

DANIELE DE JESUS FERREIRA

Streptococcus bovis **ISOLADO DO RÚMEN COMO ADITIVO PARA SILAGEM DE
CAPIM-ELEFANTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

DANIELE DE JESUS FERREIRA

Streptococcus bovis **ISOLADO DO RÚMEN COMO ADITIVO PARA SILAGEM DE
CAPIM-ELEFANTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de fevereiro de 2010.

Prof. Antonio Bento Mancio
(Co-orientador)

Prof^a. Cristina Mattos Veloso

Prof. João Carlos C. Almeida

Prof. Augusto César de Queiroz

Prof. Rogério de Paula Lana
(Orientador)

O Senhor é o meu pastor, nada me faltará.

Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas tranqüilas.

Refrigera a minha alma; guia-me pelas veredas da justiça, por amor do seu nome.

Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte, não temerei mal algum, porque tu estás comigo; a tua vara e o teu cajado me consolam.

Preparas uma mesa perante mim na presença dos meu inimigos, unges a minha cabeça com óleo, o meu cálice transborda.

Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida; e habitarei na casa do Senhor por longos dias.

Salmos 23; 2-6.

DEDICATÓRIA

Ao meu avô, Germano Ferreira, *in memoriam*, pela valorosa criação e todo seu amor, educação transmitida, ensinando-me a lutar por meus objetivos, independente das dificuldades da vida, sem jamais desistir. Sinto muita falta e saudades suas!

À minha amada avó, pela valorosa criação e por seu amor incondicional, estando sempre à meu lado, apoiando-me e fazendo dos meus esforços os seus, acreditando na minha capacidade acima de tudo.

É mérito de vocês o meu sucesso!

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre comigo, me protegendo e dando-me força para enfrentar as dificuldades da vida, sem jamais pensar em desistir.

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo e pelo financiamento parcial desta pesquisa.

Ao Professor Rogério de Paula Lana, pelos ensinamentos, conselhos e orientação, mas, acima de tudo, por acreditar em mim no momento em que mais foi preciso.

À minha querida mãe, Célia, por todo seu amor e apoio. Sem você nada disso seria possível.

Ao meu tio Gilson, pelo seu incentivo e apoio, sempre acreditando sem jamais duvidar.

À minha querida irmã (Giselle) e meu sobrinho (Pedro), por todo amor e carinho.

Ao meu companheiro Anderson, por todo seu amor, paciência, incentivo, sempre me apoiando nos momentos de felicidades e tristeza, e transmitindo seus ensinamentos para a concretização deste trabalho Te amo!

À toda minha família, por todo amor, carinho e apoio.

Aos meus amigos Celso Giroto, Paula Silva, Geraldo Magela Pena, Giulia, Giovana, Josiane, pela maravilhosa amizade maravilhosa e sincera amizade, e todo apoio.

Aos amigos Edson e Juliana, pelo apoio.

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

Obrigada!

BIOGRAFIA

DANIELE DE JESUS FERREIRA, filha de Célia de Jesus Ferreira, nasceu no Rio de Janeiro, no dia 05 de abril de 1978.

Em 24 de agosto de 2007, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Em agosto de 2008 iniciou o Curso de Mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes, submetendo-se à defesa em 22 de fevereiro de 2010.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	5
Capítulo 1 - Populações microbianas, perfil fermentativo, composição bromatológica, perdas por gases e efluentes em silagens inoculadas com <i>Streptococcus bovis</i> isolado do rúmen bovino.....	9
Resumo.....	9
Abstract.....	11
1. Introdução.....	12
2. Material e Métodos.....	14
2.1. Populações microbianas e perfil fermentativo.....	15
2.2. Composição bromatológica.....	16
2.3. Perdas por gases e efluentes.....	16
2.4. Recuperação da matéria seca e da proteína bruta.....	17
2.5. Análise de dados.....	17
3. Resultados e Discussão.....	18
3.1. Populações microbianas.....	18
3.2. Perfil fermentativo.....	19
3.3. Composição bromatológica e digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS).....	22
3.4. Perdas por gases e efluentes e recuperação da matéria seca e da proteína bruta.....	24
4. Conclusões.....	26
5. Referências Bibliográficas.....	27

Capítulo 2 - Consumo e digestibilidade aparente em ovinos e degradabilidade <i>in situ</i> de silagens de capim-elefante inoculadas com <i>Streptococcus bovis</i> isolado do rúmen bovino.....	32
Resumo.....	32
Abstract.....	34
1. Introdução.....	35
2. Material e Métodos.....	36
2.1. Período de avaliação e manejo dos animais.....	37
2.2. Composição bromatológica.....	38
2.3. Degradabilidade <i>in situ</i> de nutrientes.....	38
2.4. Análises dos dados.....	39
3. Resultados e Discussão.....	39
3.1. Composição bromatológica, pH e N-amoniaco.....	39
3.2. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes.....	40
3.3. Degradabilidade <i>in situ</i> de nutrientes.....	44
4. Conclusões.....	49
5. Referências bibliográficas.....	50
CONCLUSÕES GERAIS.....	55

RESUMO

FERREIRA, Daniele de Jesus, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010. ***Streptococcus bovis* isolado do rúmen como aditivo para silagem de capim-elefante**. Orientador: Rogério de Paula Lana. Co-orientadores: Anderson de Moura Zanine e Antonio Bento Mancio.

Este trabalho foi constituído de dois experimentos, conduzidos em área do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. No primeiro experimento, avaliou-se o desenvolvimento das populações microbianas, perfil fermentativo, perdas por gases e efluentes, recuperação da matéria seca e da proteína bruta, composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de capim-elefante inoculadas com bactérias ácido lácticas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e seis repetições: Silagem de capim-elefante sem inoculante (controle); Silagem de capim-elefante inoculado com 10^6 ufc/g de estirpes de *Enterococcus faecium*; Silagem de capim-elefante inoculado com 10^6 UFC/g de estirpes de *Streptococcus bovis* JB1; Silagem de capim-elefante inoculada com 10^6 ufc/g de estirpes de *Streptococcus bovis* HC5;. Foram utilizados baldes experimentais com capacidade de 15 L, dotados de válvula de Bunsen, para escape dos gases, e com 3 kg de areia adicionados no fundo para retenção dos efluentes. Foi observado maior número de populações de enterobactérias, fungos e leveduras nas silagem controle e nas silagens de capim-elefante inoculadas com *Enterococcus faecium*, respectivamente ($P < 0,05$). As silagens inoculadas com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, além de apresentarem a menores populações de enterobactérias, fungos e leveduras, apresentaram maiores números ($P < 0,05$) de bactérias lácticas, 10,03 e 9,97 log ufc/g, respectivamente. Os valores de pH e N-amoniaco foram menores ($P < 0,05$) para a silagem inoculadas com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, respectivamente. As silagens inoculadas com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5 foram as que apresentaram os maiores valores ($P < 0,05$) de ácido láctico, 6,78 e 6,62% MS, respectivamente, e os menores valores de ácidos acético, butírico e propiônico. A silagem inoculada com *Streptococcus bovis* apresentou maior teor ($P < 0,05$) de proteína bruta e maior recuperação de matéria seca e proteína bruta, além das menores perdas por gases e efluentes ($P < 0,05$). Diante de todos os parâmetros estudados houve uma similaridade de respostas positivas entre o *Streptococcus bovis* JB1 e o *Streptococcus bovis* HC5, ficando a escolha entre eles mais em

função do custo de obtenção. No segundo experimento, foram avaliados o consumo, a digestibilidade aparente e a degradabilidade *in situ* dos nutrientes, em que 20 ovinos adultos, sem raça definida, castrados, foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos: Silagem de capim-elefante sem inoculante (controle); Silagem de capim-elefante inoculado com 10^6 ufc/g de estirpes de *Enterococcus faecium*; Silagem de capim-elefante inoculado com 10^6 UFC/g de estirpes de *Streptococcus bovis* JB1; Silagem de capim-elefante inoculada com 10^6 ufc/g de estirpes de *Streptococcus bovis* HC5 e cinco repetições por tratamento. Para ensilagem do capim-elefante, utilizaram-se sacos plásticos de 100 kg de capacidade de peso, com total de cinco sacos plásticos, perfazendo 500 kg de forragem verde por tratamento. O capim-elefante utilizado foi oriundo da mesma capineira do primeiro experimento e teve o mesmo trato cultural. O período de avaliação teve duração de 21 dias, sendo 15 para adaptação às dietas e seis para as coletas. Foi observada diferença ($P < 0,05$) entre o consumo de matéria seca das silagens avaliadas, sendo os maiores valores registrados nas silagens inoculadas. A silagem sem inoculante apresentou o menor valor ($P < 0,05$) de consumo de matéria seca (1,43% PV ou 42,79 g/kg PV^{0,75}/dia), sendo a silagem inoculada com *Streptococcus bovis* HC5 a que apresentou melhor consumo de matéria seca (2,29% PV ou 56,10 g/kg^{0,75}/dia). Os menores valores de digestibilidade da matéria seca ocorreram na silagem controle (42,79% MS) seguida pela silagem de capim elefante inoculada com *Streptococcus bovis* JB1 e *Enterococcus faecium*, respectivamente. Para a digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro, houve efeito dos inoculantes ($P < 0,05$) com valores acima de cinco pontos percentuais em relação à silagem controle. Para os demais nutrientes, não foi observado efeito dos aditivos microbianos ($P > 0,05$). Em relação à degradabilidade, a fração solúvel (a), principalmente nas silagens inoculadas com o *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, apresentou maiores valores, 30,77 e 29,97%, respectivamente, para a matéria seca e 37,01 e 36,66% para a proteína bruta, respectivamente. A inoculação bacteriana promove maiores consumo, digestibilidade aparente e degradabilidade da matéria seca da silagem de capim-elefante, com destaque para o *Streptococcus bovis* HC5.

ABSTRACT

FERREIRA, Daniele de Jesus, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2010. ***Streptococcus bovis* isolated from the rúmen as an additive for silage, elephant grass.** Adviser: Rogério de Paula Lana. Co-Advisers: Anderson de Moura Zanine and Antonio Bento Mancio.

This work consisted of two experiments and was developed in a area of the Animal Science Department, Federal University of Viçosa. The first experiment evaluated the development of microbial populations, fermentation characteristics, and gases effluent, recovery of dry matter and crude protein, the chemical composition, the *in vitro* dry matter digestibility of elephant grass inoculated with lactic acid bacteria. The experiment design was completely randomized with four inoculant and six replications: Elephant grass silage without inoculant (control), Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g of strains of *Enterococcus faecium*, Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g strains of *Streptococcus bovis* JB1, Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g of strains of *Streptococcus bovis* HC5. A experimental silos used with a capacity of 15 L equipped with bunsen valve for exhaust of the gases and 3 kg of sand added to the bottom to retain the effluent. In the control silage and the silage inoculated with *Enterococcus faecium*, respectively ($P < 0.05$) showed higher numbers of populations of enterobacteria, fungi and yeasts. The silages inoculated with *Streptococcus bovis* JB1 and HC5, besides having the smallest populations of enterobacteria, fungi and yeasts showed higher numbers ($P < 0.05$) of lactic acid bacteria, 10.03 and 9.97 log ufc/g, respectively. The pH and ammonia-N were lower ($P < 0.05$) for silage inoculated with *Streptococcus bovis* JB1 and HC5, respectively. The silages inoculated with *Streptococcus bovis* JB1 and HC5 showed the highest values ($P < 0.05$) of lactic acid, 6.78 and 6.62% DM, respectively, and the lowest values of acetic, propionic and butyric. The silage inoculated with *Streptococcus bovis* showed a higher content ($P < 0.05$) crude protein and high recovery of dry matter and crude protein, and smallest losses of gases and effluents ($P < 0.05$). There was a similarity of positive responses among *Streptococcus bovis* (JB1) and *Streptococcus bovis* (HC5), whereas the choice between them more closely to the cost of disposal. In the second experiment, it was evaluated the intake and digestibility and degradability of nutrients to achieve this, we used 20 adult sheep, mixed breed animals, distributed in a completely randomized design with four

inoculants five replicates per treatment: Elephant grass silage without inoculant (control), Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g of strains of *Enterococcus faecium*, Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g strains of *Streptococcus bovis* JB1, Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g of strains of *Streptococcus bovis* HC5. For ensiling of elephant grass, it used a 100 kg weight capacity plastic bags, with a total of five bags, totaling 500 kg of green fodder per treatment. The elephant grass was used come from the same Capineira the first experiment and had the same cultural tract. The evaluation period lasted 21 days being 15 for diet adaptation and six for the collections. There was statistical difference ($P < 0,05$) between the consumption of dry matter in silages, and the highest recorded values was for the inoculated silages. Silage without inoculation had the lowest values ($P < 0.05$) of dry matter intake (1.43% PV or $42.79 \text{ g/kg BW}^{0,75}/\text{day}$) and silage inoculated with *Streptococcus bovis* HC5 that showed better dry matter intake (2.29% or $56.10 \text{ g/kg BW}^{0,75}/\text{day}$). The lowest digestibility of dry matter occurred in the control silage (42.79% DM) followed by elephant grass silage inoculated with *Enterococcus faecium* and *Streptococcus bovis* JB1, respectively. For the apparent digestibility of neutral detergent fiber, was no effect of inoculation ($P < 0.05$) with values greater than five percentage points compared to elephant grass silage without inoculant. For the other nutrients there was no observed effect of microbial additives ($P > 0.05$). In relation to degradability, the soluble fraction (a), particularly in silages inoculated with *Streptococcus bovis* JB1 and HC5 showed in higher values, 30.77 and 29.95%, respectively, dry matter and 37.01 and 36.66% for crude protein, respectively. It was concluded that the bacterial inoculation promotes greater consumption, apparent digestibility and dry matter degradability silage of elephant grass, especially *Streptococcus bovis* HC5.

INTRODUÇÃO GERAL

A alimentação de bovinos em confinamento no Brasil é baseada no fornecimento de volumosos de boa qualidade. Entretanto a sazonalidade climática afeta o rendimento e o valor nutritivo ao longo do ano, concentrando a produção forrageira nas épocas de maiores índices pluviométricos e temperaturas mais elevadas. Uma das formas de minimizar os efeitos da sazonalidade da produção consiste na conservação destas forragens quando é elevado o seu valor nutritivo.

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) é considerado uma das mais importantes forrageiras tropicais devido ao seu elevado potencial de produção de biomassa, fácil adaptação aos diversos ecossistemas e boa aceitação pelos animais, sendo largamente utilizado na alimentação de rebanhos sob as formas de pastejo e principalmente como silagem, pelo seu alto teor de carboidratos solúveis que favorecem uma boa fermentação (Patrizi et al., 2004).

Durante o processo de ensilagem, a forragem verde colocada no silo sofre transformação até a estabilização completa da massa, adquirindo as características de silagem. O principal objetivo do processo de ensilagem é alcançar valores de pH suficientes para inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis e a atividade do catabolismo enzimático da planta ensilada.

Para que uma forrageira seja conservada sob a forma de silagem é necessário o predomínio da fermentação láctica sob condições de anaerobiose. Vários são os fatores que podem interferir na qualidade da fermentação. Entre eles, citam-se a presença de bactérias homo e heterofermentativas, o teor de carboidratos solúveis, os teores de matéria seca, a compactação e a rapidez no fechamento do silo (McDonald et al., 1991).

O que se espera de uma silagem de boa qualidade é que as bactérias lácticas homofermentativas tornem-se dominantes o mais rapidamente e promovam, pelo baixo pH e reduzido potencial de oxirredução, inibição de enterobactérias, bactérias dos gêneros *Listeria*, *Bacillus*, *Clostridium* e das próprias bactérias lácticas heterofermentativas. Segundo Muck (1996), um perfil de fermentação ideal é aquele em que o máximo de ácido láctico seja produzido, isto porque a fermentação láctica não resulta em perdas pela formação de gases e metabólitos secundários.

Nessa realidade, a inoculação microbiana tem sido apontada como alternativa para melhorar o perfil fermentativo e o valor nutricional de silagens de algumas

plantas forrageiras, embora os resultados encontrados sejam bastante variáveis (Bolsen et al., 1992). A maioria dos inoculantes microbianos contém cepas de bactérias lácticas homofermentativas, cuja finalidade é estimular rapidamente a fermentação láctica, reduzir o pH e inibir a ação das bactérias indesejáveis, principalmente as proteolíticas (Filya et al., 2000).

A primeira condição para que um inoculante resulte em melhorias no controle de microrganismos indesejáveis e, conseqüentemente, no perfil fermentativo de silagens diz respeito à quantidade de bactérias ácido lácticas (BAL) epifíticas das plantas a serem ensiladas. De acordo com Muck (1991), o inoculante deve fornecer pelo menos 10% a mais de bactérias lácticas do que a quantidade presente na forragem. Ohmomo et al. (2002), relataram que quantidades superiores a 10^5 unidades formadoras de colônia (ufc)/g asseguram a predominância de bactérias lácticas durante o processo de ensilagem. Pereira et al. (2006) observaram maior população epifítica de bactérias lácticas em plantas de capim-elefante com 13 semanas de idade, quando comparadas com plantas mais jovens. Pahlow (1986), revisando a literatura, verificaram que a maioria das plantas forrageiras no momento da ensilagem, apresenta, uma população epifítica de bactérias lácticas em torno de 10^4 - 10^5 ufc/g, enquanto o milho apresentava populações deste grupo microbiano em torno de 10^6 - 10^7 ufc/g.

Avaliando a flutuação nas populações de enterobactérias e bactérias produtoras de ácido láctico, em silagem de capim-elefante colhido na 10^a, 11^a, 12^a e 13^a semanas de rebrotação, Pereira et al. (2005) verificaram que as populações de enterobactérias atingiram valores próximos de 6 log UFC/g, para as três maiores idades de rebrotação. Todavia, não verificaram ocorrência deste grupo microbiano após o sétimo dia de ensilagem, em nenhuma das silagens. Com relação à população de BAL, verificaram valores máximos de 6,23, 6,53, 6,84 e 6,82 log ufc/g no sétimo dia pós-ensilagem, para as idades de rebrotação de 10, 11, 12 e 13 semanas, respectivamente.

Vale destacar que Zanine et al. (2007), trabalhando com diferentes partes do capim-tanzânia, observaram que as populações microbianas são variáveis em função das partes da planta, e o colmo é a parte que assegura o crescimento de bactérias lácticas e inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis durante a ensilagem do capim-tanzânia.

Em relação ao consumo de silagem de capim, este é geralmente menor que o observado para o material *in natura*. Durante a fermentação da silagem, parte da fração nitrogenada é degradada até peptídeos, aminoácidos e amônia, que são frações solúveis, rapidamente degradadas no rúmen com baixa eficiência de síntese de proteína microbiana (Nussio et al., 2002). Os efeitos benéficos da inoculação microbiana sobre o consumo e digestibilidade de silagens não são tão evidentes quanto os observados na fermentação. Não obstante, acredita-se que a melhoria do padrão de fermentação, com diminuição da proteólise, reduzida liberação de aminoácidos e aminas, como consequência da diminuição da fermentação butírica, pode resultar em maior consumo e melhor desempenho dos animais.

Muck (1993), revisando estudos sobre inoculantes, publicados entre 1985 e 1992, relatou respostas positivas para consumo, ganho de peso, produção de leite e eficiência alimentar em 25, 25, 40 e 45% dos estudos, respectivamente. Em experimento com ovinos, Manno et al. (2002), utilizando silagens de capim-elefante cv. Cameroon tratadas com três inoculantes comerciais, verificaram que o consumo médio das silagens inoculadas foi superior em 20% àquele da silagem controle, fato este atribuído a uma maior aceitabilidade devido à boa conservação das silagens inoculadas.

Nesse contexto, o *Streptococcus bovis* é uma bactéria láctica isolada do rúmen, com características que a possibilitam ser utilizada como inoculante para silagem. A principal característica diz respeito à de velocidade específica de crescimento desta espécie, 30% superior à de outras espécies de bactérias lácticas utilizadas como inoculante para silagem, o que sugere que a mesma pode atuar como cultura “starter” no processo fermentativo, promovendo uma rápida queda do pH das silagens (Jones et al., 1992). Mantovani et al. (2002) relataram que a possível inibição de microrganismos proteolíticos devido ao abaixamento do pH, e ou, consumo de amônia pelas estirpes de *Streptococcus bovis*, seria a principal explicação para a adequada fermentação, que estaria relacionada com a redução das enterobactérias em decorrência do desenvolvimento das bactérias lácticas. Essa resposta foi confirmada por Oliveira et al. (2007), avaliando a inoculação de estirpes de *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, em silagem de capim-mombaça, e por Zanine et al. (2009) em silagem de capim-tanzânia inoculada com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5.

Destaca-se, ainda, que algumas linhagens de *Streptococcus bovis* também, produzem bacteriocinas, que podem inibir o crescimento de microrganismos patógenos (Mantovani et al., 2002). Estes autores verificaram que uma estirpe de *Streptococcus bovis*, denominada de HC5, produz uma bacteriocina (bovicina HC5) que inibe uma ampla variedade de microrganismos, incluindo bactérias do gênero *Clostridium*, indesejáveis no processo de ensilagem por serem proteolíticos e produzirem amônia. Desta forma, espera-se que a inoculação com *Streptococcus bovis* reduza a produção de amônia na silagem e venha a melhorar o seu valor nutritivo.

Segundo McDonald (1981), a diminuição das enterobactérias melhora a qualidade da silagem, pois este grupo de bactérias fermenta açúcares, formando ácido acético e gás carbônico, aumentando as perdas de matéria seca da silagem. Por conseguinte, o efeito esperado da inoculação microbiana é a diminuição das perdas de nutrientes. Entretanto, o processo fermentativo promove solubilização da hemicelulose, diminuindo a fração de fibra em detergente neutro da silagem, além de aumentar a digestibilidade da matéria seca, devido à abertura promovida na parede celular das plantas. Outro efeito esperado é a redução da perda do conteúdo protéico da silagem, como consequência da inibição da proteólise promovida por bactérias do gênero *Clostridium* e por enterobactérias (Muck, 1996).

Com base no exposto, os *Enterococcus*, bactérias ácido lácticas, têm sido usados amplamente, tanto na pesquisa, quanto na composição de inoculantes comerciais, como forma de maximizar o processo de produção de silagem, levando a uma melhoria nos índices de produtividade animal (Meeske & Basson, 1998; Meeske et al., 1999; Silva, 2001; Rocha, 2003; Coan et al., 2005; Santos et al., 2006), sendo, portanto, um bom indicador a se comparar com o *Streptococcus bovis*.

Face às considerações acima, conduziu-se o trabalho, envolvendo dois experimentos, objetivando-se quantificar a população de bactérias ácido lácticas; avaliar o perfil fermentativo, as perdas por gases e efluentes, a recuperação de nutrientes e a composição bromatológica de silagens de capim-elefante. Objetivou-se, ainda avaliar degradabilidade dos nutrientes, o consumo e a digestibilidade aparente dos nutrientes em ovinos alimentados com dietas contendo silagens de capim-elefante tratadas com inoculantes microbianos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOLSEN, K.K.; LIN, C.; BRENT, C.R.; FEYERHERM, A.M.; URBAN, J.E.; AIMUTIS, W.R. Effect the silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.11, p.3066-83, 1992.
- COAN, R.M.; VIEIRA, P.F.; SILVEIRA, R.N.; REIS, A.R.; EUCLIDES, B.M. Inoculante enzimático-bacteriano, composição química e parâmetros fermentativos das silagens dos capins Tanzânia e Mombaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.416-424, 2005.
- FILYA, I.; ASHBELL, G.; HEN, Y. The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.88, p.39-46, 2000.
- JONES, B.A.; SATTER, L.D.; MUCK, R.E. Influence of bacterial inoculant and substrate addition to alfalfa ensiled at different dry matter contents. **Grass Forage Science**. 47:19–27, 1992.
- MANNO, M.C.; PEREIRA, O.G.; MONTEIRO, R.B.N.C. et al. Consumo e digestibilidade aparente de silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) tratadas com inoculantes microbianos. In: XXXIX REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39. 2002. **Anais...** Recife, UFRPE-Recife, 2002 (CD-ROM).
- MANTOVANI, H.C.; WOROBO, R.W.; RUSSELL, J.B. The *bacteriocin* from *Streptococcus bovis* HC5. **Microbiology**, v.148, p.3347-3352, 2002.
- McDONALD, P. **The biochemistry of silage**. Chichester: John Wiley e Sons, 1981. 218p.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991. 340p.

- MEESKE, R.; BASSON, H.M. The effect of a lactic acid bacterial inoculant on maize silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.70, p.239-274, 1998.
- 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, p.237-248, 1999.
- MUCK, R. Silage inoculation. In: CONFERENCE WITH DAIRY AND INDUSTRIES, 1996, Madison. **Proceedings...** Dairy Forage Research Center, p.43-51, 1996
- MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2992-3002, 1991.
- MUCK, R.E. The role of silage additives in making high quality silage. In: SILAGE PRODUCTION FROM SEED TO ANIMAL, 67., 1993, New York. **Proceedings...** New York: NRAES, 1993, p.106-116.
- NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; NUSSIO, C.N.B. Ensilagem de capins tropicais. In: XXXIX REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39. **Anais...** Recife, SBZ, 2002.
- OLIVEIRA, J.S; SANTOS, E.M.; ZANINE, A.M.; MANTOVANI, H.C.; PEREIRA, O.G. Streptococcus bovis isolado do rúmen como inoculante para silagem de capim-mombaça. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, p. 35-40, 2007.
- OHMOMO, S.; TANAKA, O.; KITAMOTO, H.K.; CAI, Y. Silage and microbial performance, old history but new problem. **JARQ** v.36 ,n.2, p.59-71, 2002. <http://www.jircas.affrc.go.jp> 27/05/2009.
- PAHLOW G.; HONIG, H. Wirkungsweise und einsatzgrenzen von silage-impfkulturen aus milchsäurebakterien. **Wirtschaftseigene Futter**, v.32, p.20-35, 1986.

- PATRIZI, W.L.; MADRUGA JÚNIOR, C.R.F.; MINETTO, T.P.; NOGUEIRA, E.; MORAIS, M.G. Efeito de aditivos biológicos comerciais na silagem de capim Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). **Arquivos Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.3, p.392-397, 2004.
- PEREIRA, O.G.; SANTOS, E.M.; FERREIRA, C.L.L.F.; MANTOVANI, H.C.; PENTEADO, D.C.S. Populações microbianas em silagem de capim-mombaça de diferentes idades de rebrotação. In: XLIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **Anais...** João Pessoa, UFPB/João Pessoa-PB, 2006 (CD ROOM).
- PEREIRA, O.G.; SOUSA, L.O.; PENTEADO, C.S. Populações microbianas, pH e relação nitrogênio amoniacal/N total em silagens de capim-elefante com diferentes idades de rebrotação. In: XLII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **Anais...** UFG/Goiânia-GO, 2005
- ROCHA, K.D. **Silagens de capim-elefante cv. Cameroon, de milho e de sorgo produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos: populações microbianas, consumo e digestibilidade.** Dissertação (Mestrado em zootecnia). Universidade Federal de Viçosa/Viçosa-MG, 2003. 93p.
- SANTOS, E.M.; PEREIRA, O.G.; FERREIRA, C.L.L.F.; MANTOVANI, H.C.; PENTEADO, D.C.S.; OLIVEIRA, J.S. SOUSA, L.O. Isolamento, identificação e caracterização de *Lactobacillus* predominantes em gramíneas tropicais. In: XLIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA,43. **Anais...** João Pessoa, UFPB/João Pessoa-PB, 2006 (CD ROOM).
- SILVA, A.V. **Populações microbianas em plantas de milho e sorgo, produtos da fermentação e desempenho de bovinos de corte suplementados com suas silagens.** Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa/Viçosa-MG, 2001, 122p.
- ZANINE, A.M; FERREIRA, D.J; LANA, R.P.; SANTOS, E.M ; MANTOVANI, H.C.; BONELLI, E.A; LIMA, L.R. Características fermentativas de silagens de capim-

tanzânia inoculadas com *Streptococcus bovis* isolado do rúmen com ou sem farelo de trigo. In: Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia., 2009, Maringá-PR. **Anais** da 46ª Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia.. Maringá : Universidade Estadual de Maringá, 2009. v. 01. p. 01-03.

ZANINE, A.M; SANTOS, E.M; FERREIRA, D.J; PEREIRA, O.G. Populações microbianas e valor nutricional dos órgãos do capim-tanzânia antes e após a ensilagem.. **Semina. Ciências Agrárias**, v.28, p.143-150, 2007.

CAPÍTULO 1

Populações microbianas, perfil fermentativo, composição bromatológica, perdas por gases e efluentes em silagens inoculadas com *Streptococcus bovis* isolado do rúmen bovino

RESUMO - Objetivou-se quantificar as populações microbianas e avaliar o perfil fermentativo, composição bromatológica e perdas por gases e efluentes em silagens de capim-elefante inoculadas com aditivos microbianos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro inoculantes e seis repetições: Silagem de capim-elefante sem inoculante (controle); Silagem de capim-elefante inoculado com 10^6 ufc/g de estirpes de *Enterococcus faecium*; Silagem de capim-elefante inoculado com 10^6 ufc/g de estirpes de *Streptococcus bovis* JB1; Silagem de capim-elefante inoculada com 10^6 ufc/g de estirpes de *Streptococcus bovis* HC5 com seis repetições por tratamento. Foram utilizados baldes experimentais com capacidade de 15 litros, dotados de válvula de bunsen, para escape dos gases e com 3 kg de areia adicionados no fundo para retenção dos efluentes. Foi observado maior números de populações de enterobactérias, fungos e leveduras nas silagens controle e nas silagens de capim-elefante inoculadas com *Enterococcus faecium* ($P < 0,05$). As silagens inoculadas com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, além de apresentarem as menores populações de enterobactérias, fungos e leveduras, apresentaram maiores números de bactérias lácticas ($P < 0,05$), 10,03 e 9,97 log ufc/g, respectivamente. Os valores de pH e N-amoniaco foram menores para as silagens com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, respectivamente ($P < 0,05$). As silagens inoculadas com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5 foram as que apresentaram os maiores valores de ácido láctico, 6,78 e 6,62% MS, respectivamente ($P < 0,05$), e os menores valores de ácidos acético, butírico e propiônico. A inoculação com *Streptococcus bovis* resultou em maior teor de proteína bruta na silagem ($P < 0,05$) e maior recuperação de matéria seca e de proteína bruta, além das menores perdas por gases e efluentes ($P < 0,05$). Para os demais parâmetros bromatológicos, não houve diferenças ($P > 0,05$). Pode-se concluir que, diante de todas as variáveis estudadas, houve similaridade de

respostas positivas entre o *Streptococcus bovis* JB1 e o *Streptococcus bovis* HC5, ficando a escolha entre eles em função do custo de obtenção.

Palavras-chave: ácidos graxos voláteis, capim-elefante, conservação, microrganismos

Microbial populations, fermentation profile, chemical composition, gas and effluent losses in silages inoculated with *Streptococcus bovis* isolated from bovine rumen

Abstract – The objective was to quantify the microbial populations and to evaluate the fermentation characteristics, chemical composition, loss of gases and effluents in elephant grass silages inoculated with microbial additives. The experiment was a completely randomized design with four treatments and six replications: Elephant grass silage without inoculant (control), Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g of strains of *Enterococcus faecium*, Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g strains of *Streptococcus bovis* JB1, Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g of strains of *Streptococcus bovis* HC5 strains with six replicates per treatment. We used experimental silos with a capacity of 15 liters equipped with bunsen valve to exhaust gases and 3 kg of sand added to the bottom to retain the effluent. Higher numbers of populations of enterobacteria, fungi and yeasts were found in and the silage of elephant grass inoculated or not with *Enterococcus faecium* ($P < 0,05$). The silages inoculated with *Streptococcus bovis* JB1 and HC5, besides having the smallest populations of enterobacteria, fungi and yeasts showed higher numbers of lactic acid bacteria ($P < 0,05$), 10.03 and 9.97 log UFC/g, respectively. The pH and ammonia-N were lower for treatments with *Streptococcus bovis* JB1 and HC5, respectively ($P < 0,05$). The silages inoculated with *Streptococcus bovis* JB1 and HC5 showed the highest values of lactic acid, 6.78 and 6.62% DM, respectively ($P < 0,05$), and the lower values of acetic, propionic and butyric acids. The inoculation with *Streptococcus bovis* resulted in higher protein content in the silage ($P < 0,05$) and higher recovery of dry matter and crude protein, together with the smallest losses of gases and effluents ($P < 0,05$). For the other chemical parameters there was no statistical differences ($P > 0,05$). It can be concluded considering all the variables that there was a similarity of positive responses among *Streptococcus bovis* (JB1) and *Streptococcus bovis* (HC5), whereas the choice between them as a function of the cost.

Keywords: Volatile fatty acids, elephant grass, conservation, microorganisms

1. Introdução

O capim-elefante é uma forrageira com excelente potencial de produção de matéria seca por área cultivada, com quantidades razoáveis de carboidratos solúveis. Apesar disso, o teor de umidade elevado, na fase em que é ótimo o seu valor nutritivo, representa um obstáculo para o seu aproveitamento na forma de silagem, pois resulta em fermentações indesejáveis, com consideráveis perdas de nutrientes (Zanine et al. 2007).

Para que as forrageiras sejam conservadas sob a forma de silagem é necessário o predomínio da fermentação láctica sob condições de anaerobiose e vários são os fatores que podem interferir na qualidade da fermentação. Entre eles citam-se a presença de bactérias homo e heterofermentativas, o teor de carboidratos solúveis, o teor de matéria seca, a compactação e a rapidez no fechamento do silo.

Uma vez estabelecida a anaerobiose, a fermentação inicia-se com a ação das bactérias que utilizam os carboidratos solúveis, produzindo quantidades variáveis de ácidos orgânicos como acético, propiônico, butírico e láctico (McDonald & Whittenbury, 1973; Wilkinson et al., 1983; Van Soest, 1994). Simultaneamente, outras bactérias proteolíticas, principalmente as clostrídicas, podem atuar sobre as proteínas da forragem, transformando-as em nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$), reduzindo o valor nutritivo da forragem (Vilela, 1998). A ação de certas bactérias, como *Streptococcus bovis*, favorece a produção de ácido láctico, um produto de alta e constante dissociação iônica e, conseqüentemente, a rápida redução do pH e a inibição das bactérias patogênicas (grupo coliforme e *Clostridium*). Portanto, sendo estabelecida a fermentação láctica, há diminuição das perdas de matéria seca e proteína bruta, produzindo silagem com valor nutritivo e digestibilidade mais elevadas.

A população bacteriana da silagem pode ser aumentada por meio da adição de inoculantes à base de bactérias lácticas e homofermentativas, objetivando formação de ácido láctico. De acordo com Van Soest (1994), os aditivos têm duas principais vantagens na silagem: influenciar a fermentação, favorecendo a preservação, e alterar a composição, melhorando o valor nutritivo.

A população microbiana da cultura forrageira antes da ensilagem é completamente diferente daquela encontrada durante o processo de fermentação ou na silagem, tanto em número, como em taxonomicamente. A microbiota total em

forragens frescas, antes da ensilagem, tem variado numa faixa entre 10^5 e 10^9 unidades formadoras de colônias (ufc)/g de forragem (Pahlow et al., 2003).

Nessa realidade, o *Streptococcus bovis* é uma bactéria láctica isolada do rúmen, com características que a possibilitam ser utilizada como inoculante para silagem (Oliveira et al., 2007 e Zanine et al., 2009). A principal característica diz respeito à velocidade específica de crescimento dessa espécie, 30% superior ao das espécies de bactérias lácticas utilizadas como inoculante para silagem, o que sugere que a mesma pode atuar como cultura iniciadora do processo fermentativo, promovendo rápida queda do pH das silagens (Jones et al., 1991). A aceleração da queda do pH pode favorecer o crescimento das bactérias lácticas, em detrimento das enterobactérias, condição necessária para que o processo fermentativo ocorra com mínimas perdas e fermentação indesejável.

Por isso, grande variedade de aditivos tem sido recomendada, com o intuito de se garantir melhor qualidade das silagens. Entretanto, deve-se considerar a eficácia e viabilidade do aditivo. Atualmente, os aditivos biológicos, inoculantes bacterianos, são compostos por bactérias ácido-lácticas, adicionados ou não de enzimas (celulases, amilases e hemicelulases). Estes aditivos foram classificados por Vilela (1998) como sendo estimulantes da fermentação e não-nutritivos. O princípio básico de atuação destes produtos consiste no aumento da disponibilidade de açúcares simples, via complexo enzimático, para que as bactérias tenham acesso a esses açúcares, incrementando, dessa forma, a produção de ácido láctico e promovendo a queda brusca do pH (Lavezzo, 1993).

Deste modo, objetivou-se com este trabalho quantificar as populações microbianas, o perfil fermentativo, composição bromatológica e as perdas por gases e efluentes de silagens de capim-elefante inoculadas com *Streptococcus bovis* isolado do rúmen bovino.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizada no município de Viçosa-MG. A cidade de Viçosa está situada a 20° e 45' de latitude sul, 42° e 51' de longitude oeste e 657 m de altitude, apresentando precipitação média anual de 1341 mm, dos quais cerca de 86% ocorrem nos meses de outubro a abril. Foi utilizada uma capineira de capim-elefante, já implantada de aproximadamente 0,5 ha. Após o corte de uniformização, foi realizada adubação de 50 kg/ha de nitrogênio e potássio na forma de sulfato de amônia e cloreto de potássio, respectivamente. A colheita e ensilagem do capim foram realizadas 65 dias após o corte de uniformização.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos: Silagem de capim-elefante; Silagem de capim-elefante inoculado com 10^6 UFC/g de estirpes de *Streptococcus bovis* JB1; Silagem de capim-elefante inoculada com 10^6 UFC/g de estirpes de *Streptococcus bovis* HC5; e silagem de capim-elefante inoculado com 10^6 UFC/g de estirpes de *Enterococcus faecium*, com seis repetições por tratamento.

O capim foi cortado com auxílio de um facão e, em seguida, picado em máquina forrageira estacionária. Em seguida, procedeu-se a ensilagem em baldes experimentais, com capacidade de 15 litros, dotados de válvula de Bunsen, para escape dos gases. No fundo dos baldes foram colocados 3 kg de areia para captura dos efluentes, separados da forragem por um tecido de algodão. A compactação do material foi realizada manualmente, colocando-se aproximadamente 9 kg de forragem fresca por silo. Os silos foram abertos 60 dias após o fechamento.

No preparo dos inoculantes, as culturas foram crescidas em meio MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) e submetidas a três ativações sucessivas, previamente o dia da ensilagem. Posteriormente foram cultivados em meio sólido MRS, para contagem das populações microbianas (Santos, 2007). Com base no resultado da concentração bacteriana de cada inoculante, determinou-se a diluição necessária para cada inoculante, de modo a atingir 10^6 ufc/g de forragem fresca, baseadas em contagem prévia em meio Agar MRS. Antes da ensilagem, as culturas foram novamente ativadas e diluídas em água destilada no momento da ensilagem, de modo a atingir as concentrações pré-estabelecidas.

2.1. Populações microbianas e perfil fermentativo

As populações microbianas foram avaliadas utilizando-se meios de cultura seletivos para cada grupo microbiano: Agar Rogosa (Difco) para enumeração das bactérias lácticas (BAL); Violet Red Bile (Difco) para enumeração de enterobactérias (ENT) e Batata Dextrose Agar para a contagem de mofo e leveduras (FeL).

O procedimento de enumeração dos grupos microbianos consistiu da coleta de 10 g de uma amostra composta das silagens provenientes dos seis silos de cada tratamento, às quais foram adicionados 90 mL de solução tampão fosfato, e batido em liquidificador industrial durante um minuto (Santos, 2007), obtendo-se a diluição de 10^{-1} . Em seguida, diluições sucessivas foram realizadas, objetivando-se obter diluições variando de 10^{-1} a 10^{-9} . Foram consideradas passíveis de contagem as placas com valores entre 30 e 300 unidades formadoras de colônia (UFC).

Na abertura dos silos, foram coletadas subamostras de aproximadamente 25 g para análise de pH, às quais foram adicionados 100 mL de água e, após repouso por duas horas, foi efetuada a leitura do pH, utilizando-se um potenciômetro. Em outra subamostra de 25 g, foram adicionados 200 mL de uma solução de H_2SO_4 , 0,2 N, permanecendo em repouso por 48 horas para, em seguida, efetuar-se a filtração em filtro tipo Whatman 54. Este filtrado foi armazenado em geladeira para posterior análise de N-amoniaco (Bolsen et al., 1992).

Para determinação dos ácidos orgânicos, aproximadamente 25 g de silagem fresca foram diluídas em 250 mL de água destilada e homogeneizadas em liquidificador industrial durante um minuto. O extrato aquoso resultante foi filtrado em filtro de papel, e 100 mL foram acidificados com H_2SO_4 50% e, posteriormente, filtradas em papel de filtração rápida (Kung Jr. e Ranjit., 2001). Em 2 mL deste filtrado foram adicionados 1 mL de solução de ácido metafosfórico 20% e 0,2 mL de solução de ácido fênico 1%, utilizado como padrão interno. A determinação dos ácidos láctico, acético, butírico e propiônico foi realizada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), marca Shimadzu SPD-10, com comprimento de onda de 210 nm. Usou-se uma coluna C-18, de fase reversa, com pressão de 168 kgf e fluxo de 1,5 mL/minuto.

2.2. Composição bromatológica

Para avaliação da composição bromatológica, foram colhidas amostras do material fresco, antes da ensilagem, e após a abertura dos silos. Estas amostras foram submetidas à pré-secagem por 72 horas, em estufa de ventilação forçada a 65°C e, em seguida, foram moídas em moinho tipo Willey. Foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (HEM) e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), segundo metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002).

2.3. Perdas por gases e efluentes

As perdas de matéria seca nas silagens sob as formas de gases e efluentes foram quantificadas por diferença de peso. Pela equação abaixo, foram obtidas as perdas por gases. Esta equação baseia-se na diferença de peso da massa de forragem seca.

$G (\% \text{ MS}) = [(Pb_{chf} - Pb_{cha}) / (MV_{fi} \times MS_{fe})] \times 100$, em que:

G (% MS): Perdas por gases;

Pb_{chf}: Peso do balde cheio (kg) no fechamento do silo;

Pb_{cha}: Peso do balde cheio (kg) na abertura;

MV_{fi}: Massa verde (kg) de forragem ensilada;

MS_{fe}: Matéria seca (%/100) da forragem ensilada.

As perdas por efluente foram calculadas pela equação abaixo, baseadas na diferença de peso da areia colocada no fundo do balde por ocasião do fechamento e abertura dos silos experimentais.

$E [(kg/ton \text{ MV})] = \{[(Pb_{vaa} - T_b) - (P_{ba} - T_b)] / MV_{fi}\} \times 100$, onde:

E [(kg/ton MV): Perdas por efluente;

Pb_{vaa}: Peso do balde vazio com areia (kg) no fechamento do silo;

T_b: Tara do balde;

P_{ba}: Peso do balde com areia (kg) antes da colocação da forragem a ser ensilada;

MV_{fi}: Massa verde de forragem (kg) ensilada.

2.4. Recuperação da matéria seca e da proteína bruta

A recuperação da matéria seca e da proteína bruta foi estimada através das equações abaixo:

A recuperação da matéria seca:

$RMS(\%) = [(MVfo \times MSfo) / (MSi \times MSsi)] \times 100$, em que:

RMS(%): Recuperação de matéria seca em porcentagem;

MVfo: Massa verde de forragem (kg) no momento da ensilagem;

MSfo: Matéria seca da forragem (%) no momento da ensilagem;

MSi: Massa da silagem (kg) na abertura dos silos;

MSsi: Matéria seca da silagem (%) na abertura dos silos.

A recuperação da proteína bruta:

$RPB = (MFa \times MSa \times PBa) / (MFf \times MSf \times PBf) \times 100$, em que:

RPB: taxa de recuperação da proteína bruta (%);

MFa: massa de forragem na abertura (kg);

MSa: teor de matéria seca da forragem na abertura (%);

PBa: teor de proteína bruta na abertura (%MS).

MFf: massa de forragem no fechamento (kg);

MSf: teor de matéria seca da forragem no fechamento (%);

PBf: teor de proteína bruta no fechamento (% MS).

2.5. Análises dos dados

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e os valores médios dos tratamentos foram comparados pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, utilizando-se o programa SAEG, versão 8.0 (Universidade Federal de Viçosa, 1999).

3. Resultados e Discussão

3.1. Populações microbianas

Como pode ser observado (Tabela 1), o número de bactérias ácido lácticas (BAL) é baixo, assim como citado por Pahlow (1986), que observou valores próximos a 10^6 ufc/g de forragens frescas de bactérias lácticas.

Tabela 1- Número de bactérias (log ufc/g) ácido lácticas (BAL), enterobactérias (ENT) e fungos e leveduras (FeL) da silagem de capim-elefante, sem inoculação controle e inoculado com *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5), antes da ensilagem.

Inoculante	BAL	ENT	FeL
Controle	5,02	6,02	5,22
<i>Enterococcus faecium</i>	4,98	5,86	5,04
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	5,18	5,77	4,98
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	5,09	6,05	4,87

Em geral, os microrganismos indesejáveis são as enterobactérias, fungos e leveduras (FeL), cujas atividades são prejudiciais durante o processo de ensilagem porque competem com as bactérias lácticas na fermentação do açúcar (Lindgren et al., 1984; Pahlow, 1991), e como observado (Tabela 1), se fazem presentes em quantidades significativas na planta, antes mesmo do processo de ensilagem.

Diante deste fato, o uso de inoculantes no processo de ensilagem inclui a adição de bactérias homofermentativas produtoras de ácido láctico, visando aumentar o número de bactérias desejáveis ao processo de fermentação, aumentando a disponibilidade de carboidratos solúveis às bactérias e melhorando a qualidade da silagem.

Diferenças nas quantidades das populações de microrganismos refletiram em diferenças de contagens nas silagens (Tabela 2). Observa-se que foi verificado maior ($P < 0,05$) número de populações de ENT, FeL na silagem testemunha e nas silagens de capim-elefante inoculadas com *Enterococcus faecium*, respectivamente. Por outro lado, as silagens inoculadas com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5 apresentaram maior número de BAL, 10,03 e 9,97 log ufc/g, respectivamente

Tabela 2. Número de bactérias (log ufc/g) ácido lácticas (BAL), enterobactérias (ENT) e fungos e leveduras (FeL) das silagens de capim-elefante, sem inoculantes (controle) e inoculado com *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5)

Inoculantes	BAL	ENT	FeL
Controle	8,45b	5,75a	4,98a
<i>Enterococcus</i>	9,01ba	3,65b	3,45b
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	10,03a	1,23c	2,77c
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	9,97a	2,67d	2,57c
CV (%)	4,76	3,67	4,02

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

É interessante ressaltar que as flutuações das populações microbianas acompanham o comportamento da variação dos valores de pH, sendo observado aumento da população de BAL e diminuição das populações de ENT, com consequente redução do pH das silagens. Resultados próximos dos quantificados no presente experimento foram relatados por Zanine et al. (2007a), avaliando a presença de populações de BAL, ENT e presença FeL em diferentes partes morfológicas do capim-tanzânia após a ensilagem, os quais reportaram valores na planta inteira de 7,50, 3,43 e 6,60 log ufc/g, respectivamente.

3.2. Perfil fermentativo

Os menores valores de pH ($P < 0,05$) foram observados nas silagens inoculada com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, (Tabela 3). Estes resultados são devido ao maior crescimento de bactérias lácticas nesses tratamentos, tendo em vista que a produção de ácido láctico é a principal responsável pela redução do pH de silagens (Muck, 1996), já que a redução do pH reflete uma rápida fermentação ácido láctica, garantindo a qualidade da silagem.

Estes resultados podem explicar os menores valores de pH observados nas silagens de *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, que foram 3,83 e 3,96, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios de pH, N-NH₃ e ácidos láctico, acético, butírico e propiônico das silagens de capim-elefante sem inoculante (controle), *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5).

Inoculante	pH	N-NH ₃ (mg/dL)	Ácido láctico (% MS)	Ácido acético (% MS)	Ácido butírico (% MS)	Ácido propiônico (% MS)
Controle	4,01b	10,09b	5,584c	0,534a	0,029a	0,351a
<i>Enterococcus</i>	4,21a	10,82a	6,491b	0,398b	0,027b	0,270b
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	3,83d	9,61d	6,783a	0,338c	0,022c	0,240b
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	3,96c	9,84c	6,619a	0,378d	0,023c	0,175c
CV (%)	1,53	2,01	7,12	10,12	7,89	8,97

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Em um experimento, avaliando a silagem de capim-mombaça inoculada com *Streptococcus bovis* em tempos distintos de abertura dos silos, Oliveira et al. (2007) relataram redução do valor de pH favorecendo o processo fermentativo. Tendo por base um protocolo experimental parecido com o presente, Zanine et al. (2008) estudando a silagem de capim-elefante com inoculante à base de *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, também observaram redução do valor de pH, assim como no presente experimento.

Para os valores de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), foram observados, nas silagens com inoculante à base de *Streptococcus bovis* JB1 e *Streptococcus bovis* HC5, os menores valores, 9,61 e 9,84 mg/dL, respectivamente ($P < 0,05$). Essa queda pode ter ocorrido provavelmente devido ao consumo de amônia, característica da espécie *Streptococcus bovis*, como descrito por Jones et al. (1991), ou por inibição de microrganismos proteolíticos. Oliveira et al. (2007) observaram, em silagens de capim-mombaça, com aberturas de 1, 14 e 28 dias, que as silagens inoculadas apresentaram menores concentrações de amônia, sendo o menor valor oriundo da silagem inoculada com *Streptococcus bovis* JB1, assim como descrito no presente experimento. Resultados superiores foram observados por Zanine et al. (2007b) em silagem de capim-elefante inoculada com *Lactobacillus plantarum*, com maior concentração de N-NH₃ no controle (16,33%), sendo a maior redução registrada na silagem com inoculante (12,44%). Da mesma forma, Zanine et al. (2008) registraram os menores valores de N-NH₃, nas silagens de capim-elefante, para as silagens

inoculada com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, resultados semelhantes aos do presente experimento.

Muck & Kung Jr. (1997), em artigo de revisão sobre estudos envolvendo inoculantes microbianos, publicados entre 1990 e 1995, destacaram que os inoculantes foram relativamente bem sucedidos em 60% dos estudos, resultando em menores pH e N-NH₃ e predominância de ácido láctico e, portanto, em melhor perfil fermentativo das silagens. De forma similar, Meeske et al. (1999) avaliando os efeitos da aplicação de inoculante à base de *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* e *Pediococcus acidilactici*, em silagem de *Digitaria eriantha*, verificaram redução dos valores de pH e N-NH₃, bem como aumento do teor de ácido láctico, como consequência de um maior desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido láctico.

Desta forma, os menores valores de pH e N-NH₃ nas silagens indicam uma melhor fermentação, provavelmente devido aos maiores teores de MS e carboidratos solúveis, que promoveram maior produção de ácido láctico (Tabela 3).

A inoculação na silagem de capim-elefante aumentou os teores de ácido láctico e diminuiu os teores de ácidos acético, butírico e propiônico (Tabela 3), sendo que as silagens inoculada com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5 foram as que apresentaram os maiores valores ($P < 0,05$) de ácido láctico, 6,78 e 6,62 % MS, respectivamente. Menores valores ($P < 0,05$) de ácidos acético, butírico e propiônico também foram observados nessas silagens. De acordo com Santos et al. (2008), a maior produção de ácido láctico pode levar a menores perdas de MS em silagens, considerando-se que a fermentação láctica resulta em mínimas perdas, ao passo que as fermentações acética e butírica estão associadas a fermentações secundárias e perdas de MS na forma de gases.

Meeske et al. (1999), avaliando os efeitos da inoculação com inoculante à base de bactérias lácticas homofermentativas, observaram que a inoculação resultou em aumento da produção de ácido láctico. De forma similar, Castro et al. (2001), ao estudarem silagem de Tifton 85 (*Cynodon sp.*), observaram maior queda de pH em consequência do aumento de ácido láctico proveniente de bactérias lácticas, para as silagens que receberam aditivo enzimo-microbiano. Entretanto, Bolsen et al. (1992), usando inoculantes bacterianos e enzimáticos, relataram que o tratamento não afetou a contagem microbiana durante o período de ensilagem, mas aumentou a sua eficiência de fermentação (maior porcentagem de ácido láctico e

menores pH e teores de ácido acético, etanol e amônia) em silagem de alfafa. Verificaram ainda que, em silagem de milho, o uso do inoculante não apresentou efeito na contagem de microrganismos e nas características de fermentação, durante o período de ensilagem.

Em experimento com capim-elefante inoculado com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, com e sem farelo de trigo, Zanine et al. (2009) observaram que a inoculação aumentou o teor de ácido láctico e diminuiu os teores de ácidos acético, butírico e propiônico, sendo os com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5 com farelo de trigo, os que apresentaram os maiores valores de ácido láctico, 6,97 e 6,88% MS, respectivamente, sendo os menores valores de ácidos acético, butírico e propiônico também foram observados nessas silagens. Assim como no presente experimento, o *Streptococcus bovis* foi eficiente no processo fermentativo, potencializado com a adição de farelo de trigo.

3.3. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS)

Os valores médios da composição bromatológica e da DIVMS antes da ensilagem (Tabela 4), são próximos aos observados por Santos et al (2006) e Zanine et al (2007b).

Tabela 4. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (HEM) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) do capim-elefante antes de ensilar

Silagem	MS	MO	MM	PB	FDN	FDA	HEM	DIVMS
	%	%MS	%MS	% MS	% MS	% MS	% MS	% MS
Capim-elefante	19,8	90,09	9,91	11,32	73,01	44,25	28,76	52,53

A inoculação com ambas estirpes de *Streptococcus bovis* resultaram em maiores teores de MS nas silagens em relação ao sem inoculante (controle), ($P < 0,05$: Tabela 5), fato que pode estar associado com a manutenção de uma fermentação homofermentativa, na qual menores são as perdas de MS. Maior manutenção do teor de MS, como resultado da aplicação de inoculante microbiano,

também foi observado por Penteadó et al. (2006) e Santos et al. (2008). Da mesma forma, Patrizzi et al. (2005) observaram maior percentual de MS (29,94%) com o uso do aditivo biológico constituído de *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus* em relação à silagem sem inoculante (24%) de capim-elefante.

Tabela 5. Teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (HEM) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) das silagens de capim-elefante sem inoculante (controle), *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5)

Inoculante	MS %	PB % MS	FDN % MS	FDA % MS	HEM % MS	DIVMS % MS
Controle	17,66b	8,98c	74,87a	49,14a	25,73a	64,58a
<i>Enterococcus</i>	18,82a	9,54bc	75,42a	50,22a	25,20a	65,57a
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	18,78a	10,07ba	74,53a	49,62a	24,91a	67,80a
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	18,88a	10,54a	75,42a	48,68a	26,74a	65,94a
CV (%)	3,47	5,13	2,11	3,90	5,22	7,29

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey .

Oliveira et al. (2007) constataram que a inoculação com ambas estirpes de *Streptococcus bovis* resultou em maior recuperação de MS das silagens, com valores de 20,28, 21,42 e 21,46% para os tratamentos controle, inoculado com *Streptococcus bovis* HC5 e inoculado com *Streptococcus bovis* JB1, respectivamente. Segundo Muck (1996) a predominância de bactérias lácticas homofermentativas em silagens resulta em mínimas perdas de MS, devido ao fato destas bactérias transformarem açúcares em ácido láctico, sem produção de metabólitos secundários ou gases.

Para os valores de PB, os maiores teores ($P < 0,05$) foram verificados nas silagens inoculadas com *Streptococcus bovis* HC5 e JB1, seguidas da silagem com *Enterococcus faecium* e da silagem sem inoculante. A silagem com *Streptococcus bovis* HC5 proporcionou aumento de aproximadamente dois pontos percentuais nos teores de PB em relação à silagem controle, o que pode ser consequência da espécie *Streptococcus bovis* HC5, por liberar bacteriocina (bovicina HC5), no meio inibindo o crescimento de bactérias proteolíticas, como as enterobactérias ou clostrídios, diminuindo assim as perdas de nitrogênio protéico das silagens

inoculadas (Muck, 1996). Outro fato que pode explicar os maiores teores de PB na silagem inoculada com as estirpes de *Streptococcus bovis* HC5 e JB1, é a capacidade comum de todas as estirpes de *Streptococcus bovis* de sintetizar proteína a partir de amônia (Mantovani et al., 2002). Desta forma, Oliveira et al. (2007), trabalhando com estirpes de *Streptococcus bovis* HC5 e JB1, observaram maiores teores de PB na silagem de capim-mombaça.

Cheng et al. (2001) observaram aumento significativo da PB de silagens de capim-elefante cv. Napier, com o uso de aditivo enzimático, enquanto Clavero (2001) e Grise et al. (2001) não obtiveram o mesmo efeito sobre a PB com o uso de dois inoculantes microbianos, em capim-elefante cv Mott e em cultivares de milho, respectivamente, ao usarem bactérias ácido lácticas. Da mesma forma, Kung et al. (1993), Morais e Boin (1996) e Daenicke et al. (1999) mostraram que não houve diferença na recuperação da MS e PB em silagens confeccionadas com diferentes inoculantes bacterianos.

Os teores de constituintes da fração fibrosa e a DIVMS não foram influenciados pela inoculação ($P > 0,05$), embora alguns autores tenham relatado redução da fração de FDN, devido à possibilidade de hidrólise ácida da hemicelulose, como consequência da redução do pH do meio pela fermentação realizada por bactérias lácticas (Muck, 1996; Penteadó et al., (2006). Da mesma forma, Rodrigues et al. (2002) também não observaram efeitos da inoculação microbiana sobre a DIVMS da silagem de sorgo cortada em dois estádios de crescimento.

3.4. Perdas por gases e efluentes e recuperação da matéria seca e da proteína bruta

A aplicação dos inoculantes *Streptococcus bovis* JB1 e HC5 resultou em menores perdas por gases e efluentes ($P < 0,05$; Tabela 6), o que proporcionou maior recuperação de MS nas silagens tratadas com *Streptococcus bovis*, promovendo uma recuperação maior que 12% em comparação à silagem controle.

Tabela 6. Perdas por gases (PG), produção de efluentes (PE), recuperação da matéria seca (RMS) e recuperação da proteína bruta (RPB) das silagens de capim-elefante sem inoculante (controle), *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5).

Tratamento	PG %	PE (kg/ton)	RMS %	RPB %
Controle	5,69a	64,54a	80,66c	84,07b
<i>Enterococcus</i>	4,29b	64,01a	87,22b	87,13ab
JB1	3,44c	60,92b	93,94a	90,28a
HC5	3,01c	53,24c	92,45a	90,88a
CV (%)	9,11	7,12	5,67	3,47

Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

A redução na produção de efluente nas silagens inoculadas se deve ao maior teor de MS das mesmas. McDonald et al. (1991) preconizam 25% MS como valor mínimo para que as perdas de efluente sejam reduzidas ou recomendam o uso de inoculantes ácido lácticos para valores menores de MS. O mesmo comportamento foi evidenciado para os valores de recuperação de PB. Os menores valores de perdas e a maior recuperação tanto de MS quanto de PB indicam que houve inibição de enterobactérias, bactérias heterofermentativas e bactérias proteolíticas, responsáveis pela elevação das perdas, como consequência, provavelmente, do abaixamento do pH das silagens e da menor produção de $N-NH_3$ (Tabela 3), devido à maior produção de bactérias ácido lácticas (Tabela 2) presentes nas silagens inoculadas com *Streptococcus bovis*.

4. Conclusões

A inoculação com ambas as estirpes de *Streptococcus bovis* promove melhoria do perfil fermentativo, reduz as perdas de nutrientes, incrementando o valor nutritivo das silagens de capim-elefante.

Levando em consideração todas as variáveis estudadas, há uma similaridade de respostas positivas entre o *Streptococcus bovis* JB1 e o *Streptococcus bovis* HC5, ficando a escolha entre eles.

5. Referências Bibliográficas

- BOLSEN, K.K.; LIN, C.; BRENT, C.R.; FEYERHERM, A.M.; URBAN, J.E.; AIMUTIS, W.R. Effect the silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.11, p.3066-83, 1992.
- CASTRO, F.G.F.; NUSSIO, L.G. Parâmetros físicoquímicos da silagem de tifton 85 (*cynodon* sp.) sob efeito do pré-emurhecimento e de inoculante bacterianoenzimático. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. 4p. (CD)
- CHENG, Y.K.; CHEN, C.S.; PENG, P.W. Effects of different additives on silage quality of napiergrass. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: BSAH, 2001. p.771-772.
- CLAVERO, T. Quality and nutritive value of Mott dwarf elephantgrass silage with biological additives. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: BSAH, 2001. p.770-771.
- DAENICKE, R.; JOCHMANN, K.; GADEKEN, D.; FLACHOWSKY, G. Influence of lactic acid bacteria as inoculant in corn silage on digestibility of crude nutrients and performance of dairy cows. **Landbauforschung Volkenrode**, Braunschweig, v.49, n.2, p.64-69, 1999.
- GRISE, M.M.; JOBIM, C.C.; CECATO, U. et. al. Efeito do uso de inoculantes na composição química e pH da silagem de milheto (*P. americanum* (L.) Leeke). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. 3p. (CD)
- JONES, B.A.; SATTER, L.D.; MUCK. R.E. Influence of bacterial inoculant and substrate addition to alfalfa ensiled at different dry matter contents. **Grass Forage Science**. 47:19–27, 1992.

- KUNG Jr., L.; MUCK, R. E. Animal response to silage additives. In: Silage: field to feedbunk-North American Conference, Hershey, PA. **Proceedings...** New York:NRAES-99, 1997, p. 200-210,.
- KUNG Jr., L.; RANJIT, N.K. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1149-1155, 2001.
- KUNG, JR., L.; CHEN, J. H.; KRECK, E. M.; KNUTSEN, K. Effect of microbial inoculant on the nutritive value of corn silage for lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.76, n.12, p.3763-3770, 1993.
- LAVEZZO, W. Ensilagem do capim-elefante. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 10., 1993, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: FEALQ, 1993. p.169-275.
- LINDGREN, S.; PETTERSSON, K.; JONSSON, A.; LINGVALL, P.; KASPERSSON, A. Silage inoculation – selects strains, temperature, witting and practical application. **Swedish Journal of Agricultural Research, Uppsala**, v.15, p.9-18, 1984.
- MANTOVANI, H.C.; WOROBO, R.W.; RUSSELL, J.B. The bacteriocin from *Streptococcus bovis* HC5. **Microbiology**, v.148, p.3347-3352, 2002.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991. 340p.
- McDONALD, P.; WHITTENBURY, R. The silage process. In: BUTTLER, G.W. (Ed.). **Chemistry and biochemistry of herbage**. London: Academic, 1973. v.3, p.33-60.
- MEEESKE, 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, p.237-248, 1999.
- MORAIS, J.P.G.; BOIN, C. Avaliação de aditivo microbiano quanto à recuperação da matéria seca e no perfil da fermentação da silagem de milho. 1996. Disponível em: <[http://www.sbz.org.br/eventos/Fortaleza/ Nut_rumi/sbz579.pdf](http://www.sbz.org.br/eventos/Fortaleza/Nut_rumi/sbz579.pdf)>.
- MUCK, R. Silage inoculation. In: CONFERENCE WITH DAIRY AND INDUSTRIES, 1996, Madison. **Proceedings...** Dairy Forage Research Center, p.43-51, 1996.
- OLIVEIRA, J.S.; SANTOS, E.M ; ZANINE, A.M; MANTOVANI, H.Q ; PEREIRA, O.G. Streptococcus bovis isolado do rúmen como inoculante para silagem de capim-mombaça. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, p. 35-40, 2007.
- PAHLOW G.; HONIG H. Wirkungsweise und Einsatzgrenzen von Silage-Impfkulturen aus Milchsäurebakterien. **Wirtschaftseigene Futter**, v.32, p.20-35, 1986.
- PAHLOW, G. Role of microflora in forage conservation. In: PAHLOW, G.; HONING, H. **Forage Conservation Towards 2000**. Braunschweig Germany: Landbauforschung Völkenrode, 1991. p.26.
- PAHLOW, G.; MUCK,R.E.; DRIEHUIS, F. Microbiology of ensiling. In: SILAGE SCIENCE AND TECHNOLOGY. Madison. **Proceedings...** Madison: ASCSSA-SSSA, Agronomy 42, 2003. p.31-93.
- PATRIZI , W.L.; MADRUGA JÚNIOR, C.R.F.; MINETTO, T. P.; NOGUEIRA , E.; MORAIS, M.G. Efeito de aditivos biológicos comerciais na silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n.3, p.392-397, 2005.
- PENTEADO, D.C.S.; SANTOS, E.M.; CARVALHO, OLIVEIRA, J.S., PEREIRA, O.G.; FERREIRA, C.L.L.F Efeito da inoculação com *Lactobacillus plantarum* proveniente da microbiota autóctone sobre o desenvolvimento das populações microbianas, ph e nitrogênio amoniacal em silagens de capimmombaça. In: VI

- CONGRESSO NACIONAL DE ZOOTECNIA – ZOOTEC. Recife. **Anais...** UFRPE-Recife, 2006 (CD-ROM).
- RODRIGUES, P.H.M.; SENATORE, A.L.; STEFANO, J.T.A.; RUZANTE, J.M.; LUCCI, C.S.; LIMA, F.R. Efeitos da adição de inoculantes microbianos sobre a composição bromatológica e perfil de fermentativo da silagem de sorgo produzida em silos experimentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.6, p.2373-2379, nov./dez. 2002.
- SANTOS, E. M. ; ZANINE, A.M ; FERREIRA, D.J ; OLIVEIRA, J. S; Penteado, D. C. S ; Pereira, O. G.. Inoculante ativado melhora a silagem de capim-tanzânia (*Panicum maximum*). **Archivos de Zootecnia** (Universidade de Córdoba), v. 57, p. 35-42, 2008.
- SANTOS, E.M. **Populações microbianas e perfil fermentativo em silagens de capins tropicais e desempenho de bovinos de corte alimentados com dietas contendo silagens se capim-mombaça**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- SANTOS, E.M.; PEREIRA, O.G.; FERREIRA, C.L.L.F.; MANTOVANI, H.C.; PENTEADO, D.C.S.; OLIVEIRA, J.S. SOUSA, L.O. Isolamento, identificação e caracterização de *Lactobacillus* predominantes em gramíneas tropicais. In: XLIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **Anais...** João Pessoa, UFPB/João Pessoa-PB, 2006 (CD ROOM).
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. de. Análise de alimentos: **métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 2002, 235p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas – SAEG**: manual do usuário. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 138p. (Versão 8.0).
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

- VILELA, D. Aditivos para silagem de plantas de clima tropical. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES E NÃO RUMINANTES, REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. *Anais ...* Botucatu: SBZ, 1998. p.73-108.
- WILKINSON, J.M. Silages made from tropical and temperate crops. 1. The ensiling process and its influence on feed value. **World Anim. Rev.**, Roma, v.45, n.45, p. 36- 42, 1983.
- ZANINE, A.M ; Lana, R.P. ; SANTOS, E.M ; FERREIRA, D.J; PEREIRA, O.G. ; MANTOVANI, H.C. ; DOREA, J.R.R. . Efeito da inoculação com *Enterococcus Faecium* e *Streptococcus bovis* isolado do rúmen bovino sobre a fermentação em silagens de capim-elefante. In: 45ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2008, Lavras. **Anais** da 45ª Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Lavras : Editora UFLA, 2008. p. 1-3.
- ZANINE, A.M ; SANTOS, E.M FERREIRA, D.J; PEREIRA, O.G. Populações microbianas e valor nutricional dos órgãos do capim-tanzânia antes e após a ensilagem. **Semina. Ciências Agrárias**, v.28, p.143-150, 2007a.
- ZANINE, A.M ; SANTOS, E.M ; FERREIRA, D.J; PINTO, L.F.B ; PEREIRA, O.G. . Características fermentativas e composição químico-bromatológica de silagens de capim-elefante com ou sem *Lactobacillus plantarum* e farelo de trigo isoladamente ou em combinação. **Ciência Animal Brasileira**. v.08, p.609-620, 2007b.
- ZANINE, A.M; FERREIRA, D.J ; LANA, R.P. ; SANTOS, E.M ; MANTOVANI, H.C. ; BONELLI, E. A ; Lima, L.R . Características fermentativas de silagens de capim-tanzânia inoculadas com *Streptococcus bovis* isolado do rúmen com ou sem farelo de trigo. In: Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia., 2009, Maringá-PR. **Anais...** da 46ª REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. Maringá: Universidade Estadual de Maringá,. v.01, p.01-03, 2009.

Capítulo 2

Ingestão e digestibilidade aparente em ovinos e degradabilidade *in situ* de silagens de capim-elefante inoculadas com *Streptococcus bovis* isolado do rúmen bovino

RESUMO – Foram avaliados o consumo, e a digestibilidade aparente e a degradabilidade *in situ* de nutrientes, utilizados 20 ovinos adultos, sem raça definida, castrados, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos: Silagem de capim-elefante; Silagem de capim-elefante inoculado com 10^6 UFC/g de estirpes de *Enterococcus faecium*; Silagem de capim-elefante inoculada com 10^6 UFC/g de estirpes de *Streptococcus bovis* JB1; Silagem de capim-elefante inoculada com 10^6 UFC/g de estirpes de *Streptococcus bovis* HC5 e cinco repetições por tratamento. Para ensilagem do capim-elefante, utilizaram-se sacos plásticos de 100 kg de capacidade de peso, com total de cinco sacos plásticos, perfazendo 500 kg de forragem verde por tratamento. O capim-elefante utilizado foi oriundo da mesma capineira do primeiro experimento e teve o mesmo trato cultural. O período de avaliação teve duração de 21 dias, sendo 15 para adaptação às dietas e seis para as coletas. Foi observada diferença ($P < 0,05$) entre o consumo de matéria seca nas silagens avaliadas, sendo os maiores valores registrados nas silagens inoculadas com inoculantes microbianos. A silagem controle apresentou os menores valores ($P < 0,05$) de consumo de matéria seca (1,43% PV ou 42,79 g/kg PV^{0,75}/dia), sendo a silagem inoculada com *Streptococcus bovis* HC5 a que apresentou melhor consumo de matéria seca (2,29 %PV ou 56,10 g/kg PV^{0,75}/dia). Os menores valores de digestibilidade da matéria seca ocorreram nas silagens controle (42,79% MS), seguida pela silagem de capim elefante inoculada com *Enterococcus faecium* e *Streptococcus bovis* JB1, respectivamente. Para a digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro, houve efeito dos inoculantes ($P < 0,05$) com valores acima de cinco pontos percentuais em relação à silagem inoculada (54,71%). Para os demais nutrientes, não foi observado efeito ($P > 0,05$) dos inoculantes. Em relação à degradabilidade, a fração solúvel (a), principalmente nas silagens inoculadas com o *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, apresentou maiores valores, 30,77 e 29,97%, respectivamente, para a matéria seca e 37,01 e 36,66% para a proteína bruta, respectivamente. A inoculação bacteriana

promove maior consumo, digestibilidade e degradabilidade aparente da matéria seca na silagem de capim-elefante, com destaque para aquela inoculada com o *Streptococcus bovis* HC5.

Palavras-chave: digestão, ingestão, microrganismos, valor nutritivo

Intake and apparent digestibility in sheep and *in situ* degradability of elephant grass silage inoculated with *Streptococcus bovis* isolated from bovine rumen

Abstract – The intake and digestibility and *in situ* nutrient degradability were evaluated, using 20 adult sheep, mixed breed, distributed in a completely randomized design with four treatments: Elephant grass silage without inoculant (control), Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g of strains of *Enterococcus faecium*, Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g strains of *Streptococcus bovis* JB1, Elephant grass silage inoculated with 10^6 ufc/g of strains of *Streptococcus bovis* HC5 and five replicates per treatment. For ensilage of elephant grass, plastic bags of 100 kg weight capacity were used, with a total of five plastic bags, totaling 500 kg of green fodder per treatment. The elephant grass used came from the same stand of the first experiment and had the same cultural tract. The evaluation period lasted 21 days being 15 for diet adaptation and six for the collections. There was a statistical difference ($P < 0.05$) between the consumption of dry matter of the silages assessed, and the highest values were recorded in the silages inoculated with microbial inoculants. Silage without inoculation had the lowest values ($P < 0.05$) of dry matter intake (1.43% BW or 42.79 g/ kg $BW^{0.75}$ /day) and silage inoculated with *Streptococcus bovis* HC5 that showed better dry matter intake (2.29% or 56.10 BW g/ kg $BW^{0.75}$ /day). The lowest digestibility of dry matter occurred in the control silage (42.79% DM) followed by elephant grass silage inoculated with *Enterococcus faecium* and *Streptococcus bovis* JB1, respectively. The apparent digestibility of neutral detergent fiber was not affected by inoculation ($P < 0.05$) with values greater than five percentage points compared with elephant grass silage without inoculant (54.71%). For the other nutrients there was no effect ($P > 0.05$) of microbial additives. In relation to degradability, the soluble fractions, especially in silages inoculated with *Streptococcus bovis* JB1 and HC5 resulted in higher values, 30.77 and 29.95%, respectively, for dry matter and 37.01 and 36.66% for crude protein, respectively. It can be concluded that the bacterial inoculation promotes greater consumption, digestibility and degradability of dry matter in silage of elephant grass, especially *Streptococcus bovis* HC5.

Keywords: consumption, microorganism, nutritional value

1. Introdução

A base da alimentação dos ruminantes, independente do sistema adotado no Brasil, é o volumoso. Por isso, justificam-se estudos de formas alternativas de suplementação volumosa. A utilização de forragens conservadas, principalmente na forma de silagem, é uma alternativa viável, para que se possa garantir o fornecimento de forragem de alta qualidade, durante o período de escassez de alimento.

A substituição das tradicionais silagens de milho e sorgo pelas de capim, no arraçoamento de ruminantes, vem despertando maior interesse de técnicos e pecuaristas, por minimizar os custos de produção, em razão da alta produtividade por unidade de área dos capins tropicais, sobretudo no período de maior oferta (Santos, 2007).

Nesse aspecto, o capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) é considerado uma forrageira de elevado potencial em relação às outras gramíneas forrageiras tropicais, graças ao seu alto potencial de produção de matéria seca, com bom valor nutritivo quando bem manejado (Santos et al., 2006). Enquanto encontram-se registradas produções de matéria seca variando entre 15 e 30 ton/ha/ano para o capim-elefante (Queiroz Filho et al., 2000), para gramíneas dos gêneros *Panicum* e *Brachiaria*, os valores registrados variam entre 5 e 15 ton/ha/ano (Martins et al., 2007; Souza et al., 2007). Adiciona-se ainda, o fato de ser de fácil adaptação aos diversos ecossistemas e apresentar boa aceitação pelos animais, sendo largamente utilizado na alimentação de rebanhos sob as formas de pastejo e/ou silagem, pelo seu teor satisfatório de carboidratos solúveis, que favorecem uma boa fermentação (Patrizi et al., 2004).

Vários autores tentam elucidar como as silagens com inoculantes microbianos podem, direta ou indiretamente, resultar em maior aceitabilidade, consumo e digestibilidade. Acredita-se que os resultados positivos decorram de efeitos probióticos contidos nestes produtos ou de outros efeitos não-mensuráveis (Kung Jr. & Muck, 1997); no entanto, sabe-se, na atualidade, que estes efeitos são decorrentes de cepas específicas de microrganismos e não foi identificado de modo conclusivo se as silagens inoculadas com microrganismos podem trazer benefícios diretos para os ruminantes (Weiberg et al., 2004).

Apesar dos efeitos benéficos esperados pela inoculação, nem sempre se observa, na prática, melhoria do desempenho animal, o que pode estar associado a

diversos fatores, mas que segundo Muck (1996) e Knicky (2005), o principal deles é a sobrevivência das bactérias lácticas dos inoculantes, o que estaria associado, principalmente, com o número de bactérias lácticas da microbiota autóctone, bem como com a quantidade de carboidratos solúveis e o teor de matéria seca da planta ensilada.

Estudos têm demonstrado o efeito positivo do *Streptococcus bovis* sobre o perfil fermentativo e o valor nutritivo de silagens (Oliveira et al., 2007; Zanine et al., 2008; Zanine et al., 2009). No entanto, a verificação da silagem inoculada com *Streptococcus bovis* ainda não foi alvo de ensaio de consumo e digestibilidade, com a finalidade de avaliar seu efeito no animal. Objetivou-se, com o experimento, avaliar o efeito da silagem de capim-elefante inoculada com *Streptococcus bovis* JB1 e *Streptococcus bovis* HC5 sobre o consumo e a , digestibilidade aparente em ovinos e a degradabilidade *in situ* das silagens.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, utilizando 20 ovinos adultos, sem raça definida, castrados, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro inoculantes: Silagem de capim-elefante; Silagem de capim-elefante inoculado com 10^6 UFC/g de estirpes de *Enterococcus faecium*; Silagem de capim-elefante inoculada com 10^6 UFC/g de estirpes de *Streptococcus bovis* JB1; Silagem de capim-elefante inoculada com 10^6 UFC/g de estirpes de *Streptococcus bovis* HC5 e cinco repetições por tratamento. Foram utilizados os mesmos inoculantes cujo preparo foi descrito no Experimento 1. Foi utilizada uma capineira de capim-elefante, já implantada de aproximadamente 0,5 ha. Após o corte de uniformização, foi realizada adubação de 50 kg/ha de nitrogênio e potássio na forma de sulfato de amônia e cloreto de potássio, respectivamente, e colhida 65 dias após o corte de uniformização.

O capim foi cortado com auxílio de um facão e, em seguida, picado em máquina forrageira estacionária. Em seguida, procedeu-se a ensilagem do capim-elefante, utilizaram-se sacos plásticos de 100 kg de capacidade de peso, com total de cinco sacos plásticos, perfazendo 500 kg de forragem verde por tratamento.

Os animais foram pesados, vermifugados e identificados por brincos no início do período experimental, sendo mantidos em gaiolas metabólicas, em área coberta,

com dispositivos para fornecimento de alimentos e água. Ao final do período experimental, foi feita uma nova pesagem dos animais. Para a coleta de fezes, foram utilizados coletes de napa adaptados aos animais.

2.1. Período de avaliação e manejo dos animais

O período de avaliação teve duração de 21 dias, sendo 15 para a adaptação às dietas e seis para as coletas. Na primeira fase, os alimentos foram fornecidos à vontade e o consumo medido diariamente, sendo o consumo médio dos últimos três dias tomado como base para fornecimento na fase de coletas. As silagens foram fornecidas diariamente, às 7:30 horas e às 16:30 horas, durante todo o período experimental. Adicionalmente à silagem, foi ofertado concentrado, sendo que a proporção dos ingredientes (Tabela 1) e sua composição na (Tabela 2) do qual foram elaborados para compor a dieta total.

A quantidade de alimentos fornecida a cada animal, na fase de coletas, foi 10% superior ao consumo médio observado na fase preliminar, de modo a possibilitar sobras. O consumo dos alimentos foi mensurado diariamente, por meio da diferença de peso entre o alimento ofertado e as sobras. Foram realizadas amostras compostas dos alimentos fornecidos e das sobras que, posteriormente, foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e guardadas em congelador para análises laboratoriais.

Tabela 1. Composição dos ingredientes no concentrado, % na matéria natural

Ingrediente	Quantidade
Milho grão moído	70,71
Farelo de soja	25,37
Uréia/SA ¹	2,24
Mistura mineral	1,68

¹Uréia e sulfato de amônio na proporção de 9:1.

A coleta total de fezes foi realizada diariamente, às 7 e 16 horas, registrando-se, nesta oportunidade, a quantidade de fezes excretadas por animal para computar na produção diária. Após a homogeneização do material, retirou-se uma quantidade diária equivalente a 5-10% para confecção de uma amostra

composta por animal. As amostras de fezes foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em congelador. Após o término do experimento, essas amostras foram descongeladas à temperatura ambiente, pré-secas e armazenadas para a realização das análises.

Tabela 2. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) do concentrado

Item	Concentrado
MS (%)	88,41
MO (%)	98,54
PB (%)	18,22
EE (%)	0,99
FDN (%)	20,81
FDA (%)	10,20

2.2. Composição bromatológica

Os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) dos alimentos fornecidos, sobras e fezes foram determinados conforme técnicas descritas por Silva e Queiroz (2002). A digestibilidade aparente foi obtida pela diferença entre as concentrações dos nutrientes no material ingerido e nas fezes.

2.3. Degradabilidade *in situ* de nutrientes

Para a incubação *in situ*, foram utilizados três bovinos fistulados no rúmen, com peso médio de 400 kg, mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens*. As amostras das silagens foram moídas em peneira de 5 mm. Os alimentos moídos foram pesados em sacos de náilon, de modo a proporcionar cerca de 10 a 20 mg de amostra/cm² de área útil dos sacos (Nocek, 1988), em duplicata para cada alimento, em que cada animal representa uma repetição. Os sacos foram inseridos no rúmen, ao mesmo tempo, e removidos 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96 e 144 horas após a incubação dos volumosos, conforme o NRC (2001).

Para as silagens, foram determinadas as degradações da matéria seca (MS), da proteína bruta (PB), da fibra em detergente neutro (FDN) e da fibra em detergente ácido (FDA) (NRC, 2001). Na estimativa dos parâmetros cinéticos da MS e PB, foi utilizado o modelo assintótico de primeira ordem $\text{Deg}(t) = a + b(1 - e^{-ct})$, proposto por Orskov e McDonald (1979), em que $\text{Deg}(t)$ representa a degradabilidade ou o desaparecimento do constituinte (MS, PB, FDN ou FDA) do alimento, expressa em porcentagem; “a” é a fração do alimento solúvel em água no tempo zero; “b” é a fração insolúvel em água, mas potencialmente degradável no rúmen em determinado tempo; “c” é a taxa de degradação da fração potencialmente degradável no rúmen (b); “t” é o tempo de incubação (horas).

Na estimativa de degradabilidade da FDN foi, utilizado o modelo proposto por Waldo et al (1972), $R(t) = D(e^{-ct}) + I$, em que $R(t)$ representa o resíduo de incubação no tempo t (horas); D é a fração da FDN potencialmente degradável no rúmen; c é a taxa de degradação da fração D; “I” é a fração não-degradável da FDN.

2.4. Análises dos dados

Os dados de consumo e digestibilidade aparente obtidos foram submetidos à análise de variância para avaliar os efeitos da inoculação microbiana, comparando-se as médias dos valores de consumo e digestibilidade dos nutrientes pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SAEG versão 8.0 (Universidade Federal de Viçosa-UFV, 1999).

As curvas de degradação da MS, PB, FDN e FDA dos alimentos avaliados, para cada animal utilizado, foram submetidas ao ajuste pelos respectivos modelos, utilizando-se o procedimento “Regressão de Marquardt” do software SAEG (1999), o que permite a obtenção das estimativas dos parâmetros analisados.

3. Resultados e Discussão

3.1. Composição bromatológica, pH e N-amoniaco das silagens de capim-elefante

Os valores médios de pH e nitrogênio-amoniaco, foram menores nas silagens inoculadas com *Streptococcus bovis* JB1 e *Streptococcus bovis* HC5, refletindo em maior teor de proteína bruta (Tabela 3).

Tabela 3. Teores de pH, nitrogênio-amoniaco ($N-H_3$) matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) das silagens de capim-elefante sem inoculante (controle) e inoculado com, *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 *Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5)

Inoculante	pH	NH_3 (mg/dL)	MS (%)	PB (%MS)	EE (%MS)	FDN (%MS)	FDA (%MS)
Controle	4,32	11,44	26,53	6,53	3,02	69,74	38,75
<i>Enterococcus</i>	4,09	10,99	27,12	6,60	2,99	69,37	37,30
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	3,99	10,54	28,12	6,98	2,95	71,71	36,88
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	4,04	10,88	26,93	7,08	3,06	68,09	37,57

3.2. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes

Foi observada diferença ($P < 0,05$) entre a ingestão de matéria seca (MS) das silagens avaliadas, sendo os maiores valores registrados nas silagens inoculadas com inoculantes microbianos (Tabela 4). Isso pode indicar que a silagem com bactéria ácido lácticas apresenta adequada população de bactérias lácticas para promover uma boa fermentação da massa ensilada, e boa aceitabilidade ou digestibilidade pelos ovinos. A silagem controle apresentou os menores valores ($P < 0,05$) de consumo de MS (1,43% PV ou 42,79 g/kg $PV^{0,75}$ /dia). Nestas condições, em termos de consumo, a silagem de capim-elefante inoculada com *Streptococcus bovis* HC5 apresentou melhor consumo de MS (2,29%PV ou 56,10 g/kg $PV^{0,75}$ /dia), o que poderia estar associado à maior digestibilidade da MS e da fibra em detergente neutro dessa silagem, 56,10 e 61,75%, respectivamente (Tabela 5).

Não houve efeito dos inoculantes ($P > 0,05$) sobre a ingestão de proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e a fibra em detergente ácido nas silagens de capim elefante, registrando-se valores médios de 3,22; 1,06; 24,65 e 12,60 g/kg $PV^{0,75}$ /dia, respectivamente (Tabela 4) .

Vários autores tentam mostrar que as silagens inoculadas com inoculantes microbianos podem direta ou indiretamente resultar em maior digestibilidade, ingestão e digestibilidade. Acredita-se que os resultados positivos decorram de efeitos probióticos contidos nestes produtos ou de outros efeitos não-mensuráveis

(Kung Jr. e Muck, 1997). No entanto, sabe-se, na atualidade, que estes efeitos são decorrentes de cepas específicas de microrganismos e não foram identificados de modo conclusivo se as silagens inoculadas com inoculantes microbianos podem trazer benefícios diretos para os ruminantes (Weiberg et al., 2004). Segundo Weiberg e Muck (1996), o efeito probiótico inibe microrganismos prejudiciais à fermentação dentro do silo e ainda promove benefícios à flora ruminal e intestinal de ruminantes, favorecendo o maior aproveitamento dos nutrientes da dieta. No entanto, Dewhurst et al. (2000) destacaram que não existe efeito comprovado relacionando o uso de aditivos em silagens, às vantagens adicionais da produção microbiana ruminal. Entretanto, acredita-se que, em algumas situações específicas, possa ocorrer a quebra de açúcares residuais e de proteína como importante fonte de nutrientes para os microrganismos do rúmen.

Tabela 4. Ingestão média diário (IMD) de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) dos ovinos alimentados com silagens de capim-elefante sem inoculante (controle), e inoculada com *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5) das silagens em % PV e g/kg PV^{0,75}/dia.

Ingestão média diária em %PV					
Inoculante	MS	PB	EE	FDN	FDA
Controle	1,43c	0,11a	0,036a	0,88a	0,50a
<i>Enterococcus</i>	1,83b	0,11a	0,038a	0,85a	0,48a
JB1	1,80b	0,12a	0,042a	0,96a	0,46a
HC5	2,29a	0,14a	0,040a	0,89a	0,40a
CV (%)	10,75	14,25	21,07	21,43	23,52
Ingestão média diária em g/kg PV ^{0,75} /dia					
Inoculante	MS	PB	EE	FDN	FDA
Controle	42,79c	3,07a	1,02a	24,53a	13,84a
<i>Enterococcus</i>	50,08b	3,17a	1,00a	23,38a	13,13a
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	49,46b	3,22a	1,11a	25,96a	12,47a
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	56,10a	3,45a	1,14a	24,76a	10,99a
CV (%)	15,53	13,44	21,38	18,79	12,35

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Tabela 5. Digestibilidade aparente (DA) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) dos ovinos alimentados com silagens de capim-elefante sem inoculante (controle), *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5) das silagens

Silagens	Digestibilidade aparente (%)				
	MS	PB	EE	FDN	FDA
Controle	42,79c	63,33a	56,70a	54,71b	58,10a
<i>Enterococcus</i>	50,09b	64,26a	56,92a	59,51a	57,85a
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	49,47b	62,62a	57,61a	60,67a	58,60a
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	56,10a	64,61a	56,21a	61,75a	60,49a
CV (%)	9,74	13,85	13,79	9,30	10,44

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Por isso, trabalhos desenvolvidos com objetivo de avaliar os efeitos da inoculação sobre o consumo de nutrientes são algumas vezes contraditórios. Por exemplo, Martinsson (1992), Smith et al. (1993) e Meeske et al. (1999), em estudos com silagens de gramíneas de clima temperado, observaram melhoria na ingestão de nutrientes, assim como verificado no presente estudo. Entretanto, Rodrigues et al. (2001), Restlé et al. (2003) e Paziani (2004) não verificaram respostas, em estudos com silagens de gramíneas tropicais.

Vale destacar que a idade de colheita do capim, visando maximizar quantidade com qualidade de MS, tem efeito na resposta dos inoculantes microbianos, sendo esperado maior efeito quando temos teores de matéria seca próximos dos 30%, como é o caso do presente estudo.

Foi observado efeito ($P < 0,05$) sobre a digestibilidade aparente da MS, sendo o menor valor registrado na silagem controle, seguido pela silagem inoculada com *Enterococcus faecium* e *Streptococcus bovis* JB1, respectivamente. O maior valor de digestibilidade da MS foi registrado na silagem inoculada com o *Streptococcus bovis* HC5 (56,10%). Da mesma forma, foi registrado efeito ($P < 0,05$) dos inoculantes sobre a digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro, com valores acima de cinco pontos percentuais em relação à silagem controle (54,71%) (Tabela 5). Isso pode estar associado ao bom nível de fermentação (pH e N-NH₃) (Tabela 3) e às possíveis menores perdas de nutrientes via gases ou efluentes, além da provável recuperação da MS.

Não houve efeito ($P>0,05$) dos inoculantes sobre as digestibilidades aparente da proteína bruta, extrato etéreo e fibra em detergente ácido. De acordo com Muck e Kung Jr. (1997), essa ausência de efeito pode ser atribuída ao fato dos inoculantes terem mais chances de promoverem melhoras no processo fermentativo que no desempenho animal.

3.3. Degradabilidade *in situ* de nutrientes

Considerando que a fração “a” representa a porção da planta que está prontamente disponível para os microrganismos ruminais, é possível que o inoculante microbiano tenha contribuído para o acréscimo desta fração nas silagens, principalmente nas silagens inoculadas com *Streptococcus bovis* JB1 e HC5, pois estes inoculantes resultaram nos maiores valores - 30,77 e 29,97%, respectivamente, para a MS e 37,01 e 36,66 para a proteína bruta, respectivamente (Tabela 14), devido à boa qualidade das silagens estudadas. Estes resultados corroboram com Henriques et al. (2004), que verificaram superioridade da fração (a) da matéria seca e da proteína bruta, em silagem de capim-elefante inoculada com aditivo microbiano. Entretanto, Tosi et al. (1999) observaram valores de fração “a” de 34,7%, ao avaliarem silagem de capim-elefante sem inoculante, valor superior ao do presente experimento.

Apesar dos maiores valores da fração “a”, a fração insolúvel potencialmente degradável “b”, tanto da MS como da proteína bruta, foi menor na silagem inoculada com *Streptococcus bovis*. A taxa de degradação da fração potencialmente degradável da proteína bruta varia de 2 a 8%/hora (NRC, 1985). Apesar das variações nas frações “a” e “b”, as taxas de degradação da proteína bruta em %/hora, mantiveram-se constantes, entre 4 e 5%/hora, da mesma forma para a MS, cujo valor de “c” permaneceu entre 3 e 4%/hora.

Para a FDA, os maiores valores da fração insolúvel potencialmente degradável “b” foram verificadas nas silagens inoculadas, com valores médios acima de quatro pontos percentuais em relação à silagem controle (Tabela 5).

Tabela 5. Estimativa dos parâmetros de degradabilidade ruminal da matéria seca (MS), da proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e da fibra em detergente ácido (FDA) das silagens de capim-elefante nos tratamentos, controle (capim-elefante), *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5).

Silagem	Parâmetros			r ²
	Degradabilidade da MS			
	a	b	c	
Controle	26,99	47,45	0,0292	0,97
<i>Enterococcus</i>	27,48	47,19	0,0325	0,96
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	30,77	46,99	0,0328	0,96
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	29,97	43,76	0,0363	0,99
	Degradabilidade da PB			
	a	b	c	
Controle	35,12	48,22	0,0468	0,97
<i>Enterococcus</i>	35,99	48,30	0,0471	0,97
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	37,01	46,77	0,0443	0,97
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	36,66	46,67	0,0454	0,98
	Degradabilidade da FDN			
	b	l	c	
Controle	63,10	36,90	0,0307	0,98
<i>Enterococcus</i>	64,48	35,52	0,0286	0,98
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	64,98	35,02	0,0308	0,97
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	65,88	34,12	0,0293	0,98
	Degradabilidade da FDA			
	b	l	c	
Controle	62,84	37,16	0,0271	0,97
<i>Enterococcus</i>	68,51	32,39	0,0276	0,97
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	67,61	31,49	0,0219	0,97
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	69,22	30,78	0,0225	0,98

a = fração solúvel (%); b = fração insolúvel potencialmente degradável (%); l = fração indegradável (%); c = taxa fracional de degradação (h⁻¹) (%/hora); r² = coeficiente de determinação.

Os valores de degradabilidade potencial da MS apresentaram certa similaridade de respostas, em torno de 75%, apesar da silagem de capim-elefante inoculada com *Streptococcus bovis* HC5 ter apresentado degradabilidade potencial superior em 2,5 pontos percentuais em relação à silagem sem inoculante (Tabela 6).

Tabela 6. Degradabilidade potencial (DP) e efetiva (DE) da matéria seca (MS), da proteína bruta (PB), da fibra em detergente neutro (FDN) e da fibra em detergente ácido (FDA) das silagens de capim-elefante nos tratamentos controle (capim-elefante), *Enterococcus* (capim-elefante mais *Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5), calculadas para taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h

Silagem	Degradabilidade potencial	Degradabilidade efetiva		
		Taxa de passagem (%/h)		
		2	5	8
		Matéria seca (%)		
Controle	74,44	56,70	46,94	41,12
<i>Enterococcus</i>	74,53	57,86	46,07	41,79
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	75,67	57,96	47,29	43,50
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	76,96	57,58	48,11	42,54
		Proteína bruta (%)		
Controle	73,21	58,33	48,27	43,49
<i>Enterococcus</i>	74,18	58,90	48,69	43,97
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	75,41	59,19	49,66	44,81
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	75,61	59,59	49,89	44,94
		Fibra em detergente neutro (%)		
Controle	63,10	37,96	24,00	17,41
<i>Enterococcus</i>	64,48	38,24	23,47	16,99
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	64,98	38,61	24,04	17,53
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	65,88	39,89	25,06	18,27
		Fibra em detergente ácido (%)		
Controle	66,84	35,34	20,59	14,53
<i>Enterococcus</i>	67,61	36,43	22,34	15,19
<i>Streptococcus bovis</i> JB1	68,51	39,42	21,48	17,34
<i>Streptococcus bovis</i> HC5	69,22	36,65	24,08	16,11

Resultados inferiores de degradabilidade potencial da MS foram observados por Cabral et al. (2005), que avaliaram a degradação ruminal da silagem de capim-elefante e verificaram degradabilidade potencial de 64,9% da MS. A baixa degradabilidade potencial da MS, relatada por esses autores pode ser atribuída ao

mais avançado estágio de maturação do capim-elefante utilizado (120 dias de crescimento), pois gramíneas tropicais, apesar da alta produtividade, acumulam ao longo do seu ciclo de crescimento, elevada porcentagem de parede celular (FDN), uma fração de lenta e incompleta digestão, que ocupa muito espaço no trato gastrointestinal (Mertens, 1996) e ocasiona variação na digestão dos alimentos, além de afetar o consumo de alimentos (Van Soest, 1994; Mertens, 1996).

Resultados semelhantes aos da MS foram verificados para a degradabilidade potencial da proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido, que apresentaram valores médios próximos de 75, 65 e 68%, respectivamente (Tabela 6).

Nas Figuras a, b, c e d, pode ser observada a evolução da degradabilidade da matéria seca, proteína bruta, FDN e do FDA ao longo do período de incubação.

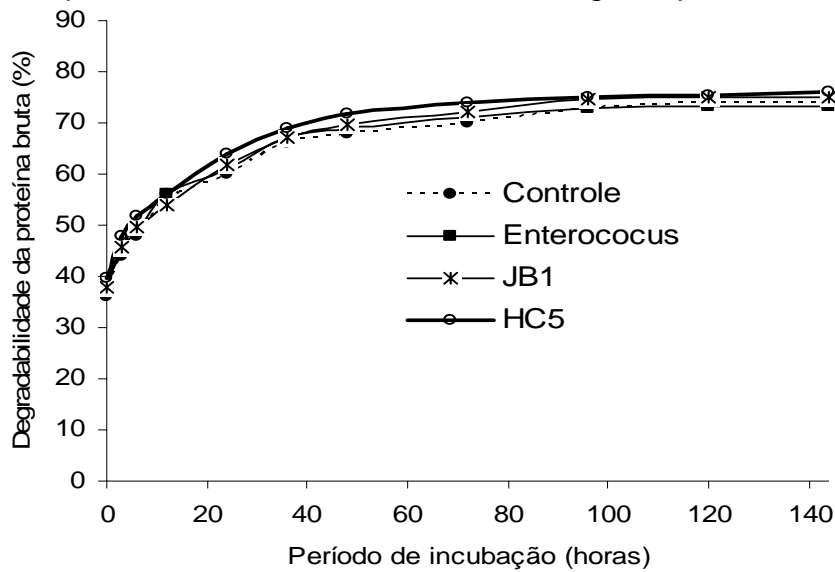


Figura a. Degradabilidade da matéria seca (MS) da silagem de capim-elefante sem inoculante (controle), *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5). Estimada pela equação: $Dt = A + B \times (1 - e^{-ct})$.

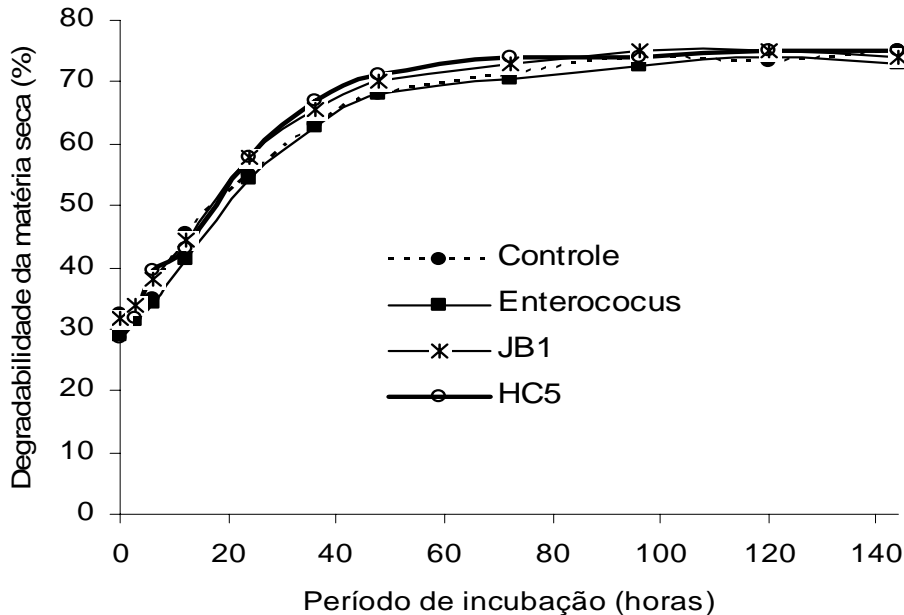


Figura b. Degradabilidade da proteína bruta (PB) das silagens de capim-elefante sem inoculante (controle), *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5). Estimada pela equação: $Dt = A + B \times (1 - e^{-ct})$.

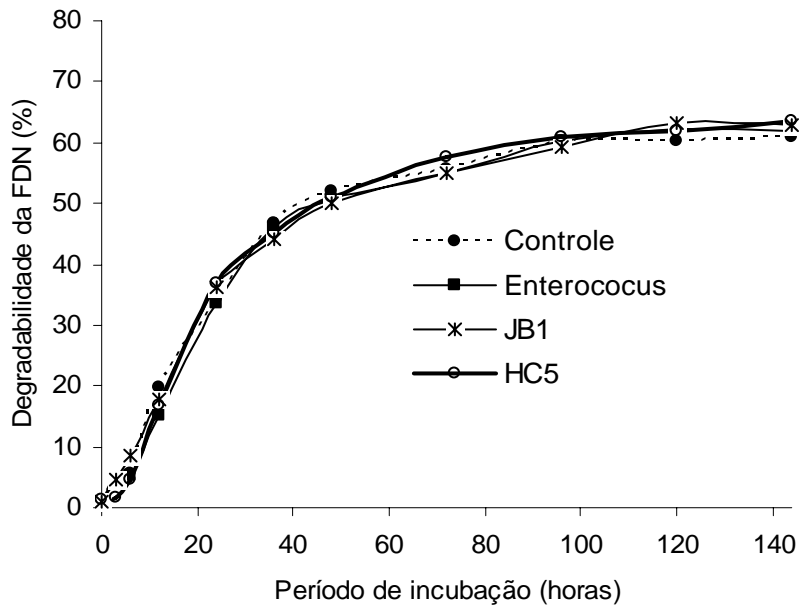


Figura c. Degradabilidade da fibra em detergente neutro (FDN) das silagens de capim-elefante sem inoculante (controle), *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5). Estimada pela equação: $R_t = B \times e^{-ct} + I$.

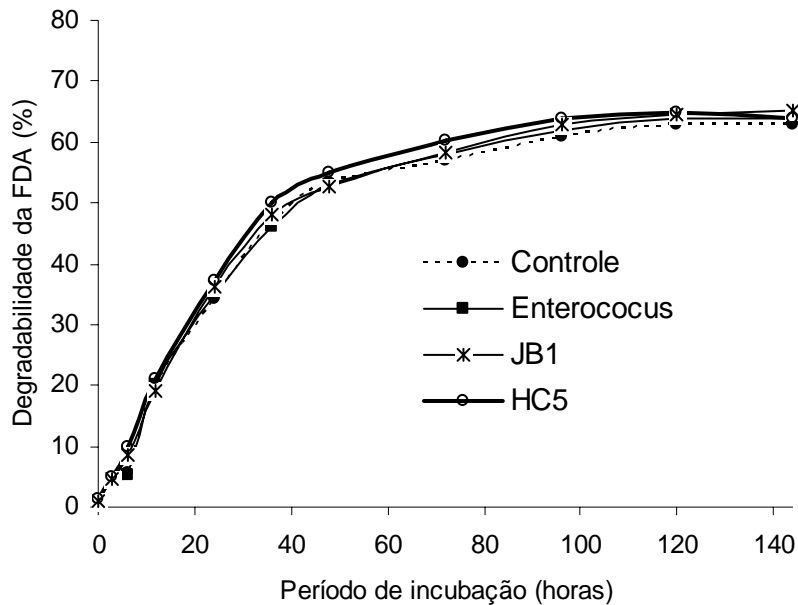


Figura d. Degradabilidade da fibra em detergente neutro (FDA) das silagens de capim-elefante sem inoculante (controle), *Enterococcus* (capim-elefante mais *Enterococcus faecium*), JB1 (*Streptococcus bovis* JB1) e HC5 (*Streptococcus bovis* HC5). Estimada pela equação: $R_t = B \times e^{-ct} + I$.

4. Conclusões

A inoculação bacteriana promove maior ingestão da silagem de capim-elefante, com destaque para o *Streptococcus bovis* HC5, além de aumentar digestibilidade da fibra em detergente neutro.

5. Referências Bibliográficas

- CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; ZERVOUDAKIS, J.T. Degradabilidade *in situ* da matéria seca, da proteína bruta e da fibra de alguns alimentos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.8, p.777-781, 2005.
- DEWHURST, R.J.; DAVIES, D.R., MERRY, R.J. Microbial protein supply from the rumen. **Animal Feed Science and Technology**. v.85, p.1-21, 2000.
- EVANGELISTA, A.A. Produção de forragem do capim-tanzânia sob intervalos de corte e doses de potássio. **Revista Ciência e Agrotecnologia**. v.31, n.5, p.1532-1536, 2007.
- HENRIQUES, L.T.; COELHO DA SILVA, J.F.; VASQUEZ, H.M.; ARAÚJO, G.G.L.; CECON, P.R.; DETMANN, E.; BARROS, E.E.L. Efeito do acipin sobre a degradabilidade e taxa de passagem de silagens de capim-elefante e de milho, em bovinos Holandês x Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.6, p.757-763, 2004.
- KNICKY, M. **Possibilities to improve silage conservation**. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala, 2005.
- KUNG Jr., L.; MUCK, R.E. Animal response to silage additives. In: **Silage: field to feedbunk**-North American Conference, Hershey, PA. **Proceedings...**, New York:NRAES-99. 1997, p.200-210..
- MARTINS, R.L.; ROSSI JÚNIOR, P.R.; FERNANDES, A.C.; GRISE, M.M.; MARTINSSON, K. A study of the efficacy of a bacterial inoculant and formic acid as additive for grass silage in terms of milk production. **Grass and Forage Science**, v.47, n.1, p.189-198, 1992.
- 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, p.237-248, 1999.
- MERTENS, D.R. Using fiber and carbohydrate analyses to formulate dairy rations. In: INFORMATIONAL CONFERENCE WITH DAIRY AND FORAGE INDUSTRIES, 1996, Wisconsin, 1996. **Proceedings...** Wisconsin: [s.ed.], 1996. p.81-92.
- MUCK, R. Silage inoculation. In: CONFERENCE WITH DAIRY AND INDUSTRIES, 1996, Madison. **Proceedings...** Dairy Forage Research Center, 1996 p.43-51.
- MUCK, R.E.; KUNG JR., L. Effects of silage additives on ensiling. In: SILAGE FIELD TO FEEDBUNK, 1997, Pennsylvania. **Proceedings...** New York: NRAES, n.99, p.187-199, 1997.
- MURARO, G.B. Produção de forragem em pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e *Panicum maximum*, cv. Mombaça, em resposta a diferentes doses de nutrientes em Umuarama- PR. **Revista Acadêmica**, v.4, n.3, p.59-64, 2007.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Ruminant nitrogen usage**. Washington, D.C.: National Academy Press, 1985.138p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C: National Academy Press, 2001. 381p.
- NOCEK, J. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2051-2069, 1988.
- OLIVEIRA, J.S.; SANTOS, E.M.; ZANINE, A.M.; MANTOVANI, H.C.; LÍLIAN O.R.; PEREIRA, O.G. Populações microbianas e composição química de silagem de capim-mombaça (*Panicum maximum*) inoculado com *Streptococcus bovis* isolado de rúmen. **Archives of Veterinary Science**, v.12, p.35-40, 2007.
- PATRIZI , W.L.; MADRUGA JÚNIOR, C.R.F.; MINETTO, T.P.; NOGUEIRA , E.; MORAIS, M.G. Efeito de aditivos biológicos comerciais na silagem de capim

elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.3, p.392-397, 2004.

PAZIANI, S.F. **Controle de perdas na ensilagem, desempenho e digestão de nutrientes em bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de capim-tanzânia**. Tese (Doutorado em Zootecnia). Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz – Universidade de São Paulo/Piracicaba-SP, 2004, 208p.

QUEIROZ FILHO, J.L.; SILVA, D.S.; NASCIMENTO, I.S. Produção de matéria seca e qualidade do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cultivar roxo em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.69-74, 2000.

RESTLÉ, J.; NEUMANN, M.; BROANDANI, I.L.; GONÇALVES, J.M.; PELLEGRINI, L.G. Avaliação de silagem de capim-papuã (*Brachiara plantaginea*) por meio do desempenho de bezerros de cote confinados. **Ciência Rural**, v.33, n.4, p.749-756, 2003.

RODRIGUES, P.H.M.; ALMEIDA, T.F.; MELOTTI, L. Efeitos da adição de inoculantes microbianos sobre a composição bromatológica e sobre a fermentação da silagem de girassol produzida em silos experimentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.6 Suplemento, p. 2169- 2175, 2001..

SANTOS, E.M. **Populações microbianas e perfil fermentativo em silagens de capins tropicais e desempenho de bovinos de corte alimentados com dietas contendo silagens se capim-mombaça**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2007.

SANTOS, E.M.; PEREIRA, O.G.; FERREIRA, C.L.L.F.; MANTOVANI, H.C.; PENTEADO, D.C.S.; OLIVEIRA, J.S. SOUSA, L.O. Isolamento, identificação e caracterização de *Lactobacillus* predominantes em gramíneas tropicais. In: XLIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA,43. **Anais...** João Pessoa, UFPB/João Pessoa-PB, 2006 (CD ROOM).

- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. de. Análise de alimentos: **métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 2002, 235p.
- SMITH, E.J. The influence of an inoculation/enzyme preparation as an additive for grass silage offered in combination with three levels of concentrate supplementation on performance of lactating dairy cows. **Animal Production**, v.56, n.3, p.301-310, 1993.
- SOUZA, M.R.F.; PINTO, J. I.; OLIVEIRA, I.P.; MUNIZ, J. A.; ROCHA, G. P.; TOSI, P.; MATTOS, W.R.S.; TOSI H. Avaliação do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) cultivar Taiwan A-148, ensilado com diferentes técnicas de redução de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.947-954, 1999.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas – SAEG**: manual do usuário. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 138p. (Versão 8.0).
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- WEIBERBERG, Z.G.; CHEN, Y.; GAMBURG, M. The passage of lactic acid bacteria from silage into rumen fluid, *in vitro* studies. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.10, p.3386-3397, 2004.
- WEINBERG, Z.G.; MUCK, R. E. New trend and opportunities in the development and use of inoculant for silage. **Fems Microbiology Reviews**. v.19, n.1, p.53-68, out. 1996.
- WEINBERG, Z.G.; SZAKACS, G.; ASHBELL, G.; HEN, Y. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *L. plantarum*, applied at ensiling, on the ensiling fermentation and aerobic stability of wheat and sorghum silages. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**. v.23, n.3, p.218-222, 1999.

ZANINE, A. M ; Lana, R.P. ; SANTOS, E. M ; FERREIRA, D. J ; PEREIRA, O. G.; MANTOVANI, H. C. ; DOREA, J. R. R. . Efeito da inoculação com *Enterococcus Faecium* e *Streptococcus bovis* isolado do rúmen bovino sobre a fermentação em silagens de capim-elefante. In: 45ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2008, Lavras. **Anais** da 45ª Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Lavras : Editora UFLA, 2008. p. 1-3.

ZANINE, A.M; FERREIRA, D.J; LANA, R.P.; SANTOS, E.M ; MANTOVANI, H.C.; BONELLI, E.A ; LIMA, L.R. Características fermentativas de silagens de capim-tanzânia inoculadas com *Streptococcus bovis* isolado do rúmen com ou sem farelo de trigo. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA.46, 2009, Maringá-PR. **Anais...** Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia.. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2009. v. 01. p. 01-03.

CONCLUSÕES GERAIS

A inoculação com o *Streptococcus bovis* resulta em maior teor de proteína bruta na silagem e maior recuperação da matéria seca e da proteína bruta, além de menor perda por gases e efluentes. Pode-se concluir que, diante de todos os parâmetros estudados, há uma similaridade de respostas positivas entre o *Streptococcus bovis* (JB1) e o *Streptococcus bovis* (HC5).

Conclui-se que a inoculação bacteriana promove maior ingestão e digestibilidade aparente e degradabilidade da matéria seca na silagem de capim-elefante, com destaque para o *Streptococcus bovis* HC5.