

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

NICOLAAS ANDRÉ LOS

ANÁLISE DA QUALIDADE DA SILAGEM PRÉ-SECADA DE AZEVÉM COM O USO  
DE INOCULANTE

PONTA GROSSA  
2016

NICOLAAS ANDRÉ LOS

ANÁLISE DA QUALIDADE DA SILAGEM PRÉ-SECADA DE AZEVÉM COM O USO  
DE INOCULANTE

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito para  
aprovação na disciplina de Orientação de  
Trabalho de Conclusão de Curso na  
Universidade Estadual de Ponta Grossa,  
Área de Zootecnia.

Orientadora: Prof. Dra. Adriana de Souza  
Martins

PONTA GROSSA  
2016

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me auxiliou e acompanhou em todos os momentos de dificuldade, que me abençoou durante todo o curso de Zootecnia, me deu forças e coragem para seguir firme nesta caminhada. Sem Ele não sou nada.

Agradeço muito aos meus pais, Leonardo e Denise, que me proporcionaram condições de cursar uma boa universidade e nunca pouparam esforços para me dar uma educação de qualidade.

Agradeço aos meus irmãos Paulo Ricardo e Lucas, que me ajudaram quando precisei de ajuda nos estudos.

Agradeço a minha namorada, Karine, que me deu todo o apoio e me ajudou a ter fé no futuro, apesar de todas as dificuldades.

Agradeço a professora Dra. Adriana Martins, que me orientou durante este trabalho, me ajudou a encontrar os meios para realizar e finalizar esta pesquisa.

Agradeço a professora Dra. Ester Rios e a Valquíria Nanuncio, pela ajuda com as análises microbiológicas, sem elas esta análise não seria possível.

Agradeço muito à Denise Mendes, que dispôs tempo e dedicação na realização das análises bromatológicas.

Agradeço aos meus amigos, que me deram um motivo a mais para ir à universidade todos os dias.

Agradeço também ao meu tio Leendert Boer, por dar a ideia da pesquisa, disponibilizar a área para o experimento e os maquinários necessários para tal.

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a utilização de um inoculante microbiano em silagem pré-secada de azevém (*Lolium multiflorum*) sob duas idades de corte, 76 e 134 dias, através de análises bromatológicas (matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, carboidratos não fibrosos, matéria mineral e nutrientes digestíveis totais) e análises microbiológicas (bactérias ácido lácticas, fungos e leveduras). O inoculante foi aplicado no material durante o processo de ensilagem na proporção de 5 litros por tonelada na matéria natural. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2. Os resultados analisados indicam uma diminuição no teor de matéria seca no tratamento com maior idade de corte, devido ao aumento de massa que dificultou a desidratação do material, também houve variação no teor médio de NDT, FDA e FDN. O consumo de CNF foi maior na forragem cortada com menor idade de corte com aplicação de inoculante, e o teor de NDT diminuiu com o aumento do teor de FDN e FDA. A utilização do inoculante surtiu efeito no consumo de carboidratos não fibrosos no tratamento com inoculante, o que indica um consumo de substratos para o crescimento bacteriano, porém somente à idade de corte aos 76 dias.

**Palavras-chave:** Bactérias lácticas. Forragem. Fermentação. Leveduras.

## ABSTRACT

The present study have the objective to compare the use of inoculant on pre-dried ryegrass (*Lolium multiflorum*) under two ages of cut, through qualitative analysis (dry matter, crude protein, ether extract, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, non-fibrous carbohydrates, mineral matter and total digestive nutrients) and microbiological analysis (acid lactic bacteria, fungus and yeast). The microbiological additive was applied to the forage during the ensilage on the proportion of 5 liters per ton of fresh material. The experimental design was completely randomized in a factorial 2 x 2. The results indicate a decrease on the content of dry matter on the treatment with bigger cut age, because of the increase of production, that difficult the dehydration process, also there was a variation on the medium content of ADF, NDF and TDN. The forage with smaller cut age indicate consume of carbohydrates of the forage on the treatment with the use of additives, and the content of TDN decreases with the increase of NDF and ADF. The use of inoculant have an effect on the consume of non-fibrous carbohydrates on the treatment with inoculant, what indicates a consume of it to the bacterial development, but only on the cut age of 76 days.

**Keywords:** Lactic bacteria. Forage. Fermentation, Yeast.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – 14 dias após implantação da cultura (29/06) .....	13
<b>Figura 2</b> – 31 dias após implantação da cultura (16/07) .....	13
<b>Figura 3</b> – Estimativa de altura de dossel e produção de matéria seca (20/08) .....	14
<b>Figura 4</b> – Material cortado e espalhado no campo (20/08) .....	15

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Médias dos teores de Matéria seca (MS) e carboidratos não fibrosos (CNF) e efeito da interação do nível de inoculante (com e sem) e idade de corte (76 e 134 dias) da silagem pré-secada de azevém. .... 18
- Tabela 2** – Médias dos teores de Proteína Bruta (PB), nutrientes digestíveis totais (NDT), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e cinzas em função dos níveis de inoculante e do ponto de corte da silagem pré-secada de azevém.....20
- Tabela 3** – Valores médios de bactérias lácticas e fungos e leveduras em função dos níveis de inoculante e do estágio vegetativo da silagem pré-secada de azevém. ....22

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CNF	Carboidratos Não Fibrosos
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
EE	Extrato Etéreo
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
MN	Matéria Natural
MS	Matéria Seca
NDT	Nutrientes Digestíveis Totais
PB	Proteína Bruta
UFC	Unidades Formadoras de Colônias



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	11
2.1 Delineamento Experimental .....	11
2.2 Plantio .....	11
2.3 Acompanhamento da Cultura.....	12
2.4 Corte e Ensilagem.....	14
2.5 Aplicação do Inoculante .....	15
2.6 Análises Bromatológicas .....	16
2.7 Análises Microbiológicas .....	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	17
4. CONCLUSÃO .....	24
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

## 1. INTRODUÇÃO

A intensificação dos sistemas de produção de alimentos de origem animal tem demandado por cultivares de forrageiras mais produtivas, de melhor qualidade e mais adaptadas a condições ambientais específicas (Pereira et al., 2005). Neste sentido, a utilização de plantas forrageiras de estação fria tem sido uma alternativa para os produtores de leite e carne, por constituírem uma forragem de boa qualidade, e com bom potencial de produção de matéria seca (Ferolla et al., 2007).

O azevém (*Lolium multiflorum*) é uma forrageira muito utilizada na alimentação de vacas leiteiras, na forma de pastejo ou em formas conservadas, em vários países, como os Estados Unidos, países da Europa, Nova Zelândia, Uruguai e o Brasil. No Brasil sua utilização é limitada pela temperatura e umidade, sendo o azevém uma gramínea anual de inverno, passa a ser mais exigente com relação ao clima, a região sul é a que mais se destaca no cultivo do azevém, utilizado em sua maioria para o pastejo, porém sendo utilizado também para silagem. Nesta região do Brasil, a integração lavoura-pecuária, que anteriormente vinha sendo praticada de forma pouco intensiva nas áreas de produção de arroz irrigado, também passou a ser uma alternativa importante em sistemas agrícolas com rotações de milho e soja com pastagens de inverno. (Rodrigo et al., 2011)

O azevém é uma forrageira que geralmente é considerada a base da melhoria das pastagens, devido ao seu elevado valor nutricional, boa digestibilidade e boas características para ensilagem. (Breese et al., 1983) Como o seu ciclo é anual e seu valor nutritivo é de grande valia, os produtores buscaram formas de conservar este material por mais tempo e utilizá-lo durante todo o ano. Para isso a ensilagem é uma alternativa na a conservação de forragens.

A ensilagem é um processo de conservação de forragem que tem como objetivo final preservar a o material com alto valor nutritivo com o mínimo de perdas. No processo, basicamente, carboidratos solúveis são convertidos em ácidos orgânicos pela ação de microrganismos, que encontrando ambiente ideal, proliferam e criam condições adequadas à conservação. (Pereira e Reis, 2001).

Para que a ensilagem seja bem sucedida, deve-se proporcionar um ambiente ideal para o crescimento de bactérias que realizam a fermentação desta forragem. Para isso, em plantas com alto teor de umidade como o azevém, recomenda-se desidratá-lo parcialmente antes de passar pelo processo fermentativo,

proporcionando assim um ambiente ideal para o crescimento das bactérias em questão (Pereira e Reis, 2001).

O germoplasma de azevém utilizado pela maioria dos produtores é o azevém diplóide, denominado azevém comum, no entanto alguns produtores já vêm utilizando as cultivares tetraplóides, que apresentam algumas características distintas, como rápida produção inicial e alta produção de massa total, além de apresentarem um ciclo vegetativo mais longo em comparação as cultivares diploides (Farinatti et al., 2006).

Atualmente a utilização da técnica de ensilagem pré-secada vem se tornando mais comum e também a utilização de inoculantes microbianos, a fim de prolongar o tempo de conservação da forragem após o contato com ambiente aeróbico, contribuindo com a obtenção de um produto de melhor qualidade. Deve-se sempre lembrar que nenhum aditivo é capaz de substituir um bom manejo no processo de ensilagem e nem é capaz de cancelar os efeitos negativos de uma fermentação inadequada dentro do silo (Tjandraatmadja, 1991).

“Como alternativa para se obter melhor fermentação na silagem, tem sido o desenvolvimento de culturas de bactérias produtoras de ácido láctico, que são aplicadas na forragem durante a ensilagem” (Cleale et al., 1990).

O ideal seria que os aditivos tivessem capacidade de reduzir as perdas de matéria seca, aumentar a qualidade higiênica, limitar fermentações secundárias, aumentar a estabilidade aeróbia (Wardynski et al., 1993), incrementar o valor nutritivo da silagem e oferecer ao produtor ganhos financeiros consideráveis ao investimento inicial dessa tecnologia (Henderson, 1993)

Tudo deve ser feito para que as bactérias desejáveis entrem em ação o mais rápido possível, produzindo o ácido láctico e inibindo a ação dos microrganismos indesejáveis. Vários aditivos vêm sendo propostos e usados na redução da deterioração aeróbia, uma vez que eles têm propriedades antimicrobianas contra a microbiota representada pelos fungos que se desenvolvem na silagem em presença de ar (Muck, 1988).

Bolsen (1999) recomenda enfaticamente o uso de inoculantes bacterianos para todos os tipos de forragens ensiladas, baseando-se em resultados de mais de 200 estudos de laboratório e 28 ensaios práticos, onde os inoculantes melhoraram consistentemente a eficiência de fermentação em silagens de milho e sorgo forrageiro. De acordo com Sá Neto (2012) as plantas apresentam população epífita

de microrganismos que podem auxiliar na fermentação. No entanto, o uso de aditivos, principalmente inoculantes microbianos, tem o objetivo de garantir o domínio das bactérias ácido lácticas sobre a fermentação e após a abertura do silo. Segundo Valeriano (2007), a maioria dos inoculantes bacterianos para silagem contém uma ou mais espécies de bactérias ácido lácticas (BAL) homofermentativas, que são mais rápidas e eficientes produtoras de ácido láctico. Todavia, alguns estudos têm mostrado que o excesso de BAL pode piorar a estabilidade aeróbia das silagens em virtude da redução de concentração de ácido acético, que é mais eficiente em inibir o crescimento de leveduras (Ávila, 2007).

No Brasil, são poucos os trabalhos estudando a eficiência de inoculantes microbianos sobre a microbiota e sobre as características de fermentação e de deterioração aeróbia das silagens pré-secadas. Diante do exposto, estudos avaliando a qualidade microbiológica e bromatológica da silagem pré-secada de azevém são de grande importância, uma vez que esta forrageira é amplamente utilizada nos sistemas intensificados de produção de leite na região.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da aplicação de inoculante microbiano na silagem pré-secada de azevém, sob duas idades de corte, através de análises microbiológicas e bromatológicas comparativas entre os tratamentos.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Delineamento Experimental**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, sendo dois níveis de inoculante (0 e 5 litros/tonelada MN) e duas idades de corte (76 dias e 134 dias). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o procedimento MIXED do SAS (2002), e considerado efeito significativo quando  $P < 0,05$ . Todos os dados foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk para verificar a normalidade dos resíduos. O conjunto de dados que não respeitou tais premissas foi submetido às transformações logarítmicas. As médias dos tratamentos foram obtidas através do comando LSMEANS. Os efeitos dos tratamentos e interações foram definidos pelo teste F da análise de variância.

### **2.2 Plantio**

A área utilizada no experimento localiza-se no município de Carambeí, Paraná,

Brasil, na propriedade do Sr. Leendert Boer. O clima é do tipo subtropical úmido mesotérmico. A vegetação está inserida na Região Fitogeográfica de Estepe (Campo) e apresenta em seu território faixas de interpenetração de floras de contato: Estepe/Floresta Ombrófila Mista. (Santos et al., 2012)

Para o experimento foram utilizados 2,06 hectares. A análise de solo foi realizada na Fundação ABC, e apresentou os seguintes resultados: CTC de 95,30 mmol/dm<sup>-3</sup>, Soma de Bases de 62,30mmol/dm<sup>-3</sup> e saturação por bases em % de 65,37, e saturação por alumínio de 0,02%, níveis considerados satisfatórios para o cultivo do Azevém (*Lolium multiflorum*), de acordo com a Fundação ABC.

No dia 31/05/14 (15 dias antes do plantio), foi realizada a dessecação de plantas daninhas da área, através da pulverização com herbicida Glifosato, na dose de 2 litros por hectare, totalizando 4 litros para toda a área de experimento. No dia 05 de junho de 2014 foi realizado o plantio do Azevém (*Lolium multiflorum*), cv. Barjumb, tetraploide, conhecido pela alta produção de MS/ha/ano e resistência ao frio. Para o plantio foi utilizada uma semeadora de inverno com espaçamento entre linhas de 17cm e em seguida um rolo desterroador e compactador. Foram utilizados 37 kg de semente por hectare, com germinação estimada de 90% e pureza da semente aproximadamente de 95%.

### **2.3 Acompanhamento da Cultura**

Durante o crescimento e desenvolvimento do azevém, foram realizadas diversas visitas à propriedade para a medição de altura de dossel por meio de uma régua graduada, em 10 pontos aleatórios da área de experimento.

No dia 29 de junho (14 dias após o plantio), o azevém apresentou altura média de dossel de aproximadamente 10 cm, demonstrando boa germinação (Figura 1).



**Figura 1** – Área de azevém - 14 dias após implantação da cultura (29/06/2014)

A segunda visita foi realizada no dia 16 de julho e a cultura apresentou altura média de 18 cm (Figura 2). O desenvolvimento da planta foi prejudicado no período de 29 de junho a 16 de julho devido a um período de estiagem. Portanto, a cultura não apresentou crescimento esperado neste período.



**Figura 2** – Área de azevém - 31 dias após implantação da cultura (16/07/2014).

No dia 22 de julho foi realizada a adubação de cobertura, utilizando-se 150 kg/ha do adubo 25-0-25.

## 2.4 Corte e Ensilagem

O experimento consistiu de quatro tratamentos: duas idades de corte e uso ou não do inoculante. As idades de corte do azevém foram: Corte aos 76 dias após o plantio (IC76), e corte aos 134 dias após o plantio (IC134).

O corte foi realizado a 5 cm do solo, utilizando uma segadora de discos condicionadora da marca Kuhn. A altura média do azevém no corte (IC76) foi de 33 cm, no estágio vegetativo de emborrachamento. Foram colhidas três amostras do material, utilizando-se um quadrado com área de 0,25 m<sup>2</sup> para avaliar a produção de massa de forragem por hectare (Figura 3). As amostras foram pesadas e secadas em estufa de ventilação forçada a 55°C até peso constante.



**Figura 3** – Estimativa de altura de dossel e determinação da massa de forragem (20/08/2014).

O corte (IC134) foi realizado quando as folhas basais da planta já se encontravam em senescência, no dia 17 de outubro, aos 134 dias após o plantio. O material apresentou altura média de 63 cm, no estágio vegetativo de florescimento. Realizou-se o mesmo procedimento do tratamento IC76, sendo colhidas três amostras da área para determinar a produção de massa por hectare.

Após o corte do azevém, o material foi espalhado (Figura 4), para acelerar o processo de desidratação, utilizando um espalhador de forragens da marca Krone, modelo KW de 6 rotores. Após aproximadamente 24 horas o material foi enleirado, utilizando um ancinho enleirador da mesma marca, modelo Swadro 710/26.





**Figura 4** – Material cortado e espalhado. (20/08/2014).

Logo após a forragem ser enleirada, a mesma foi ensilada, utilizando uma enfardadora da marca Krone modelo Round Pack de câmara fixa, que confecciona bolas de pré-secado com 1,20 m de diâmetro e peso médio de cada bola de aproximadamente 400 kg. Logo após a confecção das bolas, as mesmas foram embaladas com a utilização de plástico resistente à radiação solar, com o objetivo de evitar que a silagem entre em contato com o ar, para que haja fermentação, utilizando um plastificador de bolas da marca iTanco, modelo 1310EH.

Ao redor da área do experimento havia uma quantidade considerável de árvores de grande porte, que em determinadas horas do dia proporcionavam sombra sobre a forragem que estava em processo de desidratação.

No tratamento IC76 foram produzidas 5 bolas com inoculante, enquanto no tratamento IC134 foram produzidas 13 bolas com inoculante. Para cada tratamento (idade de corte x uso ou não do inoculante) foram utilizadas 4 bolas, totalizando 16 bolas avaliadas no experimento.

## **2.5 Aplicação do Inoculante**

O inoculante utilizado era específico para gramíneas, composto pelas bactérias *Lactobacillus Plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*. A aplicação foi realizada com a máquina enfardadora. O inoculante foi diluído, pela adição de 100g do produto em 80 litros de água, sendo que cada tonelada do material fresco recebeu cerca de 5 litros do produto diluído.



## 2.6 Análises Bromatológicas

As análises bromatológicas foram realizadas no laboratório do Centro Mesoregional de Excelência e Tecnologia do Leite (CMETL), da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Foram colhidas amostras de vários pontos de cada bola de pré-secado, sendo estas devidamente identificadas por tratamento e congeladas até o término do experimento, para a realização das análises bromatológicas. Posteriormente, as amostras foram descongeladas, sendo uma parte secada em estufa com ventilação forçada a 55° C, até peso constante. Em seguida as amostras foram moídas em moinho tipo wiley, utilizando-se peneira com crivos de 1 mm.

Foram determinados os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM) de acordo com a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002). O NDT foi calculado segundo a equação descrita por Chandler (1990):  $\%NDT = 105,2 - 0,68 \times \%FDN$ . A estimativa dos carboidratos não fibrosos (CNF) foi determinada de acordo com a equação proposta por Weiss et al., (1992):  $\%CNF = 100 - (\%NDF + \%CP + \%EE + \%MM)$ .

## 2.7 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório do CMETL, de acordo com a metodologia descrita por Valeriano et al., (2009) e Salvo et al., (2013). Avaliou-se a concentração de bactérias ácido-láticas, fungos e leveduras em função dos tratamentos.

Antes de inocular as amostras, foram preparados os meios de cultura BDA e MRS, com o objetivo de avaliar o número de unidades formadoras de colônias de bactérias lácticas, fungos e leveduras. No preparo, diluíram-se os meios de cultura em água deionizada. Para o meio de cultura MRS ágar foi utilizado o MRS ágar - *Lactobacillus agar* da marca Merck KGaA e para o meio de cultura BDA ágar utilizou-se o BDA - Potato Dextrose Agar da marca Kasvi. Após a diluição, agitou-se o recipiente até que se atingisse a homogeneidade e em seguida o mesmo foi colocado em autoclave por aproximadamente 15 minutos a 120°C, para esterilização. Em seguida os meios de cultura foram vertidos em placas de pétri

esterilizadas e selados com filme plástico, para evitar contaminação, e armazenados em geladeira.

Para a análise microbiológica, seis *ependorfs* foram flambados em flama azul, e então se adicionou 900 microlitros de solução salina à concentração de 8,5% em cada *ependorf*. Em seguida a amostra foi diluída na proporção de 25 gramas em 225 mililitros de solução salina a 8,5%, para obtenção de amostra líquida. Então se diluiu 100 micro litros da amostra líquida em um *ependorf* com 900 micro litros de solução salina. Na primeira diluição obteve-se a concentração de  $10^{-1}$  e após a mistura desse, foram retirados mais 100 micro litros da diluição já preparada, que foram diluídos em outro *ependorf*, com 900 micro litros, obtendo-se a concentração de  $10^{-2}$ , e assim por diante até obter-se a concentração de  $10^{-6}$ .

Após o preparo das diluições, as mesmas foram inoculadas nas placas de pétri contendo os meios de cultura BDA e MRS. As placas de pétri inoculadas foram encaminhadas para estufa a 28°C e 35°C respectivamente, pelo período de 48 horas. Após este período as placas de pétri eram retiradas da estufa para contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), foram considerados valores válidos entre 30 e 300 unidades. O valor do número de UFC foi multiplicado pela concentração da diluição, assim obteve-se o número de bactérias em cada placa de pétri. Os resultados referentes às bactérias lácticas foram obtidos pela contagem de UFC em placas de pétri com meio de cultura MRS e os resultados referentes a fungos e leveduras foram obtidos pela contagem de UFC em placas de pétri com meio de cultura BDA. Como a contagem de UFC foi considerada significativa apenas com valores entre 30 e 300 colônias, algumas amostras não obtiveram resultados.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa de forragem por hectare do tratamento IC76 foi de 3.252 kg MS/há, com a produção de 10 bolas por hectare, enquanto o segundo tratamento IC134 foi de 6.738,7 kg MS/há, sendo 26 bolas por hectare. Com o avanço da idade de corte, há aumento na produção de massa, porém, a qualidade do material diminui, pois o mesmo passa a apresentar maior quantidade de material fibroso. A silagem permaneceu 9 meses em processo de fermentação, e no momento de abertura, as amostras apresentaram pH médio de 6,1.

Na Tabela 1 encontram-se os teores médios de matéria seca (MS) e

Carboidratos não fibrosos (CNF) e os valores de P em função dos tratamentos. Houve efeito de interação ( $P < 0,05$ ) entre a idade de corte e o uso de inoculante.

Tabela 1. Médias dos teores de Matéria seca (MS) e carboidratos não fibrosos (CNF), valores de P e efeito da interação do nível de inoculante (com e sem) e idade de corte (76 e 134 dias) da silagem pré-secada de azevém.

Idade de corte	Inoculante		EPM <sup>1</sup>	Idade de corte	Aditivo	Idade de corte*Aditivo
	Com inoculante	Sem inoculante				
<b>MS (%)</b>						
76 dias	66,8Aa	66,4Aa	0,96	0,49	0,06	0,04
134 dias	62,1Bb	68,9Aa				
<b>CNF (%)</b>						
76 dias	12,2Ab	14,9Aa	0,46	0,57	0,83	<0,01
134 dias	14,3Aa	11,9Bb				

Médias seguidas de letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste F. %CNF=  $100 - (\%NDF + \%CP + \%EE + \%MM)$  (Weiss et al., 1992).

No tratamento IC76, o valor médio para teor de MS foi de 68,38%, enquanto o tratamento IC134 apresentou 65,50% de MS. Estes valores são elevados quando comparados com o teor de MS de silagens pré-secadas encontrados na literatura. Em trabalhos realizados por Magalhães (2002), a silagem pré-secada de alfafa apresentou valores de MS entre 51,29% e 44,72%, valores menores que os obtidos no presente trabalho. Tais resultados podem ser explicados pelo prolongado período de desidratação da forragem no campo, que pode gerar alta variação no teor de MS da planta. Verificou-se diferença no teor de matéria seca em função da idade de corte ( $P > 0,05$ ) quando se utilizou o inoculante, sendo observada redução desta variável com maior idade de corte da forrageira. Por outro lado, para a silagem sem inoculante, o teor de MS foi semelhante entre as idades de corte. O resultado esperado seria que o material cortado com maior idade de corte (IC134) demonstrasse maior valor de MS por ser um material com maior teor de fibras, porém este resultado não procedeu por adversidades no processo de ensilagem, devido ao aumento da produção da forragem, que pode prejudicar a desidratação devido a grande quantidade material acumulado aos 134 dias.

Quando se analisaram os resultados em função da aplicação do inoculante,

observou-se que não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre ambos (uso ou não do inoculante) na idade de corte aos 76 dias, porém houve diferença ( $P>0,05$ ) na idade de corte aos 134 dias, onde o material que recebeu o inoculante apresentou menor teor de MS (62,1%) quando comparado com o controle (68,9%). Este resultado não tem relação com a aplicação do inoculante, uma vez que, em se tratando de uma mesma área experimental, tal diferença não deveria ser de tamanha magnitude. Desta forma, este resultado pode ser explicado pelo aumento da produção de massa que pode dificultar o processo de desidratação pelo acúmulo de material durante o corte e distribuição do material no campo. Outra hipótese seria a adição de água no processo de ensilagem. utilizada na diluição do inoculante.

Porém, em uma pesquisa realizada por Magalhães (2002) utilizando silagem pré-secada de alfafa (*Medicago sativa*) houve diferença nos teores de matéria seca entre o tratamento que recebeu inoculante (44,72%) do tratamento controle (51,29%). Uma das hipóteses sustentadas pelo autor é que a inoculação pode causar mudanças no perfil fermentativo da forragem e, conseqüentemente, produzir água, modificando o teor de MS, porém há pouca sustentação científica para tal hipótese.

Os valores de CNF apresentaram média de 13,55% para o tratamento IC76 e de 13,10% para o tratamento IC134, não havendo diferença ( $P>0,05$ ) no teor de CNF entre as idades de corte quando se utilizou o inoculante. No entanto, a forragem sem o uso de inoculante apresentou diferença ( $P>0,05$ ), com menor teor de CNF (11,90%) aos 134 dias de corte em comparação com o tratamento com inoculante (14,90%), aos 76 dias de corte. Trabalhos realizados por Neres et al., (2014) utilizando silagem pré-secada de Tifton 85 (*Cynodon spp*) mostraram diferença no teor de carboidratos solúveis entre o tratamento com adição de inoculantes (23,9%), em comparação com o tratamento controle (20,2%). O mesmo resultado não foi observado com a alfafa, que apresentou 2,97% e 2,44% de carboidratos solúveis para os tratamentos com inoculante e o controle, respectivamente (Magalhães, 2002). Os carboidratos solúveis levam em conta a quantidade de açúcares solúveis, enquanto os Carboidratos não fibrosos consideram os valores de açúcares solúveis e amido. Porém, tanto os carboidratos solúveis quanto o CNF fornecem substrato para o desenvolvimento das bactérias lácticas. Portanto, forragens ensiladas em estágio vegetativo mais avançado apresentam menor proporção de conteúdo celular e, portanto, de CNF, em função da maior concentração de parede celular, como

observado para o tratamento IC136, levando à diminuição de fontes de substrato para a fermentação e conservação do material ensilado.

Com relação ao uso ou não do inoculante para cada idade de corte, no tratamento IC76 observou-se diferença ( $P < 0,05$ ) na porcentagem de CNF, sendo esta menor (12,2%) para a silagem com inoculante em relação à silagem sem inoculante (14,9%). Este resultado não foi observado em outras pesquisas. Uma hipótese que pode explicar a diminuição na quantidade de CNF na silagem com o uso do inoculante é o fato das bactérias lácticas utilizarem os substratos fornecidos pelos CNF para o seu desenvolvimento. Este processo proporciona benefícios para a forragem ensilada, pois o ácido láctico produzido pelas bactérias é responsável pela conservação do material (Muck, 1988)

Por outro lado, quando a planta foi cortada mais tardiamente (IC134) o efeito do uso de inoculante foi contrário, ou seja, sua adição na silagem aumentou o teor de CNF. Uma hipótese para explicar tal resultado é pelo fato que a forragem, ao ser cortada com maior idade de corte, e conseqüentemente maior teor de fibras, prejudica o crescimento das bactérias lácticas pela dificuldade na compactação do material, resultando então, em um maior teor de CNF.

De acordo com os resultados, verifica-se que o uso de inoculante foi efetivo apenas na idade de corte ideal (IC76), em que se observou redução no teor de CNF devido ao consumo pelas bactérias para a fermentação láctica.

Na Tabela 2 encontram-se as médias dos teores de PB, NDT, EE, FDN, FDA e cinzas em função dos níveis de inoculante e da idade de corte da silagem pré-secada. Não houve efeito de interação ( $P > 0,05$ ) entre idade de corte e uso ou não do inoculante.

Tabela 2. Médias dos teores de Proteína Bruta (PB), nutrientes digestíveis totais (NDT), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e cinzas em função dos níveis de inoculante e do ponto de corte da silagem pré-secada de azevém.

Idade de corte	Inoculante		Média	Idade de corte	Aditivo	Idade de corte*Aditivo
	Com inoculante	Sem inoculante				
	<b>PB (%)</b>					
76 dias	11,5	12,1	11,8A	0,60	0,32	0,90
134 dias	11,1	11,8	11,5A			

<b>Média</b>	11,3 <sup>a</sup>	12,0 <sup>a</sup>				
<b>NDT (%)</b>						
76 dias	63,7	66,5	65,1A	0,03	0,16	0,11
134 dias	63,1	62,9	63,0B			
<b>Média</b>	63,4 <sup>a</sup>	64,7 <sup>a</sup>				
<b>EE (%)</b>						
76 dias	4,0	4,1	4,1A	0,46	0,69	0,43
134 dias	4,0	3,9	4,0A			
<b>Média</b>	4,0 <sup>a</sup>	4,0 <sup>a</sup>				
<b>FDN (%)</b>						
76 dias	61,0	56,9	59,0B	0,03	0,16	0,11
134 dias	61,9	62,2	62,1A			
<b>Média</b>	61,5 <sup>a</sup>	59,6 <sup>a</sup>				
<b>FDA (%)</b>						
76 dias	48,0	48,6	48,3B	<0,01	0,20	0,50
134 dias	51,9	53,8	52,9A			
<b>Média</b>	50,0 <sup>a</sup>	51,2 <sup>a</sup>				

Médias seguidas de letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste F. %NDT =  $105,2 - 0,68 \times \%NDF$ . (Chandler, 1990).

O teor de PB da silagem de azevém não sofreu alterações ( $P > 0,05$ ) em função da idade de corte e do uso de inoculante. Os teores médios de PB para o tratamento IC76 foi de 11,8% enquanto para o tratamento IC134 foi de 11,5%, valores próximos aos encontrados por Lemus (2009), com o azevém em estágio de início de inflorescência, que demonstram teores médios de PB de 12,9%.

Resultados semelhantes também foram observados por Magalhães (2002), Nowak et al., (2004) e Pereira et al., (2011) com relação à PB com a adição ou não de inoculante, quando análises comparativas foram realizadas com alfafa, azevém perene e capim-elefante, respectivamente, que não apresentaram diferença no teor de PB quando bactérias lácticas foram adicionadas à silagem.

Os valores médios de NDT para os tratamentos IC76 e IC134 foram de 65,1% e 63,0% respectivamente, havendo diferença significativa ( $P > 0,05$ ). Este resultado

pode ser explicado pela diferença na idade de corte, sendo que o azevém com idade menos avançada apresenta menor teor de fibras, que tem influência direta sobre o teor de NDT, havendo aumento na concentração energética da silagem.

Da mesma forma, os valores de EE foram semelhantes ( $P>0,05$ ) em relação às idades de corte e ao uso ou não de inoculante.

Também não foram observadas diferenças ( $P>0,05$ ) no teor de FDN e FDA com relação à adição do inoculante. Estes resultados são similares aos obtidos com os trabalhos realizados por Nadeau (1997), Magalhães (2002), Nowak et al., (2004) e Pereira et al., (2011), que não observaram o efeito do inoculante em silagem pré-secada de alfafa, tifton e silagem de capim elefante, respectivamente. Porém, quando comparados os teores médios de FDA, FDN com relação à idade de corte, nota-se que há diferença significativa, sendo que os teores de FDN e FDA aos 134 dias foram maiores, 62,1% e 52,9% respectivamente, quando comparados com os obtidos aos 76 dias, com 59,0% para FDN e 48,3% para FDA. Esse efeito pode ser explicado porque à medida que a planta avança no estágio de maturação, ocorre diminuição dos constituintes do conteúdo celular em função do aumento do teor de fibra (Rodrigues et al., 2004).

Na Tabela 3 encontram-se os resultados das análises microbiológicas da silagem pré-secada de azevém. Não houve interação ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos quanto à concentração de bactérias, fungos e leveduras.

Tabela 3. Valores médios de bactérias lácticas e fungos e leveduras em função dos níveis de inoculante e do estágio vegetativo da silagem pré-secada de azevém.

Idade de corte	Inoculante		EPM <sup>1</sup>	Idade de corte	Aditivo	Idade de corte*Aditivo
	Com inoculante	Sem inoculante				
<b>Bactérias lácticas</b>						
<b>(Log UFC/g MN)</b>						
76 dias	3,77	3,25	7464473,2	0,75	0,39	0,61
134 dias	5,03	3,94				
<b>Fungos e leveduras</b>						
<b>(Log UFC/g MN)</b>						
76 dias	3,95	3,83	334181,53	0,56	0,28	0,70
134 dias	4,96	2,64				

<sup>1</sup> Erro padrão da Média

Nos resultados relacionados com o crescimento de bactérias lácticas em meio de cultura MRS, nota-se que não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) com relação à idade de corte e à aplicação de inoculante. Na análise microbiológica observou-se que em algumas placas não houve crescimento considerável de microrganismos. Em trabalhos realizados por Pereira et al., (2007) utilizando a silagem de Capim Elefante (*Pennisetum purpureum*) na avaliação de duas marcas comerciais de inoculante e o controle, verificou-se a quantidade de 7,25 e 7,34 Log UFC/g MN para os tratamentos com inoculante e 7,17 Log UFC/g MN para o tratamento controle, o valor mais próximo encontrado no presente trabalho observado no tratamento com inoculante foi de 5,03 Log UFC/g MN. Os demais resultados não obtiveram valores próximos aos observados na literatura, pois algumas placas não obtiveram crescimento bacteriano.

Com relação aos resultados obtidos para as análises de fungos e leveduras em meio de cultura BDA, não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos com relação à idade de corte e à aplicação de inoculante. Estes resultados também foram observados por Pereira et al., (2007), que obtiveram valores de 3,25 Log UFC/g MN para o tratamento controle e entre 2,83 a 3,70 Log UFC/g MN de fungos e leveduras, para os tratamentos com inoculante. No presente trabalho foram obtidos valores entre 3,95 até 4,96 Log UFC/g MN para o tratamento com inoculante na IC76 e IC134 respectivamente, enquanto o tratamento sem inoculante obteve resultados entre 3,83 e 2,64 Log UFC/g MN para o tratamento sem inoculante na IC76 e IC134 respectivamente.

Apesar de algumas placas não apresentarem crescimento bacteriano, na obtenção dos resultados, nota-se que os tratamentos que receberam o inoculante microbiano apresentaram maior quantidade numérica de bactérias, ainda que este seja um resultado positivo, nota-se que os mesmos tratamentos também obtiveram maior quantidade numérica de fungos e leveduras do que os tratamentos sem inoculante, isto indica uma falha no funcionamento dos inoculantes, que ao diminuir o pH da silagem, deveriam inibir o crescimento de fungos e leveduras.

Para se obter efetiva fermentação do material ensilado, têm-se adotado algumas estratégias visando a produção de altos níveis de ácido lático e a rápida diminuição do pH durante a fermentação. Neste contexto, o uso de aditivos, como os



inoculantes bacterianos, destaca-se como alternativa disponível para tal objetivo (Pereira et al, 2007). O fato de não haver diferença significativa entre os tratamentos indica que a adição de bactérias lácticas não apresentou a ação esperada no crescimento de fungos e leveduras.

#### 4. CONCLUSÃO

A adição de inoculante em silagem pré-secada de azevém não demonstra efeito no teor de PB, NDT, EE, FDN e FDA. Porém, quando o material é cortado aos 76 dias há uma diminuição na quantidade de CNF no tratamento com inoculante, que indica um consumo dos carboidratos para o desenvolvimento bacteriano, porém quando a planta é cortada aos 134 dias o inoculante não surte efeito no teor de CNF, possivelmente devido ao alto teor de MS e alta produção de massa.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁVILA, C. L. S. 2007. Isolamento e uso de *Lactobacillus buchneri* na ensilagem de capim-mombaça e cana-de-açúcar.

BOLSEN, K.K. 1999. Silage management in North America in the 1990s. p. 233-244, In: T.P. Lyons and K.A. Jacques, **Biotechnology in the Feed Industry**.

BREESE, E. L. 1983. Exploitation of genetic resource through breeding: Lolium species. In: **Genetic Resources of Forage Plants** (Ed. G. Mclover and R. A. Bray). CSIRO 1983, Australia. 275-288.

CHANDLER, P. Energy prediction of feeds by forage testing explorer. **Feedstuffs**. 62(36):12, 1990.

CLEALE, R. M.; FIRKINS, J. L.; VAN DER BEEK, F.; CLARK, J. H.; JASTER, E. H.; MCCOY, G. C.; KLUSMEYER, T. H. 1990. Effect of inoculation of whole plant corn forage with *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus xylosus* on preservation of silage and heifer growth. **J Dairy Sci.**, v. 73, n. 3, p. 711-718, 1990.

FARINATTI, L.H.E., et al. 2006. Avaliação de diferentes cultivares de azevém no desempenho de bezerros. **Embrapa Clima Temperado**. n.166, p.3-16. 2006.

FEROLLA, F. S. et al. 2007. Produção de matéria seca, composição da massa de forragem e relação lâmina foliar/caule + bainha de aveia-preta e triticale nos sistemas de corte e de pastejo. In: **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1512-1517, 2007.

HARRISON, J. H.; Blauwiekel, R.; Stokes, M. R. 1994. Fermentation and utilization of grass silage. **J Dairy Sci**, v. 77, n. 10, p. 3209-3235, 1994.

HENDERSON, N. 1993. Silage additives. Anim. **Feed Sci. Technol.**, v. 45, n. 1, p. 35-36, 1993.

LEMUS, R., 2009. Utilization of annual ryegrass. Extension Forage Specialist. **Mississippi State University**.

MUCK, R. E. 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management. **J. Dairy Sci.**, v. 71, n 11, p. 2992-3002, 1988.

NADEAU, E.M.G., 1997. Cellulase and bacterial inoculant effects on cocksfoot and Lucerne ensiled at high dry matter levels. **J. Sci. Food Agric.** 73, 369-376.

NERES, M. A. ET AL. 2014. Use of additives and pre-wilting in Tifton 85 bermudagrass silage production. **Ciênc. agrotec. [online]**. 2014, vol.38, n.1, pp. 85-93. ISSN 1413-7054.

NOWAK, W.; POTKANSKI, A.; WYLEGALA, S. The effect of additives on quality and nutrient degradability and digestibility of round bale silage. 2004. **South African Journal of Animal Science**. 2004, num. 34, pag. 123.

PEREIRA, J.M., REZENDE, C.P.; RUIZ, M.A.M. 2005. Pastagem no ecossistema mata atlântica: atualidades e perspectivas. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 39. SBZ. Recife. p.36-51, 2005.

PEREIRA, J.R. & REIS, R.A. 2001. Produção de silagem pré-secada com forrageiras temperadas e tropicais. P. 64 – 86.

PEREIRA, O.G. et al., 2007. Composição química, caracterização e quantificação da população de microrganismos em capim-elefante cv. Cameroon (*Pennisetum purpureum*, Schum.) e suas silagens. **R. Bras. Zootec.** vol.36 no.6 Viçosa Nov./Dec. 2007.

PEREIRA, O.G.; FERREIRA, D.J.; LANA, R.P.; ZANINE, A.M.; SOUZA, A.L.; SANTOS, E.M.; SILVA, W.L. 2011. Perfil Fermentativo e Valor Nutritivo de Silagem de Capim-Elefante Inoculada com *Streptococcus bovis*. **Archivos de zootecnia** vol.60, num. 232, p. 1224. 2011.

RODRIGUES, A. L. P.; SAMPAIO, I. B. M.; CARNEIRO, J. C.; TOMICH, T. R.; MARTINS, R. G. R. 2004. Degradabilidade in situ da matéria seca de forrageiras tropicais obtidas em diferentes épocas de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 5, p. 658-664, 2004.

SÁ NETO, A. Caracterização microbiológica, parâmetros fermentativos e estabilidade aeróbia em silagens de forragens tropicais com aditivos microbianos. 2012. 114 p. Dissertação (Mestrado) – **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz** – USP, Piracicaba. 2012.

SALVO, P.A.R. et al., 2013. Características de silagens de milho inoculadas com *Lactobacillus buchneri* e *L. plantarum*. **R. Bra. Zootec**, p. 62. 2013.

SANTOS, E. N.; BARRETO, K. T.; ROCHA, C. H.; WEIRICH NETO, P. H., 2012. Uso das terras na bacia do Rio São João, Carambeí-pr. 10º CONEX, **Universidade Estadual de Ponta Grossa**, p. 0-6. 2012.

TJANDRAATMADJA, M., Norton, B.W., & MacRae, I.C. 1991. Fermentation patterns of forage sorghum ensiled under different environmental conditions. **World J. Microbiol. Biotechn.**, 7: 206-218.

VALERIANO, A. R. 2007. Aditivos Bacterianos na Ensilagem de Cana-de-Açúcar. 2007. 74 p. Dissertação (Mestrado Zootecnia) – **Universidade Federal de Lavras** – UFV, Lavras, 2007.

VALERIANO, A.R., et al. 2009. Efeito da adição de lactobacillus sp. na ensilagem de cana de açúcar. **R. Bra. Zootec**, v.38, n6, p1009-1017, 2009.

WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; PIERRE, N.R. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**. 39(1-2):95-110, 1992.