditivos (IBE e APT), os valores observados não expressam decorrentes do uso do aditivo. Dessa forma, a RMD segue a mesma tendência da PR, onde maiores teores de matéria seca refletiram em maior eficiência. Ao adotar-se a ensilagem com teor intermediário de MS, 450 à 550 g kg⁻¹ MS, obteve-se ganho relativo de eficiência no sistema de produção, variando entre 4,4 e 9,1%.

5.4 CONCLUSÕES

Como a estimativa de NDT foi realizada no momento do revestimento dos fardos, sucedendo a aplicação dos aditivos (IBE e APT), as média observadas não expressam diferenças quanto ao uso desses produtos, mas sim quanto ao conteúdo de matéria seca intrínscica ao tratamento. O processo de ensilagem, com teor de matéria seca de 550 g kg⁻¹ MS, apresentou maior eficiência relativa, por associar: tempo de emurchecimento intermediário, alta densidade de matéria seca, baixa perda percentual de matéria seca por recolhimento, além de apresentar o maior índice para recuperação de massa digestível, durante a ensilagem. Os tratamentos de maior conteúdo de matéria seca (650 g kg⁻¹ MS)

também apresentaram bom desempenho para os parâmetros avaliados, entretanto, por necessitarem de um período superior a 24 horas de exposição para atingir emurhecimento desejado, se submeteram à riscos potencialmente elevados originados de chuvas de ocorrência noturna.

6 CONCLUSÕES GERAIS

A ensilagem da forragem fresca resultou em elevada proteólise e baixa estabilidade após a abertura. Ao elevar o conteúdo de MS à níveis intermediários, 550 g kg⁻¹ MS, houve favorecimento da fermentação desejável resultando em bom valor nutritivo. Incrementos adicionais no teor de MS, 550-650 g kg⁻¹ MS, apresentou restrição ao crescimento de microrganismos, fermentações menos extensivas e maior estabilidade após a abertura.

A utilização de inoculante bacteriano-enzimático promoveu ganho marginal no valor nutricional, somente quando associado a silagens com elevado teor de MS.

Em silagens com baixo teor de umidade, a aspersão de solução tamponada contendo ácido propiônico não apresentou efetividade.

As médias observadas para a eficiência do processo de ensilagem não se referem ao uso de aditivos (IBE e APT), mas ao teor de MS dos fardos. A elevação do teor de MS para 550 g kg⁻¹ MS através do emurchecimento da forragem tornou o processo mais eficiente, conciliando vantagens logísticas, operacionais e de qualidade da forragem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, J.B.; FERRARI JUNIOR, E.; LAVEZZO, W. et al. Dry matter and nutritive value of coast-cross nº1 preserved as hay, silage and haylage. (Compact disc). In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., São Pedro, 2001. **Proceedings**. Piracicaba: FEALQ, 2001.
- ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 14.ed. Washington, 1984. 1141p.
- BALSALOBRE, M.A.A.; NUSSIO, L.G.; MARTHA JR.; G.B. Controle de perdas na produção de silagens de gramíneas tropicais. In: MATTOS, W.R.S. (Ed.) **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba:SBZ, 2001. p.890-911.
- BERTO, J.L.; MÜHLBACH, P.R.F. Silagem de aveia preta no estágio vegetativo, submetida à ação de inoculantes e ao efeito de emurhecimento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.4, p.651-659, 1997.
- BURSTEDT, E.; MURPHY, M. Relationship between silage based diets and feed conversion. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., Uppsala, 1999. **Proceedings**. Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, 1999. p.41-50.
- CHANEY, A L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p.130-137, 1962.

- COAN, R.M.; VIEIRA, P.F.; SILVEIRA, P.F. et al. Efeitos do inoculante enzimático-bacteriano sobre a composição química, digestibilidade e qualidade das silagens dos capins Tanzânia e Mombaça. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., Piracicaba, 2001. **Anais**. Piracicaba : SBZ, 2001. p.124-126.
- CRESTANA, R.F.; AGUIAR, R.N.S.; BALSALOBRE, M.A.A. et al. Efeito da fermentação na fração fibra de silagens de capim Tanzânia. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., Piracicaba, 2001. **Anais**. Piracicaba : SBZ, 2001. p.354-355.
- DRIEHUIS,F.; STEFANIE, J.W.H. ELFENRINK, O. et al. *Lactobacillus buchneri* improves aerobic stability of laboratory and farm scale whole crop maize silage but does not affect feed intake and milk production of dairy cows. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., Uppsala, 1999. **Proceedings**. Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, 1999. p.264-265.
- EVANGELISTA, A.R.; LIMA, J.A. de; BERNARDES, T.F. Avaliação de algumas características da silagem de gramínea Estrela Roxa (*Cynodon nlemfuensis* Vanderyst). **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.941-946, 2000.
- FARIA, V.P.; CORSI, M. Técnicas de produção de silagem.. In: PEIXOTO, A M.; MOURA, J.C; FARIA, V.P. **Curso de alimentação de bovinos**. Piracicaba: FEALQ, 1992. p.165-192
- GONZALEZ, A.A.; RODREGUEZ, R.; MACCHIAVELLI, R. Et al. Effect of storage method, length of fermentation and days of aerobic exposure on dry matter consumption of native tropical grass ensiled in large round bales in a tropical environment. **Journal of Animal Science**, v.78, suppl. 1, p.118, 2000.

- HAIGH, P.M.; CHAPPLE, D.G.; POWELL, T.L. Effects of silage additives on big-bale grass silage. **Grass and Forage Science**, v.51, n.3, p.318-323, 1996.
- HARRISON, S.; MOULD, F.L.; PHIPPPS, R.H. et al. The effect of ambient temperature on the rate and extent of aerobic deterioration in maize silages, and the subsequent effects on *in vitro* fermentation characteristics assessed using the Reading Pressure Technique (RPT). In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., Uppsala, 1999. **Proceedings**. Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, 1999. p.289-299.
- HENDERSON, A.R.; McDONALD, P.; WOOLFORD, M.K. Chemical changes and losses during the ensilage of wilted grass treated with formic acid. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.23, p.1079-1087, 1972.
- HENRIQUE, W.; BOSE, M.L.V. Efeito de aditivos enzimo-bacterianos sobre a qualidade da silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.21, n.3, p.429-438, 1992.
- HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.6, p.1791-1794, 1999.
- IGARASI, M.S. Controle de perdas na ensilagem de capim Tanzânia (*Panicum maximum*, Jacq. Cv. Tanzânia) sob efeitos do teor de matéria seca, do tamanho de partícula, da estação do ano e da presença de inoculante bacteriano. Piracicaba, 2002. 132p. Dissertação (Mestrado) – Escolas Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

- JONSSON, A.; PAHLOW, G. Systematic classification and biochemical characterization of yeast growing in grass silage inoculated with *Lactobacillus* cultures. **Animal Research and Development**, v.20, p.7-22, 1984.
- LEITÃO, M.F.F. Atividade de água e alterações microbiológicas dos alimentos. In: JARDIM, D.C.P.; GERMER, S.P.M. **Atividade de água em alimentos**. Campinas: ITAL, 1997. cap.3, p.1-18.
- LINDGREN, S. Can HACCP principles be applied for silage safety? In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., Uppsala, 1999. **Proceedings**. Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, 1999. p.51-66.
- LINDGREN, S.; PETTERSSON, K.; KASPERSON, A. et al. Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.36, n.9, p.765-774, 1985.
- KAUTZ, W.P. **Fermented forages: pioneer forage manual, a nutritional guide**. Ames: Pioneer Hi Breed International, 1990. 54p.
- KRAUS, T.J.; KOEGEL, R.G.; STRAUB, R.J. et al. Leachate conductivity as index for quantifying level of forage conditioning. In: ASAE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING, 44., Minneapolis, 1997. **Proceedings**. Minneapolis: ASAE, 1997. p.1-10.
- KRISHNAMOORTTY, U.C.; MUSCATO, T.V.; SNIFFEN, C.J. et al. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.1, p.217, 1982.

- KUNG, L. Microbial and chemical additives for silages: effects on fermentation and animal response. In: WORKSHOP DE MILHO PARA SILAGEM, 2., Piracicaba, 2000. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 2000. p.1-25.
- KUNG, L.; MUCK; R.E. Animal response to silage additives. In: SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK, Ithaca, 1997. **Proceedings**. Ithaca: NRAES, 1997. p.200-210.
- MAHANNA, W.C. Silage fermentation and additive use in North America. In: NATIONAL SILAGE PRODUCTION CONFERENCE, Ithaca, 1993. **Proceedings**. Ithaca: NRAES: 1993. p.85-95.
- MANDEBVU, P.; WEST, J.W.; GATES, R.N. et al. Effect of enzymes or microbial treatment of bermudagrass forage before ensiling on nutrient composition, recovery and digestion. **Journal of Dairy Science**, v.80, sup.1, p.220, 1997.
- MANDEBVU, P.; WEST, J.W.; HARTFIELD, R.D. et al. Effect of treating bermudagrass forages at ensiling with fibrolytic enzymes or microbial inoculant on carbohydrate content of cell walls, concentrations of p-coumaric and ferulic acids, and in situ digestion. **Journal of Dairy Science**, v.80, sup.1, p.198, 1998.
- MARTHA JR, G.B.; NUSSIO, L.G.; BALSALOBRE, M.A. et al. **Produção de silagem de gramíneas tropicais: conceitos básicos e aplicados**. Piracicaba: FEALQ, 2000. 35p.
- MAYRHUBER, E.; HOLZER, M.; DANNER, H et al. Comparison of homofermentative and heterofermentative *Lactobacillus* strains as silage inoculante to improve aerobic stability. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., Uppsala, 1999. **Proceedings**. Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, 1999. p.276-277.

- McDONALD, P., HENDERSON, A R.; HERON; S.J.E. **Biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publication, 1991. 340p.
- MEESKE, R.; BASSON, H.M.; CRUYWAGEN, C.W. The effect of a lactic acid bacterial inoculant with enzymes on the fermentation dynamics, intake and digestibility of *Digitaria eriantha* silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.81, n.2, p.237-248, 1999.
- MONTEIRO, A.L.G. Silagem pré-secada. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 7., Piracicaba, 1999. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 1999. p.97-122.
- MOON, N.J. Inhibition of the growth of acid-tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, v.55, n.3, p.453-460, 1983.
- MUCK, R.E. Fator influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.11, p.2992-3002, 1988.
- MUCK, R.E. Dry matter level effects on alfalfa silage quality. II. Fermentation products and hydrolysis. **Transactions of ASAE**, v.33, n.2, p.373-381, 1990.
- MUCK, R.E. The role of silage additives in making high quality silage. In: NATIONAL SILAGE PRODUCTION CONFERENCE, Ithaca, 1993. **Proceedings**. Ithaca: NRAES: 1993. p.106-116.
- MUCK, R.E; HOLMES, B.J. Density and losses in pressed bag silos. In: ASAE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING SPONSORED, 48., Sacramento, 2001. **Proceedings**. Sacramento: ASAE, 2001. p.1-20.

- MUCK, R.E.; KUNG, L. Effects of silage additives on ensiling. In: **SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK**, Ithaca, 1997. **Proceedings**. Ithaca: NRAES, 1997. p.187-199.
- MÜHLBACH, P.R.F. Additives to improve the silage making process with tropical forages. In: **FAO ELECTRONIC CONFERENCE ON TROPICAL SILAGE**, Rome, 1999. **Proceedings**. Rome: FAO, 2000. p.151-164.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington: National Academy of Sciences, 2001. 381p.
- NUSSIO, L.G.; HUBER, J.T.; THEURER, C.B. et al. Influence of cellulase/xylanase (C/X) complex on lactational performance of dairy cows fed alfalfa hay based diets. **Journal of Dairy Science**, v.80, supl.1, p.220, 1997.
- O'KIELY, P. Conservation of unwilted and wilted grass treated with different additives and ensiled in laboratory silos. In: **GRANGE RESEARCH CENTRE. Teagasc Research Report 1999**. Dunsany: Teagasc, 1999. p.99.
- O'KIELY, P.; FORRISTAL, D.; LENEHAN, J.J. Silage additives and their effects on the conservation characteristics of first-cut baled silage. In: **GRANGE RESEARCH CENTRE. Teagasc Research Report 1999**. Dunsany: Teagasc, 1999a. cap.4, p.117-118.
- O'KIELY, P.; FORRISTAL, D.; LENEHAN, J.J. et al. **Baled silage**. Dunsany: Grange Reserch Centre, 1999b. 44p. (Beef Production Series, 11).
- O'KIELY, P.; MOLONEY, A.; KEATING, T. et al. **Maximizing output of beef within cost efficient, environmentally compatible forage conservation systems**. Dunsany: Grange Reserch Centre, 1999c. 64p. (Beef Production Series, 10).

- PITT, R.E. **Silage and hay preservation**. Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service, 1990. 53p. (NRAES-5).
- PLAYNE, M.J.; McDONALD, P. The buffering constituents of herbage and of silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.17, p.264-268, 1966.
- PRADO, H.do. **Os solos do Estado de São Paulo: mapas pedológicos**. Piracicaba: ESALQ, 1997. 102p.
- RAYMOND, F.; REDMAN, P.; WALTHAM, R. **Forage Conservation and Feeding**. London: Farm Press, 1986. 240p.
- ROTZ, C.A.; BUCKMASTER, D.R.; BORTON, L.R. Economic potential of preserving high-moisture hay. **Applied Engineering in Agriculture**, v.8, n.3, p.315-323, 1992.
- SAS INSTITUTE. **SAS user's guide, release 6.03**. Cary, 1988. 1028 p.
- STEFANIE, J.W.H.; ELFERINK, O.; DRIEHUIS, F. et al. Silage fermentation process and their manipulation. In: FAO ELECTRONIC CONFERENCE ON TROPICAL SILAGE, Rome, 1999. **Proceedings**. Rome: FAO, 2000. p.17-30.
- SWANSON, K.M.J.; BUSTA, F.F.; PETERSON, E.H.; JOHNSON, M.G. Colony count methods. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.S. (Ed) **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. New York: American Public Health Association, 1992. p.145-167.

- TANJA, P.; JUHA, N. The effect of fermentation quality on the aerobic stability of direct cut or slightly prewilt grass silage. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., Uppsala, 1999. **Proceedings**. Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, 1999. p.280-281.
- TOSI, H.; RODRÍGUEZ, L.R.de.A.; JOBIM, C.C. et al. Ensilagem do capim-elefante cv. Mott sob diferentes tratamentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 24, n.6, p.909-916, 1995.
- TRIOPLAST AB. **The bale wrapping handbook**. Smalandsstenar: TRIOPLAST AB, 1995. 52p.
- UMAÑA, R.; STAPLES, C.R.; BATES, D.B. et al. Effects of the digestibility of bermudagrass ensiled at two moisture contents. **Journal of Animal Science**, v.69, n.11, p.4588-4601, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.
- VEIGA, K.Z.; TERZIAN, M.C.; NUSSIO, L.G. et al. Efeito do tamanho de partícula, da adição de polpa cítrica e de inoculante bacteriano em silagem de capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq.). (Compact disc). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – SICUSP, 8., Piracicaba, 2000. **Anais**. São Paulo: USP, 2000.
- VILELA, D. Aditivos para silagens de plantas de clima tropical. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES E NÃO-RUMINANTES, Botucatu, 1998. **Anais**. Botucatu: SBZ, 1998. p.73-108.

- WEINBERG, Z.G.; ASHBELL, G.; BOLSEN, K.K. et al. The effect of propionic acid bacterial inoculant applied at ensiling, with or without lactic acid bacteria, on aerobic stability of pearl millet and maize silages. **Journal of Applied Bacteriology**, v.78, n.4, p.430-436, 1995.
- WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; PIERRE, R.S. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, 39, n.1, p.95-100, 1992.
- WILKINS, R.J.; SYRJÄLÄ-QVIST, L.; BOLSEN, K.K. The future role of silage in sustainable animal production. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., Uppsala, 1999. **Proceedings**. Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, 1999. p.23-40.
- WILKINSON, J.M. Additives for ensiled temperate crops. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES E NÃO-RUMINANTES, Botucatu, 1998. **Anais**. Botucatu: SBZ, 1998. p.53-72.
- WRIGHT, D.A.; GORDON, F.J.; STEEN, R.W.J. et al. Factors influencing the response in intake of silage and animal performance after wilting of grass before ensiling: a review. **Grass and Forage Science**, v.55, n.1, p.1-13, 2000.
- WYSS, U. Influence of inoculation and pre-wilting of extensively used grass on silage quality. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., Uppsala, 1999. **Proceedings**. Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, 1999a. p.125-126.

WYSS, U. Influence pre-wilting degree on aerobic stability of grass silages. In:
INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., Uppsala, 1999. **Proceedings.**
Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, 1999b. p.284-285.

APÊNDICES

Apêndice 1. Médias dos quadrados mínimos para pH de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg ⁻¹ MS	Momento Amostragem										
	0 h	6 h	12 h	24 h	2 dias	4 dias	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático											
250	6,16 d ¹	6,15 b	6,15 b	6,00 b	5,89 b	5,69 d	5,55 d	5,45 de	5,23 bc	4,84 c	4,72 c
350	6,31 c	6,23 ab	6,42 ab	6,36 a	6,06 ab	6,10 c	5,66 cd	5,37 de	5,18 bc	ND ²	ND
450	6,42 abc	6,46 a	6,46 a	6,46 a	6,46 a	6,4 a	6,12 ab	5,77 cde	5,49 b	5,18 c	5,03 bc
550	6,33 bc	6,54 a	6,54 a	6,48 a	6,39 ab	6,42 a	6,02 abc	5,77 cde	5,43 bc	5,18 c	5,23 bc
650	6,45 ab	6,39 ab	6,39 ab	6,43 a	6,45a	6,39 ab	6,26 ab	6,32 a	6,27 a	6,40 a	6,20 a
Com inoculante bacteriano-enzimático											
250	6,13 d	6,37 ab	6,37 b	6,19 ab	6,23 ab	6,03 c	5,90 bcd	5,82 bcd	5,37 bc	ND	ND
450	6,49 a	6,52 a	6,52 a	6,45 a	6,22 ab	5,91 cd	5,62 d	5,32 e	5,07 c	4,91 c	4,94 bc
650	6,31 bc	6,49 a	6,49 a	6,40 a	6,36 ab	6,15 abc	6,37 a	6,13 abc	5,91 a	5,78 ab	5,56 ab
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado											
650	6,41 abc	6,37 ab	6,37 ab	6,41 a	6,39 ab	6,37 ab	6,28 a	6,28 ab	6,22 a	ND	ND
Contrastes											
Sem IBE x Com IBE	ns ³	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	*	ns
650APT x 650SA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ND	ND
650APT x 650CA	* ⁴	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	*	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans (P > 0,05).

²ND= não determinado; ³ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05); ⁴*= significativo pela análise de contrastes (P<0,05).

Apêndice 2. Médias dos quadrados mínimos para o poder tampão (emg kg⁻¹ MS) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg ⁻¹ MS	Momento Amostragem										
	0 h	6 h	12 h	24 h	2 dias	4 dias	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático											
250	159 a ¹	116 a	196 a	142 a	162 ab	182 a	228 a	139 dc	299 ab	9 b	428 a
350	119 a	103 a	159 ab	131 a	141 ab	126 a	205 ab	55 c	208 c	ND ²	ND
450	140 a	121 a	171 ab	134 a	141 ab	114 a	142 b	167 cd	190 c	21 b	143 d
550	149 a	120 a	99 b	157 a	193 ab	119 a	164 b	248 bc	199 c	152 a	230 bc
650	171 a	139 a	95 b	163 a	197 ab	146 a	153 b	332 ab	253 abc	110 a	308 b
Com inoculante bacteriano-enzimático											
250	135 a	85 a	145 ab	130 a	117 b	198 a	282 a	169 cd	337 a	ND	ND
450	133 a	98 a	125 ab	157 a	143 ab	128 a	176 b	172 cd	182 c	148 a	217 cd
650	170 a	124 a	111 ab	150 a	166 ab	124 a	146 b	261 ab	223 bc	110 a	230 bc
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado											
650	180 a	159 a	113 ab	195 a	203 a	151 a	183 b	368 a	257 abc	ND	ND
Contrastes											
Sem IBE x Com IBE	ns ³	ns	ns	ns	ns	* ⁴	ns	ns	ns	ns	*
650APT x 650SA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans (P > 0,05).

²ND= não determinado; ³ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05); ⁴*= significativo pela análise de contrastes (P<0,05).

Apêndice 3. Médias dos quadrados mínimos para o conteúdo de nitrogênio amoniacal na matéria seca (g kg^{-1} MS) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem										
	0 h	6 h	12 h	24 h	2 dias	4 dias	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático											
250	0,51 a ¹	1,15 a	1,19 a	1,29 ab	1,01 a	1,26 ab	0,94 a	0,69 b	1,24 b	1,83 a	3,67 a
350	0,26 a	1,05 a	0,67 ab	0,77 abc	0,72 a	1,57 a	1,39 a	0,98 b	0,93 b	ND ²	ND
450	0,22 a	0,47 a	0,36 b	0,62 abc	0,88 a	0,44 c	0,96 a	0,60 b	0,59 b	0,47 b	0,36 b
550	0,31 a	0,36 a	0,42 ab	0,82 abc	0,60 a	0,49 bc	0,99 a	0,83 b	1,15 b	0,62 b	0,84 b
650	0,41 a	0,61 a	0,25 b	0,51 bc	0,91 a	0,53 bc	0,90 a	1,20 b	1,06 b	0,67 b	1,48 ab
Com inoculante bacteriano-enzimático											
250	0,15 a	1,04 a	0,56 ab	1,31 a	1,03 a	1,52 a	1,06 a	2,88 a	2,99 a	ND	ND
450	0,27 a	0,36 a	0,39 b	0,70 abc	0,42 a	0,49 bc	1,08 a	0,71 b	0,63 b	0,75 b	0,36 b
650	0,42 a	0,63 a	0,29 b	0,24 c	0,93 a	0,42 c	0,67 a	0,84 b	0,86 b	0,43 b	0,93 b
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado											
650	0,58 a	0,78 a	0,33 b	0,42 c	1,03 a	0,55 bc	1,16 a	0,95 b	1,39 b	ND	ND
Contrastes											
Sem IBE x Com IBE	ns ³	ns	* ⁴	ns	ns	ns	ns	*	*	*	*
650APT x 650SA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
650APT x 650CA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado; ³ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$); ⁴*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

Apêndice 4. Médias dos quadrados mínimos para temperatura (°C) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg ⁻¹ MS	Momento Amostragem										
	0 h	6 h	12 h	24 h	2 dias	4 dias	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático											
250	34,0 b ¹	34,0 bc	34,0 cd	37,7 bcd	37,0 ab	30,7 abcd	31,3 a	24,0 a	25,2 a	21,0 a	22,0 a
350	36,7 b	32,3 bc	37,3 bcd	38,0 bc	34,0 b	30,0 bcd	31,3 a	27,7 a	25,3 a	ND ²	ND
450	36,7 b	37,3 b	36,3 bcd	40,0 ab	36,7 ab	29,3 bcd	30,7 a	28,0 a	26,7 a	22,0 a	22,0 a
550	31,0 bc	33,3 bc	36,3 bcd	33,0 cd	32,3 b	28,7 cd	31,3 a	28,7 a	27,0 a	22,0 a	23,3 a
650	46,7 a	46,0 a	43,7 a	44,7 a	40,3 a	34,0 abc	31,7 a	29,0 a	26,0 a	22,7 a	23,7 a
Com inoculante bacteriano-enzimático											
250	27,7 c	ND	38,7 abc	32,0 d	32,0 b	27,7 d	29,0 a	28,0 a	26,0 a	ND	ND
450	33,7 b	29,0 c	31,7 d	33,0 cd	34,7 ab	34,7 ab	33,0 a	29,3 a	26,3 a	22,0 a	21,7 a
650	33,7 b	33,3 bc	30,3 d	36,7 bcd	34,7 ab	36,0 a	29,7 a	28,7 a	26,3 a	22,3 a	27,7 a
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado											
650	47,0 a	45,7 a	42,0 ab	44,3 a	40,0 a	33,0 abcd	31,7 a	28,4 a	26,3 a	ND	ND
Contrastes											
Sem IBE x Com IBE	* ³	ns	*	*	*	*	*	ns	ns	ns	ns
650APT x 650SA	ns ⁴	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	ns	*	*	*	*	*	ns	ns	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans (P > 0,05).

²ND= não determinado; ³*= significativo pela análise de contrastes (P<0,05); ⁴ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05).

Apêndice 5. Médias dos quadrados mínimos do teor de fibra em detergente neutro (g kg^{-1} MS) de silagens de Tifton 85 pré-emurcheadas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	728,0 a ¹	680,4 c	716,6 ab	682,2 b	667,6 a	677,5 a
350	721,5 a	697,4 bc	724,4 ab	690,7 b	ND ²	ND
450	701,7 ab	696,5 bc	699,8 bc	707,4 ab	693,1 a	692,0 a
550	708,7 a	705,2 abc	695,3 bc	711,8 a	677,3 a	684,6 a
650	677,5 b	712,6 ab	660,4 de	709,0 ab	684,4 a	670,5 a
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	727,1 a	680,3 c	729,8 a	699,2 ab	ND	ND
450	708,1 a	720,1 ab	711,3 abc	720,4 a	686,9 a	707,7 a
650	674,2 b	731,3 a	683,6 cd	703,0 ab	707,6 a	682,7 a
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	672,7 b	724,0 ab	654,4 e	706,0 ab	ND	ND
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	ns ³	* ⁴	ns	ns	ns	ns
650APT x 650SA	ns	ns	ns	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	ns	ns	ns	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).

⁴*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

Apêndice 6. Médias dos quadrados mínimos do teor de fibra em detergente ácido (g kg^{-1} MS) de silagens de Tifton 85 pré-emurcheadas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	447,1 a ¹	451,5 a	457,3 a	439,5 a	427,2 a	469,4 a
350	465,8 a	454,2 a	465,5 a	437,6 a	ND ²	ND
450	451,7 a	465,8 a	474,6 a	462,1 a	435,1 a	443,5 a
550	455,5 a	469,3 a	494,5 a	449,4 a	443,9 a	496,1 a
650	460,1 a	452,0 a	491,6 a	461,4 a	472,3 a	485,2 a
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	445,7 a	469,5 a	467,1 a	465,8 a	ND	ND
450	454,3 a	483,1 a	490,8 a	452,3 a	440,5 a	486,1 a
650	450,4 a	459,2 a	466,8 a	454,4 a	491,4 a	463,0a
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	455,4 a	476,6 a	435,7 a	453,9 a	ND	ND
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	ns ³	ns	ns	ns	ns	ns
650APT x 650SA	ns	ns	* ⁴	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	ns	ns	ns	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).

⁴*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

Apêndice 7. Médias dos quadrados mínimos do teor de hemicelulose (g kg^{-1} MS) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	257,0 a	231,1 a	223,5 a	230,0 a	236,1 a	167,0 a
350	239,5 a ¹	244,8 a	227,8 a	244,2 a	ND ²	ND
450	247,4 a	230,9 a	227,6 a	244,1 a	257,5 a	237,9 a
550	257,4 a	235,2 a	218,1 a	267,3 a	233,9 a	198,8 a
650	238,0 a	258,9 a	200,8 a	259,9 a	215,6 a	214,8 a
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	257,8 a	212,9 a	218,1 a	218,3 a	ND	ND
450	254,5 a	236,4 a	220,6 a	268,1 a	245,7 a	219,0 a
650	240,3 a	270,8 a	237,4 a	254,4 a	217,7 a	234,1 a
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	241,9 a	245,3 a	257,7 a	266,9 a	ND	ND
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	ns ³	ns	ns	ns	ns	ns
650APT x 650SA	ns	ns	* ⁴	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	ns	ns	ns	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).

⁴*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

Apêndice 8. Médias dos quadrados mínimos do teor de lignina (g kg^{-1} MS) de silagens de Tifton 85 pré-emurcheçadas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	77,5 b ¹	77,5 a	74,5 b	65,9 a	61,5 b	68,6 a
350	94,1 a	80,1 a	79,6 ab	67,0 a	ND ¹	ND
450	89,3 ab	81,2 a	85,4 ab	76,1 a	69,3 b	68,6 a
550	82,0 ab	82,2 a	85,3 ab	69,0 a	73,3 ab	82,9 a
650	81,3 ab	84,0 a	94,1 a	77,3 a	85,0 a	90,6 a
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	79,0 b	78,6 a	71,7 b	66,7 a	ND	ND
450	85,8 ab	85,5 a	81,6 ab	72,4 a	71,3 ab	81,1 a
650	76,7 b	76,3 a	81,4 ab	74,6 a	85,0 a	78,0 a
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	79,6 b	89,0 a	77,8 b	78,4 a	79,6 b	89,0 a
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	ns ³	ns	*	ns	ns	ns
650APT x 650SA	ns	ns	*	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	* ⁴	ns	ns	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).

⁴*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

Apêndice 9. Médias dos quadrados mínimos do teor de proteína bruta (g kg^{-1} MS) de silagens de Tifton 85 pré-emurcheadas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem						
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias	Média
Sem inoculante bacteriano-enzimático							
250	63,4	107,4	87,3	88,3	90,9	70,1	90,6 d ¹
350	81,9	106,9	94,4	97,2	ND ²	ND	96,5 cd
450	108,6	104,1	107,2	101,5	102,5	90,0	103,6 bc
550	109,1	104,8	114,8	100,0	111,9	109,2	107,0 b
650	130,9	94,4	133,0	112,2	118,3	140,2	117,0 a
Com inoculante bacteriano-enzimático							
250	65,5	93,4	63,3	71,3	ND	ND	76,1 e
450	93,0	92,8	95,7	89,6	97,6	88,6	93,9 d
650	114,0	87,7	104,3	95,2	100,2	104,1	98,3 bcd
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado							
650	134,9	104,7	137,0	110,4	ND	ND	118,0 a
Contrastes							
Sem IBE x Com IBE	ns ³	* ⁴	*	*	ns	ns	*
650APT x 650SA	ns	ns	ns	ns	ND	ND	ns
650APT x 650CA	ns	*	*	ns	ND	ND	*

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).

⁴*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

Apêndice 10. Médias dos quadrados mínimos do teor de nitrogênio amoniacal (g kg^{-1} N) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	37,8 a ¹	53,5 a	43,7 b	79,8 b	107,1 a	217,0 a
350	17,5 a	79,2 a	56,7 b	57,6 b	ND ²	ND
450	12,3 a	58,0 a	35,0 b	36,6 b	28,9 b	27,5 b
550	18,5 a	59,4 a	46,1 b	72,0 b	35,5 b	47,7 b
650	21,7 a	56,6 a	62,6 b	60,2 b	38,0 b	74,2 b
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	13,3 a	75,3 a	206,9 a	228,5 a	ND	ND
450	17,9 a	71,7 a	45,1 b	44,2 b	47,7 b	45,5 b
650	24,8 a	43,7 a	50,7 b	54,0 b	26,4 b	54,1 b
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	31,7 a	71,1 a	48,0 b	80,2 b	ND	ND
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	ns ³	ns	* ⁴	*	*	*
650APT x 650SA	ns	ns	ns	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	ns	ns	ns	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).

⁴*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

Apêndice 11. Médias dos quadrados mínimos do teor de nitrogênio ligado a fibra em detergente neutro (g kg^{-1} N) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	605,2 a ¹	321,8 de	386,6 ab	293,6 d	299,2 b	250,9 b
350	577,1 ab	373,3 cd	401,1 ab	310,7 d	ND ²	ND
450	548,4 ab	434,7 bc	423,6 a	365,7bcd	337,5 b	330,0 ab
550	523,4 bc	443,3 bc	366,2 ab	361,4bcd	335,3 b	354,0 a
650	446,7 bc	525,5 a	412,7 ab	436,0 ab	424,6 ab	358,2 a
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	603,4 ab	291,4 e	341,3 b	215,5 e	ND	ND
450	546,9 ab	421,2 bc	359,9 ab	338,1 cd	342,1 b	323,0 ab
650	442,6 bc	446,5 abc	396,6 ab	400,0abc	395,4 a	344,5 a
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	401,0 c	502,1 ab	401,0 ab	469,4 a	ND	ND
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	ns ³	* ⁴	*	*	*	ns
650APT x 650SA	ns	ns	ns	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	*	*	*	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).

⁴*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

Apêndice 12. Médias dos quadrados mínimos do teor de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (g kg^{-1} N) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	194,5 a ¹	59,4 cd	66,0 abc	75,8 bc	79,7 a	59,2 b
350	107,2 bc	100,3 a	77,4 a	85,3 b	ND ²	ND
450	87,3 cd	39,8 d	65,7 a	81,8 bc	75,4 a	49,8 bc
550	95,0 c	64,1 bc	60,0 bc	82,0 bc	73,7 a	89,1 a
650	94,8 c	62,4 bc	76,3 a	71,1 c	99,2 a	83,0 a
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	134,7 b	63,2 bc	77,3 a	70,1 c	ND	ND
450	84,6 cd	63,4 bc	59,0 c	81,9 bc	73,3 a	93,2 a
650	87,5 cd	81,2 ab	75,5 ab	103,0 a	89,0 a	40,3 c
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	61,3 d	52,1 cd	75,1 ab	84,2 b	ND	ND
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	* ³	ns ⁴	ns	*	ns	ns
650APT x 650SA	*	ns	ns	*	ND	ND
650APT x 650CA	*	*	ns	*	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

⁴ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).

Apêndice 13. Médias dos quadrados mínimos da fração nitrogenada B3 (g kg^{-1} N) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	408,6 abc ¹	258,5 c	315,9 ab	217,4 cd	199,5 b	171,6 b
350	468,6 a	269,9 c	319,6 ab	225,2 cd	ND ²	ND
450	460,9 a	394,6 ab	358,2 a	283,9 bc	259,9 ab	274,0 a
550	428,7 ab	380,4 ab	308,4 ab	279,4 c	263,7 ab	270,0 a
650	353,6 bc	463,2 a	340,6 ab	365,3 ab	341,8 a	289,6 a
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	466,7 a	224,2 c	258,2 b	145,0 d	ND	ND
450	462,4 a	358,7 b	300,9 ab	256,2 c	265,6 ab	228,6 ab
650	356,5 bc	367,5 b	323,7 ab	297,1abc	313,3 a	311,3 a
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	341,8 c	453,8 a	330,9 ab	385,5 a	ND	ND
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	ns ³	* ⁴	*	*	ns	ns
650APT x 650SA	ns	ns	ns	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	*	*	*	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).

⁴*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

Apêndice 14. Médias dos quadrados mínimos do teor de cinzas (g kg^{-1} MS) de silagens de Tifton 85 pré-emurcheadas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	83,5 a ¹	88,4 a	78,9 a	82,6 a	84,0 a	84,2 a
350	82,3 a	90,3 a	83,2 a	84,2 a	ND ²	ND
450	83,2 a	87,0 a	86,2 a	81,4 a	85,1 a	80,4 a
550	87,8 a	86,3 a	89,5 a	85,6 a	86,8 a	85,9 a
650	89,9 a	82,7 a	88,4 a	86,1 a	84,1 a	84,2 a
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	74,8 a	87,7 a	81,7 a	83,3 a	ND	ND
450	84,0 a	80,3 a	83,6 a	85,0 a	81,1 a	82,4 a
650	83,9 a	82,2 a	88,4 a	85,2 a	84,5 a	83,7 a
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	90,5 a	83,7 a	90,6 a	83,2 a	ND	ND
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	* ³	ns	ns	ns	ns	ns
650APT x 650SA	ns ⁴	ns	ns	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	ns	ns	ns	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

⁴ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).

Apêndice 15. Médias dos quadrados mínimos do teor de extrato etéreo (g kg⁻¹ MS) de silagens de Tifton 85 pré-emurchecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg ⁻¹ MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	10,3 a ¹	16,7 a	17,6 a	19,2 a	11,6 a	24,3 a
350	11,5 a	16,5 ab	15,9 ab	19,3 a	ND ²	ND
450	9,5 a	15,5 abc	15,4 ab	20,1 a	16,1 a	19,8 b
550	11,4 a	13,1 bc	16,5 ab	19,5 a	18,7a	17,5 b
650	12,1 a	12,4 c	14,3 ab	14,3 bc	21,3 a	18,3 b
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	10,4 a	14,4 abc	16,1 ab	17,5 b	ND	ND
450	9,1 a	12,8 c	14,0 ab	18,1 a	16,0 a	19,9 b
650	9,0 a	13,3 bc	13,6 b	12,5 c	21,7 a	19,6 b
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	11,6 a	14,1 abc	16,1 ab	13,7 c	ND	ND
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	* ³	*	*	*	ns	ns
650APT x 650SA	ns ⁴	ns	*	ns	ND	ND
650APT x 650CA	*	ns	*	ns	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans (P > 0,05).

²ND= não determinado.

³*= significativo pela análise de contrastes (P<0,05).

⁴ns= não significativo pela análise de contrastes (P>0,05).

Apêndice 16. Médias dos quadrados mínimos do teor de nutrientes digestíveis totais (g kg^{-1} MS) de silagens de Tifton 85 pré-emurhecidas sob níveis crescentes do teor de matéria seca, submetidas ou não ao uso de inoculante bacteriano-enzimático (IBE) e ácido propiônico tamponado (APT).

Teor de MS g kg^{-1} MS	Momento Amostragem					
	0 h	8 dias	16 dias	32 dias	90 dias	180 dias
Sem inoculante bacteriano-enzimático						
250	511,0 ab ¹	522,9 a	531,8 a	550,2 a	551,8 a	560,3 a
350	492,5 b	513,1 a	516,2 ab	544,7 ab	ND ²	ND
450	505,2 ab	516,2 a	509,4 ab	529,2abcd	534,6 ab	547,6 ab
550	507,1 ab	508,0 a	500,9 b	525,4bcd	529,0 bc	510,0 bc
650	514,2 a	507,5 a	502,6 b	513,7 cd	516,6 bc	502,8 c
Com inoculante bacteriano-enzimático						
250	518,1 a	516,6 a	524,8 ab	538,2abc	ND	ND
450	504,5 ab	501,5 a	506,1 ab	514,5 cd	531,5abc	547,6 ab
650	524,0 a	512,9 a	511,0 ab	516,7 cd	513,2 c	524,8abc
Com aplicação externa de ácido propiônico tamponado						
650	515,7 a	497,3 a	524,0 ab	513,4 cd	ND	ND
Contrastes						
Sem IBE x Com IBE	* ³	ns	ns	*	ns	ns
650APT x 650SA	ns ⁴	ns	*	ns	ND	ND
650APT x 650CA	ns	ns	ns	ns	ND	ND

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo LSmeans ($P > 0,05$).

²ND= não determinado.

³*= significativo pela análise de contrastes ($P < 0,05$).

⁴ns= não significativo pela análise de contrastes ($P > 0,05$).