

KARINA DOSUALDO ROCHA

**SILAGENS DE CAPIM-ELEFANTE cv. CAMEROON, DE MILHO E DE
SORGO, PRODUZIDAS COM INOCULANTES ÊNZIMO-BACTERIANOS:
POPULAÇÕES MICROBIANAS, CONSUMO E DIGESTIBILIDADE**

Tese 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
2003

KARINA DOSUALDO ROCHA

SILAGENS DE CAPIM-ELEFANTE cv. CAMEROON, DE MILHO E DE
SORGO, PRODUZIDAS COM INOCULANTES ÊNZIMO-BACTERIANOS:
POPULAÇÕES MICROBIANAS, CONSUMO E DIGESTIBILIDADE

Tese 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: 14 de outubro de 2003.

Prof^a Célia Lúcia de Lucas F. Ferreira
(Conselheiro)

Prof. Rasmô Garcia
(Conselheiro)

Prof. Sebastião de C. Valadares Filho

Prof.^a Karina Guimarães Ribeiro

Prof. Odilon Gomes Pereira
(Orientador)

DEDICATÓRIA

A Deus, Senhor de toda Sabedoria
Aos meus pais, Norberto (em memória) e Maria do Carmo
Aos meus irmãos, Gigi, Galego e Cissa
Ao meu filho, Matheus
Às minhas sobrinhas, Maira e Julia

Dedico a todos aqueles que me apoiaram e me ensinaram durante todo esse tempo, e que continuam ao meu lado hoje e sempre.

AGRADECIMENTO

Ao Pai de Amor e Justiça.

À minha família, Pai, Mãe, Gi, Kity, Cissa, Vô, Vó, sem a qual, nada disto seria possível.

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

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

Ao Professor Odilon Gomes Pereira, pela amizade, confiança, presteza, paciência e pelos ensinamentos.

À Professora Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira, pelo apoio, e aos seus orientados, na pessoa de Maximiliano Soares Pinto, pelos esclarecimentos e apoio.

Aos Professores Sebastião de Campos Valadares Filho e Augusto Cesar de Queiróz, pela constante boa vontade e pelos esclarecimentos.

À Professora Maria Ignez Leão, pela compreensão, apoio e boa conversa.

Aos Professores Rogério de Paula Lana, do Departamento de Zootecnia da UFV, e Hilário, do Departamento de Microbiologia, da UFV, pela boa vontade e presteza em ajudar o próximo.

À minha linda Tia Carol e ao meu primo Ro, pelo apoio e amor que sempre me deram.

Às minhas amigas, Camila, Karla e Ângela, pela presença constante em minha vida e pela eterna amizade e apoio.

Aos estagiários que estiveram comigo todo esse tempo, Amanda, Gargamel e Eliza, e à Daniele, estudante de mestrado da UFRPE, sem os quais o trabalho teria sido difícil.

Aos funcionários do Setor de Agrostologia, Nicolau e Egídio, com os quais pude contar com a boa vontade, várias risadas e algum trabalho braçal.

Ao funcionário do Laboratório de Forragicultura, Raimundo, com o qual também pude contar com a sua força de vontade.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de Leite, nas pessoas de Cláudio e Francisco, pela boa vontade e ajuda na produção das silagens.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, especialmente ao Monteiro e Fernando, sempre prontos em compartilhar a experiência.

Aos funcionários do Laboratório Animal, Joécio, Zezé, Marcelo e Pum, com os quais pude contar para a contenção dos animais.

Ao pessoal do Laboratório de Reprodução Animal, especialmente ao Anselmo e ao Chico Rennó, por me ajudarem e me cederem o espaço para análise de minhas lâminas.

Ao pessoal do Laboratório de Melhoramento Animal, especialmente à Professora Simone e ao Fred, que me cederam espaço e aparelhos para algumas análises.

Às minhas amigas, Patrícia e Kátia, pela presença constante, apoio e carinho.

À minha amiga Érica, seus irmãos, Júnior e Ana Paula, e a minha querida Tia Cida, pois sabem o valor do estudo e do carinho.

Aos meus amigos de Brasília, cuja distância não fez com que os esquecesse, mas que lembrasse cada vez mais da amizade conquistada.

A todos aqueles que já fizeram parte da minha vida e que deixaram um pedacinho deles em mim, obrigado pelo aprendizado de cada dia, seja com os erros ou acertos.

Àqueles que não me ajudaram, muitas vezes atrapalharam, por não entenderem o meu trabalho ou simplesmente por comodismo do cotidiano, pois pude crescer ainda mais para superar os obstáculos.

BIOGRAFIA

KARINA DOSUALDO ROCHA, filha de Norberto dos Santos Rocha e Maria do Carmo Dosualdo Rocha, nasceu em Brasília, Distrito Federal, em 02 de abril de 1978.

Em agosto de 2001, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa.

Em agosto de 2001, iniciou o Curso de mestrado em Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Forragicultura, submetendo-se à defesa de tese em 14 outubro de 2003.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	viii
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
CAPÍTULO 1 - Caracterização e População de Microrganismos em Capim-Elefante e Valor Nutritivo de suas Silagens Produzidas com Inoculantes Ênzimo-Bacterianos	
Resumo	7
Abstract	9
Introdução	11
Material e Métodos	13
Resultados e Discussão	18
Conclusão	33
Referências Bibliográficas	33
CAPÍTULO 2 - Valor Nutritivo de Silagens de Milho Produzidas com Inoculantes Ênzimo-Bacterianos	
Resumo	37
Abstract	39
Introdução	41

Material e Métodos	42
Resultados e Discussão	46
Conclusão	54
Referências Bibliográficas	55
CAPÍTULO 3 - Valor Nutritivo de Silagens de Sorgo Produzidas com Inoculantes Ênzimo-Bacterianos	
Resumo	57
Abstract	59
Introdução	61
Material e Métodos	62
Resultados e Discussão	67
Conclusão	77
Referências Bibliográficas	77

RESUMO

ROCHA, Karina Dosualdo, M.S., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2003. **Silagens de capim-elefante cv. Cameroon, de milho e de sorgo produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos: populações microbianas, consumo e digestibilidade.** Orientador: Odilon Gomes Pereira. Conselheiros: Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira e Rasmô Garcia.

O presente trabalho foi desenvolvido a partir de seis experimentos. No primeiro, avaliaram-se o pH, a relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total ($N-NH_3/N_{total}$), a composição química e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e as populações microbianas de silagens de capim-elefante produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos, em seis períodos de fermentação (01, 03, 07, 14, 28 e 56 dias), usando-se silos laboratoriais. Para a proteína bruta (PB) das silagens, nenhuma equação de regressão ajustou-se aos dados, registrando-se valor médio de 6,28% na MS. Para a FDN observou-se efeito quadrático, estimando-se valor mínimo de 74,83%, aos 44,85 dias de fermentação e para a FDA estimou-se decréscimos de 0,039 unidades percentuais por dia de fermentação. Observou-se efeito quadrático de período, sobre a DIVMS da silagem controle, estimando-se valor máximo de 52,99%, aos 33,99 dias de fermentação. Observou-se efeito de inoculante e de período, para o pH estimando-se reduções de 0,5769; 0,62327 e 0,80218 unidades/ dia

de fermentação para as silagens controle e tratadas com Sil All e Bacto Silo, respectivamente. A população máxima de lactobacilos foi da ordem de 10^8 ufc/g de silagem, para a silagem controle, aos 14 dias de fermentação, e para as silagens tratadas com inoculantes, aos 7 dias. As enterobactérias não foram detectadas a partir do terceiro dia, apresentando valor máximo de 10^4 , < 10 e 10^3 ufc/g para as silagens controle, Sil All e Bacto Silo C Tropical, respectivamente. Num segundo experimento, avaliaram-se o consumo e a digestibilidade aparente total dos nutrientes de silagens de capim-elefante produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos, em ensaios com ovinos. O consumo médio de nutrientes não foi influenciado pelas silagens, excetuando-se o de EE e CNF. A digestibilidade aparente total dos nutrientes, também não foi influenciada pelas silagens. Em um terceiro experimento, avaliaram-se o pH, a relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total ($N-NH_3/N_{total}$), a composição química e a DIVMS de silagens de milho produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos, em seis períodos de fermentação (01, 03, 07, 14, 28 e 56 dias), usando-se silos laboratoriais. Para o teor de matéria seca (MS) das silagens, detectou-se efeito da interação inoculante x período. Já para o teor de PB observou-se efeito de inoculante, registrando-se menor valor (6,23%) para a silagem não tratada. A DIVMS foi influenciada apenas pelo período, estimando-se incrementos de 0,0546305 unidades/dia de fermentação. Num quarto experimento, avaliaram-se o consumo e a digestibilidade aparente total dos nutrientes das silagens do experimento 3, em ensaio com ovinos. O consumo dos nutrientes não foi influenciado pelas dietas experimentais, registrando-se valores médios de 1,26; 0,14 e 0,84 kg/dia, para os consumos de MS, PB, e nutrientes digestíveis totais, respectivamente. Quanto à digestibilidade aparente dos nutrientes, apenas a da PB, foi influenciada pelas silagens. Em um quinto experimento, avaliaram-se o pH, a relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total ($N-NH_3/N_{total}$), a composição química e a DIVMS de silagens de sorgo produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos, em seis períodos de fermentação (01, 03, 07, 14, 28 e 56 dias), usando-se silos laboratoriais. Para os teores de FDN e FDA estimaram-se valores máximos de 61,05 e 35,22%, aos 26,1 e 37,20 dias de fermentação, respectivamente. Para a DIVMS observou-se efeito da interação inoculante x período. Por sua vez,

para o pH observou-se efeito de inoculante e de período, enquanto que a relação nitrogênio amoniacal/Ntotal foi influenciada pela interação inoculante x período. Num sexto experimento, avaliaram-se o consumo e a digestibilidade aparente total dos nutrientes das silagens do experimento 5, em ensaio com ovinos. O consumo médio dos nutrientes, em g/dia, não foi influenciado pelos inoculantes, excetuando-se o de EE e FDN. Todavia, o consumo de matéria seca, expresso em %PV, foi influenciado pela inoculação, registrando-se menor valor na silagem não tratada. Contudo, a digestibilidade aparente total dos nutrientes não foi influenciada pelas silagens.

ABSTRACT

ROCHA, Karina Dosualdo, M.S., Universidade Federal de Viçosa, october of 2003. **Elephantgrass cv. Cameroon, corn and sorghum silages treated with bacterial inoculants: microbial populations, intake and digestibility.** Adviser: Odilon Gomes Pereira. Committee Members: Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira and Rasmô Garcia.

The present work was based on six experiments. In the first one, pH, ammonia nitrogen in relation to total nitrogen (N-NH₃/Total N), chemical composition, in vitro dry matter digestibility (IVDMD) and microbial populations of elephantgrass silages produced with enzymatic-bacterial inoculants, were evaluated in six fermentation periods (1, 3, 7, 14, 28 and 56 days), using laboratory silos. The crude protein (CP) of silages showed mean value of 6.28% on dry matter basis. It was observed inoculant and period effect on pH being considered reductions of 0.5769; 0.62327 and 0.80218 units/day of fermentation for the control silage and those treated with Sil All and Bacto Silo, respectively. It was observed a quadratic effect for NDF, being considered minimum value of 74.83%, at 44.85 days of fermentation and for ADF it was considered decreasing values of 0.039 units/day of fermentation. It was observed a quadratic effect of period on IVDMD of the control silage, being considered maximum value of 52.99% at 33.99 days of fermentation. The maximum population of lactobacilli was 10⁸ cfu/silage gram, to the control silage

after 14 days of fermentation, and to the inoculated silages after 7 days of fermentation. The enterobacter microorganisms were not detected after the third day, showing the maximum value of 10^4 , <10 and 10^3 cfu/g to control, Sil All and Bacto Silo Tropical C silages, respectively. In the second experiment, intake and total apparent digestibility of nutrients of elephantgrass silages produced with enzymatic-bacterial inoculants were evaluated in trials with rams. The mean intake of nutrients was not influenced by silages, except for intake of ether extract. The observed mean values for total apparent digestibilities of OM, CP and NDF were 52.4; 70.5 and 47.5%, respectively. In the third experiment, pH value, ammonia nitrogen in relation to total nitrogen (N-NH₃/Total nitrogen), chemical composition and in vitro dry matter digestibility of corn silages produced with enzymatic-bacterial inoculants, were evaluated in six fermentation periods (1, 3, 7, 14, 28 and 56 days), using laboratory silos. It was observed interaction effect of inoculant x period in the silages dry matter (DM) content, registering greater values to inoculated silages, regardless the fermentation period. It was observed inoculant effect on the silages crude proteins (CP) contents, registering lower value (6.23%) to control silage. The in vitro dry matter digestibility was also influenced by the fermentation period, being considered increments of 0.0546305 units/fermentation day. In the fourth experiment, intake and total apparent digestibility of nutrients of silages from the experiment 3 were evaluated in a trial with rams. The nutrients intakes were not influenced by the experimental diets, registering mean values of 1.26; 0.14 and 0.84 kg/day, for dry matter, crude protein and total digestible nutrients (TDN), respectively. In the fifth experiment, pH value, ammonia nitrogen in relation to total nitrogen (N-NH₃/Total N), chemical composition and in vitro dry matter digestibility of sorghum silages produced with enzymatic-bacterial inoculants were evaluated in six fermentation periods (1, 3, 7, 14, 28 and 56 days), being used laboratory silos. Neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) reached maximum values of 61.05 and 35.22%, at 26.1 and 37.20 days of fermentation, respectively. There was interaction between inoculant and fermentation period on in vitro dry matter digestibility and inoculant and period effects on pH, while ammonia nitrogen/Total N value was influenced by the interaction between inoculant and fermentation period. In the sixth experiment,

intake and total apparent digestibility of nutrients of silages of the experiment 5 were evaluated in a trial with rams. The mean intake of nutrients, in g/day, was not influenced by inoculants, except for intake of EE and NDF. Though dry matter intake expressed in %BW, was influenced by inoculation, registering greater value to the inoculated silages. However, the total apparent digestibilities of nutrients were not influenced by the silages.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a utilização de silagem vem sendo cada vez mais intensificada devido à necessidade de melhorar a produtividade, que hoje é sinônimo de maiores rendimentos, principalmente no período de redução do valor nutritivo das gramíneas tropicais. Portanto, a suplementação com forragens conservadas visa o suprimento adicional de proteína, energia e minerais, e dependerá dos requerimentos nutricionais da categoria animal e da composição de nutrientes da forragem (Pereira & Ribeiro, 2001).

Portanto, a ensilagem tem como principais objetivos maximizar a preservação original dos nutrientes encontrados na forragem fresca, durante o armazenamento, com o mínimo de perdas de matéria seca e energia. Para tal, é necessário que a respiração da planta e sua atividade proteolítica, bem como a atividade clostrídica e o crescimento de microrganismos aeróbicos, sejam limitados. Esses problemas podem ser superados pela obtenção e manutenção de um ambiente anaeróbio no silo e com um rápido enchimento do mesmo.

Além do manejo adequado, a planta ao ser colhida deve apresentar um teor de umidade ideal para a ocorrência de uma compactação ótima da massa ensilada e manutenção dos nutrientes, bem como o teor de carboidratos solúveis necessita ser suficiente para promover uma boa fermentação. Os substratos disponíveis para a fermentação são usados por microrganismos que utilizam rotas metabólicas diferenciadas, com a consequente produção de ácido láctico, principal produto da fermentação de bactérias lácticas, ou de outros

produtos, tais como etanol e CO₂, que são indesejáveis, tanto pela perda de energia no processo fermentativo da silagem (característica de silagens pobres em proteína) quanto por ser um composto neutro para a nutrição do ruminante (Van Soest, 1994). Portanto, um número adequado de bactérias lácticas é necessário para garantir uma boa produção de ácido láctico, promovendo uma queda mais rápida no pH, inibindo a atividade de microrganismos deletérios à silagem, como enterobactérias, bactérias clostrídicas e outros.

O estudo da flora epifítica ou flora original das plantas, segundo Pahlow (1989), tem revelado resultados altamente variáveis quanto à composição e ao número de microrganismos. Estes parâmetros estão sujeitos aos fatores ambientais, os quais são influenciados pela localização geográfica, onde os estudos estão sendo conduzidos. Deste modo, os fatores climáticos e a composição das plantas irão interferir diretamente nos vários complexos bioquímicos e processos microbiológicos que transcorrem desde o momento da colheita da forragem até o fornecimento da silagem ao animal.

A utilização dos açúcares durante a fermentação ocorre por um processo competitivo entre as bactérias lácticas e vários outros grupos de microrganismos. Inicialmente, ocorre a proliferação de bactérias anaeróbicas produtoras de ácido acético (enterobactérias) e de outras bactérias lácticas heterofermentativas. Estas bactérias produzem etanol, ácido acético, ácido láctico e CO₂, utilizando glicose, frutose, xilose e ribose como substratos. A produção desses ácidos, principalmente de ácido láctico, reduz o pH e, quando este se reduz abaixo de 5, o número dessas bactérias decresce e as bactérias lácticas homofermentativas, ou seja, aquelas cujo produto principal é o ácido láctico, dominam a fermentação (McAllister & Hristov, 2002).

Para se obter uma fermentação efetiva do material ensilado, algumas estratégias têm sido utilizadas, visando à produção de altos níveis de ácido láctico e o rápido abaixamento do pH (<4,2), durante a fermentação. Neste contexto, o uso de aditivos, como os inoculantes bacterianos, têm se destacado como alternativa disponível, pois, segundo Filya et al. (2000), são produtos seguros, fáceis de serem manuseados, não corrosivos e não poluentes, sendo considerados produtos naturais.

A utilização de culturas microbianas que controlam a fermentação por vias metabólicas de degradação de substratos que sejam energeticamente mais eficientes é considerada fundamental (Daeschel et al., 1987), pois inoculantes microbianos desenvolvidos a partir da própria planta que se deseja ensilar tem revelado melhor padrão fermentativo e maior recuperação da matéria seca ensilada.

Portanto, pesquisas de identificação da flora epifítica da forrageira são essenciais antes da recomendação do uso de inoculantes microbianos (Pahlow, 1989; Pitt, 1990). Pahlow (1989), na Alemanha, observou que a população láctica epifítica encontrada em plantas de milho variou de 5×10^3 a 1×10^7 unidades formadoras de colônia por grama de forragem fresca (ufc/g). Para que as bactérias ácido lácticas dos inoculantes obtenham êxito, estas devem superar a população epifítica de bactérias ácido lácticas da forragem ensilada, tornando-se a população dominante. Neste contexto, segundo Mahanna (1993), taxas de inoculação da ordem de 10^5 células viáveis/g de forragem seriam suficientes para que a população de bactérias ácido lácticas seja dominante no processo fermentativo. No entanto, este mesmo autor comenta que a aplicação excessiva de bactérias lácticas não é recomendada, pois promoverá uma rápida fermentação, de modo que o material ensilado conservará suas características nutritivas por um período bem menor após a abertura do silo, se comparado à silagem devidamente inoculada.

A maioria das pesquisas envolvendo o uso de inoculantes microbianos tem sido conduzida na América do Norte e Europa, sendo ainda bastante escassas nas condições tropicais, embora o interesse por estes produtos tenha crescido significativamente nos últimos anos nessa região.

Com relação aos estudos conduzidos em regiões tropicais, tem-se observado maior concentração em avaliações da composição bromatológica das silagens em relação àqueles referentes à fermentação, tais como pH, nitrogênio amoniacal (N-NH₃), ácidos graxos voláteis (AGV) e populações microbianas, com destaque para as duas primeiras, independentemente da cultura ensilada. É oportuno ressaltar, também, o pequeno número de trabalhos de pesquisa realizados, nestas regiões, principalmente, no Brasil, tanto nas Universidades como em outras Instituições de Pesquisa, se

considerar o alto marketing das empresas produtoras e, ou, comercializadoras desses inoculantes, bem como a crescente adoção desses produtos por nossos pecuaristas (Pereira et al., 2002).

Assim sendo, seis experimentos foram conduzidos objetivando-se avaliar a composição química, o pH, a relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total e a digestibilidade “in vitro” da matéria seca em silagens de capim-elefante, milho e sorgo, produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos, utilizando-se silos laboratoriais, bem como o consumo e as digestibilidades aparentes totais de seus nutrientes em ensaio com ovinos. Quantificou-se também a população microbiana, em plantas de capim-elefante e suas silagens.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DAESCHEL, M. A.; ANDERSON, R. E.; FLEMING, H. P. Microbial ecology of fermenting plant materials. **FEMS Microbiology Reviews**, v.46, n.3, p.357-367, 1987.
- FILYA, I.; ASHBELL, G.; HEN, Y.; WEINBERG, Z.G. 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.
- MAHANNA, W. C. Silage fermentation and additive use in North America. In: SILAGE PRODUCTION FROM SEED TO ANIMAL. 1993, New York. *Proceedings...*, New York:NRAES, 1993. p.85 - 95.
- McALLISTER, T.A.; HRISTOV, A.N. The fundamentals of making good quality silage. 2002. www.afns.ualberta.ca/hosted/wcds/wcd2000...s/chapter32.htm
- PAHLOW, G. Ecological studies of epiphytic lactic acid bacteria (Lab) on whole plant maize and in inoculated silage. In: FOOD FOR THOUGHT, 2, 1989. Johnston. *Proceedings...* Johnston: Pionner Hi-Bred International, 1989.
- PEREIRA, O.G.; RIBEIRO, K.G. Suplementação de bovinos com forragens conservadas. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2, 2001. Viçosa, *Anais...* Viçosa: DZO. p. 261-289,2001.
- PEREIRA, O.G.; ROCHA, K.D.; VIEIRA, A.S. Inoculantes bacterianos e enzimáticos para silagem. In: I SIMFOR – SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM. *Anais...*Viçosa, MG, 2002.p. 373-406.

PITT, R. E. The probability of inoculant effectiveness in alfalfa silages.
Transactions of the ASAE, v. 33, n.6, p.1771-1778, 1990.

VAN SOEST, P.J. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 1 ed. Cornell University Press, Ithaca, New York. 374 p. 1994.

CAPÍTULO 1

Caracterização e População de Microrganismos em Capim-Elefante cv. CAMEROON (*Pennisetum purpureum*, Schum.) e Valor Nutritivo de suas Silagens Produzidas com Inoculantes Ênzimo-Bacterianos

Resumo – O presente trabalho foi desenvolvido a partir de dois experimentos. No primeiro, avaliaram-se o pH, a relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total (N-NH₃/Ntotal), a composição química e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e as populações microbianas de silagens de capim-elefante produzidas ou não com inoculantes ênzimo-bacterianos, em seis períodos de fermentação (01, 03, 07, 14, 28 e 56 dias), usando-se silos laboratoriais. Foi usado um arranjo fatorial 6 x 3 (seis períodos de fermentação x três inoculantes), em um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Avaliaram-se os seguintes inoculantes microbianos: controle (sem inoculante), Sil All C4 (Alltech do Brasil) e Bacto Silo C Tropical (Katec). A quantificação das populações de microrganismos foi determinada na planta e nas silagens de capim-elefante e a caracterização de microrganismos feita somente na planta. Observou-se efeito da interação inoculante x período para o teor de MS. Para a proteína bruta (PB) das silagens, detectou-se efeito apenas de período de fermentação. Todavia, nenhuma equação ajustou-se aos dados, registrando-se valor médio de 6,28%, na MS. Para o pH observou-se efeito de inoculante e de período, estimando-se reduções de 0.5769; 0.62327 e 0.80218 unidades/ dia de fermentação para as silagens controle e tratadas com Sil All e

Bacto Silo, respectivamente. Para o teor de $N-NH_3/N_{total}$, observou-se efeito da interação inoculante x período. Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) foram influenciados apenas pelo período de fermentação. Para a FDN observou-se efeito quadrático, estimando-se valor mínimo de 74,83%, aos 44,85 dias de fermentação e para a FDA estimou-se decréscimos de 0.039 unidades percentuais por dia de fermentação. Para a DIVMS observou-se efeito da interação inoculante x período. Observou-se efeito quadrático de período, sobre a DIVMS da silagem controle, estimando-se valor máximo de 52,99%, aos 33,99 dias de fermentação. A população máxima de lactobacilos foi da ordem de 10^8 ufc/g de silagem, para a silagem controle, aos 14 dias de fermentação, e para as silagens tratadas com inoculantes, aos 7 dias. Para mofos e leveduras, aos 56 dias, as populações foram de 10^2 ufc/g de silagem, para a silagem tratada com Sil All, e de 10^3 ufc/g de silagem, para a controle e aquela tratada com Bacto Silo C Tropical. As enterobactérias não foram detectadas a partir do terceiro dia, apresentando valor máximo de 10^4 , < 10 e 10^3 ufc/g para as silagens controle, Sil All e Bacto Silo C Tropical, respectivamente. No segundo experimento, avaliaram-se o consumo e a digestibilidade aparente total dos nutrientes de silagens de capim-elefante produzidas com inoculantes enzima-bacterianos, em ensaios com ovinos. Utilizaram-se vinte ovinos adultos, castrados, distribuídos em quatro tratamentos (inoculantes), segundo um delineamento em blocos casualizados, com cinco repetições. Os inoculantes utilizados foram os mesmos do primeiro experimento, mais o Silobac (Christian Hansen). Adotou-se uma relação volumoso:concentrado de 90:10, com base na matéria seca. O consumo médio de nutrientes não foi influenciado pelas silagens, excetuando-se o de EE e CNF. Para os consumos de MS, PB, FDN e NDT registraram-se, respectivamente, valores médios de 1127,6; 147,2; 721,2 e 577,3 g/dia. Quanto à digestibilidade aparente total dos nutrientes, apenas aquela referente à MS foi influenciada pelas silagens, registrando-se maior valor na silagem controle, que, por sua vez, não diferiu daquelas tratadas com Sil All e Bacto Silo C Tropical. Os valores médios observados para as digestibilidades aparentes totais de MO, PB e FDN foram, respectivamente, de 52,4; 70,5 e 47,5%.

**Characterization and Population of Microorganisms on Elephant grass
“cameroon” (*Pennisetum purpureum*, Schum) and Nutritional Value of its
Silages Treated with Enzymatic-Bacterial Inoculants**

Abstract - The present work was based on two experiments. In the first one, pH, ammonia nitrogen in relation to total nitrogen (N-NH₃/Total N), chemical composition, in vitro dry matter digestibility and microbial populations of elephantgrass silages produced with enzymatic-bacterial inoculants, were evaluated in six fermentation periods (1, 3, 7, 14, 28 and 56 days), using laboratory silos. A 6 x 3 (six fermentation periods x three inoculants) factorial arrangement of treatments was used in a randomized block design, with three repetitions. The following bacterial inoculants were evaluated: control (without inoculant), Sill All C4 (Alltech of Brazil) and Bacto Silo Tropical C (Katec). The quantification of microorganisms populations was determined on plant and on elephantgrass silages and the microorganisms characterization was determined only on elephantgrass plant. It was observed interaction between inoculant and fermentation period on silages' DM. For the crude protein (CP) of the silages, the effect was only detected on fermentation period. Though no equation was adjusted to the data, registering mean value of 6.28% to DM. For pH value, inoculant and period effects were observed, being considered reductions of 0.5769; 0.62327 and 0.80218 units/day of fermentation for the control silage and that treated with Sil All and Bacto Silo, respectively. It was observed interaction between inoculant and fermentation period on N-NH₃/total-N. Neutral

detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) were influenced only by the fermentation period. For NDF, a quadratic effect was observed, being considered minimum value of 74.83% at 44.85 days of fermentation and for ADF it was considered decreasing values of 0.039 percentile units/fermentation day. For in vitro dry matter digestibility, it was observed interaction effect between inoculant and fermentation period. A quadratic effect of period was observed for IVDMD of the control silage, being considered maximum value of 52.99%, at 33.99 days of fermentation. The total count of microorganisms registered values of 10^7 colony forming unity (cfu)/ gram of silage for all silages, in different fermentation periods. The maximum population of lactobacilli was 10^8 cfu/ gram of silage at 14 days of fermentation to the control silage, and at 7 days of fermentation to the silages treated with inoculant. Population of molds and yeasts were of 10^2 cfu/gram of silage for silage treated with Sil All at 56 days of fermentation, and of 10^3 cfu/gram of silage to the control silage and that treated with Bacto Silo Tropical C. The enterobacter were not detected after the third day of fermentation, registering the maximum value of 10^4 , <10 and 10^3 cfu/gram of silage to control, Sil All and Bacto Silo Tropical C silages, respectively. In the second experiment, intake and total apparent digestibility of nutrients of elephantgrass silages produced with enzymatic-bacterial inoculants were evaluated, in a trial with rams. Twenty adult and castrated rams were used, distributed in four treatments (inoculants) in a randomized block design with five repetitions. The inoculants were the same of the first experiment, added to Silobac (Christian Hansen) inoculant. The diets contained a 90:10 forage to concentrate ratio in dry matter basis. The mean intake of nutrients was not influenced by silages, except for ether extract (EE) intake. The intakes of dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and total digestive nutrients (TDN) registered. Mean values of 1127.6; 147.2; 721.2 and 577.3 gram/day, respectively. Only the total apparent digestibility of DM was influenced by silages, registering larger value in the control silage, but not differing from those treated with Sil All and Bacto Silo Tropical C. The registered mean values observed for the total apparent digestibilities of OM, CP and NDF were of 52.4; 70.5 and 47.5%, respectively.

Introdução

As forrageiras tropicais caracterizam-se por apresentarem elevada produção de matéria seca, com estacionalidade marcante entre as estações das águas e da seca, determinando uma distribuição desuniforme da produção, indicando grande potencial para conservação de forragens, através de ensilagem e, ou, fenação. No entanto, o potencial de uma planta para ensilagem é dependente do teor original de umidade, que deve situar-se próximo a 70%, do conteúdo de carboidratos solúveis (acima de 8% na MS) e do baixo poder tampão, que não deve oferecer resistência à redução do pH para valores entre 3,8 e 4,0 (McCullough, 1977).

Dentre as forrageiras tropicais, o capim-elefante tem se destacado como uma das espécies mais promissoras e de maior potencial para a ensilagem devido ao seu teor de carboidratos solúveis satisfatório (Vilela, 1990), fácil cultivo, boa palatabilidade e alto rendimento forrageiro (Tosi et al., 1995).

Na época adequada de corte do capim-elefante, buscam-se teores de carboidratos solúveis suficientes para garantirem boa fermentação da forragem dentro do silo. Porém, esta gramínea, colhida entre 60 e 90 dias de crescimento vegetativo, apesar de apresentar quantidade satisfatória de carboidratos fermentescíveis, tende a apresentar baixo teor de matéria seca, que se torna grande fator restritivo à sua adequada fermentação (Lavezzo et al., 1992).

O capim-elefante ensilado mais novo, tende a possuir características que interferem sobre o processo de ensilagem, como o alto teor de umidade e alta capacidade tamponante. Estes fatores influem negativamente no processo fermentativo, impedindo o rápido decréscimo do pH a níveis adequados, permitindo, assim, fermentações secundárias indesejáveis (Woolford, 1984), como as clostrídicas, que resultam no catabolismo do ácido láctico a ácido butírico e em extensiva degradação de aminoácidos, formando compostos como a amônia (McDonald et al., 1991). A formação do ácido butírico resulta em grande perda de matéria seca, devido à produção de CO₂, e em perda relativamente alta de energia (McCullough, 1977).

Os parâmetros mais utilizados na avaliação da qualidade da silagem são os teores de ácidos orgânicos (lático, acético e butírico), nitrogênio amoniacal e pH. No entanto, o teor adequado de matéria seca, antes da ensilagem, é um fator importante para que ocorra uma boa fermentação no silo (Ashbell & Weinberg, 2003), evitando fermentações indesejáveis. Além disso, a matéria seca está intimamente ligada à maturidade da planta e, à medida que ocorre seu amadurecimento, menor será o teor de nitrogênio não protéico, proteína bruta e digestibilidade *in vitro* da matéria seca das silagens (Snyman & Joubert, 1996).

O pH indica, geralmente, se a fermentação foi adequada ou não (Fisher & Burns, 1987). Os valores adequados situam-se entre 3,8 e 4,2, sendo que acima desse valor, há a indicação de fermentação butírica (McDonald et al., 1991). O ácido lático é produzido pelas bactérias dentro do silo, as quais têm como principal substrato os carboidratos solúveis (Weinberg & Muck, 1996), cujo aumento é responsável pela redução nos valores de pH, nas concentrações de ácido butírico e de nitrogênio amoniacal (Langston et al., 1962).

Portanto, pode-se inferir que o processo de ensilagem é complexo devido aos vários fatores que se relacionam, como a espécie vegetal utilizada e suas características físico-químicas, tanto quanto a variação da microflora epifítica entre espécies vegetais, das condições climáticas, da condução das operações de ensilagem, da extensão do período de conservação e do manejo do fornecimento da silagem após a abertura do silo. Além disso, envolve mudanças bioquímicas dos substratos, devido à ação de vários grupos de microrganismos. Desta forma, o conhecimento da microflora pode auxiliar na compreensão das interações que possam ocorrer dentro e fora do silo, principalmente quando as silagens são mal conservadas, podendo tornar-se mais um parâmetro para avaliação da qualidade de silagens.

O uso de inoculantes enzimo-bacterianos vem sendo difundido em todo o mundo, como alternativa capaz de favorecer a fermentação. No entanto, em condições tropicais, os estudos que relacionam estes inoculantes com a fermentação e, ou, desempenho de animais ainda são escassos, indicando a necessidade de estudos envolvendo essas características.

Em face disto, conduziu-se o presente trabalho, envolvendo dois experimentos, objetivando-se quantificar e caracterizar as populações microbianas e avaliar a composição química, o pH, a relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de capim-elefante produzidas ou não com inoculantes enzimo-bacterianos, bem como avaliar o consumo e a digestibilidade aparente total de seus nutrientes, em ensaio com ovinos.

Material e Métodos

Experimento 1 – Populações microbianas, composição química e digestibilidade *in vitro* de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

O capim-elefante cv. Cameroon foi obtido a partir de uma capineira já estabelecida numa área próxima ao Laboratório Animal do DZO, no Laboratório Animal do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais. 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 março. A temperatura média das máximas é de 26,1°C e a média das mínimas é de 14,0°C (Ministério da Agricultura, 1961). O clima da região é classificado como "Cwa", segundo classificação proposta por Köepen (1948).

Utilizou-se um arranjo fatorial 6x3, seis períodos de fermentação (1, 3, 7, 14, 28 e 56 dias) e três inoculantes (controle, Sil All C4 e Bacto Silo C Tropical), num delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, para a avaliação dos teores de matéria seca, proteína bruta, relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total e pH. Para a avaliação dos constituintes fibrosos e da DIVMS, consideraram-se apenas quatro períodos de fermentação (1, 14, 28 e 56 dias).

O capim foi cortado quando apresentava cerca de 2,5m de altura, com auxílio de facão, rente ao solo, e, em seguida, picado em ensiladeira estacionária,

previamente regulada para o tamanho de partícula igual a 2,0 cm. Avaliaram-se dois inoculantes comerciais: SIL-ALL C4, da Alltech do Brasil, contendo os seguintes níveis de garantia: *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus salivaris* (10 bilhões UFC/g), enzimas celulase e hemicelulase a 5%, e BACTO SILO C TROPICAL, da Katec Agrotécnica LTDA, com a seguinte composição: complexo bacteriano em alta concentração e complexo enzimático amilolítico. Os inoculantes foram adicionados ao material picado, com o auxílio de um pulverizador, com capacidade para dois litros, respeitando-se as recomendações dos fabricantes.

O material foi ensilado em silos de PVC, com 40 x 10 cm, dotados de válvula de Bünsen, com capacidade para aproximadamente 2 kg de forragem, com base na matéria natural, efetuando-se a compactação com o auxílio de soquetes de madeira. Em seguida, os silos foram fechados, pesados e armazenados em área coberta, em temperatura ambiente, até o momento de abertura, compreendido pelos períodos de fermentação de 1, 3, 7, 14, 28 e 56 dias.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Forragicultura do Departamento de Zootecnia da UFV, no material antes da ensilagem e nas silagens correspondentes aos diferentes períodos de fermentação, tomando-se uma amostra composta das três repetições de campo. A contagem microbiana foi efetuada em duplicata e os dados obtidos foram analisados conforme os procedimentos adotados por González & Rodriguez (2003). Em 50 g de amostra foram adicionados 450 ml de água destilada, procedendo-se em seguida a mistura em liquidificador industrial por cerca de 1 minuto. Da solução obtida, pipetou-se 1 ml ou 0,1 ml, e as diluições variaram de 10^{-1} a 10^{-9} , usando-se garrafas para água de diluição, contendo 99,9 ml de solução tampão fosfato, com pH de 7,2. O plaqueamento foi feito em duplicata para cada diluição e cada meio de cultura utilizado.

As possíveis alterações microbianas e as populações que mais influenciava no processo de fermentação das silagens avaliadas foram determinadas através do uso de técnicas de culturas seletivas, consistindo nas seguintes denominações:

Ágar Nutriente (DIFCO, Detroit), para contagem total de microrganismos, após incubação por 48 horas, à temperatura de 35°C;

Ágar Rogosa SL (DIFCO, Detroit), para contagem de lactobacilos após incubação por 48 horas, em estufa, à temperatura de 37°C, sendo o pH do meio da cultura igual a 5,4;

Ágar BDA, para contagem de leveduras e mofos, após incubação por 5-7 dias, à temperatura ambiente, sendo o pH do meio de cultura igual a 4,2 ;

Ágar Violeta Red Bile (DIFCO, Detroit), para contagem de enterobactérias, após incubação por 24 horas, à temperatura de 35°C;

Foram consideradas passíveis de contagem aquelas placas que apresentaram entre 30-300 ufc por placa de Petri. Os resultados foram obtidos por meio da média das duas placas, na diluição selecionada.

Por ocasião da abertura dos silos, efetuou-se uma nova pesagem destes e foram coletadas amostras de material de cada silo para determinações de pH e das relações nitrogênio amoniacal/N total (Bolsen et al., 1992). Para o pH foram coletadas sub-amostras de 25g de silagem, às quais foram adicionados 100 ml de água destilada, permanecendo-se em repouso por duas horas, fazendo-se, em seguida, a leitura do pH. Em outra sub-amostra de 25g de silagem, adicionou-se 200 ml de uma solução de H₂SO₄ 0,2N, permanecendo em geladeira por 48 horas, fazendo-se em seguida, a filtragem em papel de filtro do tipo “Whatman 54”. Esse filtrado permaneceu em geladeira até as determinações de nitrogênio amoniacal.

Concomitantemente, as amostras originais e suas respectivas silagens foram submetidas à pré-secagem a 65°C, por 72 horas, em estufa de ventilação forçada. Em seguida, foram moídas em moinho estacionário tipo “Thomas-Willey”, utilizando-se peneira de 1 mm, procedendo-se o acondicionamento destas amostras em frascos de vidro com tampas de plástico, para posteriores análises.

Os materiais originais e as silagens foram avaliados quanto à matéria seca (MS) em estufa a 105°C, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) segundo recomendações de Silva & Queiroz (2002).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão, utilizando-se o programa SAEG, versão 8.0 (Universidade Federal de Viçosa, 2000). Para os fatores qualitativos, aplicou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, na comparação das médias. A escolha das equações de regressão baseou-se no coeficiente de determinação e na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste t. Para a avaliação do pH, em função do período de fermentação, procedeu-se o ajuste dos dados ao modelo não-linear: $y = y_0 + [a \times \exp(-bx)]$, proposto por Hristov & McAllister (2002).

Experimento 2 – Consumo e digestibilidade de silagens de capim-elefante produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Este experimento foi conduzido no Laboratório Animal do DZO, da UFV, em Viçosa, MG, no período de 17 de maio a 02 de junho de 2003, utilizando-se vinte ovinos adultos, SRD, castrados, com peso médio de 53 kg, distribuídos em quatro tratamentos, segundo o delineamento em blocos casualizados, com cinco repetições. Os tratamentos consistiram de silagens de capim-elefante tratadas com quatro inoculantes enzimo-bacterianos (controle e três comerciais).

O capim-elefante utilizado neste experimento foi obtido da mesma área do experimento 1. No entanto, foram avaliados três inoculantes comerciais: SIL-ALL C4, da Alltech do Brasil, contendo os seguintes níveis de garantia: *Streptococcus faecium* (*Enterococcus faecium*), *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus salivaris* (10 bilhões UFC/g), enzimas celulase e hemicelulase a 5%; SILOBAC, da Christian Hansen do Brasil, com os seguintes níveis de garantia *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus* ($2,5 \times 10^{10}$ UFC/g), maltodextrina, aluminossilicatos e soro de leite (75%) e BACTO SILO C TROPICAL, da Katec Agrotécnica LTDA, contendo complexo bacteriano em alta concentração e complexo enzimático amilolítico. Procedeu-se a ensilagem do capim em manilhas de concreto, com capacidade para 500 kg de forragem verde. Os inoculantes foram aplicados ao capim, adotando-se os mesmos procedimentos descritos no experimento anterior. A abertura dos silos ocorreu 45 dias após o fechamento dos mesmos.

Os animais foram pesados, vermifugados, identificados por brincos no início do período experimental, sendo mantidos em gaiolas de metabolismo, em área coberta, com dispositivo para fornecimento de alimentos, água e mistura mineral. Ao final do período experimental, procedeu-se uma nova pesagem dos animais. Para a coleta de fezes, utilizaram-se sacolas especiais de napa adaptadas aos animais.

O experimento teve duração de 17 dias, sendo 11 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. Os alimentos (silagem e concentrado) foram fornecidos diariamente às 7 horas, durante todo o período experimental, sendo que, em cada tratamento, adicionou-se 10% de farelo de soja, com base na matéria seca.

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. Nesta ocasião, foram realizadas amostras compostas dos alimentos fornecidos e das sobras, que foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e guardadas em congelador para análises laboratoriais posteriores.

A coleta total de fezes foi realizada diariamente, às 7 e 16 horas, registrando-se, nesta oportunidade, a quantidade diária de fezes excretadas por animal. Após a homogeneização do material, foi retirada uma alíquota diária de 5 a 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 análises posteriores.

Os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e fibra em detergente neutro (FDN) dos alimentos fornecidos, sobras e fezes foram determinados conforme técnicas descritas por Silva e Queiroz (2002). Nas silagens também foram realizadas determinações de pH e nitrogênio amoniacal/Ntotal, conforme descrito no experimento 1.

Os carboidratos totais (CHO) foram obtidos por meio da equação citada por Sniffen et al. (1992): $CHO (\% MS) = 100 - (\%PB + \%EE + \%CINZAS)$. Para cálculo dos nutrientes digestíveis totais (NDT) utilizou-se a equação do NRC (2001): $NDTd = PBd + 2,25*EEd + FDNcpd + CNFd$, em que representam-se a proteína bruta digestível (PBd), extrato etéreo digestível (EEd), fibra em detergente neutro digestível, corrigida para cinzas e proteína (FDNcpd) e carboidratos não fibrosos digestíveis (CNFd). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pela fórmula: $CNF = 100 - (\%PB + \%EE + \%FDN + \%CINZAS)$, proposta pelo NRC (2001).

Os dados de consumo e digestibilidade aparente total obtidos foram submetidos à análise de variância, comparando-se as médias pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SAEG versão 8.0 (Universidade Federal de Viçosa-UFV, 2000).

Resultados e discussão

Experimento 1 – Populações microbianas, composição química e digestibilidade *in vitro* de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Na Tabela 1 encontra-se a composição bromatológica e a digestibilidade *in vitro* da MS do capim-elefante, antes da ensilagem. O teor médio de MS do capim-elefante assemelha-se aos 25% preconizados por McDonald et al. (1991), como condição necessária para que as perdas por efluentes no silo sejam minimizadas, e portanto, ocorra a manutenção dos nutrientes de suas silagens.

Tabela 1 – Composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca em plantas de capim-elefante, antes da ensilagem.

MS (%)	PB	FDN	FDA	DIVMS
25,8	7,4	77,7	54,3	46,5

Observou-se efeito da interação inoculante x período de fermentação para o teor de matéria seca das silagens, cujos valores médios encontram-se na Tabela 2. Observa-se que os teores de matéria seca foram influenciados pelos inoculantes, somente aos 7; 28 e 56 dias de fermentação. Ao avaliar-se os teores de matéria seca, em função do período de fermentação, detectou-se efeito apenas para a silagem controle, que ajustou-se ao modelo: $\hat{y} = 21,6854 + 0,0531965 \cdot P$, ($r^2=63,58$). Para as silagens tratadas com Sil All e Bacto Silo C Tropical, registraram-se, respectivamente, valores médios de matéria seca de 22,4 e 23,5%.

Tabela 2 – Teores médios de matéria seca (%) de silagens de capim-elefante, inoculadas ou não, nos diferentes períodos de fermentação.

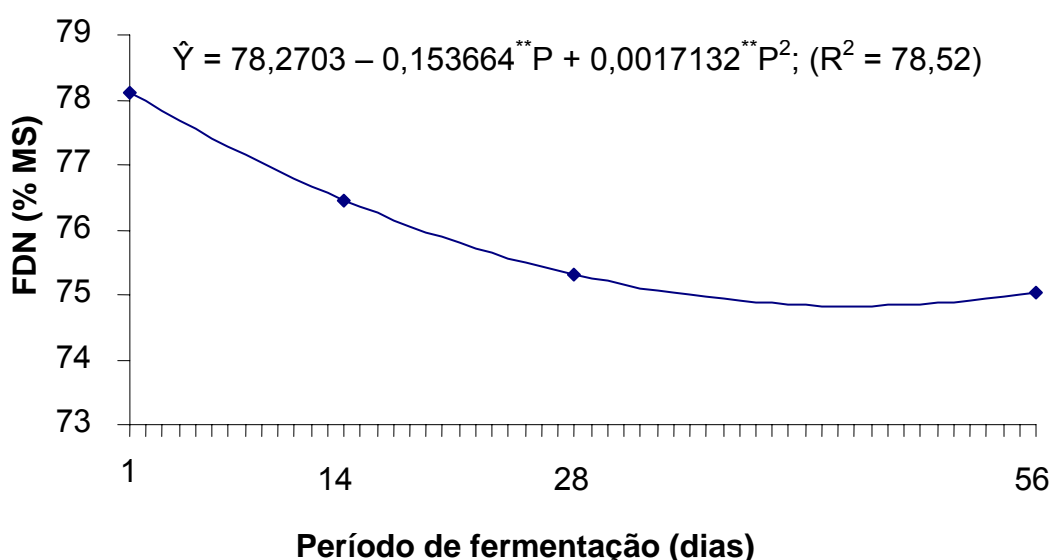
Período (dias)	Inoculantes		
	Controle	Sil All	Bacto Silo
1	21,9 a	22,8 a	22,7 a
3	22,5a	22,3 a	23,3 a
7	21,0 b	22,7 ab	23,4 a
14	21,8 a	22,5 a	22,9 a
28	24,4 a	21,9 b	24,5 a
56	24,3 a	22,2 b	24,4 a

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Para o teor de proteína bruta (PB), observou-se efeito apenas de período de fermentação. No entanto, nenhuma equação de regressão ajustou-se aos dados, registrando-se valor médio de 6,3%. De certa forma, esse resultado já era esperado, uma vez que não existem expectativas de que os teores de proteína sejam alterados ao longo do período de fermentação.

Contudo, os resultados encontrados na literatura não são consistentes. Silva (2001) não verificou variação no teor de PB de silagens de milho e de sorgo não tratadas com inoculantes. Todavia, o autor verificou efeito linear e quadrático nas silagens tratadas com os inoculantes Silobac e Maize-All, respectivamente.

A exemplo da proteína bruta, o teor de fibra em detergente neutro (FDN) foi influenciado apenas pelo período de fermentação, ajustando-se a um modelo quadrático, estimando-se valor mínimo de 74,82% na MS, aos 44,84 dias de fermentação, como pode ser observado na Figura 1.



**Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t

Figura 1 – Estimativa do teor de fibra em detergente neutro (% da MS) da silagem de capim-elefante, em função dos períodos de fermentação (P).

Meeske et al. (1999) também não encontraram diferenças entre os teores de FDN de silagens de *Digitaria eriantha*, tratadas ou não com inoculantes microbianos. No entanto, a redução da fração fibrosa de silagens pode ser um indicativo de hidrólise ácida das mesmas, que segundo McDonald et al. (1991), deve-se aos seguintes fatores: a ação de enzimas da planta; enzimas dos próprios microrganismos e a adição de enzimas através do inoculante microbiano.

O teor de fibra em detergente ácido (FDA), também foi influenciado ($P < 0,05$) apenas pelo período de fermentação, ajustando-se ao modelo: $\hat{y} = 53,797 - 0,0391723 * P$ ($r^2 = 74,82$).

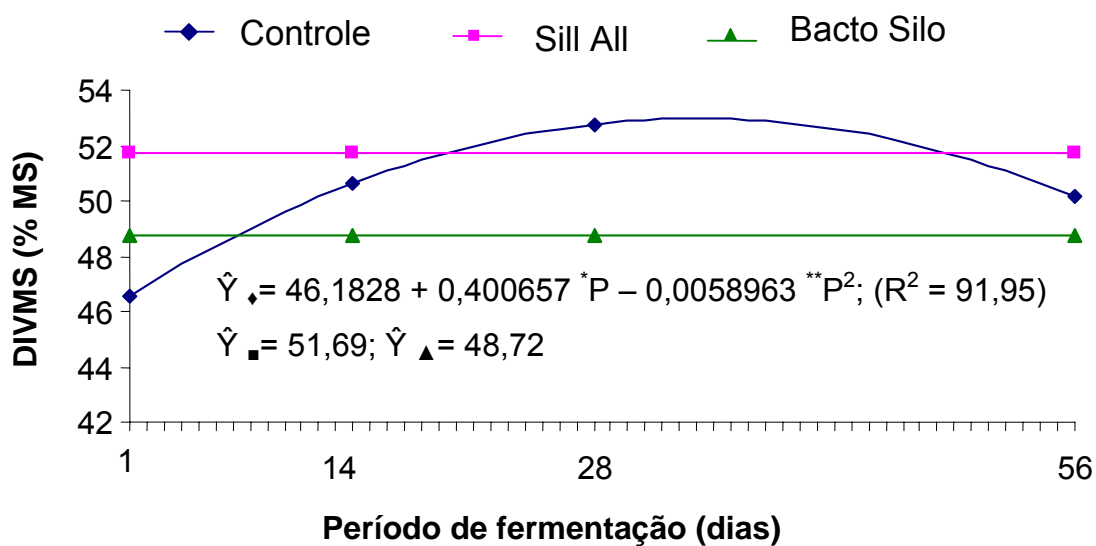
Para a digestibilidade *in vitro* da matéria seca, observou-se efeito da interação inoculante x período ($P < 0,05$). Na Tabela 3, são apresentados os valores médios da DIVMS das silagens de capim-elefante em função do período de fermentação e inoculantes. Observa-se que no último dia de fermentação menor valor ($P < 0,05$) para a silagem produzida com o inoculante Bacto Silo, que por sua vez, não diferiu ($P > 0,05$) da silagem controle.

Tabela 3 – Valores médios de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), de silagens de capim-elefante tratadas com inoculantes, em diferentes períodos de fermentação.

Período (dias)	Inoculantes		
	Controle	Sill All	Bacto Silo
1	46,2 b	51,0 a	50,8 a
14	51,7 ab	52,0 a	47,8 b
28	52,0 a	52,2 a	48,9 a
56	50,8 ab	51,5 a	47,4 b

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Observou-se efeito quadrático ($P < 0,05$) de período de fermentação sobre a DIVMS da silagem não tratada, estimando-se valor máximo de 52,99%, aos 33,99 dias de fermentação (Figura 2). Para as silagens inoculadas, não se detectou efeito de período, registrando-se valores médios de 51,7 e 48,7%, para as silagens tratadas com os inoculantes Sil All e Bacto Silo C Tropical, respectivamente.



**Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t

Figura 2 – Estimativa da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), de silagens de capim-elefante, em função dos diferentes períodos de fermentação (P), para os respectivos inoculantes.

Observou-se efeito de inoculante e de período para o pH. Na Tabela 4 pode-se observar menor valor ($P < 0,05$) de pH para a silagem tratada com o inoculante Sil All, que por sua vez não diferiu da silagem controle. No entanto, as três silagens apresentaram valores de pH que permitem classificá-las de muito boa qualidade. Segundo Muck & Kung Jr. (1997), os inoculantes obtiveram êxito em silagens de gramíneas e leguminosas, apresentando redução de pH em 59 a 64% dos experimentos avaliados. Na Figura 3, encontram-se as estimativas de pH em função do período de fermentação para as diferentes silagens. Observaram-se taxas de decréscimos de 0,5796; 0,62327 e 0,80218 unidades por dia de fermentação para o pH das silagens controle e daquelas produzidas com os inoculantes Sil All e Bacto Silo, respectivamente. Observa-se ainda, que o pH das três silagens estabilizou-se a partir do 14º dia (Figura 3). Contudo, a partir do terceiro dia, as silagens apresentaram valores médios em torno de 4,2, indicando, assim, boa fermentação. Bernardes (2003), em ensaio com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, observou estabilização do pH a partir do quarto dia de ensilagem, em todos os tratamentos, que se estendeu até o último dia de avaliação (56 dias).

Hristov & McAllister (2002) registraram taxas de declínio no pH de silagens de cevada não emurcheada, variando de 0,488 (inoculante A) a 0,525 unidades por hora (inoculante B). Meeske et al. (1999), também verificaram rápida queda no pH e um pH mais baixo em silagem de *Digitaria eriantha* inoculada com Sil-All. Uma rápida queda no pH e um baixo pH final podem ajudar na diminuição da população de microrganismos deletérios à silagem, os quais produzem grande quantidade de ácido acético e butírico.

Tabela 4 – Valores médios de pH das silagens de capim-elefante com e sem inoculantes microbianos.

	Inoculante		
	Controle	Sill-All	Bacto Silo
pH	3,96 ab	3,94 b	4,02 a

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

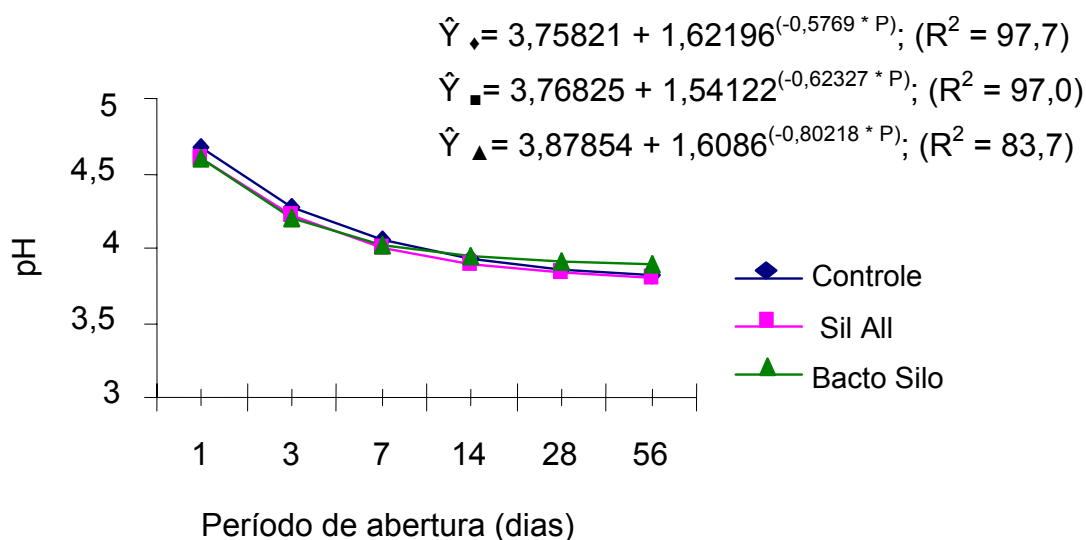


Figura 3 – Estimativa do pH, em função dos períodos de abertura (P), para as silagens de capim-elefante produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Para a relação nitrogênio amoniacal/Ntotal observou-se efeito ($P < 0,05$) da interação inoculante x período, cujos valores médios encontram-se na Tabela 5.

Constata-se, que, somente aos 14 dias de fermentação ocorreram diferenças ($P < 0,05$) entre as silagens, registrando-se maior valor para a silagem controle. Observou-se efeito quadrático ($P > 0,05$) de períodos de fermentação sobre a relação nitrogênio amoniacal/Ntotal da silagem controle e daquela tratada com Sil All, ajustando-se respectivamente, as seguintes equações: $\hat{y} = 3,27317 + 0,3104 * P - 0,00438394 * P^2$ ($R^2 = 79,00$) e $\hat{y} = 3,10257 + 0,204312 * P - 0,00209833 * P^2$ ($R^2 = 98,08$). Todavia, para a silagem tratada com Bacto Silo nenhuma equação ajustou-se aos dados, registrando-se valor médio de N-NH₃/Ntotal de 4,98%.

Tabela 5 – Teores médios de nitrogênio amoniacal/Ntotal (N-NH₃/Ntotal) de silagens de capim-elefante, inoculadas ou não, nos diferentes períodos de fermentação.

Período (dias)	Inoculantes		
	Controle	Sil All	Bacto Silo
1	4,15 a	3,40 a	4,29 a
3	3,19 a	3,98 a	3,93 a
7	4,77 a	4,02 a	4,25 a
14	8,33 b	5,38 a	4,42 a
28	7,71 a	7,42 a	6,42 a
56	7,02 a	7,92 a	6,58 a

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

As populações de microrganismos observadas para a planta e as silagens de capim-elefante, produzidas com inoculantes, encontram-se na Tabela 6. Observa-se que a população de enterobactérias atingiu população máxima, no primeiro dia de fermentação para a silagem controle e aquela tratada com Bacto Silo, não sendo mais detectada do sétimo ao 28º dia de fermentação. Todavia, aos 56 dias de fermentação, a população destes microrganismos foi detectada novamente, em todas as silagens. Bernardes (2003), avaliando silagens de *Brachiaria brizantha* na presença de polpa cítrica peletizada, também constatou maior população de enterobactérias no primeiro dia de fermentação, para todos os tratamentos. No entanto, este autor não

detectou a presença desses microrganismos a partir do quarto dia de fermentação.

Segundo Luis & Ramirez (1988), normalmente as enterobactérias multiplicam-se até aproximadamente o sétimo dia de fermentação, quando são substituídas pelos grupos lácticos. No entanto, esses microrganismos apresentam um grande poder de sobrevivência e podem ser encontradas até os 30 dias de conservação, devido à sua habilidade de crescimento sob condições de anaerobiose e por protegerem-se, quando condições adversas são encontradas, tal qual acontece sob valor de pH muito baixo. Bolsen et al. (1992) observaram população de enterobactérias de 10^4 e 10^2 ufc/g de silagem de milho, após 42 e 120 dias de fermentação, respectivamente. No entanto, pesquisas com silagens de diferentes plantas forrageiras, vêm demonstrando que esses grupos microbianos sofrem grandes reduções até o décimo dia de ensilagem (Meeske et al., 1999), podendo ou não desaparecer por completo até o final do período de conservação.

Tabela 6 – População total de microrganismos, enterobactérias, bactérias ácido lácticas (BAL) e fungos, antes e após a ensilagem de planta de capim-elefante, expressa como log de unidades formadoras de colônia por grama de forragem fresca ou de silagem (log ufc/g).

Inoculante	Período de fermentação (dias)						
	Antes ¹	1	3	7	14	28	56
Enterobactérias							
Controle	4,69	6,11	3,69	ND	ND	ND	2,44
Sil All		2,07	ND	ND	ND	ND	1,53
Bacto Silo		5,2	1,08	ND	ND	ND	2,86
BAL							
Controle	4,92	6,04	5,91	6,88	8,34	7,38	7,17
Sil All		6,53	6,36	8,63	8,67	7,46	7,25
Bacto Silo		6,78	7,66	8,50	8,67	7,88	7,34
Mofos e leveduras							
Controle	3,74	3,91	2,82	2,77	3,14	2,76	3,25
Sil All		2,63	2,38	1,41	2,72	2,43	2,83
Bacto Silo		3,49	1,47	ND	2,94	2,43	3,70
Contagem total							
Controle	7,32	6,93	5,41	4,37	3,32	4,38	3,36
Sil All		6,46	5,72	5,61	5,49	7,39	4,64
Bacto Silo		7,41	5,53	5,04	4,55	6,82	4,54

¹ Planta antes da ensilagem
 ND = não detectável

A população de bactérias produtoras de ácido láctico, na planta de capim-elefante (10^4 ufc/g forragem fresca) situa-se abaixo daquela preconizada por Muck (1991), que é de 10^5 ufc/g de forragem fresca, como mínimo necessário para que perdas significativas deixem de ocorrer ao longo da fermentação, em decorrência da fermentação láctica das silagens. Meeske et al. (1999) encontraram população da ordem de 10^1 ufc/g forragem fresca na planta de *Digitaria eriantha*, no tratamento controle e Cai et al. (1998), analisando a microflora epifítica de capim-guiné (*Panicum maximum* Jacq) encontraram

população de lactobacilos da ordem de $\leq 10^3$ ufc/g forragem fresca. Pode-se observar que a população de BAL mostrou-se dominante em relação aos outros microrganismos, em todas as silagens, atingindo valor da ordem de 10^8 ufc/g, no 14^o dia de fermentação (Tabela 6). Esse período de máximo crescimento de BAL corresponde àquele período em que o pH das três silagens estabilizou-se. Silva (2001) também registrou crescimento máximo de BAL aos 14 dias após ensilagem, em silagens de milho e sorgo.

A população inicial de leveduras e mofos encontra-se bem abaixo (10^3 ufc/g forragem fresca) daquela encontrada para a população de leveduras por Meeske et al. (1999) na planta de *Digitaria eriantha* (10^6 ufc/g forragem fresca) e por Silva (2001) em plantas de milho e de sorgo (10^7 ufc/ g de forragem fresca). No entanto, Cai et al. (1998) encontraram população de leveduras e mofos da ordem de 10^3 ufc/g forragem fresca para o capim-guiné. Todavia, ao analisar em uma silagem após 44 dias de fermentação, Meeske et al. (1999) encontraram populações da ordem de 10^3 e de 10^2 ufc/ g silagem, para as populações de levedura e mofo, respectivamente, valores semelhantes aos encontrados no presente estudo.

Os resultados dos testes fisiológicos de microrganismos isolados da planta de capim-elefante são apresentados na Tabela 7. Como pode ser observado, as características de forma, arranjo, teste de gram, de catalase e de hidrólise da arginina, os caracterizam como espécies pertencentes ao gênero *Lactobacillus*.

Tabela 7 – Caracterização de estirpes isoladas na planta de capim-elefante de acordo com parâmetros fisiológicos.

Estirpes isoladas							
	1	2	3	4	5	6	7
Testes							
Forma	bastão	bastão	bastão	bastão	bastão	bastão	bastão
Arranjo	2/fileira	2/fileira	2/fileira	2/fileira	2/fileira	2/fileira	2/fileira
Gram	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	-	-	-	-	-	-	-
Arginina	-	-	-	-	-	-	-
Crescimento em diferentes pH							
9,2	-	-	-	-	-	-	-
9,6	-	-	-	-	-	-	-
Crescimento em diferentes concentrações de sal (NaCl)							
NaCl 3%	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 4%	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 5%	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 6,5%	-	-	-	-	-	-	-
Crescimento em diferentes temperaturas (T °C)							
15 °C	+	+	+	+	+	+	+
21 °C	+	+	+	+	+	+	+
30 °C	+	+	+	+	+	+	
37 °C	+	+	+	+	+	+	+
45 °C	-	-	-	-	-	-	-
Crescimento em aerobiose/anaerobiose							
Aerobiose	+	+	+	+	+	+	+
Anaerobiose	+	+	+	+	+	+	+

Com relação ao padrão fermentativo das estirpes isoladas, todas fermentaram os mesmos carboidratos. Na Tabela 8 encontra-se o padrão fermentativo das estirpes isoladas e o padrão de espécies do gênero *Lactobacillus*, encontradas no Manual de Bergey (Sneath et al., 1986).

Tabela 8 – Padrão fermentativo das estirpes isoladas do capim-elefante e padrão fermentativo de espécies do gênero *Lactobacillus*.

	Teste ¹	<i>L. agilis</i>	<i>L. alimentarius</i>	<i>L. bavaricus</i>	<i>L. casei</i> ssp <i>casei</i>	<i>L. casei</i> ssp <i>pseudoplantarum</i>	<i>L. casei</i> ssp <i>rhamnosus</i>	<i>L. casei</i> ssp <i>tolerans</i>	<i>L. coryniformis</i> ssp <i>coryniformis</i>	<i>L. coryniformis</i> ssp <i>torquens</i>	<i>L. curvatus</i>	<i>L. homohiochii</i>	<i>L. maltaromicus</i>	<i>L. murinus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. sake</i>
Amidalina	+	+	n	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	D	+	+
Arabinose	-	-	D	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-	+	D	+
Celobiose	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	D	+	+	+	+
Esculina	+	+	+	+	+	+	+	-	D	-	+	N	N	+	+	+
Frutose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gluconato	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	N	-	+	+
Lactose	+	+	-	+	D	+	+	+	D	+	D	-	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	D	+	-
Manose	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	-	+	-	-	+	+	+	-	-	D	-	-	+	-	D	-
Melibiose	+	+	-	+	-	-	-	-	D	-	-	-	+	+	+	+
Rafinose	-	+	-	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	+	+	-
Ramnose	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Salicina	+	+	+	+	+	+	+	-	D	-	+	D	+	D	+	+
Sorbitol	+	D	-	-	+	+	+	-	D	-	-	-	+	-	+	-
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
Trealose	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	D	+	D	+	+
Xilose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-

¹ Estirpe isolada da planta de capim-elefante

+, 90% ou mais das estirpes são positivas; -, 90% ou mais das estirpes são negativas

D – 11-89% das estirpes são positivas

N – reação não determinada

Ao analisar as características fisiológicas e o padrão fermentativo da estirpe isolada, pode-se indicar que esta se assemelha às características apresentadas pelas espécies *Lactobacillus casei* ssp *casei* e *Lactobacillus casei* ssp *pseudoplantarum*. No entanto, para que a espécie seja identificada, faz-se necessária a análise genotípica da estirpe isolada.

Experimento 2 – Consumo e digestibilidade de silagens de capim-elefante produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Na Tabela 9, encontra-se a composição química das silagens e do farelo de soja usados no experimento, bem como os valores de pH e a relação nitrogênio amoniacal/Ntotal das silagens.

Tabela 9 – Composição química das silagens de capim-elefante e do farelo de soja.

Itens	Silagens/Inoculantes				Farelo de Soja
	Controle	Sil All	Silobac	Bacto Silo	
MS (%)	25,1	24,7	22,7	22,5	88,3
MO ¹	90,5	90,0	89,8	89,8	94,2
PB ¹	6,88	7,05	8,63	7,04	48,4
EE ¹	1,06	1,51	1,20	0,62	2,47
CHO ¹	83,5	83,1	81,4	83,0	43,3
FDN ¹	71,8	74,3	79,2	74,7	11,2
FDA ¹	42,7	46,6	48,6	45,1	8,9
Lignina ¹	8,3	9,6	9,4	8,9	0,73
Celulose ¹	32,6	35,5	37,0	46,8	5,6
Hemicelulose ¹	31,4	25,6	30,7	27,5	4,6
NIDN ²	0,29	0,26	0,28	0,26	0,48
pH	4,08	4,43	4,24	4,75	
N-NH ₃ /NT	7,66	5,76	6,18	16,41	

¹ Expressos em percentagem da MS

² Expresso em percentagem da FDN

Na Tabela 10, estão apresentados os consumos médios dos nutrientes e respectivos coeficientes de variação. Observa-se de modo geral, que estes não foram influenciados pelas diferentes silagens, excetuando-se os consumos de EE e CNF que diferiram ($P < 0,05$) entre as silagens. O consumo de matéria seca, cujo valor médio foi de 1125 g/animal/dia, não diferiu ($P > 0,05$) entre as silagens. Esse valor é superior às 728,2 g/animal/dia registradas por Manno et al. (2002), utilizando silagens de capim-elefante produzidas com inoculantes bacterianos. O maior valor encontrado para esta variável, no presente trabalho, deve-se, provavelmente, à inclusão de 10% de farelo de soja na proporção de 10% da MS, na dieta, favorecendo um aumento no teor de MS e de alguns nutrientes, como, por exemplo, proteína bruta.

Vilela et al. (1982), Henrique & Bose (1992), Guim et al. (1995) e Rodrigues et al. (2001), em estudos com silagens de capim-elefante, também não detectaram efeito da inoculação sobre o consumo de matéria seca. Contudo, Meeske et al. (1999), verificaram maior consumo de matéria orgânica em silagens de *Digitaria eriantha* tratada com inoculante bacteriano. Kung Jr. & Muck (1997), em artigo de revisão sobre resposta animal a inoculantes microbianos, envolvendo 15 estudos, registraram respostas positivas dos inoculantes sobre o ganho de peso, em 53% dos trabalhos avaliados, e 28% dos estudos, de um total de 67, para o consumo.

Tabela 10 – Consumos médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHO), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), para as silagens de capim-elefante, produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Itens	Inoculantes				CV (%)
	Controle	Sill All	Silobac	Bacto Silo	
	Consumos (g/dia)				
MS	1078,8	1180,7	1041,1	1209,9	19,5
MO	978,5	1066,6	952,6	1087,6	19,6
PB	139,2	145,9	149,3	154,4	17,2
EE	13,6 bc	21,2 a	16,1 b	10,1 c	17,7
FDN	656,2	711,1	650,2	767,4	19,9
CHO	821,0	895,4	821,8	916,5	19,1
CNF	170,3 a	158,1 a	67,6 b	161,1 a	22,3
NDT	576,3	657,2	460,9	553,6	4,41
	Consumo (% PV)				
MS	2,02	2,39	1,91	2,24	21,9
MO	1,83	2,16	1,75	2,01	22,0
FDN	1,22	1,63	1,30	1,40	19,2

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Na Tabela 11 estão apresentados as digestibilidades aparentes médias dos nutrientes das silagens e os respectivos coeficientes de variação. Observa-se que apenas a digestibilidade aparente da matéria seca foi influenciada ($P < 0,05$) pelos inoculantes, registrando-se menor valor para aquela silagem produzida com Silobac, que por sua vez, não diferiu ($P > 0,05$) das demais silagens inoculadas (Tabela 11). Muck e Kung Jr. (1997) relataram que a inoculação melhorou a digestibilidade da matéria seca das silagens em cerca de 30% de um total de 82 estudos avaliados. O porquê deste efeito não é completamente claro devido às bactérias ácido láctico não degradarem componentes da parede celular, ou qualquer outro componente que limite a digestibilidade (Muck, 1993)

Tabela 11–Digestibilidades aparentes médias (%) de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e fibra em detergente neutro (FDN) das silagens de capim-elefante, produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Itens	Inoculante				CV (%)
	Controle	Sill All	Sillobac	Bacto Silo	
MS	55,6 a	50,8 ab	44,9 b	48,4ab	10,8
MO	57,9	53,5	48,0	50,3	10,2
PB	75,4	69,0	67,2	70,3	7,00
EE	51,0	67,1	55,6	48,5	20,1
FDN	50,3	53,0	41,7	45,1	12,8

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Conclusões

As silagens produzidas podem ser consideradas de boa qualidade, considerando-se os baixos valores de pH e nitrogênio amoniacal/Ntotal.

As populações microbianas quantificadas nas silagens de capim-elefante podem ser consideradas adequadas para a manutenção de uma boa fermentação no silo.

O consumo e a digestibilidade aparente total da maioria dos nutrientes não foram influenciados pelos inoculantes, indicando equivalência nutricional entre as silagens.

Referências bibliográficas

- ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.F. 2003. Silage from tropical cereals and forage crops. <http://www.fao.org/ag/agp/agpc/gp/silage/html/paper7.htm>
- BERNARDES, T. F. Características fermentativas, microbiológicas e químicas do capim-marandu (*Brachiaria brizantha* (Hochvt ex. A. Rich) Staff cv. Marandu) ensilado com polpa cítrica peletizada. Jaboticabal, SP. UNESP, 2003. (Tese). Mestrado em Zootecnia –Universidade Estadual Paulista, 2003.

- BOLSEN, K.K.; LIN, C., BRENT, B.E. et al. 1992. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 3066-3083.
- CAI, Y.; BENNO, Y.; OGAWA, M. et al. Influence of *Lactobacillus* spp. From an inoculant and of *Weissella* and *Leuconostoc* spp from forage crops on silage fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 2982-2987, 1998.
- DIFCO MANUAL. Michigan:DIFCO Laboratories. 10 ed.,1984, 1166p.
- FISHER, D.S.; BURNS, J.C. 1987. Quality analysis of summer-annual forages. II – Effects of forage carbohydrate constituents on silage fermentation. **Agronomy Journal**, v. 79, p. 242-248. 1987.
- GONZÁLEZ, G.; RODRÍGUEZ, A.A. 2003. Effect of storage method on fermentation characteristics, aerobic stability and forage intake of tropical grasses ensiled in round bales. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 3, p. 926-933.
- GUIM, A.; FREITAS, A. R.; SOUZA, G. B. Efeito de inoculante microbiano sobre o consumo, degradação *in situ* e digestibilidade aparente das silagens de capim-elefante cv. Napier (*Pennisetum purpureum*, Schum). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 24, n. 6, p. 1054-61, 1995.
- HENRIQUE, W.; BOSE, M. L. V. Efeito de aditivos enzimo-bacterianos sobre a qualidade da silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 2, n. 3, p. 429-38, 1992.
- HRISTOV, A.N.; McALLISTER, T.A. 2002. Effect of inoculants on whole-crop barley silage fermentation and dry matter disappearance *in situ*. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 510-516.
- LUIS, L.; RAMIREZ, M. 1988. Evolución de la flora microbiana en ensilaje de king grass. **Pastos y Forrajes**, v. 11, p. 249-253. 1988.
- KÖEPEN, W. **Climatologia**. Trad. Pedro R. H. Poree. Buenos Aires, ed. Gráfica Panamericana, 1948. 478p.
- 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. p. 200-210. 1997.
- LANGSTON, C.W.; WISEMAN, H.G.; GORDON, C.H. et al. 1962. Chemical and bacteriological changes in grass silage during early stages of fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 45, n. 3, p. 396-402.
- LAVEZZO, W. Ensilagem do capim-elefante. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 10., 1992, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz”, 1992. p.169-175.

- 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: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 39, Recife, 2002. Anais...** Recife, SBZ, 2002a (CD-ROM).
- McCULLOUGH, M.E. 1977. Silage and silage fermentation. *Feedstuffs*. p.49-52.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2 ed., Marlow:Chalcombe Pub. 340p. 1991.
- MEESEKE, 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**, 81 (3/4):237-248. 1999.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (MA). Escritório de meteorologia. **Normas climáticas**. Viçosa, 1961.
- MUCK, R. E. Silage fermentation. In: **Mixed Cultures in Biotechnology**. New York:McGrow Hill Inc., cap.7, p.171-204. 1991.
- MUCK, R. E. The role of silage additives in making high quality silage. In: **Silage Production from Seed to Animal. 1993. New York. Proceedings...**, New York:NRAES, n.67, p.106-116. 1993.
- 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.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C.: 2001. 381p.
- RODRIGUES, P. H. M.; ANDRADE, S. J. T.; FERNANDES, T. et al. Valor nutritivo de silagens inoculadas com bactérias ácido-láticas. 4. Inoculação da silagem de capim-elefante. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38, Piracicaba, 2001. Anais...** Piracicaba, SBZ, p. 911-913. 2001.
- SILVA, A.V. Populações Microbianas em Plantas de Milho e Sorgo, Produtos da Fermentação e Desempenho de Bovinos de Corte, Suplementados com Suas Silagens, Tratadas com Inoculantes Microbianos. Viçosa, MG:UFV, 2001. 122 p. (Tese). Mestrado em Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa, 2001
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos** 3ª ed. Viçosa, UFV. Impr. Universitária, 235p, 2002.

- SNEATH, P.A.; MAIR, N.S.; SHARPE, M.E. et al. 1986. **Bergey's Manual of systematic bacteriology**. 9 ed. v. 2, Baltimore: Williams & Wilkins, p. 1 - 35, 1986.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562 – 3577, 1992.
- SNYMAN, L.D.; JOUBERT, H.W. 1996. Effect of maturity stage and method of preservation in the yield and quality of forage sorghum. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57 (1/2):63-73.
- TOSI, H.; RODRIGUES, L.R.A.; JOBIM, C.C. et al. Ensilagem do capim-elefante cv. Mott sob diferentes tratamentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.24, n.6, p.909-916, 1995.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa: 2002. n. p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, MG: 2000. 150p. (Manual do usuário).
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- VILELA, D. 1990. Utilização do capim-elefante na forma de forragem conservada. In: **Simpósio sobre Capim-Elefante**. Coronel Pacheco 1990. *Anais...*Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL, 1990. p.89-131.
- VILELA, D.; CRUZ, G. M.; CARVALHO, J. L. H. Efeito de alguns aditivos sobre a qualidade e valor nutritivo da silagem de capim-elefante. Coronel Pacheco: **EMBRAPA/CNPGL-Circular Técnica, 15, 15p**. 1982.
- WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 53-68. 1996.
- WOOLFORD, M.K. **The Silage Fermentation**. Marcel Dekker, Inc, New York, NY. 350p. 1984.

CAPÍTULO 2

Valor Nutritivo de Silagens de Milho (*Zea mays* (L.)) Produzidas com Inoculantes Ênzimo-Bacterianos

Resumo – O presente trabalho foi desenvolvido a partir de dois experimentos. No primeiro, avaliaram-se o pH, a relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total ($N-NH_3/N_{total}$), a composição química e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de silagens de milho produzidas ou não com inoculantes ênzimo-bacterianos, em seis períodos de fermentação (01, 03, 07, 14, 28 e 56 dias), usando-se silos laboratoriais. Foi usado um arranjo fatorial 6 x 3 (seis períodos de fermentação x três inoculantes), em um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Avaliaram-se os seguintes inoculantes microbianos: controle (sem inoculante), Maize All (Alltech do Brasil) e Biomax (Christian Hansen)., Detectou-se efeito da interação inoculante x período para o teor de matéria seca (MS), registrando-se maiores valores para as silagens inoculadas, independente do período de fermentação. Para o teor de proteína bruta (PB) observou-se efeito de inoculante, registrando-se menor valor (6,23%) para a silagem não tratada. Para os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) observou-se efeito apenas de período, estimando-se decréscimos de 0,302353 e 0,063321 unidades/dia de fermentação, respectivamente. A DIVMS, também foi influenciada apenas pelo período, estimando-se incrementos de 0,0546305 unidades/dia de fermentação. No segundo experimento, avaliaram-se o consumo e a digestibilidade aparente

total dos nutrientes das silagens do experimento 1, em ensaio com ovinos. Utilizaram-se dezoito ovinos adultos, castrados, distribuídos em três tratamentos, segundo um delineamento em blocos casualizados, com seis repetições. Adotou-se uma relação volumoso:concentrado de 90:10, com base na matéria seca. O consumo dos nutrientes não foi influenciado pelas dietas experimentais, registrando-se valores médios de 1,26; 0,14 e 0,84 kg/dia, para os consumos de MS, PB e nutrientes digestíveis totais, respectivamente. Para a digestibilidade aparente total dos nutrientes, detectou-se efeito de inoculante somente para a PB, observando-se maior valor para a silagem tratada com o inoculante Biomax (66,0%). Com base nos valores de pH e na relação nitrogênio amoniacal/Ntotal, as silagens produzidas podem ser consideradas de boa qualidade. Contudo, a adição de inoculantes à planta de milho não promoveu alterações na composição químico-bromatológica, bem como no consumo de nutrientes das silagens.

Nutritional Value of Corn Silages (*Zea mays* (L.)) Produced with Enzimatic-Bacterial Inoculants

Abstract - The present work was based on two experiments. In the first one, pH value, ammonia nitrogen in relation to total nitrogen (N-NH₃/Total N), chemical composition and in vitro dry matter digestibility of corn silages produced with enzymatic-bacterial inoculants, were evaluated in six fermentation periods (1, 3, 7, 14, 28 and 56 days), using laboratory silos. A 6 x 3 factorial arrangement of treatments (six fermentation periods x three inoculants) was used in a randomized block design, with three repetitions. The following microbial inoculants were evaluated: control (without inoculant), Maize All (Alltech of Brazil) and Biomax (Christian Hansen). The interaction effect of inoculant and fermentation period was detected on the silages dry matter (DM), registering larger values to the inoculated silages, regardless the fermentation period. An inoculant effect was observed on crude protein (CP), registering smaller value (6.23%) on the control silage. It was observed effect of period on a neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF), being considered decreasing values of 0.302353 and 0.063321 units/fermentation day, respectively. The in vitro dry matter digestibility was also influenced by fermentation period, being considered increments of 0.0546305 units/fermentation day. In the second experiment, intake and total apparent digestibility of nutrients from silages of the experiment 1 were evaluated in a trial with rams. Eighteen adult castrated rams were distributed in three

treatments in a randomized blocks design, with six repetitions. The diets contained a 90:10 forage to concentrate ratio in dry matter basis. The intake of nutrients was not influenced by the experimental diets, registering mean values of 1.26; 0.14 and 0.84 kg/day, for dry matter (DM), crude protein (CP) and total digestible nutrients (TDN), respectively. It was detected inoculant effect only on CP apparent digestibility, being observed greater value to the silage treated with the Biomax inoculant (66.0%). The produced silages can be considered of good quality, considering the values of pH and ammonia nitrogen/Total N values. However, inoculants addition to the corn plant didn't promote alterations in the chemical composition, as well as in the intake of nutrients of silages.

Introdução

O fator mais importante influenciando a eficiência de conservação da forragem ensilada é o grau de anaerobiose atingido dentro do silo. Durante as operações de enchimento do silo, as atividades respiratórias da planta e de microrganismos aeróbicos podem resultar em considerável produção de calor e perda da digestibilidade, particularmente da fração protéica (Wieringa et al., 1961).

Os principais microrganismos relacionados com a deterioração da silagem são os fungos, com destaque para as leveduras, e as bactérias do gênero *Bacillus* (Woolford, 1990). As leveduras são favorecidas pelo emurchecimento no campo, principalmente aquelas que utilizam ácidos como fonte de energia, e podem ficar dormentes dentro do silo até que este seja aberto e o ar entre novamente na massa ensilada. Entretanto, uma rápida fermentação, principalmente se esta ocorrer por intermédio de inoculação com bactérias ácido lácticas, pode atenuar consideravelmente essa situação de dormência e de crescimento de algumas leveduras, pois o ácido produzido age como inibidor de leveduras que utilizam lactato (Jonsson e Pahlow, 1981; Pahlow e Honig, 1986, citados por Woolford, 1990). Essa inibição pode ser devido ao efeito sinérgico entre uma produção de ácido láctico suficiente para diminuir o pH até 4,0, e pelo uso do oxigênio pelas bactérias ácido lácticas homofermentativas, produzindo também ácido láctico (Moon, 1983, citado por Woolford, 1990).

Portanto, o uso de aditivos microbianos representa uma importante ferramenta, pois contribuem para a redução da proteólise enzimática, advinda do rápido decréscimo do pH dentro do silo, favorecendo a produção de grandes quantidades de ácido láctico, o que representa uma possibilidade de ocorrer maior recuperação da matéria seca ensilada (Henderson, 1993).

Dietas contendo silagens produzidas com inoculantes microbianos têm promovido pequenos aumentos no consumo de matéria seca e na digestibilidade de nutrientes, resultando em melhor utilização da energia da dieta (Kung Jr., 1996), podendo inclusive melhorar o desempenho animal (Muck, 1993).

Vários relatos tentam elucidar como as silagens produzidas com inoculantes microbianos podem direta ou indiretamente resultar em maior palatabilidade, consumo e digestibilidade. Os resultados positivos devem-se provavelmente a efeitos probióticos contidos nestes produtos, ou de outros efeitos não mensuráveis (Kung Jr. & Muck, 1997). O efeito probiótico inibe microrganismos prejudiciais à fermentação dentro do silo, assim como promove benefícios à flora ruminal e intestinal de ruminantes, favorecendo o maior aproveitamento dos nutrientes da dieta (Weinberg & Muck, 1996). Entretanto, Dewhurst et al. (2000) destacaram que não existe efeito consistente relacionando o uso de aditivos em silagens com vantagens adicionais à produção microbiana ruminal.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a composição química, o pH, a relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho produzidas ou não com inoculantes enzimo-bacterianos, bem como avaliar o consumo e a digestibilidade aparente total de seus nutrientes em ensaio com ovinos.

Material e Métodos

Experimento 1 – Composição química e digestibilidade *in vitro* de silagens de milho produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

O experimento foi conduzido no Laboratório Animal do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais, no período de 12 de março a 07 de maio de 2002. A cidade de Viçosa está situada a 20^o e 45' de latitude sul, 42^o 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 março. A temperatura média das máximas é de 26,1^oC e a média das mínimas é de 14,0^oC (Ministério da Agricultura, 1961). O clima da região é classificado com "Cwa", segundo a classificação proposta por Köepen (1948).

Utilizou-se um arranjo fatorial 6x3, sendo seis períodos de fermentação x três inoculantes, num delineamento inteiramente casualizado, com três

repetições, para a avaliação dos teores de matéria seca, proteína bruta, relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total e pH. Para a avaliação dos constituintes fibrosos e da DIVMS, consideraram-se apenas quatro períodos (1,14,28 e 56 dias).

O plantio do milho (AGROMEN 2012) foi efetuado em 13 de outubro de 2001, em área do Departamento de Zootecnia. Utilizou-se o sistema de plantio direto, aplicando-se 4,5 L/ha do herbicida “Round up” e 0,5 L/ha do dessecante DMA. No plantio, aplicaram-se 350 kg/ha da mistura 8-28-16. Para a adubação de cobertura utilizou-se 200 kg/ha do adubo 20-0-20. Uma segunda aplicação de herbicida para o controle de plantas daninhas foi realizada, utilizando-se 3,5 L/ha de Primóleo e 0,5 L/ha de Sanson. O milho foi colhido aos 157 dias após a semeadura, com o auxílio de uma máquina colhedora de forragem JF, modelo JF90.

Avaliaram-se dois inoculantes comerciais: MAIZE ALL, da Alltech do Brasil, contendo os seguintes níveis de garantia: *Streptococcus (Enterococcus) faecium* (10 bilhões ufc/g), *Lactobacillus plantarum* (10 bilhões ufc/g) e *Pediococcus acidilactici* (1 bilhão ufc/g), enzimas amilolíticas (2%), enzimas celulolíticas (1,5%) e dextrose e o BIOMAX, da Christian Hansen Biosystems, com os seguintes níveis de garantia: *Lactobacillus plantarum* ($2,5 \times 10^{10}$ ufc/g), *Pediococcus pentosaceus* ($2,5 \times 10^{10}$ ufc/g), maltodextrina, aluminossilicatos e soro de leite, a 75%. Os inoculantes foram adicionados ao material picado, com o auxílio de um pulverizador, com capacidade para dois litros, respeitando-se as recomendações dos fabricantes.

O material foi ensilado em silos de PVC, com 40 x 10 cm, dotados de válvula de Bünsen, com capacidade para aproximadamente 2 kg de forragem, com base na matéria natural, efetuando-se a compactação com o auxílio de soquetes de madeira. Em seguida, os silos foram fechados, pesados e armazenados em área coberta, em temperatura ambiente, até o momento de abertura, compreendido pelos períodos de fermentação 1, 3, 7, 14, 28 e 56 dias.

Por ocasião da abertura dos silos, foram coletadas amostras, em cada silo, para determinações de pH e nitrogênio amoniacal/N total (Bolsen et al., 1992). Para o pH foram coletadas sub-amostras de 25g de silagem, às quais foram adicionados 100 ml de água destilada, deixadas em repouso por duas

horas, fazendo-se, em seguida, a leitura do pH. Em outra sub-amostra de 25g de silagem, adicionou-se 200 ml de uma solução de H₂SO₄ 0,2N, permanecendo em geladeira por 48 horas, fazendo-se em seguida, a filtragem em papel de filtro do tipo “Whatman 54”. Esse filtrado permaneceu em geladeira até as determinações de nitrogênio amoniacal.

Concomitantemente, as amostras originais e suas respectivas silagens foram submetidas à pré-secagem a 65°C, por 72 horas, em estufa de ventilação forçada. Em seguida, foram moídas em moinho estacionário tipo “Thomas-Willey”, utilizando-se peneira de 1 mm, seguindo-se o acondicionamento destas amostras em frascos de vidro com tampas de plástico para posteriores análises.

Os materiais originais e as silagens foram avaliados quanto à matéria seca (MS) em estufa a 105°C, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca, segundo recomendações de Silva & Queiroz (2002).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão, utilizando-se o programa SAEG, versão 8.0 (Universidade Federal de Viçosa, 2000). Para os fatores qualitativos, aplicou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, na comparação das médias. A escolha das equações de regressão baseou-se no coeficiente de determinação e na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste t. Para a avaliação do pH, em função do período de fermentação, procedeu-se o ajuste dos dados ao modelo não-linear: $f = y_0 + [a \times \exp(-bx)]$, proposto por Hristov & McAllister (2002).

Experimento 2 – Consumo e digestibilidade de silagens de milho produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Este experimento foi conduzido no Laboratório Animal, do DZO, da UFV, em Viçosa, MG, no período de 5 a 18 de julho de 2002, utilizando-se dezoito ovinos, adultos, SRD, castrados, com peso médio de 48kg, distribuídos num delineamento em blocos casualizados, com seis repetições. Os tratamentos consistiram de silagens de milho produzidas com três inoculantes microbianos (controle e dois comerciais).

Aspectos relacionados ao plantio, colheita aplicação dos inoculantes e época de ensilagem encontram-se descritas no experimento 1, do presente capítulo. Neste ensaio, procedeu-se a ensilagem do milho em manilhas de concreto, com capacidade para 500 kg de forragem verde.

Os animais foram pesados, vermifugados, identificados por brincos no início do período experimental, sendo mantidos em gaiolas de metabolismo, em área coberta, com dispositivos para fornecimento de alimentos, água e mistura mineral. Ao final do período experimental, procedeu-se uma nova pesagem dos animais. Para a coleta de fezes, utilizaram-se sacolas especiais de napa adaptadas aos animais.

O experimento teve duração de 15 dias, sendo 10 para a adaptação às dietas e cinco 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. Os alimentos (silagem e concentrado), foram fornecidos diariamente às 7 horas durante todo o período experimental, sendo que em cada tratamento adicionou-se 10% de farelo de soja (46% PB), na base da matéria seca.

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. Nesta ocasião, foram realizadas amostras compostas dos alimentos fornecidos e das sobras, que foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e guardadas em congelador para análises laboratoriais posteriores.

A coleta total de fezes foi realizada, diariamente, às 7 e 16 horas, registrando-se, nesta oportunidade, a quantidade diária de fezes excretadas por animal. Após a homogeneização do material, foi retirada uma alíquota diária de 5 a 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 análises posteriores.

Os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e fibra em detergente neutro (FDN) dos alimentos fornecidos, sobras e fezes foram determinados conforme técnicas descritas por Silva & Queiroz (2002). Nas silagens também foram determinados o pH e o nitrogênio amoniacal/nitrogênio total, conforme descrito no experimento 1.

Os carboidratos totais (CHO) foram obtidos por meio da equação citada por Sniffen et al. (1992): $CHO (\% MS) = 100 - (\%PB + \%EE + \%CINZAS)$. Para cálculo dos nutrientes digestíveis totais (NDT) utilizou-se a equação do NRC (2001): $NDTd = PBd + 2,25*EEed + FDNcpd + CNFd$, em que representam-se a proteína bruta digestível (PBd), extrato etéreo digestível (EEed), fibra em detergente neutro digestível, corrigida para cinzas e proteína (FDNcpd) e carboidratos não fibrosos digestíveis (CNFd). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pela fórmula: $CNF = 100 - (\%PB + \%EE + \%FDN + \%CINZAS)$, proposta pelo NRC (2001).

Os dados de consumo e digestibilidade aparente total obtidos foram submetidos à análise de variância, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SAEG versão 8.0 (Universidade Federal de Viçosa-UFV, 2000).

Resultados e discussão

Experimento 1 – Populações microbianas, composição química e digestibilidade *in vitro* de silagens de milho produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Na Tabela 1 encontra-se composição química e a digestibilidade *in vitro* da MS da planta de milho, antes da ensilagem. O teor médio de matéria seca, de 39,6%, indica que o milho foi colhido fora daquela faixa de 30 a 35%, recomendada como adequada para colheita desta cultura para ensilagem.

Tabela 1 – Composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca na planta de milho, antes da ensilagem.

	MS (%)	PB	FDN	FDA	DIVMS
Milho	39,6	7,45	56,9	24,8	63,0

Para o teor de matéria seca das silagens, observou-se efeito ($P < 0,05$) da interação inoculante x período, conforme pode-se constatar na Tabela 2. No entanto, independentemente do período analisado, as silagens tratadas com inoculantes enzimo-bacterianos apresentaram teores de MS superiores aqueles encontrados para a silagem não tratada. Ao avaliar-se a variação de matéria seca em função de período detectou-se efeito apenas para a silagem controle, que ajustou-se ao modelo: $y = 38,9829 + 0,138011 * P - 0,00235176 * P^2$ ($R^2 = 68,25$). Para as silagens tratadas com Maize All e Biomax, registraram-se, respectivamente, valores médios de 43,3 e 43,1%.

Tabela 2 – Teores médios de matéria seca de silagens de milho, inoculadas ou não, nos diferentes períodos de fermentação.

Período (dias)	Inoculantes		
	Controle	Maize All	Biomax
1	39,7 b	43,9 a	44,2 a
3	38,8 b	43,1 a	43,0 a
7	39,4 b	42,8 a	43,7 a
14	41,1 b	42,9 a	43,5 a
28	40,8 b	44,0 a	43,2 a
56	39,4 c	43,2 a	41,1 b

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Para o teor de proteína bruta (PB) das silagens registrou-se efeito ($P < 0,05$) de inoculante para as silagens, como pode ser observado na Tabela 3. As silagens inoculadas apresentaram teor de PB superior ao da silagem não inoculada. Silva et al. (1997) também detectaram maior teor de PB para as silagens de milho produzidas com inoculantes bacterianos.

Tabela 3 – Teores médios de proteína bruta (PB), com base na matéria seca, das silagens de milho produzidas com diferentes inoculantes enzimo-bacterianos.

	Inoculantes		
	Controle	Maize All	Biomax
PB	6,3 b	6,7 a	6,7 a

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) foram influenciados ($P < 0,05$) apenas por período de fermentação, ajustando-se aos modelos: $\hat{y} = 67,9689 - 0,302353 \cdot P$ ($r^2 = 96,1$) e $\hat{y} = 28,1037 - 0,0644724 \cdot P$ ($r^2 = 51,4$), respectivamente. Silva (2001), avaliando silagens de milho e sorgo submetidas ao tratamento com inoculantes microbianos, verificou efeito ($P < 0,05$) quadrático de período para o teor de FDN das silagens de milho inoculadas; enquanto que a FDA foi influenciada somente na ausência de inoculante. A redução da fração fibrosa nessas silagens deve-se provavelmente, hidrólise ácida da hemicelulose conforme relatado no capítulo 1 deste trabalho.

A exemplo das frações fibrosas das silagens, a digestibilidade *in vitro* da matéria seca foi influenciada ($P < 0,05$) apenas pelo período de fermentação, ajustando-se à equação $\hat{y} = 64,9264 + 0,0546305 \cdot P$ ($r^2 = 98,5$). Tal comportamento deve-se possivelmente à hidrólise ácida da hemicelulose, que segundo Muck (1993) resulta em ruptura das células da forragem, favorecendo um ataque mais extensivo pelos microrganismos ruminais. Silva (2001), estimou valores máximos de DIVMS de silagens de milho produzidas com os inoculantes Silobac e Maize All, próximos àqueles períodos de fermentação que resultaram em teores mínimos de FDN, para as silagens produzidas com os respectivos inoculantes.

Para o pH, observou-se efeito ($P < 0,05$) de inoculante e de período. Na Tabela 4 pode-se observar que, as silagens inoculadas apresentaram maior valor de pH em relação à silagem controle. No entanto, as três silagens apresentaram valores de pH que permitem classificá-las como de muito boa

qualidade. Na Figura 1, encontram-se as estimativas de pH em função do período de fermentação, para as diferentes silagens. Estimaram-se taxas de decréscimos de 0,681; 0,48443 e 0,579 unidades por dia de fermentação, para o pH da silagens controle e daquelas produzidas com os inoculantes Maize-All e Biomax, respectivamente. Uma rápida queda no pH e um baixo pH final podem ajudar na diminuição da população de microrganismos deletérios à silagem, os quais produzem grande quantidade de ácido acético e butírico.

Tabela 4 – Valores médios de pH de silagens de milho em função de inoculantes ênzimo-bacterianos.

	Inoculante		
	Controle	Sill-All	Katec
PH	3,91 B	3,94 A	3,94 A

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

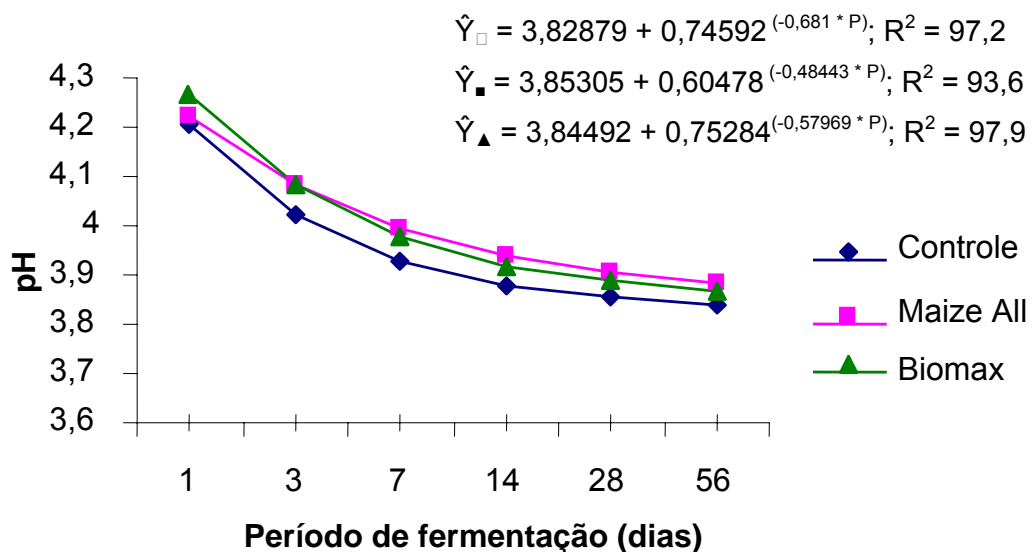


Figura 1 – Estimativa do pH, em função dos períodos de fermentação (P), para as silagens de milho produzidas com inoculantes ênzimo-bacterianos.

Para a relação nitrogênio amoniacal/Ntotal ($N-NH_3/N_{total}$), detectou-se efeito ($P < 0,05$) da interação inoculante x período, cujos valores médios

encontram-se na Tabela 5. Observa-se, no último dia de fermentação, menores valores de N-NH₃/Ntotal para a silagem controle e aquela produzida com Maize All, que por sua vez não diferiram entre si (P> 0,05). Avaliando-se a variação de N-NH₃/Ntotal em função do período de fermentação, detectou-se efeito somente para as silagens inoculadas com Maize All e Biomax, cujos dados ajustaram-se a modelos quadráticos (Figura 2), com valores máximos de 4,56 e 6,28%, aos 45,68 e 45,89 dias de fermentação para as respectivas silagens. O teor de N-NH₃/Ntotal da silagem controle não foi influenciado (P>0,05) pelo período de fermentação, estimando-se valor médio de 3,71%. Os valores estimados de N-NH₃/Ntotal das silagens são baixos, permitindo classificá-las como de excelente qualidade, segundo classificação sugerida por Wernli & Ojeda (1990). A rápida queda do pH e sua manutenção a baixos valores limitam a ocorrência de grandes taxas de proteólise, resultando em melhor preservação da proteína da forragem ensilada. Silva (2001) não observou diferenças entre os teores de N-NH₃/Ntotal em silagens de milho tratadas com inoculantes bacterianos, no entanto, estimou valor máximo aos 41,48 dias de fermentação, valor este próximo ao encontrado no presente estudo.

Tabela 5 – Valores médios de N-NH₃/Ntotal de silagens de milho produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos, nos diferentes períodos de fermentação.

Período (dias)	Inoculantes		
	Controle	Maize All	Biomax
1	2,65 a	1,46 b	1,81 ab
3	3,06 a	2,18 a	2,44 a
7	3,82 a	2,77 b	2,95 ab
14	3,78 a	3,15 a	3,56 a
28	4,23 b	4,00 b	5,88 a
56	4,68 b	4,43 b	6,01 a

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

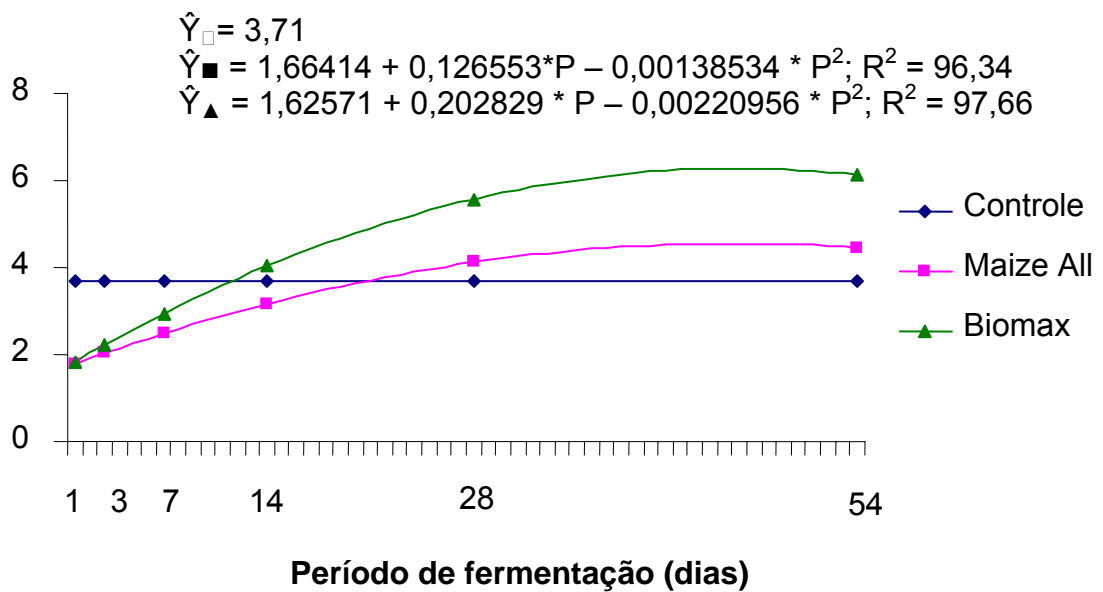


Figura 2 – Estimativa da relação nitrogênio amoniacal/Ntotal, em função dos períodos de fermentação (P), para as silagens de milho produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Experimento 2 – Consumo e digestibilidade de silagens de milho produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Na Tabela 6, encontram-se a composição química das silagens e do farelo de soja, bem como os valores de pH e nitrogênio amoniacal/Ntotal das silagens. A exemplo do experimento 1, essas silagens podem ser consideradas de excelente qualidade, com base no pH e na relação N-NH₃/Ntotal.

Tabela 6 – Composição química das silagens de milho e do farelo de soja.

Itens	Silagens			Farelo de Soja
	Controle	Maize All	Biomax	
MS (%)	38,1	39,5	40,5	87,3
MO ¹	95,8	95,9	96,0	93,2
PB ¹	6,7	6,5	6,6	49,4
EE ¹	3,0	3,0	2,9	2,5
CHO ¹	86,5	86,8	86,8	43,3
FDN ¹	43,1	44,2	42,8	10,7
FDA ¹	22,9	23,2	23,8	11,2
Celulose ¹	17,3	18,5	26,0	5,7
Hemicelulose ¹	23,4	22,3	22,6	4,6
Lignina ¹	4,8	4,0	5,4	0,7
NIDN ²	0,3	0,47	3,2	0,5
pH	3,96	4,05	4,11	
N-NH ₃ /Ntotal	7,23	7,61	6,96	

¹ Expressos em percentagem de MS

² Expresso em percentagem de FDN

Na Tabela 7 estão apresentados os consumos médios dos nutrientes e respectivos coeficientes de variação. Os inoculantes não influenciaram ($P > 0,05$) os consumos dos nutrientes, cujos valores médios foram de 1260,9; 1208,6; 137,8; 36,1; 514,7; 1036,8 e 843,1 g/dia para MS, MO, PB, EE, FDN, CHO e NDT, respectivamente. Rodrigues et al. (2002) também não verificaram efeito da adição do inoculante Pioneer 1174 sobre o consumo de nutrientes de silagens de milho, em ensaios com ovinos. Luther (1986), em ensaio com bovinos recebendo dietas contendo 90% de silagem de milho e 10% de concentrado, na base da matéria seca, também não verificou efeito do inoculante microbiano sobre o consumo de matéria seca. Kung Jr. e Muck (1997), revisando trabalhos publicados entre 1990 e 1995, encontraram respostas positivas dos inoculantes microbianos sobre o consumo, ganho de peso e produção de leite em 28; 53 e 47% dos estudos, respectivamente. Esses resultados, embora animadores, devem ser interpretados com alguns cuidados, devido aos inoculantes não serem os mesmos e as condições (taxa de aplicação, cultura, umidade) variarem bastante entre os estudos.

Tabela 7 – Consumos médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHO) e nutrientes digestíveis totais (NDT) das silagens de milho, produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Itens	Inoculantes			CV (%)
	Controle	Maize All	Biomax	
	Consumos (g/dia)			
MS	1371,5	1109,3	1302,0	16,9
MO	1313,3	1063,3	1249,1	16,9
PB	147,3	125,6	140,6	14,1
EE	38,8	33,3	37,2	12,7
FDN	530,6	510,9	502,5	15,0
CHO	1127,5	907,9	1075,0	17,4
NDT	874,3	774,5	880,4	15,3
	Consumo (% PV)			
MS	2,81	2,39	2,75	15,7
MO	2,69	2,29	2,63	15,7
FDN	1,06	1,08	1,04	13,7

Os valores médios de digestibilidade aparente total dos nutrientes das silagens encontram-se na Tabela 8. Observa-se que somente a digestibilidade aparente da proteína bruta foi influenciada ($P < 0,05$) pelos inoculantes, registrando-se maior valor para a silagem produzida com o inoculante Biomax. Rodrigues et al. (2002), trabalhando com silagem de milho produzida com o inoculante Pioneer 1174, não verificaram efeito da inoculação sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes avaliados. Segundo Keady et al. (1994), o inoculante bacteriano pode aumentar a digestibilidade das silagens sem afetar o consumo de matéria seca e energia digestível.

Tabela 8 – Digestibilidades aparentes médias (%) de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN) das silagens de milho produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Itens	Inoculantes			CV (%)
	Controle	Maize All	Biomax	
MS	60,4	54,8	61,2	8,35
MO	62,2	56,9	62,9	7,70
EE	89,0	89,2	90,0	4,69
PB	60,5 b	59,2 b	66,0 a	4,54
FDN	35,17	37,21	37,35	20,27

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Conclusões

Com base nos valores de pH e nitrogênio amoniacal/Ntotal, as silagens produzidas podem ser consideradas de boa qualidade. Contudo, a adição de inoculantes à planta de milho não promoveu alterações na composição químico-bromatológica, bem como no consumo dos nutrientes das silagens.

Referências bibliográficas

- BOLSEN, K.K.; LIN, C.; BRENT, B.E. et al. 1992. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n.11, p.3066-3083.
- DEWHURST, R.J; DAVIES, D.R.; MERRY, R.J. 2000. Microbial protein supply from the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 85, p.1-21.
- HENDERSON, N. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**. v.45, p.35-56. 1993.
- HRISTOV, A.N.; McALLISTER, T.A. 2002. Effect of inoculants on whole-crop barley silage fermentation and dry matter disappearance in situ. **Journal of Animal Science**, v. 80, p.510-516.
- KÖEPPEN, W. **Climatologia**. Trad. Pedro R. H. Poree. Buenos Aires, ed. Gráfica Panamericana, 1948. 478p.
- KEADY, T. W. J.; STEEN, R. W. J.; KILPATRICK, D. J. et al. 1994. Effects of inoculant treatment on silage fermentation, digestibility and intake by growing cattle. **Grass Forage Science**, v. 49, n. 2, p. 284-294.
- 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. p. 200-210. 1997.
- KUNG JR.; L. Use of additives in silage fermentation. In: **Direct-fed Microbial, Enzyme and Forage Additive Compendium**. p. 37-42. 1996.
- LUTHER, R. M. 1986. Effect of microbial inoculation of whole plant corn-silage on chemical characteristics preservation and utilization by steers. **Journal of Animal Science**, v. 63, n. 5, p. 1329-1336.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (MA). Escritório de meteorologia. **Normas climáticas**. Viçosa, 1961.
- MUCK, R. E. The role of silage additives in making high quality silage. In: **Silage Production from Seed to Animal**. 1993. New York. *Proceedings...*, New York:NRAES, n.67, p.106-116. 1993.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C.: 2001. 381p.
- RODRIGUES, P.H.M.; ANDRADE, S.J.T.; RUZANTE, J.M. et al. Valor nutritivo da silagem de milho sob o efeito da inoculação de bactérias ácido-láticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 6, p.2380-85, 2002.

- SILVA, A.V. Populações Microbianas em Plantas de Milho e Sorgo, Produtos da Fermentação e Desempenho de Bovinos de Corte, Suplementados com Suas Silagens, Tratadas com Inoculantes Microbianos. Viçosa, MG:UFV, 2001. 122 p. (Tese). Mestrado em Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa, 2001
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3ª ed. Viçosa, UFV. Impr. Universitária, 235p, 2002.
- SILVA, L.F.P.; MACHADO, P.F. Qualidade da silagem de milho produzida no Brasil. Nota/ESALQ. Piracicaba, n.10 e 12, 1997.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3562 – 3577, 1992.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa: 2002. n. p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, MG: 2000. 150p. (Manual do usuário).
- WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 53-68. 1996.
- WERNLI, C.; OJEDA, F. In: Metodologías para investigaciones sobre conservacion y utilization de ensilajes. Nutrición de rumiantes:guia metodológica de investigación. San José: IICA, 1990. p.179-218.
- WIERINGA, G.W.; SCHUKKING, S.; KAPPELLE, D. et al. 1961. The influence of heating on silage fermentation and quality. **Netherlands Journal of Agricultural Science**. 9:210-216.
- WOOLFORD, M.K. **The Silage Fermentation**. Marcel Dekker, Inc, New York, NY. 350p. 1984.
- WOOLFORD, M.K. 1990. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 68, p. 101-116.

CAPÍTULO 3

Valor Nutritivo de Silagens de Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Produzidas com Inoculantes Ênzimo-Bacterianos

Resumo – O presente estudo envolveu dois experimentos. No primeiro, avaliaram-se o pH, a relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total ($N-NH_3/N_{total}$), a composição química e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de silagens de sorgo produzidas com inoculantes ênzimo-bacterianos, em seis períodos de fermentação (1, 3, 7, 14, 28 e 56 dias), usando-se silos laboratoriais. Foi usado um arranjo fatorial 6 x 3 (seis períodos de fermentação x três inoculantes), em um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os inoculantes foram os mesmos descritos no capítulo 2. Para o teor de matéria seca (MS) das silagens observou-se efeito de inoculante e de período. Quanto ao teor de proteína bruta (PB), observou-se interação inoculante x período. Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e detergente ácido (FDA) foram influenciados apenas pelo período de fermentação, estimando-se valores máximos de 61,05 e 35,22%, aos 26,1 e 37,20 dias de fermentação, respectivamente. Para a DIVMS observou-se efeito da interação inoculante x período. Por sua vez, para o pH observou-se efeito de inoculante e de período, enquanto que a relação nitrogênio amoniacal/ N_{total} foi influenciada pela interação inoculante x período. No segundo experimento, avaliaram-se o consumo e a digestibilidade aparente total dos nutrientes das silagens do experimento 1, em ensaio com ovinos. Utilizaram-se dezoito ovinos adultos, castrados, distribuídos em três tratamentos, segundo um delineamento

em blocos casualizados, com seis repetições. Adotou-se uma relação volumoso:concentrado de 90:10, com base na matéria seca. O consumo médio dos nutrientes, em g/dia, não foi influenciado pelos inoculantes, excetuando-se o de EE e FDN. Todavia, o consumo de matéria seca, expresso em %PV, foi influenciado pela inoculação, registrando-se maior valor nas silagens inoculadas. Contudo, a digestibilidade aparente total dos nutrientes não foi influenciada pelas silagens. A inoculação favoreceu o consumo de EE, FDN e MS, sem, contudo, promover alterações na digestibilidade dos nutrientes.

Nutritional Values of Sorghum Silages (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Produced with Enzymatic-Bacterial Inoculants

Abstract - The present study involved two experiments. In the first one, pH value, ammonia nitrogen in relation to total nitrogen (N-NH₃/Total N), chemical composition and in vitro dry matter digestibility of sorghum silages produced with enzymatic-bacterial inoculants, were evaluated in six fermentation periods (1, 3, 7, 14, 28 and 56 days), using laboratory silos. A 6 x 3 factorial arrangement of treatments (six fermentation periods x three inoculants) was used in a randomized block design with three repetitions. The inoculants were the same ones described in Chapter 2. It was observed effect of inoculant and period on silages dry matter (DM) and an interaction of inoculant vs. period on crude protein (CP). Neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) were influenced only by the fermentation period, being considered maximum values of 61.05 and 35.22%, at 26.1 and at 37.20 days of fermentation, respectively. It was observed effect of the interaction between inoculant and fermentation period on in vitro dry matter digestibility and effect of inoculant and fermentation period on pH, while the ammonia nitrogen/Total N relation was influenced by the interaction inoculant vs. fermentation period. In the second experiment, intake and total apparent digestibility of nutrients from silages of experiment 1 were evaluated, in a trial with rams. Eighteen adult and castrated rams were distributed in three treatments in a randomized blocks design, with six repetitions. The diets contained a 90:10 forage to concentrate ratio in dry

matter basis. The mean intake of nutrients, in g/day, was not influenced by inoculants, except for EE and NDF intakes. Though intake of dry matter expressed in %BW, was influenced by inoculation, registering greater value in inoculated silages. However, the total apparent digestibility of nutrients was not influenced by silages. Although no effect of inoculation was verified on pH value, ammonia nitrogen in relation to total nitrogen and chemical composition of silages, the inoculation stimulated intakes of EE, NDF and DM, without, however, promoting alterations in the digestibility of nutrients.

Introdução

O milho (*Zea mays* L.) e o sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), destacam-se como culturas que melhor se prestam à prática de ensilagem. Apesar da silagem de sorgo ser considerada de valor nutritivo inferior à de milho, sua utilização vem se ampliando, pois essa cultura apresenta maior tolerância à seca que o milho, apresenta rebrotas após os cortes, obtendo-se até 60% da produção do primeiro corte, não concorre com a alimentação humana e algumas variedades apresentam maior produção de matéria seca e matéria verde por unidade de área que o milho (Zago, 1999).

O elevado teor de carboidratos solúveis do sorgo, garantindo uma adequada fermentação no interior do silo, o torna uma cultura de grande potencial para a ensilagem. O teor mínimo de carboidratos solúveis, para garantir uma boa fermentação da massa ensilada, situa-se em torno de 6-8% da MS da planta (McCullough, 1973). Se esses carboidratos forem esgotados rapidamente durante a fermentação, a redução do pH se torna mais lenta, podendo não ser suficiente para estabilizar a massa ensilada (Pitt, 1990).

Dentre os ácidos orgânicos produzidos, o ácido láctico produzido pelas bactérias ácido lácticas (BAL) merece certo destaque, porque este ácido promove uma queda de pH mais rápida, atingindo o nível de inibição de microrganismos indesejáveis mais rapidamente, e em seguida inibindo seu próprio crescimento, quando é atingida a fase de estabilidade. De forma geral, um pH em torno de 4,0 é suficientemente baixo para preservar a silagem, desde que os silos sejam mantidos vedados e livres de infiltrações (McDonald et al., 1991).

Bolsen et al. (1992) relataram que, em 19 estudos conduzidos com silagens de milho, aquelas que foram tratadas com inoculantes obtiveram uma recuperação de matéria seca 1,3 unidades percentuais maior do que aquela registrada para as silagens não inoculadas, sendo que resultados similares foram encontrados para as silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos.

Com relação ao desempenho animal, alguma melhoria tem sido observada, embora seja menos freqüente do que aquela observada sobre a

fermentação. Muck (1993), revisando estudos sobre inoculantes, publicados entre 1985 – 1992, relatou respostas positivas para o consumo, ganho de peso, produção de leite e eficiência alimentar em 25; 25; 40 e 45% dos estudos, respectivamente. Nos estudos em que ocorreram efeitos positivos, essas variáveis foram melhoradas em 11; 11; 5 e 9%, respectivamente.

O por quê da melhora no desempenho de animais alimentados com dietas contendo silagens tratadas com inoculantes microbianos ainda não está completamente elucidado. Alterações nos produtos da fermentação e pequenas melhorias na recuperação de matéria seca poderão favorecer o desempenho animal, porém, não na proporção observada (Weinberg & Muck, 1996; Muck & Shinnars, 2001). Muck (1993) observou alta correlação entre a digestibilidade da matéria seca e o desempenho animal, além de observar que a digestibilidade da fibra foi melhorada em 30% dos estudos analisados.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a composição química, o pH, a relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de sorgo produzidas ou não com inoculantes enzimo-bacterianos, bem como avaliar o consumo e a digestibilidade aparente total de seus nutrientes em ensaio com ovinos.

Material e Métodos

Experimento 1 – Composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de sorgo produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

O experimento foi conduzido no Laboratório Animal do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais. 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 março. A temperatura média das máximas é de 26,1°C e a média das mínimas é de 14,0°C (Ministério da Agricultura, 1961). O clima da região é classificado como "Cwa", segundo classificação proposta por Köepen (1948).

Utilizou-se um arranjo fatorial 6x3, sendo seis períodos de fermentação x três inoculantes, num delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, para a avaliação dos teores de matéria seca, proteína bruta, relação nitrogênio amoniacal/nitrogênio total e pH. Para a avaliação dos constituintes fibrosos e da DIVMS, consideraram-se apenas quatro períodos (1, 14, 28 e 56 dias).

O plantio do sorgo (AG 2002) foi realizado em sulcos espaçados de 0,9m, em novembro de 2001, em área do Departamento de Zootecnia, manualmente, utilizando-se 20 sementes por metro linear de sulco. A adubação de plantio consistiu na aplicação de 350kg/ha da mistura 8-28-16. A adubação de cobertura foi realizada aos 30 e 60 dias após a semeadura, aplicando-se 200kg/ha da mistura 20-0-20 e 100kg/ha de uréia, respectivamente. A colheita foi feita com auxílio de um facão, a cerca de 10 cm de altura do solo, aos 126 dias após a semeadura. As plantas foram picadas em partículas de 2 cm, em máquina ensiladeira acoplada ao trator, procedendo-se, em seguida, o transporte desse material até o local de ensilagem.

Avaliaram-se dois inoculantes comerciais: MAIZE ALL, da Alltech do Brasil (tratamento 2), contendo os seguintes níveis de garantia: *Streptococcus (Enterococcus) faecium* (10 bilhões ufc/g), *Lactobacillus plantarum* (10 bilhões UFC/g) e *Pediococcus acidilactici* (1 bilhão UFC/g), enzimas amilolíticas (2%), enzimas celulolíticas (1,5%) e dextrose e BIOMAX, da Christian Hansen Biosystems, com os seguintes níveis de garantia: *Lactobacillus plantarum* ($2,5 \times 10^{10}$ UFC/g), *Pediococcus pentosaceus* ($2,5 \times 10^{10}$ UFC/g), maltodextrina, aluminossilicatos e soro de leite, a 75% (tratamento 3). Os inoculantes foram adicionados ao material picado, com o auxílio de um pulverizador, com capacidade para dois litros, respeitando-se as recomendações dos fabricantes.

O material foi ensilado em silos de PVC, com 40 x 10 cm, dotados de válvula de Bünsen, com capacidade para aproximadamente 2 kg de forragem, com base na matéria natural, efetuando-se a compactação com o auxílio de soquetes de madeira. Em seguida, os silos foram fechados, pesados e armazenados em área coberta, em temperatura ambiente, até o momento de abertura, compreendido pelos períodos de 1, 3, 7, 14, 28 e 56 dias de fermentação.

Por ocasião da abertura dos silos, foram coletadas amostras em cada silo para determinações de pH e nitrogênio amoniacal/N total (Bolsen et al., 1992). Para o pH foram coletadas sub-amostras de 25g de silagem, às quais foram adicionados 100 ml de água destilada, deixadas em repouso por duas horas, fazendo-se, em seguida, a leitura do pH. Em outra sub-amostra de 25g de silagem, adicionou-se 200 ml de uma solução de H₂SO₄ 0,2N, permanecendo em geladeira por 48 horas, fazendo-se em seguida, a filtragem em papel de filtro do tipo “Whatman 54”. Esse filtrado permaneceu em geladeira até as determinações de nitrogênio amoniacal.

Concomitantemente, as amostras originais e suas respectivas silagens foram submetidas à pré-secagem a 65°C, por 72 horas, em estufa de ventilação forçada. Em seguida, foram moídas em moinho estacionário tipo “Thomas-Willey”, utilizando-se peneira de 1 mm, seguindo-se o acondicionamento destas amostras em frascos de vidro com tampas de plástico para posteriores análises.

Os materiais originais e as silagens foram avaliados quanto à matéria seca (MS) em estufa a 105°C, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca segundo recomendações de Silva & Queiroz (2002).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão, utilizando-se o programa SAEG, versão 8.0 (Universidade Federal de Viçosa, 2000). Para os fatores qualitativos, aplicou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, na comparação das médias. A escolha das equações de regressão baseou-se no coeficiente de determinação e na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste t. Para a avaliação do pH, em função do período de fermentação, procedeu-se o ajuste dos dados ao modelo não-linear: $f = y_0 + [a \times \exp(-bx)]$, proposto por Hristov & McAllister (2002).

Experimento 2 – Consumo e digestibilidade de silagens de sorgo produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Este experimento foi conduzido no Laboratório Animal do DZO, da UFV, em Viçosa; MG, no período de 19 de julho a 03 de agosto de 2002, utilizando-se dezoito ovinos, adultos, SRD, castrados, com peso médio de 50 kg, distribuídos num delineamento em blocos casualizados, com seis repetições. Os tratamentos consistiram de silagens de sorgo produzidas com três inoculantes microbianos (controle e dois comerciais).

Aspectos relacionados ao plantio, colheita, aplicação dos inoculantes e época de ensilagem encontram-se descritos no experimento 1, do presente capítulo. Neste experimento, procedeu-se a ensilagem do sorgo em manilhas de concreto, com capacidade para 500 kg de forragem verde.

Os animais foram pesados, vermifugados, identificados por brincos no início do período experimental, sendo mantidos em gaiolas de metabolismo, em área coberta, com dispositivos para fornecimento de alimentos, água e mistura mineral. Ao final do período experimental, procedeu-se uma nova pesagem dos animais. Para a coleta de fezes, utilizaram-se sacolas especiais de napa adaptadas aos animais.

O experimento teve duração de 15 dias, sendo 10 para a adaptação às dietas e cinco 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. Os alimentos (silagem e concentrado), foram fornecidos diariamente às 7 horas durante todo o período experimental, sendo que em cada tratamento adicionou-se 10% de farelo de soja, na base da matéria seca.

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. Nesta ocasião, foram realizadas amostras compostas dos alimentos fornecidos e das sobras, que foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e guardadas em congelador para análises laboratoriais posteriores.

A coleta total de fezes foi realizada diariamente, às 7 e 16 horas, registrando-se, nesta oportunidade, a quantidade diária de fezes excretadas por animal. Após a homogeneização do material, foi retirada uma alíquota diária de 5 a 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 análises posteriores.

Os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e fibra em detergente neutro (FDN) dos alimentos fornecidos, sobras e fezes foram determinados conforme técnicas descritas por Silva & Queiroz (2002). Nas silagens também foram determinados o pH e o nitrogênio amoniacal/nitrogênio total, conforme descrito no experimento 1.

Os carboidratos totais (CHO) foram obtidos por meio da equação citada por Sniffen et al. (1992): $CHOT (\% MS) = 100 - (\%PB + \%EE + \%CINZAS)$. Para cálculo dos nutrientes digestíveis totais (NDT) utilizou-se a equação do NRC (2001): $NDTd = PBd + 2,25*EE d + FDNcpd + CNFd$, em que representam-se a proteína bruta digestível (PBd), extrato etéreo digestível (EE d), fibra em detergente neutro digestível, corrigida para cinzas e proteína (FDNcpd) e carboidratos não fibrosos digestível (CNFd). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pela fórmula: $CNF = 100 - (\%PB + \%EE + \%FDN + \%CINZAS)$, proposta pelo NRC (2001).

Os dados de consumo e digestibilidade aparente total obtidos foram submetidos à análise de variância, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SAEG versão 8.0 (Universidade Federal de Viçosa-UFV, 2000).

Resultados e discussão

Experimento 1 – Composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de sorgo produzidas com inoculantes *enzimobacterianos*.

Na Tabela 1 encontra-se a composição química e a digestibilidade *in vitro* da MS do sorgo, antes da ensilagem. O teor de matéria seca do sorgo (31,3%) indica que a planta foi colhida no momento adequado, ou seja, com os grãos no estágio farináceo, o que geralmente coincide com um teor de matéria seca em torno de 30%.

Tabela 1 – Composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca da planta de sorgo.

	MS (%)	PB	FDN	FDA	DIVMS
		(%) MS			
Sorgo	31,3	6,45	57,56	30,6	60,7

Para o teor de matéria seca das silagens, observou-se efeito ($P < 0,05$) de inoculante e de período de fermentação. Na Tabela 2, pode-se observar que as silagens inoculadas apresentaram maior teor de MS do que a silagem não inoculada (controle). Ao avaliar-se o teor de matéria seca em função do período, ajustou-se a equação: $\hat{y} = 32,6060 - 0,165509 \cdot P + 0,00190658 \cdot P^2$ ($R^2 = 86,68$), estimando-se valor mínimo de 29,0% de MS, aos 43,4 dias de fermentação.

Tabela 2 – Valores médios dos teores de matéria seca (MS) das silagens de sorgo com e sem inoculantes microbianos.

	Inoculantes		
	Controle	Maize All	Biomax
MS	30,3 b	31,5 a	31,0 a

Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Para o teor de proteína bruta (PB) verificou-se efeito ($P < 0,05$) da interação inoculante x período, cujos valores médios encontram-se na Tabela 3. Observa-se que a PB das silagens foi influenciada pelos inoculantes somente aos 1, 14 e 28 dias de fermentação. Ao avaliar-se o teor de PB em função do período de fermentação, observou-se que somente a silagem controle foi influenciada ($P < 0,05$) por período, cujos dados ajustaram-se ao modelo quadrático: $\hat{y} = 5,89696 + 0,0927181 \cdot P - 0,00128742 \cdot P^2$ ($R^2 = 88,98$), estimando-se valor máximo de 7,56%, aos 36 dias de fermentação. Para as silagens tratadas com os inoculantes Maize All e Biomax, registraram-se valores médios de 7,02 e 6,63% de PB, respectivamente. Silva (2001), não observou efeito de período para as silagens de milho e sorgo não inoculadas, relatando efeito somente para as silagens tratadas com Silobac e Maize All. Entretanto, o comportamento de variação do teor de PB da silagem não tem uma explicação biológica consistente, pois esperava-se que os teores de proteína bruta permanecessem inalterados ao longo do período de fermentação.

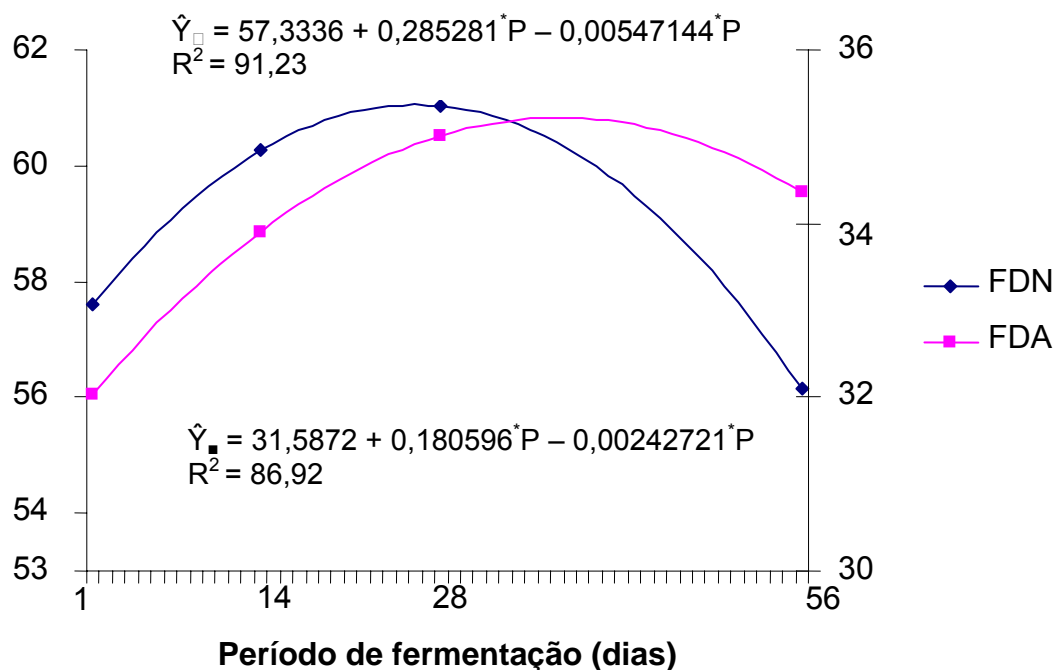
Tabela 3 – Valores médios do teor de proteína bruta, das silagens de sorgo tratadas com diferentes inoculantes enzimo-bacterianos.

Período (dias)	Inoculantes		
	Controle	Maize All	Biomax
1	5,70 b	6,98 a	6,52 a
3	6,24 a	6,40 a	6,81 a
7	6,76 a	7,26 a	6,78 a
14	7,02 ab	7,55 a	6,52 b
28	7,31 a	6,98 ab	6,47 b
56	7,09 a	6,94 a	6,67 a

Médias seguidas pela mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), observou-se efeito quadrático ($P < 0,05$) de período (Figura 1).

Estimaram-se valores máximos de 61,05 e 35,2%, aos 26,7 e 37,2 dias de fermentação, para as respectivas variáveis. A redução da fração fibrosa dessas silagens deve-se provavelmente à hidrólise ácida da hemicelulose, conforme relatado nos capítulos anteriores deste trabalho. Trabalhando com silagens de milho e sorgo, produzidas com inoculantes bacterianos, SILVA (2001), constatou efeito da interação período x silagem x inoculante, para os teores de FDN e FDA. Quanto à FDN, para a silagem de sorgo, este autor observou efeito apenas para a silagem não tratada, estimando valor máximo de 63,52% aos 18,17 dias de fermentação. Para a FDA, o referido autor observou efeito quadrático ($P < 0,01$), para aquela silagem produzida com o inoculante Maize All, estimando valor máximo de 35,7%, aos 26,4 dias após a ensilagem.



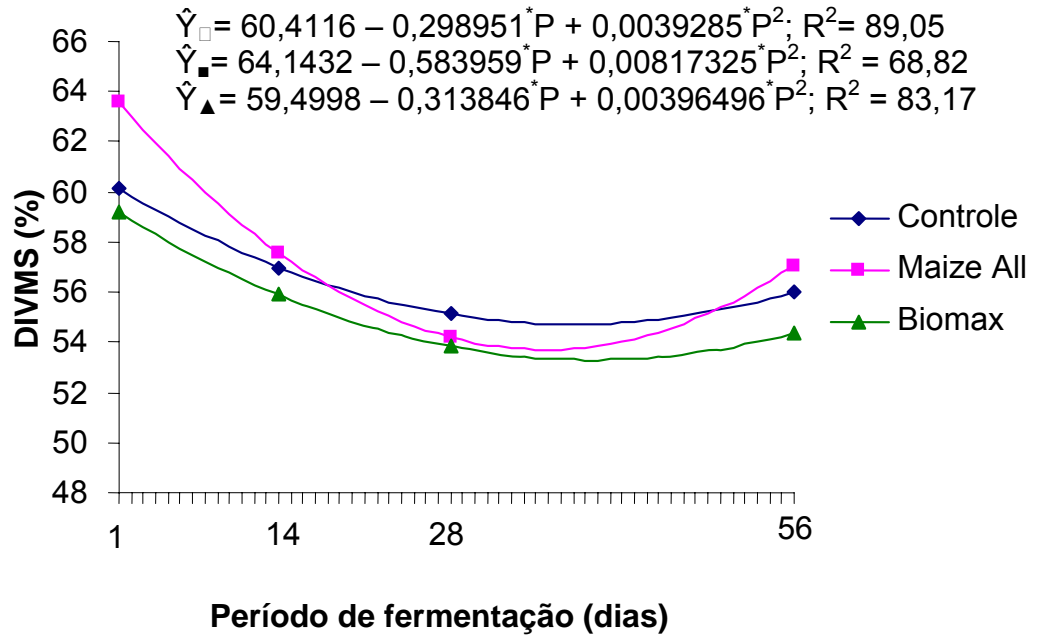
* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t

Figura 1 - Estimativa da fibra em detergente neutro (FDN) e da fibra em detergente ácido (FDA) das silagens em função do período de fermentação (P).

O sucesso do emprego de inoculantes microbianos contendo enzimas que potencialmente solubilizam as frações da parede celular tem sido inconsistente, sobretudo pela carência de informações que relacionam o efeito destas sobre cada espécie forrageira utilizada na ensilagem, pela falta de pesquisas indicando as doses ideais de aplicação desses produtos e pela pequena quantidade de estudos até então realizados, demonstrando a eficiência dessas enzimas sobre a fermentação da cultura ensilada (Nadeu et al., 2000).

Para a digestibilidade *in vitro* da matéria seca, observou-se efeito ($P < 0,05$) da interação inoculante x período (Figura 2). Estimaram-se digestibilidades mínimas de 54,73%; 53,71% e 53,29% aos 38,05; 35,72 e 39,58 dias, para a silagem controle e aquelas tratadas com os inoculantes Maize All e Biomax, respectivamente. Sendo a fração FDA aquela mais estreitamente correlacionada com a digestibilidade, juntamente com a lignina (Van Soest, 1965), constata-se que aqueles períodos de fermentação que resultaram em digestibilidades mínimas assemelham-se aos 37,2 dias de fermentação, que resultou em máximo conteúdo de FDA das silagens. Silva (2001), não observou efeito de período para a DIVMS de silagens de sorgo tratadas ou não com inoculante microbianos.

No entanto, torna-se importante ressaltar que dados sumarizados por Muck & Kung Jr. (1997), envolvendo estudos sobre silagens tratadas com inoculantes microbianos, indicaram que a digestibilidade da matéria seca das silagens foi melhorada em 30% dos 82 estudos avaliados. Segundo Muck (1993), o menor pH das silagens inoculadas pode promover a hidrólise ácida da hemicelulose, favorecendo um ataque mais extensivo, pelos microrganismos ruminais, às células da forragem. Contudo, deve ser observado que no presente estudo o menor valor de pH foi obtido para a silagem controle, mas todas as silagens apresentaram valores de pH dentro da faixa considerada ideal para a obtenção de uma boa silagem.



* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t

Figura 2 – Estimativa da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) das silagens de sorgo, em função do período de fermentação (P), para os respectivos inoculantes.

Para o pH observou-se efeito ($P < 0,05$) de inoculante e de período. Na Tabela 4, pode-se observar que a silagem tratada com o inoculante Maize All apresentou maior valor de pH em relação às outras silagens. No entanto, as três silagens apresentaram valores de pH que permitem classificá-las como de muito boa qualidade. Na Figura 3, encontra-se a estimativa do pH em função do período de fermentação, para os diferentes inoculantes. Estimaram-se taxas de decréscimos de 0,9 e 0,88425 unidades por dia de fermentação para o pH das silagens controle e daquela tratada como inoculante Biomax, respectivamente. No estudo com silagem de milho, capítulo anterior deste trabalho, registraram-se taxas de decréscimos no pH, variando de 0,48443 (Maize All) a 0,57969 (Biomax) unidades por dia de fermentação. Para a silagem de sorgo tratada com o inoculante Maize All, nenhuma equação ajustou-se aos dados, registrando-se valor médio de 3,8 (Figura 3). Uma rápida queda no pH e um baixo pH final podem ajudar na diminuição da população de

microrganismos deletérios à silagem, os quais produzem grande quantidade de ácido acético e butírico.

Tabela 4 – Valores médios de pH das silagens de sorgo com e sem inoculantes enzimo-bacterianos.

pH	Inoculantes		
	Controle	Maize All	Biomax
	3,78 b	3,80 a	3,79 b

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

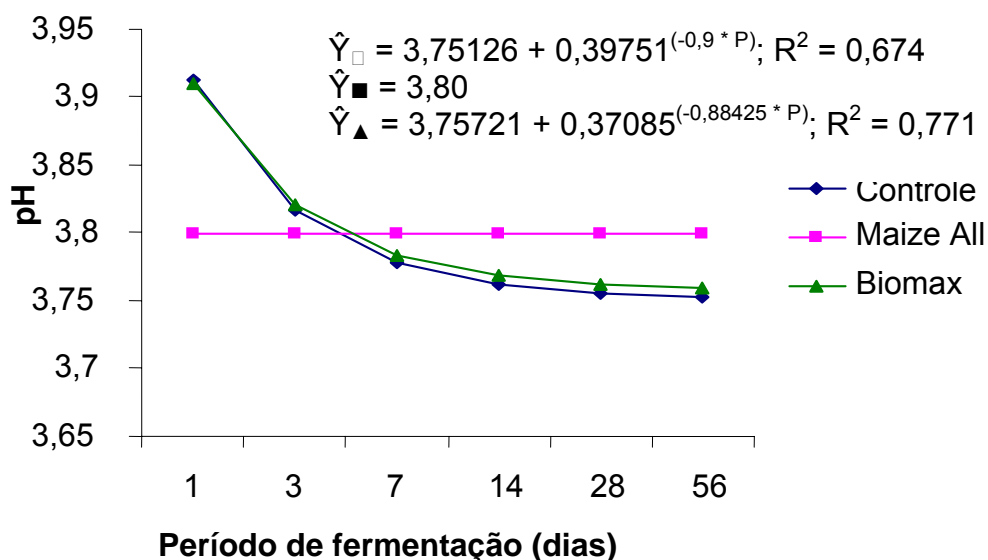


Figura 3 – Estimativa do pH, em função dos períodos de fermentação (P), para as silagens de sorgo produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Para a relação $N-NH_3/N_{total}$, observou-se efeito ($P < 0,05$) da interação inoculante x período, cujos valores médios estão na Tabela 5. Observou-se efeito de inoculante sobre esta variável, somente nos dois últimos períodos de fermentação (Tabela 5). Os valores de $N-NH_3/N_{total}$ observados, para as diferentes silagens, são baixos permitindo classificá-las como de excelente qualidade, segundo classificação sugerida por Wernli & Ojeda (1990). Ao avaliar-se o teor de $N-NH_3/N_{total}$ em função do período, detectou-se efeito para a silagem controle ($y = 3,51219 - 0,0130178 * P + 0,00125099 * P^2; R^2 = 97,89$) e

para aquela tratada com o inoculante Biomax ($\hat{y} = 2,96589 + 0,114425 \cdot P - 0,00138011 \cdot P^2$; $R^2 = 97,67$), estimando-se valores mínimos e máximos de 3,47 e 5,33%, aos 5,2 e 41,45 dias para as respectivas silagens. Para a silagem produzida com o inoculante Maize All, registrou-se valor médio de N-NH₃/Ntotal, de 3,93%.

Tabela 5 – Teores médios de N-NH₃/Ntotal de silagens de sorgo produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos, em função dos períodos de fermentação.

Período (dias)	Inoculantes		
	Controle	Maize All	Biomax
1	3,27 a	2,52 a	2,76 a
3	3,48 a	3,33 a	3,58 a
7	3,72 a	3,58 a	3,81 a
14	3,73 a	3,96 a	4,27 a
28	3,92 b	4,39 ab	5,02 a
56	6,74 a	5,85 b	5,06 c

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Experimento 2 – Consumo e digestibilidade de silagens de sorgo produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Na Tabela 6, encontra-se a composição química das silagens de sorgo e do farelo de soja, bem como os valores de pH e nitrogênio amoniacal/Ntotal das silagens.

Tabela 6 – Composição química das silagens de sorgo e do farelo de soja.

Itens	Inoculantes			Farelo de Soja
	Controle	Maize All	Biomax	
MS (%)	25,1	26,3	26,2	87,3
MO ¹	94,6	94,6	94,00	93,2
PB ¹	7,7	6,8	7,4	49,4
EE ¹	1,3	1,5	1,3	2,5
FDN ¹	56,2	57,5	59,2	11,2
FDA ¹	34,25	33,1	34,5	6,8
Celulose ¹	25,0	24,6	25,8	5,7
Hemicelulose ¹	21,8	23,9	23,2	4,6
Lignina ¹	8,1	7,3	8,0	0,7
CHO ¹	85,5	86,3	85,3	43,3
NIDN ²	0,5	0,5	0,6	0,5
pH	3,75	3,74	3,62	
N-NH ₃ /Ntotal	8,45	8,82	7,05	

¹ Expressos em percentagem da matéria seca

² Expresso em percentagem de FDN

Na Tabela 7 estão apresentados os consumos médios dos nutrientes e respectivos coeficientes de variação. Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) nos consumos de MS, MO, PB, CHO e NDT, em g/dia. Todavia, os consumos de EE e FDN, em g/dia, e o consumos de MS e MO, expressos em percentagem do peso vivo, foram influenciados pelos inoculantes microbianos, registrando-se menor ($P<0,05$) consumo desses nutrientes naqueles animais que receberam a silagem controle, que por sua vez, não diferiu da silagem tratada com Biomax (Tabela 7). O maior consumo destes nutrientes deve-se

provavelmente à hidrólise ácida da hemicelulose, uma vez que os inoculantes não afetaram os constituintes da parede celular, conforme demonstrado no experimento 1 do presente capítulo.

De fato, ao comparar-se os teores de FDN do sorgo antes da ensilagem, com os valores de FDN das respectivas silagens, observa-se menor valor deste constituinte naquelas silagens tratadas com inoculantes, notadamente o Maize All, que apresentou consumo de MS (% PV) e de FDN (g/dia) 26% superior ($P < 0,05$) aos consumos desses nutrientes em relação à silagem controle.

Kung Jr. & Muck (1997), em artigo de revisão sobre a resposta animal a inoculantes microbianos, envolvendo 67 estudos, mostraram respostas positivas dos inoculantes sobre o consumo, em 28% dos trabalhos avaliados, e 53% dos estudos, de um total de 15, para o ganho de peso. Para estes autores a interpretação destes resultados deve ser vista com cautela, haja vista que nem todos os inoculantes são iguais, ou, ainda, devido a ampla variação de condições existentes entre os estudos, isto é, organismos com o mesmo nome não são necessariamente os mesmos organismos, podendo, portanto, não apresentar a mesma efetividade.

Segundo Weinberg & Muck (1996), o desempenho animal pode ser melhorado pelo uso de inoculantes microbianos, mesmo não se detectando efeito destes sobre a fermentação da silagem. Esses autores atribuem isso a um efeito probiótico dos inoculantes, inibindo microrganismos prejudiciais na silagem e no rúmen, ou produzindo substâncias benéficas que podem favorecer microrganismos ruminais específicos, resultando, assim, na melhoria do desempenho animal.

Tabela 7 – Consumos médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT) e nutrientes digestíveis totais (NDT) de silagens de sorgo produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Itens	Inoculantes			CV (%)
	Controle	Maize All	Biomax	
	Consumo (g/dia)			
MS	1000,1	1225,9	1169,6	13,75
MO	950,82	1147,4	1101,5	13,80
PB	125,8	140,7	143,9	13,86
EE	13,45 b	19,45 a	16,41 ab	14,22
FDN	486,6 b	615,4 a	601,8 ab	14,07
CHO	806,4	996,7	934,5	13,74
NDT	481,6	645,8	572,1	23,39
	Consumo (% PV)			
MS	2,03 b	2,56 a	2,37 ab	11,70
MO	1,92 b	2,34 a	2,22 ab	11,13

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste deTukey

Para a digestibilidade aparente total dos nutrientes das silagens não detectou-se efeito ($P > 0,05$) de inoculantes, cujos valores médios encontram-se na Tabela 8. No entanto, as digestibilidades da FDN das silagens produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos foram, em média, 32% (Maize All) e 18,0% (Biomax) superiores em relação à silagem controle. Isto deve-se, possivelmente, à redução da fração fibrosa das silagens em decorrência da hidrólise ácida, conforme já citado.

Tabela 8 – Digestibilidades aparentes médias (%) de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN) das silagens de sorgo, produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos.

Itens	Inoculantes			CV (%)
	Controle	Maize All	Biomax	
MS	49,42	51,86	49,08	13,63
MO	49,42	53,48	50,76	12,84
EE	71,86	74,04	75,17	11,43
PB	68,32	66,55	65,43	4,69
FDN	30,22	39,96	35,67	24,97

Conclusões

As silagens produzidas podem ser consideradas de boa qualidade, com base nos baixos valores de pH e nitrogênio amoniacal/Ntotal.

A adição de inoculantes enzimo-bacterianos em plantas de sorgo por ocasião da ensilagem, favoreceu os consumos de EE, FDN e MS de suas silagens sem, contudo, promover alterações na digestibilidade aparente dos nutrientes.

Referências bibliográficas

- BOLSEN, K.K.; LIN, C., BRENT, B.E. et al. 1992. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 3066-3083.
- HRISTOV, A.N.; McALLISTER, T.A. 2002. Effect of inoculants on whole-crop barley silage fermentation and dry matter disappearance in situ. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 510-516.
- KÖEPEN, W. **Climatologia**. Trad. Pedro R. H. Poree. Buenos Aires, ed. Gráfica Panamericana, 1948. 478p.
- KUNG JR., L. Use of additives in silage fermentation. In: Direct-fed Microbial, Enzyme and Forage Additive Compendium. P. 37-42. 1996.

- 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. p. 200-210. 1997.
- McCULLOUGH, M. E. What's silage to a cow? In: SILAGE PRODUCTION FROM SEED TO ANIMAL. 1993, New York. *Proceedings...* New York:NRAES, 1993. p.1-8.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. 2 ed., Marlow:Chalcombe Pub. 340p. 1991.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (MA). Escritório de meteorologia. **Normas climáticas**. Viçosa, 1961.
- MUCK, R. E. The role of silage additives in making high quality silage. In: **Silage Production from Seed to Animal**. 1993. New York. *Proceedings...*, New York:NRAES, n.67, p.106-116. 1993.
- 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.
- MUCK, R.E.; SHINNERS, K.J. Conserved forage (silage and hay): progress and priorities. In: **International Grasslands Congress, 19, São Pedro, SP. Proceedings...** São Pedro, SBZ. p.753-62. 2001.
- NADEU, E.M.G; BUXTON, D.R.; RUSSELL, J.R. et al. 2000. Enzyme, bacterial inoculant, and formic acid effects on silage composition of orchardgrass and alfalfa. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1487-1502.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C.: 2001. 381p.
- PITT, R. E.. Silage and Hay Preservation. Cornell University. 53 p. 1990 (NRAES, 5).
- SILVA, A.V. Populações Microbianas em Plantas de Milho e Sorgo, Produtos da Fermentação e Desempenho de Bovinos de Corte, Suplementados com Suas Silagens, Tratadas com Inoculantes Microbianos. Viçosa, MG:UFV, 2001. 122 p. (Tese). Mestrado em Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa, 2001
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos** 3ª ed. Viçosa, UFV. Impr. Universitária, 235p, 2002.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562 – 3577, 1992.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa: 2002. n. p.

- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, MG: 2000. 150p. (Manual do usuário).
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Animal Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J.; Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal of Animal Science**, v.24, n.3, p.834-43, 1965.
- WEINBERG, Z. G., MUCK, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 53-68. 1996.
- WERNLI, C.; OJEDA, F. In: Metodologías para investigaciones sobre conservacion y utilization de ensilajes. Nutrición de rumiantes:guía metodológica de investigación. San José: IICA, 1990. p.179-218.
- ZAGO, C.P. Silagem de sorgo. In: **Simpósio sobre Nutrição de Bovinos: Alimentação Suplementar, 7, Piracicaba**, 1999. *Anais...Piracicaba*, FEALQ, 1999. p. 47-68.