



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA E ADITIVOS MICROBIANOS EM
SILAGEM PRÉ-SECADA DE *TIFTON 85***

STÉFANE DE SOUSA CUNHA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Área de Concentração: Produção Animal, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Dourados - MS
Março – 2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA E ADITIVOS MICROBIANOS EM
SILAGEM PRÉ-SECADA DE *TIFTON 85***

STÉFANE DE SOUSA CUNHA

Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior

Co-orientadora: Dra Ana Carolina Amorim Orrico

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Área de Concentração: Produção Animal, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Dourados - MS

Março – 2018

BIOGRAFIA DO AUTOR

STÉFANE DE SOUSA CUNHA, filha de José Belo Cunha Filho e de Maria da Conceição de Sousa Cunha, nasceu em São Luís, no estado do Maranhão, no dia 20 de abril de 1991. Iniciou em 2010 o curso de Zootecnia na Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) concluído em 2015. Em março de 2016 iniciou no mestrado, na área de Produção Animal, do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) foi bolsista de mestrado da CAPES no período de agosto de 2016 a março de 2018.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C972i Cunha, Stefane De Sousa
INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA E ADITIVOS MICROBIANOS EM SILAGEM
PRÉ-SECADA DE TIFTON 85 [recurso eletrônico] / Stefane De Sousa Cunha. -- 2018.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Marco Antonio Previdelli Orrico Junior.
Coorientadora: Ana Carolina Amorim Orrico.
Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2018.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Cynodon spp. 2. glicerol. 3. inoculantes. 4. pré secado. 5. valor nutritivo?. I. OrricoJunior,
Marco Antonio Previdelli . II. Orrico, Ana Carolina Amorim. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

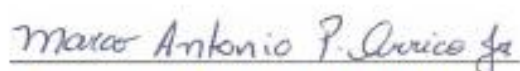
**INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA E ADITIVOS MICROBIANOS EM SILAGEM
PRÉ-SECADA DE TIFTON 85**

por

STÉFANE DE SOUSA CUNHA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título
de MESTRE EM ZOOTECNIA

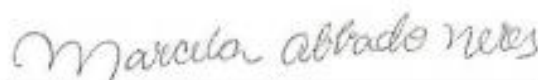
Aprovada em: 29/03/2018



Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior
Orientador – UFGD/FCA



Dr. Mábio Silvan José da Silva
UFGD/FCA



Dra. Marcela Abbado Neres
UNIOESTE/CCA

DEDICATÓRIA

Á Deus, que é o maior mestre da minha vida, por ter me dado saúde, força para superar as dificuldades e por permitir que tudo isso acontecesse ao longo de minha vida.

Aos meus pais, José Belo Cunha Filho e Maria da Conceição de Sousa Cunha, pelo amor, incentivo nas horas difíceis e pelo apoio incondicional, aos meus irmãos, Estela e Diego, a toda a minha família e amigos que contribuíram direta e indiretamente.

Muito Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida, saúde, proteção, bênçãos, família e pelos planos reservados para minha vida;

À Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD e ao Departamento de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade oferecida para a realização desta pós-graduação;

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior, pela oportunidade, orientação, pelos valiosos ensinamentos e pela amizade, muito obrigada;

A minha co-orientadora Dra. Ana Carolina Amorim Orrico, pela paciência e orientação;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado;

Aos meus colegas, de maneira especial a Sirio Douglas da Silva dos Reis,
Alice Watte Schwingel e Sanayra;

À empresa Delta Biocombustíveis Indústria e Comércio LTDA– PR, pelo fornecimento da glicerina empregada no experimento;

Ao funcionário administrativo, do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Ronaldo Pasquim, pela paciência e compreensão;

Aos meus colegas do grupo de pesquisa em Manejo de Forragens e Resíduos Agropecuários, pela colaboração nas atividades do experimento

Aos funcionários dos laboratórios; Elda, Gisely e Thiago;

A todos, que de alguma forma, contribuíram na realização deste trabalho.

“Entrega o teu caminho ao SENHOR,
confia nele, e o mais Ele fará”

Salmo 37.5

SUMÁRIO

	Página
FICHA CATALOGRÁFICA.....	II
FOLHA DE APROVAÇÃO.....	III
DEDICATÓRIA.....	IV
AGRADECIMENTOS.....	V
SUMÁRIO.....	VII
LISTA DE TABELAS.....	X
LISTA DE IMAGENS.....	XI
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
CAPÍTULO 1.....	3
RESUMO.....	4
ABSTRACT.....	5
REVISÃO DE LITERATURA.....	6
Estacionalidade das forrageira e a necessidade da conservação.....	6
Espécie forrageira <i>Cynodon spp</i>	6
Métodos de conservação de forragens.....	7
Aditivos no processo fermentativo.....	10
Glicerina bruta.....	10
Inoculantes microbianos.....	11
OBJETIVO.....	13
Objetivo geral.....	13
Objetivos específicos.....	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14
CAPITULO 2. INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA E ADITIVOS	
MICROBIANOS EM SILAGEM PRÉ-SECADA DE TIFTON 85.....	20
RESUMO.....	20
ABSTRACT.....	21
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
RESULTADOS.....	28
DISCUSSÃO.....	34
CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

APÊNDICE	44
IMPLICAÇÕES.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS

GB: Glicerina Bruta

MS: Matéria Seca

PMS: Perdas de Matéria Seca

PG: Perda por Gases

PE: Produção de efluentes

PT: Poder Tampão

MM: Matéria Mineral

CNF: Carboidrato não Fibroso

CHOT: Carboidratos Totais

PB: Proteína Bruta

FDN: Fibra Detergente Neutro

FDA: Fibra Detergente Acida

EE: Extrato Etéreo

UFC: Unidade Formadora de Colônia

DIVMS: digestibilidade *in vitro* da matéria seca

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Médias da composição bromatológica, pH e PT da forrageira <i>Tifton 85</i> acrescida de três níveis de glicerina (0, 60 e 120 g.kg da MN), dois tipos de inoculantes comerciais (INC e SIL) e forragem sem inoculante.....	22
Tabela 2. Tabela 2-Composição química e digetibilidade invitro das silagens pré-secada de capim <i>Tifton 85</i> com doses crescentes de glicerina (0, 60 e 120 g.kg da MN) e inoculantes microbiológicos comerciais (INC e SIL) na MS ensilada.....	27
Tabela 3. Tabela 2- Perdas fermentativas, pH, estabilidade aeróbia, digetibilidade <i>in vitro</i> , perfil fermentativo e população microbiana (Log UFC g-1) na silagem pré secada de capim <i>Tifton 85</i> com doses crescentes de glicerina (0, 60 e 120 g.kg da MN) e inoculantes microbiológicos comerciais (INC e SIL) na MS ensilada.....	31

LISTA DE IMAGENS

Página

CAPÍTULO 2

Figura 1. Comportamento da produção de Ácido Lático e tendência da linha em relação a inclusão das doses de glicerina bruta e inoculantes microbianos na silagem pré-secada de <i>Tifton 85</i>	28
Figura 2. Comportamento da produção de Ácido Acético e tendência da linha em relação a inclusão das doses de glicerina bruta e inoculantes microbianos na silagem pré-secada de <i>Tifton 85</i>	29
Figura 3. Comportamento da produção de Ácido Butírico e tendência da linha em relação a inclusão das doses de glicerina bruta e inoculantes microbianos na silagem pré-secada de <i>Tifton 85</i>	29
Figura 4. Comportamento da produção de Ácido Propiônico e tendência da linha em relação a inclusão das doses de glicerina bruta e inoculantes microbianos na silagem pré-secada de <i>Tifton 85</i>	30

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

No Brasil, a maioria das criações de ruminantes utiliza a pastagem como a principal fonte de alimento para o rebanho. A grande disponibilidade de área e o baixo custo de produção são os principais atrativos do sistema pastoril de produção. No entanto, a produtividade das espécies forrageiras não é constante no decorrer do ano, necessitando de práticas de conservação de forragem para garantir o fornecimento de alimento para o rebanho na época de escassez.

Em função da adaptação ao solo, clima e manejo as gramíneas acabam dominando a maioria das pastagens cultivadas no Brasil. Os capins tropicais, em sua grande maioria, caracterizam-se por apresentarem baixos teores de MS e de carboidratos solúveis, que associado aos elevados valores de poder tampão, prejudicam o processo de ensilagem e resultam em um produto pouco atrativo para os animais (BERGAMASCHINE et al., 2006). Por outro lado, o processo de fenação exige fatores climáticos específicos para que a desidratação da planta ocorra de maneira eficiente. A elevada umidade do ar e a ocorrência de chuvas frequentes dificulta a desidratação do material no campo e aumentam as perdas durante o armazenamento em função do crescimento de micro-organismos indesejáveis.

Para tentar resolver esse problema, alguns pesquisadores de várias partes do mundo vem estudando a produção da “Haylage”, que ficou conhecido no Brasil como silagem pré-secada. Este método de conservação consiste em submeter a planta a desidratação parcial (menor permanência da planta no campo) com posterior recolhimento e manutenção em ambiente anaeróbio (silo ou bag) para que ocorra a fermentação parcial do material. A redução da umidade aliada ao ambiente anaeróbio, reduz as perdas fermentativas e proporciona uma melhor conservação do capim.

A maioria das empresas que produzem a silagem pré-secada utilizam apenas aditivos microbianos para reduzir a proliferação de fungos e aumentar a estabilidade aeróbia do pré secado. No entanto, a inclusão de aditivos nutritivos do tipo energético, em conjunto com os microbiológicos, poderia contribuir na melhoria da qualidade fermentativa e também no valor nutritivo das silagens de capim.

A glicerina é um exemplo de aditivo energético que pode melhorar o processo de fermentação das silagens (DUARTE, 2015; SÚDEKUM, 2008; ORRICO JUNIOR et al, 2017). Essas pesquisas indicam que a adição de glicerina bruta reduz as perdas

fermentativas, além de melhorar significativamente a qualidade nutricional das silagens produzidas.

Com base no exposto, esta dissertação tem como objetivo principal avaliar a viabilidade técnica da utilização da glicerina bruta e de aditivos microbianos como aditivos para a produção de silagem pré-secada. Para isso, essa dissertação foi dividida em dois capítulos, sendo o Capítulo 1 uma revisão de literatura sobre o assunto a ser estudado e o Capítulo 2 um artigo científico redigido segundo as normas da revista “Grass and Forage Science”.

CAPÍTULO 1

INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA E ADITIVOS MICROBIANOS EM SILAGEM PRÉ-SECADA DE *TIFTON 85*

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inclusão de glicerina e aditivos microbianos sobre a qualidade fermentativa, características microbiológicas e nutricional da silagem pré-secada de capim *Tifton 85*. O experimento foi alocado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3, duas doses de glicerol (0, 60 e 120 da MN ensilada), e três tipos de inoculantes comerciais; (“SIL” composto por *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*, “INC” composto por *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici* e água destilada com cinco repetições por tratamento (mini silos experimentais). Os parâmetros avaliados foram: perdas de matéria seca e gases, pH, PT (Poder Tampão), EA (Estabilidade Aeróbica), composição bromatológica, ácidos graxos e digestibilidade *in vitro*. Também foram mensuradas as populações de bactérias mesófilas aeróbias facultativas, ácido-láticas, fungos filamentosos e leveduras. A inclusão de 120 gramas de glicerina bruta, em relação ao tratamento controle, apresentou menores perdas de gás (531,4 gramas a menos de perda comparada a testemunha), menor pH (4,84) e melhorou a qualidade da fibra ao reduzir os teores de FDN, FDA, Hem, celulose. A inclusão de glicerina bruta contribuiu para diminuição das perdas fermentativas e melhorou a composição bromatológica das silagens pré-secada. A inclusão do inoculate SIL aumentou o pH (5,08) da silagem em relação ao tratamento sem inoculante microbiano (4,92). Não houve diferença significativa entre as populações de fungos filamentosos, leveduras, bactérias ácido láticas e bactérias mesófilas pois obtiveram maior ($P < 0,05$) em função das doses de glicerina bruta e inoculantes microbianos na silagem pré-secada de *Tifton 85*.

Palavras chave: *Cynodon spp*, glicerol, inoculantes, pré-secado, valor nutritivo.

INCLUSION OF GROSS GLYCERIN AND MICROBIAL ADDITIVES IN TIFTON PRE-SECOND SILAGE 85

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of the inclusion of glycerin and microbial additives on the fermentation quality, microbiological and nutritional characteristics of pre-dried Tifton 85. The experiment was allocated in a completely randomized design, in a 3x3 factorial scheme, two doses of glycerol (0, 60 and 120 of MN ensila), and three commercial inoculant types; ("SIL" composed of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*, "INC" composed of *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* and distilled water with five replicates per treatment (experimental mini-silos). The parameters evaluated were: losses of dry matter and gases, pH, PT (Buffer Power), EA (Aerobic Stability), bromatological composition, fatty acids and in vitro digestibility. The populations of facultative aerobic, acid-lactic, filamentous fungi and yeast were also measured. The inclusion of 120 grams of crude glycerin in relation to the control treatment had lower gas losses (531.4 grams less than loss compared to control), lower pH (4.84) and improved fiber quality by reducing contents of NDF, FDA, Hem, cellulose. The inclusion of crude glycerin contributed to decrease fermentation losses and improved the bromatological composition of the pre-dried silages. The inclusion of inoculate SIL increased the pH (5.08) of the silage in relation to the treatment without microbial inoculant (4.92). There was no significant difference between the populations of filamentous fungi, yeasts, lactic acid bacteria and mesophilic bacteria, since they obtained higher ($P < 0.05$) as a function of crude glycerin doses and microbial inoculates in pre-dried Tifton 85 silage.

Key words: *Cynodon* spp, glycerol, inoculants, pre-dried, nutritive value

REVISÃO DE LITERATURA

Estacionalidade das forrageiras e a necessidade da conservação

A estacionalidade da produção de forragens é reconhecida como um dos principais fatores responsáveis pelos baixos índices de produtividade da pecuária brasileira, haja vista que os elevados níveis de produção animal, obtidos na estação chuvosa, são comprometidos pela baixa produção de massa durante o período seco do ano, época em que ocorre acentuada redução no crescimento e na qualidade das plantas forrageiras de clima tropical (REIS et al., 2014).

Diante deste impasse torna-se necessário o uso de técnicas que venham a suplantar efeito da baixa produção e qualidade das forrageiras, sejam elas tropicais ou temperadas, proporcionando ao rebanho alimentação de qualidade em épocas críticas, permitindo a manutenção e/ou incremento da produção animal (FIORELLI et al., 2012). A conservação de forragens visa minimizar os efeitos da sazonalidade na produção de forragens, onde esse excedente produzido no período chuvoso é armazenado para ser fornecido aos animais no período de estiagem. Esse processo de conservação dá-se principalmente através dos processos de fenação ou de ensilagem (RODRIGUES, 2010).

Espécie forrageira *Cynodon spp*

As gramas bermuda *Cynodon dactylon* e estrela *Cynodon nlemfuensis* constituem os dois grupos de gramíneas forrageiras mais importantes do gênero *Cynodon*. O grupo “bermuda” é composto por espécies rizomatosas, enquanto o grupo “estrela” é formado por espécies robustas, não rizomatosas, nativas da África Oriental (SOLLENBERGER, 2008).

Segundo Pedreira (2005) a cultivar *Tifton 85* é um híbrido F1 estéril resultado do cruzamento do *Tifton 68* (*Cynodon nlemfuensis*) com uma introdução de *Cynodon dactylon*, proveniente da África do Sul (PI 290884). É uma planta perene, estolonífera e rizomatosa apresentando maior porte, cor verde mais escura, disseminação mais rápida e mais digestível, porém menos resistente ao frio que a cultivar *Tifton 78*, colmos e folhas mais finos do que os do *Tifton 68* e maiores do que os do *Coastcross- 1*.

Este híbrido foi liberado para plantio em 1993, sendo considerado o melhor híbrido até o momento. Este ganhou importância pela maior produtividade de matéria

seca, maior resposta à adubação, maior digestibilidade, maior teor de proteína bruta e boa relação cálcio:fósforo. Estas características favorecem a produção animal, sendo utilizado nos mais diversos sistemas produtivos (HILL et al., 1993; HANCOCK et al., 2010).

Por ser um país de clima predominantemente tropical, o Brasil apresenta um grande potencial para produção de forragem com o uso de gramíneas do gênero *Cynodon*. Entretanto, são insuficientes as informações sobre o comportamento e o manejo desse gênero, nas diversas condições edafoclimáticas brasileiras. Decorrente desta situação, é frequente a utilização de cultivares não adaptadas às condições edafoclimáticas de cultivo, com o plantio das forrageiras em solos de baixa fertilidade, não corrigidos e/ou com ausência de reposição de nutrientes (ATHAYDE et al., 2007).

O *Tifton 85* é atualmente mais empregado na produção de feno, no entanto a sua utilização no processo de ensilagem é uma alternativa quando as condições climáticas não permitem a fenação (BUMBIERIS JR. et al., 2007). Contudo, é importante destacar que gramíneas do gênero *Cynodon* apresentam alguns aspectos desfavoráveis à ensilagem, como baixo teor de carboidratos solúveis e baixo teor de MS no momento ideal do corte, sendo necessárias estratégias que minimizem essas desvantagens (ÁVILA, 2015).

Métodos de conservação de forragens

Existem diversos métodos de conservação de forragens para alimentação animal, todos visando manter a qualidade nutricional do alimento o mais próximo possível do momento da colheita. As maneiras mais utilizadas para conservação de forragens são sob a forma de fenos, caracterizada por alimentos mais secos, acima de 80% de matéria seca, isentos de processo fermentativos, silagens, onde esta outra forma é caracterizadas por teores de matéria seca variando entre 30 e 40%; e a terceira forma de conservação, menos utilizada quando comparada as outras duas, são as silagens pré-secadas caracterizadas por teores de matéria seca intermediária aos dois primeiros métodos (BERNARDES e RÊGO, 2014).

Segundo Nogueira (2012), o processo de fenação consiste em conservar o valor nutritivo da forragem por meio da rápida desidratação da planta. Após o corte, a perda de umidade ocorre de forma rápida até o nível de 45 a 50%, quando a maior parte da água presente na planta já foi eliminada. A partir daí e até o ponto de feno (15 a 20% de umidade), a secagem torna-se cada vez mais lenta, até que a umidade do feno entre em

equilíbrio com a umidade do ar (EVANGELISTA et al. 2011). A desidratação da planta é composta por três etapas que diferenciam entre si pela duração e a pela velocidade de perda de água.

A primeira etapa de secagem é caracterizada pela rapidez, pois as perdas de água ocorrem por transpiração (via estômatos). O teor de umidade da planta reduz para aproximadamente 60-65% (CALIXTO et al., 2012).

Na segunda etapa, a perda de água acontece via evaporação cuticular que por possuir a função de proteção da planta contra a desidratação reduz bastante a taxa de perda de água, fazendo desta etapa a mais duradoura.

Na etapa final ocorre a plasmólise da membrana celular, assim as células das plantas perdem sua permeabilidade seletiva e conseqüentemente as perdas de água e de nutrientes se intensificam. Esta fase se inicia quando a umidade da planta atinge cerca de 45%, sendo menos influenciada pelo manejo e mais sensível às condições climáticas do que as anteriores, principalmente à umidade relativa do ar e ou chuvas (MOSER, 1995).

Evangelista et al. (2011) ressaltam a importância dos serviços de informação meteorológica que descrevem a possibilidade de chuva prevista, pois o comportamento pluviométrico ao longo do dia, as temperaturas máxima e mínima do dia, a velocidade e a direção dos ventos e a umidade relativa do ar, pois a umidade dificulta a perda de água pelas plantas no campo e também colaboram para aumentar as perdas durante o armazenamento decorrente do crescimento de microorganismos indesejáveis. Os mesmos autores recomendam observar um intervalo médio de quatro dias para segurança na realização das etapas que vão do corte até o armazenamento do feno .

A fenação, em comparação com a silagem, é menos utilizada no Brasil em decorrência do elevado custo de produção, devido a necessidade de equipamentos adequados para o corte, reviragem e enfardamento além do grande risco de perdas por chuvas quando o feno é secado a campo (NERES & AMES 2015).

Já o processo de ensilagem consiste na conservação do material por meio de fermentação ácida, que é realizada principalmente por bactérias ácido lácticas, onde convertem os carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico, sob condições anaeróbias, resultando em queda do pH e conseqüentemente o controle de microorganismos indesejáveis como bacterias (Clostrídios, Enterobactérias e Listeria), leveduras, fungos e da atividade enzimática de plantas, assim com o mínimo aquecimento e ocorrência de reações de Maillard (JÚNIOR, 2012).

As concentrações marginais de carboidratos solúveis na matéria seca e os baixos teores de matéria seca, colocam em risco o processo de ensilagem (OLIVEIRA et al, 2009). Além de prejudicar a fermentação, a ensilagem de forragens com alto teor de umidade resulta na produção de elevadas quantidades de efluente. O efluente contém grande quantidade de compostos orgânicos e de minerais provenientes do material ensilado (REZENDE et al., 2008). Essas características colocam em risco o processo de conservação, mas, limitações dessa natureza podem ser parcialmente controladas pelo aumento na porcentagem de matéria seca (RODRIGUES, 2010).

A técnica do emurchecimento possibilita a ensilagem de plantas forrageiras colhidas com baixo teor de matéria seca, em um processo simples, em que as fermentações indesejáveis são facilmente controladas pela diminuição da atividade de água ou elevação da pressão osmótica (RODRIGUES 2010).

A produção de silagem pré-secada é o método consiste submeter a planta a uma desidratação parcial (entre 40 e 60% de umidade) com posterior recolhimento e manutenção em ambiente anaeróbio (silo ou bag) para que ocorra a fermentação parcial do material (JIMENEZ et al, 2013). Este método possui a vantagem de não deixar a forragem no campo por um período longo de tempo, pois a umidade necessária para o processo é atingida em poucas horas após o corte. Isso é benéfico, pois reduz o tempo de exposição e possibilidades de ocorrência de chuvas durante a colheita, ao contrário do feno que necessita de períodos maiores de tempo para atingir a umidade indicada (BRAGACHINI et al., 2008).

A remoção parcial de água da planta restringe a extensão da fermentação durante o processo de conservação da forragem, reduzindo a atividade da água (A_w). Bactérias do gênero *Clostridium* não toleram tais condições, o que reduz a incidência de fermentações secundária e resulta na estabilização do pH mais elevado (5,0) (RODRIGUES, 2010). Por outro lado, bactérias ácido lácticas responsáveis pela fermentação desejável, apesar de serem menos sensíveis, também possuem limites de tolerância a pressão osmótica. Por isso é importante considerar a relação entre o conteúdo de matéria seca (%MS) e o pH da forragem (ÁVILA et al., 2006). O nitrogênio protéico também tende a ser preservado com o aumento no teor de MS da planta, melhorando assim a qualidade do produto final e conseqüentemente o consumo pelos animais (RODRIGUES, 2010).

O uso de aditivos tem-se mostrado eficiente em acelerar o processo de fermentação, reduzir a perda de nutrientes e a degradação de proteína e melhorar a

digestibilidade da fibra e o valor nutritivo das silagens (McDonald et al., 1991). Essa associação entre emurchecimento e uso de aditivos visa melhorar a fermentação e o valor nutritivo da silagem (CASTRO et al., 2006).

Aditivos no processo fermentativo

Os aditivos podem ser utilizados para favorecer o processo fermentativo forrageiras que não apresentam condições ideais para serem ensiladas (baixo teor de MS, baixo teor de carboidratos solúveis, elevada capacidade tampão e flora epífita deficiente para realizar o adequado processo fermentativo). Os aditivos têm dois principais propósitos que são influenciar o processo fermentativo e melhorar o valor nutritivo do produto final. Uma ampla variedade de aditivos podem ser utilizados na produção de ensilados, os principais incluem inoculantes bacterianos, enzimas sintética, sequestrantes de umidade e aditivos químicos (BRAVO-MARTIN et al., 2006; NUSSIO e SCHMIDT, 2004 e REIS, 2001).

O uso de aditivos microbiológicos tem sido aplicado com o objetivo de favorecer a fermentação em anaerobiose e a aumentar estabilidade aeróbia de silagem (NEUMMAN et al., 2010). Aditivos químicos, também, são utilizados para inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis, com finalidade de aumentar o tempo de estocagem e melhorar o valor nutritivo (DOMINGUES et al., 2011).

Glicerina bruta

Os aditivos químicos mais utilizados para promover o aumento dos teores de carboidratos solúveis da silagens são: polpa cítrica, milho moído, resíduo da indústria de frutas, casca de café e melaço. Esses aditivos promovem melhorias do processo fermentativo além de promover melhoras na qualidade nutricional do produto final. Recentemente a glicerina bruta passou a ser testada como um aditivo no processo de ensilagem de gramíneas tropicais .

Os resultados mostraram melhorias na densidade energética da silagem, aumentando o EE, MS e PB e houve também redução nas perdas fermentativas a medida que aumentaram a dose de glicerina, isso ocorreu devido a diminuição da atividade metabólica de alguns microrganismos prejudiciais ao processo (DIAS et al., 2014).

Segundo Sousa Filho et al. (2012) o glicerol, principal constituinte da glicerina bruta, pode ser utilizado como fonte de carbono para a fermentação anaeróbia dos micro-organismos, além de melhorar da degradabilidade e digestibilidade das silagens (GOMES, 2013). Gomes et al. (2015) também observaram melhoria na composição químico-bromatológico de silagem de milho com a adição de glicerina bruta, com conseqüente aumento da digestibilidade “in vitro”, além de uma maior estabilidade aeróbia da silagem.

Por possuir baixos teores de umidade, a glicerina bruta, também pode ser utilizada como um aditivo sequestrante de umidade. Segundo Dias et al, (2014) a adição de glicerina bruta aumentou os teores de MS das silagens de cana de açúcar, reduzindo as perdas por efluentes e promovendo aumento da densidade do material ensilado.

Apesar de apresentar resultados positivos, o uso da glicerina bruta no processo de ensilagem ainda não está consolidado, sendo necessários maiores estudos para comprovar sua eficácia. Segundo Ramos et al. (2011) a glicerina bruta não pode ser adicionada em mais de 200 gramas por quilo grama na dieta, pois valores acima deste levam a queda significativa da ingestão por parte dos animais, principalmente nos casos em que se utilizam glicerinas com baixos teores de glicerol (baixa pureza, menores que 80%).

Segundo Vendramini et al, (2016) o principal problema das silagens pré-secada esta na menor taxa de fermentação (em função do menor crescimento microbiano) quando comparado com as silagens tradicionais. Segundo os autores, as silagens pré-secda com pH muito elevado, acima de 4,6 contribui para o crescimento de fungos e leveduras que deterioram o material ensilado aumentando as perdas e a qualidade. Em experimento realizado com silagem pré-secada de *Tifton-85* e com a adição de 200 g.kg⁻¹da MN de melaço de cana, os autores conseguiram reduções significativas nos valores do pH, além de promoverem maiores produções de ácido lácticos quando comparada a atestemunha. Por possuir carboidratos prontamente disponíveis para os micro-organismos, acredita-se que a glicerina bruta pode trazer as silagens pré-secada os mesmos benefícios encontrados para o melaço de cana de açúcar.

Inoculantes microbianos

Os aditivos microbianos são classificados como estimulantes da fermentação ou inibidores da deterioração aeróbia e são empregados por meio da adição de culturas bacterianas, são os aditivos mais utilizados e estudados (MUCK, 2013). Os produtos

comercializados, atualmente, incluem bactérias lácticas homofermentativas, heterofermentativas, *Propionibacterium* ou a sua associação. Os efeitos da inoculação com espécies de bactéria do ácido láctico (BAL) são atribuídos ao aumento da população desses microrganismos na silagem, a alta produção de ácidos, a aceleração do estabelecimento da anaerobiose, ao aumento na concentração dos ácidos acético e propiônico que inibem fungos filamentosos e leveduras e a produção de bacteriocinas (DUNIÈRE et al., 2013).

O uso de combinações de bactérias homoláticas e heteroláticas tem sido estudado em silagens de milho, trigo, alfafa e gramíneas forrageiras, a fim de se aliar o efeito positivo das homoláticas na fermentação decorrente do rápido abaixamento do pH, causado pela elevada produção de ácido láctico e as vantagens das bactérias heteroláticas após a abertura, em razão da produção de ácido acético, eficiente no controle de fungos e leveduras (HU et al., 2009; QUEIROZ et al., 2012).

Os microrganismos homofermentativos caracterizam pela taxa de fermentação mais rápida, menor proteólise, maior concentração de ácido láctico, menores teores de ácidos acético e butírico, além de maior recuperação de energia e matéria seca. Bactérias heterofermentativas utilizam ácido láctico e glicose como substrato para produção de ácido acético e propiônico, os quais são efetivos no controle de fungos, sob baixo pH (ZOPOLLATTO et al., 2009).

A utilização de aditivos compostos por bactérias heteroláticas tem sido utilizado para controlar a população de leveduras, o que reduz a fermentação alcoólica na massa ensilada e melhora a estabilidade aeróbia, tanto em silagens de milho (TABACCO et al., 2011), quanto de cana-de-açúcar (MENDES et al., 2008; ÁVILA et al., 2012). Cardoso (2013) observou menores perdas por gases nos tratamentos contendo 0,5% de cal e 0,5% de ureia, em relação ao tratamento de cana-de-açúcar com *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*, entretanto, não diferiram das perdas por gases na silagem de cana não tratada.

Os aditivos microbioanos apresentam facilidade na sua utilização, não oferecem riscos à saúde, não são corrosivos, não poluem o meio ambiente e são facilmente conservados (FILYA et al., 2000; PINHEIRO, 2008).

O uso de inoculantes microbiológicos em silagens tem o objetivo de impedir o crescimento de microrganismos aeróbios, especialmente aqueles associados com instabilidade aeróbia, por ex: leveduras, *Listeria*, e de organismos anaeróbios indesejáveis como as enterobactérias e os clostrídeos, além de restringir a atividade de proteases e

deaminases da planta e de microrganismos, adicionar microrganismos benéficos para dominar a fermentação, formar produtos finais benéficos para estimular o consumo e a produção do animal e melhorar a recuperação de matéria seca da forragem conservada (KUNG Jr. et al, 2003)

OBJETIVO

Objetivo geral

O objetivo do trabalho foi composto por duas hipóteses: 1) A adição de glicerina bruta reduz as perdas fermentativas e incrementa a síntese de ácidos graxos de cadeia curta e o valor nutricional das silagens pré-secada de *Tifton 85*. 2) Os aditivos microbianos “SIL” (composto por *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*) e “INC” (composto por *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*) potencializam os efeitos da glicerina bruta sobre os parâmetros fermentativos e a estabilidade aeróbia.

Objetivos específicos

Avaliar o efeitos da inclusão de glicerol (0, 60 e 120 gramas na Materia Verde ensilada) nas perdas fermentativas, pH, produções de ácidos graxos de cadeia curta, composição química, estabilidade aeróbia e nas populações de micro-organismos das silagens pré-secada de *Tifton -85*.

Avaliar o efeito da inclusão dos aditivos microbianos SIL e INC (em conjunto ou não com a glicerina bruta) nas perdas fermentativas, pH, produções de ácidos graxos de cadeia curta, composição química, estabilidade aeróbia e nas populações de micro-organismos das silagens pré-secada de *Tifton -85*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATHAYDE, A. A. R.; CARVALHO, R. C. R.; MEDEIROS, L. T.; VALERIANO, A. R.; ROCHA, G. P. Gramíneas do gênero *Cynodon*: cultivares recentes no Brasil. (Boletim Técnico, 73). UFLA, 2007.

ANDRÉ SANCHES DE AVILA. Silagem de *tifton 85* na alimentação de vacas em lactação. 2015. 68f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 2015.

ÁVILA, C.L. da S.; PINTO, J.C.; OLIVEIRA, D.P.; SCHWAN, R.F. Aerobic stability of sugar cane silages with a novel strain of *Lactobacillus sp.* isolated from sugar cane. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.41, p.249-255, 2012.

BERNARDES, T. F.; RÊGO, A. C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, v.97, p.1852-1861, 2014.

BRAGACHINI, M., CATTANI, P., GALLARDO, M., PEIRETTI, J. Forrajes conservados de alta calidad y aspectos relacionados al manejo nutricional. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 2008.

BRAVO-MARTINS, C.E.C.; CARNEIRO, H.; CASTRO-GÓMEZ, R.J.H.; FIGUEIREDO, H.C.P.; SCHWAN, R.F. Chemical and microbiological evaluation of ensiled sugar cane with different additives. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.37, p.499-504, 2006.

BUMBIERIS JUNIOR, V.H.; DIAS, F.J.; KAZAMA, R. et al. Degradabilidade ruminal e fracionamento de carboidratos de silagens de grama estrela (*Cynodon nlemfuensis vanderyst.*) com diferentes aditivos. *Semina: Ciências Agrárias*, v.28, n.4, p.761-772, 2007.

CALIXTO JUNIOR, M.; JOBIM, C.C.; CECATO, U.; SANTOS, G.T.; BUMBIERIS JUNIOR, V. H. Curva de desidratação e composição químico-bromatológica do feno de grama-estrela (*Cynodon nlemfuensis Vanderyst*) em função do teor de umidade no enfardamento. *Semina: Ciências Agrárias*, v.33, n.6, p.2411-2422, 2012.

CARDOSO, L.L. Silagem de cana-de-açúcar tratada com aditivos químicos e microbianos: composição química e desempenho de vacas em lactação. 2013. 67p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2013.

CASTRO, F.G.F. ; NUSSIO, L. G.; HADDAD, C. M.; CAMPOS, F. P.; COELHO, R. M.; MARI, L. J.; TOLEDO, P. A. Características de fermentação e composição químico-bromatológica de silagens de capim-*tifton 85* confeccionadas com cinco teores de matéria seca. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, n.1, p.7-20, 2006.

COAN, R.M.; VIEIRA, P.F.; SILVEIRA, R.N.; REIS, R.A.; MALHEIROS, E.B.; PEDREIRA, M.S. Inoculante enzimático-bacteriano, composição química e parâmetros 23 fermentativos das silagens dos capins Tanzânia e Mombaça. Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, p.416-424, 2005.

DOMINGUES, F.N.; OLIVEIRA, M.D.S.; SIQUEIRA, G.R.; ROTH, A.P.T.P.; SANTOS, J., MOTA, D.A. Estabilidade aeróbia, pH e dinâmica de desenvolvimento de microrganismos da cana-de-açúcar in natura hidrolisada com cal virgem. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.40, p.715-719, 2011.

DIAS, A.M.; ÍTAVO, L.C.V.; ÍTAVO, C.C.B.F. Ureia e glicerina bruta como aditivos na ensilagem de cana-de-açúcar. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.66, p.1874-1882, 2014.

DUARTE, J. A. V. Glicerina bruta na ensilagem de *Urochloa brizantha* cv. Piatã. 2015. 52f. Dissertação de Mestrado (Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, 2015.

DUNIÈRE, L. et al. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. Animal Feed Science and Technology, Amsterdam, v. 182, p. 1-15, May 2013.

EVANGELISTA, A.R.; REIS, R.A.; MORAES, G. Fatores limitantes para adoção da tecnologia de fenação em diferentes sistemas de produção animal. Editores: Jobim, C.C.;

Cecato, U.; Canto, M.W. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. Anais.IV p.271-292, 2011.

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.

IORELI, A. B.; LUCIANE RUMPEL SEGABINAZZI, L.R.; STANQUEVISKI, F.; SCHIMTZ, G.R.; MOLINETI, M.L. Produção de forragem dos cultivares de Azevém no Sudoeste do Paraná. II Congresso de Ciência e Tecnologia da UTFPR. 2012.

GOMES, M. A. B. Glicerina na qualidade de silagens de cana-de-açúcar e de milho e na produção de oócitos e de embriões in vitro de bovinos. 2013. 90f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, 2013.

GOMES, M. A. B; MORAES, G.V; JOBIM, C.C; SANTOS, T.C; OLIVEIRA, T.M; ROSSI, R.M. Nutritional composition and ruminal degradability of corn silage (*Zea mays* L.) with addition of glycerin in silage- *Semina: Ciências Agrárias*, v. 36, n. 3, suplemento 1, p. 2079-2092, 2015

HANCOCK, D.W.; EDWARDS, N.R.; GREEN, T.W. et al. 2010. Selecting a forage bermudagrass variety. University of Georgia, Cooperative Extension Colleges of Agricultural and Environmental Sciences. 2010

HILL, J.; LEAVER, J.D. Changes in chemical composition and nutritive value of urea treated whole crop wheat during exposure to air. *Animal Feed Science and Technology*, v.66, p.181-195, 2002.

HU, W.; SCHMIDT, R.J.; MCDONELL, E.E.; KLINGERMAN, C.M.; KUNG JUNIOR, L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *Journal of Dairy Science*, v.92, p.3907-3914, 2009.

JIMENEZ FILHO, D.L. Fenos e pré-secados. PUBVET, V. 7, N. 25, Ed. 248, Art. 1639, Suplemento 1, 2013.

JÚNIOR, W.G.F. Valor nutricional de silagens do capim-*tifton 85* em diferentes idades. 2012. 198f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

KUNG JR., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) Silage science and technology. Wisconsin: ASA; CSSA; SSSA, 2003. p.305-360.

MENDES, C.Q.; SUSIN, I.; NUSSIO, L.G.; PIRES, A.V.; RODRIGUES, G.H.; URANO, F.S. Efeito do *Lactobacillus buchneri* na fermentação, estabilidade aeróbia e no valor nutritivo de silagem de cana-de-açúcar. Revista Brasileira de Zootecnia, v.37, p.2191-2198, 2008.

MOSER, L.E. 1995. Post-harvest physiological changes in forage plants. In: Post-harvest physiology and preservation of forages. Moore, K.J., Kral, D.M., Viney, M.K. (eds). American Society of Agronomy Inc., Madison, Wisconsin. p. 1-19, 1995.

MUCK, R. E. Advances in inoculants for silage. In: SYMPOSIUM ON STRATEGIC MANAGEMENT OF PASTURE, 2.; INTERNATIONAL Recent advances in silage microbiology. Agricultural and Food Science, Jokioinen, v. 22, n. 1, p. 3-15, Mar. 2013.

NERES, M.A ; AMES, J.P. Novos aspectos relacionados à produção de feno no Brasil. Scientia Agraria Paranaensis – SAP; ISSN: 1983-1471 Marechal Cândido Rondon, v. 14, p. 10-17, 2015.

NEUMANN, M.; OLIBONI, R.; OLIVEIRA, M.R.; FARIA, M.V.; UENO, R.K.; REINERH, L.L.; DURMAN, T. Aditivos químicos utilizados em silagens. Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia, Guarapuava, v3, p. 187-195. 2010.

NOGUEIRA, M. Aditivos químicos na ensilagem e fenação de capim-*tifton 85*. 2012. 68 f. Dissertação (mestrado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012 .

NUSSIO, L.G. e P. SCHIMDT. 2004. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de cana-de-açúcar. Em: II Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. UEM/CCA/DZO. p. 1-33. 2004.

ORRICO JUNIOR et al. The use of crude glycerin as an alternative to reduce fermentation losses and enhance the nutritional value of Piatã grass silage. R. Bras. Zootec 2017.

PEDREIRA, C G S. Capins do gênero *Cynodon*: histórico e potencial para a pecuária brasileira. In: Vilela, D., Resende, J. C. de, Lima, J. *Cynodon: Forrageiras que estão revolucionando a pecuária brasileira*, 1 ed. CNPGL-EMBRAPA. MG, p. 33-58, 2005.

PINHEIRO, G.E.V. Efeito do uso de diferentes inoculantes microbianos a fresco e liofilizados sobre a silagem de sorgo. 2008. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Pará, 2008.

QUEIROZ, O.C.M.; ADESOGAN, A.T.; ARRIOLA, K.G.; QUEIROZ, M.F.S. Effect of a dualpurpose inoculant on the quality and nutrient losses from corn silage produced in farmscale silos. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.3354-3362, 2012.

RAMOS, M. H.; KERLEY, M. S.; Effect of dietary crude glycerol level on ruminal fermentation in continuous culture and growth performance of beef calves. *Journal of Animal Science*, p. 892-899, 2011.

REZENDE, A. V.; GASTALDELLO JUNIOR, A. L.; VALERIANO, A. R.; CASALI, A. O.; MEDEIROS, L. T.; RODRIGUES, R. Uso de diferentes aditivos em silagem de capim-elefante. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, p. 281-287, 2008.

REIS, R. A. Conservação de Forragens como Estratégia para Otimizar o Manejo de Pastagens. In: *Anais ZOOTEC 2001*. Goiânia: Sebrae, 213 p, 2001.

REIS, R. A.; BERNARDES, T. F.; SIQUEIRA, G. R. Forragicultura: ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros. UFV, 714 p, 2014.

RODRIGUES, J.R.H. Aditivos químicos na ensilagem e fenação de capim-*tifton* 85. 2010. 68 f. Tese (doutorado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010.

SOLLENBERGER, L. E. Sustainable production systems for *Cynodon* species in the subtropics and tropics. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 37, p. 85-100, 2008.

SOUSA FILHO, L. M.; ROCHA, J. A.; SARAIVA, L. S.; ROCHA, J. R.; SOUSA, N. D. C.; GUIMARÃES, I. F.; OLIVEIRA, R. R.; LUZ JÚNIOR, G. E.; LIMA, F. L. Seleção de linhagens de microrganismos capazes de crescer em altas concentrações de glicerol, 2012.

SÜDEKUM, K. H. Co-products from biodiesel production. In: GARNSWORTHY, P. C.; WISEMAN, J. (Ed.). *Recent advances in animal nutrition*. Nottingham: Nottingham University Press, p. 210-219, 2008.

TABACCO, E.; PIANO, S.; REVELLOCHION, A.; BORREANI, G. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. *Journal of Dairy Science*, v.94, p.5589-5598, 2011.

VENDRAMINI, J. M. B; AGUIAR, A. D; ADESOGAN, A.T; SOLLENBERGER, L. E; ALVES; GALZERANO, L; SALVO, P; VALENTE, A.L; ARRIOLA, K.G; MA, Z.X; OLIVEIRA F. C. L. Effects of genotype, wilting, and additives on the nutritive value and fermentation of bermudagrass silage. 2016 American Society of Animal Science. All rights reserved. *J. Anim. Sci.* 2016.94:3061–3071. 2016.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J.L.P.; NUSSIO, L.G.. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais R. *Bras. Zootec.* July 2009.

CAPITULO 2. INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA E ADITIVOS MICROBIANOS EM SILAGEM PRÉ-SECADA DE *TIFTON 85*

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inclusão de glicerina e aditivos microbianos sobre a qualidade fermentativa, características microbiológicas e nutricional da silagem pré-secada de capim *Tifton 85*. O experimento foi alocado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3, duas doses de glicerol (0, 60 e 120 da MN ensilada), e três tipos de inoculantes comerciais; (“SIL” composto por *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*, “INC” composto por *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici* e água destilada com cinco repetições por tratamento (mini silos experimentais). Os parâmetros avaliados foram: perdas de matéria seca e gases, pH, PT (Poder Tampão), EA (Estabilidade Aeróbica), composição bromatológica, ácidos graxos e digestibilidade *in vitro*. Também foram mensuradas as populações de bactérias mesófilas aeróbias facultativas, ácido-láticas, fungos filamentosos e leveduras. A inclusão de 120 gramas de glicerina bruta, em relação ao tratamento controle, apresentou menores perdas de gás (531,4 gramas a menos de perda comparada a testemunha), menor pH (4,84) e melhorou a qualidade da fibra ao reduzir os teores de FDN, FDA, Hem, celulose. A inclusão de glicerina bruta contribuiu para diminuição das perdas fermentativas e melhorou a composição bromatológica das silagens pré-secada. A inclusão do inoculante SIL aumentou o pH (5,08) da silagem em relação ao tratamento sem inoculante microbiano (4,92). Não houve diferença significativa entre as populações de fungos filamentosos, leveduras, bactérias ácido láticas e bactérias mesófilas pois obtiveram maior ($P < 0,05$) em função das doses de glicerina bruta e inoculantes microbianos na silagem pré-secada de *Tifton 85*.

Palavras chave: *Cynodon spp*, glicerol, inoculantes, pré-secado, valor nutritivo.

CHAPTER 2. INCLUSION OF GROSS GLYCERIN AND MICROBIAL ADDITIVES IN TIFTON PRE-SECOND SILAGE 85

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of the inclusion of glycerin and microbial additives on the fermentation quality, microbiological and nutritional characteristics of pre-dried Tifton 85. The experiment was allocated in a completely randomized design, in a 3x3 factorial scheme, two doses of glycerol (0, 60 and 120 of MN ensila), and three commercial inoculant types; ("SIL" composed of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*, "INC" composed of *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* and distilled water with five replicates per treatment (experimental mini-silos). The parameters evaluated were: losses of dry matter and gases, pH, PT (Buffer Power), EA (Aerobic Stability), bromatological composition, fatty acids and in vitro digestibility. The populations of facultative aerobic, acid-lactic, filamentous fungi and yeast were also measured. The inclusion of 120 grams of crude glycerin in relation to the control treatment had lower gas losses (531.4 grams less than loss compared to control), lower pH (4.84) and improved fiber quality by reducing contents of NDF, FDA, Hem, cellulose. The inclusion of crude glycerin contributed to decrease fermentation losses and improved the bromatological composition of the pre-dried silages. The inclusion of inoculate SIL increased the pH (5.08) of the silage in relation to the treatment without microbial inoculant (4,92). There was no significant difference between the populations of filamentous fungi, yeasts, lactic acid bacteria and mesophilic bacteria, since they obtained higher ($P < 0.05$) as a function of crude glycerin doses and microbial inoculates in pre-dried Tifton 85 silage.

Key words: *Cynodon* spp, glycerol, inoculants, pre-dried, nutritive value

INTRODUÇÃO

Dentre as forrageiras tropicais utilizadas para conservação e com potencial de cultivo, as gramíneas do gênero *Cynodon* se destacam pela sua média produtividade de massa por área (OLIVEIRA et al., 2014; MONÇÃO et al., 2016), maior resposta à adubação, maior digestibilidade, maior teor de proteína bruta e boa relação cálcio:fósforo (HANCOCK et al., 2010).

A conservação de forragem visa minimizar o efeito da sazonalidade na produção de forragem, porém implica em perdas, algumas resultantes da ação mecânica e outras a partir de processos biológicos.

Durante a confecção de feno, a maior parte das perdas acontece devido as condições desfavoráveis de secagem da forrageira (SOLLENBERGER et al., 2004). Já no caso de silagem, as perdas ocorrem principalmente durante o processo de fermentação, armazenamento e fornecimento, pois a presença do alto teor de umidade juntamente com baixo teor de carboidratos solúveis são fatores que limitam o adequado processo fermentativo da silagem de capim, impedindo o rápido declínio do pH. Este fato permite que ocorram fermentações por bactérias do gênero *Clostridium* (FERREIRA et al., 2013), ocasionando silagens de baixa qualidade, por meio da perda de nutrientes através da lixiviação dos nutrientes pela elevada quantidade de efluente produzido, além das perdas por gases.

A conservação de forragem na forma de silagem pré-secada, tem como finalidade restringir a extensão da fermentação durante o processo de conservação de forragens através da ensilagem e reduzir a incidência de fermentações secundárias indesejáveis, como fermentação butírica e minimizar perdas de nutrientes (JOBIM et al., 2007)

A utilização de aditivos no processo de fenação e ensilagem, também pode ser uma prática interessante para diminuir as perdas do valor nutritivo da forragem conservada. Assim, a introdução da glicerina bruta como aditivo químico pode reduzir as perdas fermentativas, por ser rica em energia e ser fonte de carbono para os microorganismos anaeróbicos que pode favorecer o crescimento microbiano (SANTOS et al., 2014; CARVALHO et al., 2017). Os aditivos microbiológicos comerciais “SIL” (composto por *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*) e “INC” (composto por *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*) podem ser adicionados para melhorar o processo fermentativo e diminuir a deterioração aeróbia das silagens pré-secadas de *Tifton 85* por possuírem cepas homoláticas produzem ácido láctico

responsável pela rápida acidificação do meio, e cepas heteroláticas, que produzem também ácido acético e propionico que podem diminuir a proliferação de fungos.

O tipos de bactérias mais utilizadas são as cepas específicas dos gêneros *Lactobacillus*, *Pediococcus* ou *Streptococcus*, predominantemente, as espécies *Lactobacillus plantarum* e *Streptococcus faecium*, que visam a assegurar número e espécies de bactérias adequadas e dominadoras para rápida e eficiente fermentação do material ensilado (CORRÊA et al., 2007).

No entanto, devido a variabilidade de resultados obtidos em pesquisas avaliando o uso de aditivos na conservação de forragens desenvolveu-se este trabalho com o objetivo de avaliar se a adição de glicerina bruta reduz as perdas fermentativas e incrementa a síntese de ácidos graxos de cadeia curta e o valor nutritivo das silagens pré-secada de *Tifton 85*, bem como averificar também se os aditivos microbianos “SIL” (composto por *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*) e “INC” (composto por *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*) melhoram os efeitos da glicerina bruta sobre os parâmetros fermentativos e a estabilidade aeróbia.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no setor de forragicultura da Fazenda Experimental e as análises químicas no laboratório de Manejos de Forragens e Resíduos Agropecuários da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), pertencentes à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), localizados no município de Dourados, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.

O experimento foi implantado em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3, três doses de glicerina bruta (0, 60 e 120 gramas na MN ensilada), e três tipos de inoculantes comerciais; (“SIL” composto por *Lactobacillus plantarum* $2,6 \times 10^{10}$ UFC/g e *Pediococcus pentosaceus* $2,6 \times 10^{10}$ UFC/g, “INC” composto por *Bacillus subtilis* $2,0 \times 10^9$ UFC/g, *Lactobacillus plantarum* $8,0 \times 10^9$ UFC/g e *Pediococcus acidilactici* $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g e água destilada, com cinco repetições por tratamento (mini silos experimentais). Os inoculantes comerciais foram aplicados de acordo com a recomendação dos fabricantes, sendo 2g por tonelada para o SIL e 4g por tonelada para o INC. Os valores de pH, poder tampão e a composição química do material utilizado na ensilagem estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Médias da composição bromatológica, pH e PT da forrageira *Tifton 85* acrescida de três níveis de glicerina (0, 60 e 120 g.kg⁻¹ na MN), dois tipos de inoculantes comerciais (INC e SIL) e forragem sem inoculante.

Variáveis	Doses de Glicerina* (g.kg ⁻¹ da MN)			Glicerina+Inoculante INC			Glicerina+Inoculante SIL		
	0	60	120	0+INC	60+INC	120+INC	0+SIL	60+SIL	120+SIL
MS	588,7	572,4	615,0	553,4	568,9	577,5	602,3	571,5	603,2
MM	59,1	54,0	46,9	55,5	53,7	50,2	57,2	56,3	49,5
PB	116	115	124	140	115	105	102	121	127
FDN	694,1	648,6	536,0	698,7	624,2	593,8	681,6	659,6	563,8
FDA	338,4	320,8	273,2	353,0	308,0	247,0	355,7	326,7	320,0
Lig	83,3	59,1	63,0	57,6	70,2	64,1	78,0	74,2	63,1
Hem	355,7	327,8	262,8	345,7	316,2	306,8	356,0	332,9	293,8
Cel	255,1	277,7	210,2	295,4	267,3	242,5	292,7	252,5	245,8
pH	6,17	6,10	6,11	6,08	5,93	5,41	6,01	6,07	6,09
PT	4,75	4,95	5,52	6,63	4,56	3,87	3,31	3,14	3,25

MS: matéria seca, MM: matéria mineral, PB: proteína bruta, FDN: fibra em detergente neutro, FDA: fibra em detergente ácido, LIG: lignina, HEM: hemicelulose, CEL:celulose: pH: potencial hidrogeniônico, PT: poder tampão. *composição da glicerina:densidade a 25°C igual a 1,230; pH de 4,8; teor de umidade de 6,40%; teor de metanol de 3,10%; teor de glicerol de 85,30%; Sais (NaCl) de 5,30% e Matéria Orgânica Não-Glicerinosa de 3,00%

A forrageira utilizada para a confecção da silagem pré-secada foi o *Tifton 85* cultivado em uma área de 400 m². Inicialmente foi realizado um corte de uniformização a 5 cm do solo para padronizar a área do capim, após 40 dias de crescimento o capim foi cortado com uma roçadeira costal a uma altura de 5 cm do solo para a confecção da silagem pré-secada. Após o corte, o capim passou pelo processo de desidratação por aproximadamente duas horas a campo até atingir o teor de MS 60%.

A forrageira emurhecida foi triturada para reduzir o tamanho de partícula para 2cm. A glicerina foi distribuída diretamente sobre o capim com a ajuda de uma proveta de acordo com os tratamentos e os inoculantes foram diluídos em água destilada e distribuído sobre a forragem com auxílio de um borrifador. A massa de forragem foi acondicionada em silos experimentais de tubos de PVC de 50 cm de altura e 10 cm de diâmetro. A compactação do material foi realizada manualmente com bastões de madeira. Após a compactação da forragem, os silos foram lacrados com lona plástica preta e fita adesiva.

A forragem acondicionada foi pesada assim como os silos vazios, para determinação das perdas fermentativas. A abertura foi realizada após 101 dias do fechamento, e neste momento, pesou-se novamente o conjunto para mensuração das perdas por gases e as perdas de matéria seca foi calculada pela formula $PMS = (PSI - PSF) / MSI \times 100$, onde PMS = perda de matéria seca (% da MS); PSI = peso do silo no momento da ensilagem (kg), PSF = peso do silo no momento da abertura (kg); e MSI = matéria seca ensilada (quantidade de forragem em kg \times % MS) (JOBIM et al. 2007). As perdas por gases foram calculadas conforme descrita por Jobim et al. (2007): $PG = [(PSf - PSa) / MFf \times MSf] \times 100$ onde: PG = Perdas por gases durante o armazenamento (% da MS inicial); PSf = Peso do silo na ensilagem (kg de matéria natural); PSa = Peso do silo na abertura (kg de matéria natural); MFf = Massa de forragem na ensilagem (kg de matéria natural); MSi = Teor de MS da forragem na ensilagem (%).

Foi retirada uma amostra de aproximadamente 300g de silagem de cada silo para determinação da ASA (a 65°C por 72 horas). Posteriormente esta amostra pré-seca foi triturada em moinho com peneira de malha de 1,0 mm, para determinar a composição química. Foram determinados os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose, hemicelulose e lignina das silagens de acordo com (SILVA e QUEIROZ, 2006).

A digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) foi determinada de acordo com metodologia descrita por Tilley & Terry (1963) modificada por Holden et al. (1999),

utilizando o rúmen artificial (incubador in vitro TE – 150 - Tecnal®). Utilizou-se o método filter bags, que é uma técnica que se baseia na inoculação de substratos armazenados em saquinhos filtrantes (filter bags) e possibilita avaliar grande quantidade de amostras simultaneamente. Logo foi realizado a FDN de acordo com (SILVA e QUEIROZ, 2006).

A análise de ácidos orgânicos de cadeia curta foi realizada na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

A análise dos ácidos orgânicos de cadeia curta foi realizada no cromatográfico onde foi adicionado 0,4 mL de solução 3:1 de metafosfórico (25%) com ácido fórmico (98-100%) e 0,2 mL de solução de ácido 2-etil- butírico 100 mM (padrão interno). Desse extrato, 1µL foi injetado em cromatógrafo gasoso, o gás de arraste utilizado foi o hidrogênio a 1,35 mL/min. A curva de calibração externa foi feita com padrões cromatográficos (Chem Service, West Chester, PA, EUA)

Foi realizado a mensuração do pH do material antes e depois da ensilagem segundo metodologia proposta por Kung Jr. et al. (1984). A a determinação do poder tampão foi realizada pela metodologia de Playne & McDonald (1966). Para estudar a estabilidade aeróbia das silagens, uma amostra de aproximadamente 400 g de cada tratamento foi exposta ao ar em temperatura ambiente. A mensuração da temperatura ambiente foi realizada com termômetro de máxima e mínima e a temperatura da silagem com termômetro digital tipo espeto. A temperatura do material foi observada a cada 3 horas, para verificar a estabilidade aeróbia, sendo esta definida pelo número de horas em que a silagem se manteve estável antes de atingir 2°C acima da temperatura ambiente, de acordo com a técnica usada por Taylor et al. (2002).

Para as análises microbiológicas, coletou-se uma amostra de 25 g de cada tratamento, estas foram colocadas em erlenmeyers contendo 250 mL de água peptonada estéril (1% de peptona) e agitada durante 10 minutos. A partir do extrato obtido, foram preparadas diluições decimais de 10⁻¹ a 10⁻⁷ para avaliação das populações de micro-organismos. O número de bactérias mesofílas anaeróbias facultativas foi determinado em placa contendo Agar Nutriente e incubado a 35°C. As bactérias ácido lácticas foram numeradas em placas contendo o meio de cultivo MRS (Difco) acrescido de 0,4% de nistatina (para evitar o crescimento fungico) e incubadas em jarras de anaerobiose a 35°C. O meio de cultura DG18 (Dichloran glycerol) foi utilizado para a contagem de fungos filamentosos e meio YEPD acrescido de Clorafenicol (para evitar o crescimento bacteriano) para contagem de leveduras. As placas foram incubadas a 28°C por 5 a 7 dias

para contagem de fungos filamentosos e 48 horas para contagem de leveduras (BRAVO e MARTINS et al., 2006).

Os resultados foram submetidos à análise de variância, considerando como fontes de variação as doses de glicerol e os tipos de inoculantes. Contrastes ortogonais foram utilizados para avaliar os efeitos de ordem linear e quadrático dos níveis de glicerol. Os níveis de glicerina bruta e os tipos de inoculantes foram avaliados por meio do teste Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram feitas utilizando o software (SAS, versão 9.0).

RESULTADOS

Na tabela 2 estão apresentados os dados referentes a composição química e a digestibilidade “in vitro” da matéria seca das silagens pré-secada testadas. Foi observado efeito linear negativo nos teores da matéria mineral e das frações fibrosas das silagens em função da adição de glicerina bruta. As reduções nos teores de FDN e FDA das silagens foram de 282,5 e 311,1 g.kg⁻¹ de MS quando comparada a silagem com maior dose de glicerina com a silagem testemunha, respectivamente. Já as reduções dos teores de hemicelulose e celulose foram de 292,8 e 395,4 g.kg⁻¹ de MS na comparação entre a silagem com a maior dose de glicerina a silagem testemunha, respectivamente.

Não foram observadas diferenças significativas entre as doses de glicerina bruta e os teores de PB das silagens. Os valores médios dos teores de PB foram muito próximos entre os tratamentos, variando de 95,5 a 98,9 g.kg⁻¹ na MS de PB na matéria seca. O mesmo comportamento foi observado para os teores de lignina (Lig) que tiveram seus resultados variando entre 58,8 a 78,6 g.kg⁻¹ da matéria seca.

Foi observado diferença significativa para os valores de digestibilidade “in vitro” da matéria seca com inclusão de glicerina bruta e aditivos microbiológicos. Os valores de digestibilidade “in vitro” da matéria seca seguiram um comportamento linear positivo em função da adição de glicerina bruta, saindo de 510,9 para 699,1 g.kg⁻¹ de MS o que representa um aumento de 368,3 g.kg⁻¹ de MS no coeficiente de digestibilidade “in vitro” da matéria seca. O uso dos inoculantes também proporcionaram silagens com maiores coeficientes de digestibilidade 635,1 e 646,8 g.kg⁻¹ de MS para as silagens inoculadas com INC e SIL, respectivamente.

Tabela 2 - Composição química e digestibilidade *in vitro* das silagens pré-secada de capim *tifton 85* com doses crescentes de glicerina (0, 60 e 120 g.kg⁻¹de MN) e inoculantes microbiológicos comerciais (INC e SIL) na MS ensilada.

Variáveis (g.kg ⁻¹ da MS)	Doses de Glicerina (g.kg ⁻¹ de MN)			Inoculante			EPM	P- valor			p-valor contrastes	
	0	60	120	Sem	INC	SIL		Glic.	Inoc.	Glic x Inoc	L	Q
MM	58,8a	55,7a	51,7b	52,0b	56,0b	58,1a	0,09	0,004	0,014	0,822	0,002	0,819
PB	98,4	98,9	95,5	101,8	89,4	101,5	0,29	0,853	0,110	0,043	-	-
FDN	716,3a	614,9b	514,0c	619,9	618,1	60,73	1,47	<0,001	0,797	0,466	<0,001	0,986
FDA	383,6a	328,9b	264,3c	330,7	317,2	328,9	0,93	<0,001	0,589	0,559	<0,001	0,349
HEM	332,6a	284,2b	238,6c	289,1	284,5	281,8	0,79	<0,001	0,796	0,593	<0,001	0,922
CEL	324,8a	250,3b	196,3c	266,3	246,0	258,3	1,07	<0,001	0,608	0,768	<0,001	0,857
LIG	58,8	78,6	67,9	64,3	70,4	70,5	0,40	0,250	0,826	0,622	-	-
DIVMS	510,9b	635,9a	699,1a	564,2b	635,1a	646,8a	0,65	<0,001	0,006	0,414	0,047	0,402

MM: matéria mineral, PB: proteína bruta, FDN: fibra em detergente neutro, FDA: fibra em detergente ácido, HEM: hemicelulose, CEL: celulose, LIG: lignina, DIVMS: digestibilidade *in vitro* da matéria seca. Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha evidenciam diferença estatística pelo teste de Tukey (P>0,05). Glic.= probabilidade de significância da glicerina; Inoc= probabilidade de significância dos inoculantes; Glic x Inoc= probabilidade de significância da interação entres os fatores.

Os dados referentes ao pH das silagens estão apresentados na Tabela 3. O menor valor de pH (4,84) foi observado para a silagem que recebeu a maior dose de glicerina bruta (120 g.kg⁻¹ da MN), ao contrário da silagem testemunha que obteve o maior valor de (5,28), demonstrando que a glicerina bruta contribuiu para a produção de ácidos que promovem o abaixamento do pH. As silagens que foram inoculadas com o SIL apresentaram os maiores valores (P<0,05) de pH (5,08), seguido da silagem com INC (4,99) e testemunha (4,92) que não apresentaram diferenças significativas.

A perda de gases foi maior no tratamento testemunha, sendo reduzida linearmente conforme a glicerina bruta foi adicionada os capim. Os valores de perdas por gases caíram de 62,1 g.kg⁻¹ da MS para 29,1 g.kg⁻¹ da MS ensilada, entre as doses 0 e 120 g.kg⁻¹ da MS de inclusão de glicerina bruta respectivamente, ou seja uma redução de 33,0 g.kg⁻¹ da MS na perda de gases. Já as perdas de matéria seca, não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos testados, sendo observados valores que variaram de 162,9 a 205,6 g.kg⁻¹ da MS de perdas.

A estabilidade aeróbia das silagens de *Tifton-85* não foi influenciada pela adição de glicerina bruta e inoculantes microbianos. O valor médio da estabilidade aeróbia das silagens foi de 185 horas, o que pode ser considerado um tempo muito longo para dar início a degradação da silagem. A inclusão de glicerina bruta favoreceu a produção de ácido lático e reduziu a produção do ácido acético, propiônico e butírico (Tabela 3 e Figura 1, 2, 3 e 4).

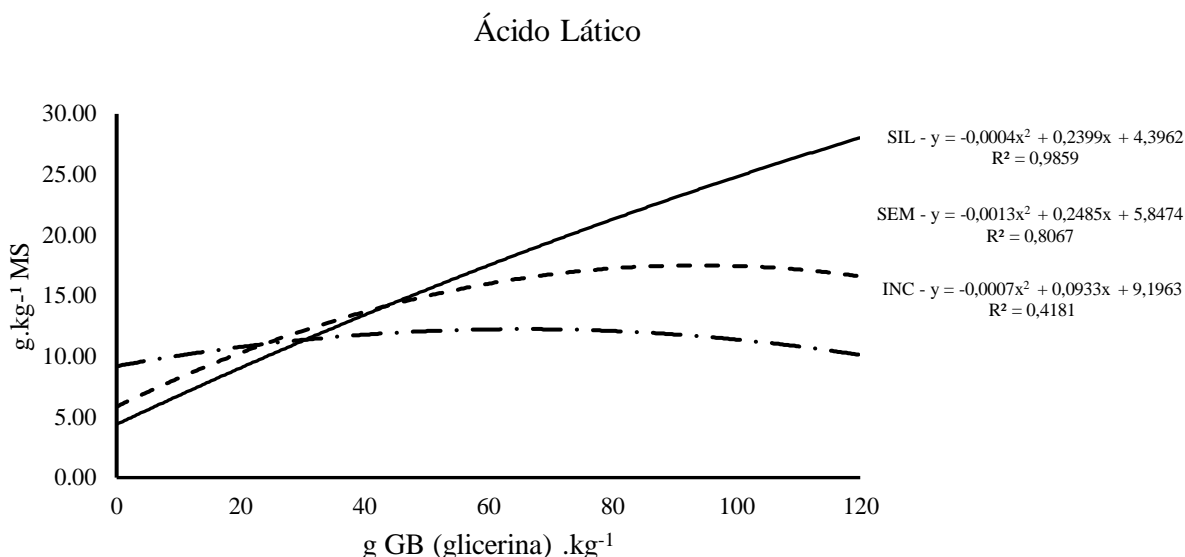


Figura 1. Comportamento da produção de Ácido Lático e tendência da linha em relação a inclusão das doses de glicerina bruta e inoculantes microbianos na silagem pré-secada de *Tifton 85*.

Ácido Acético

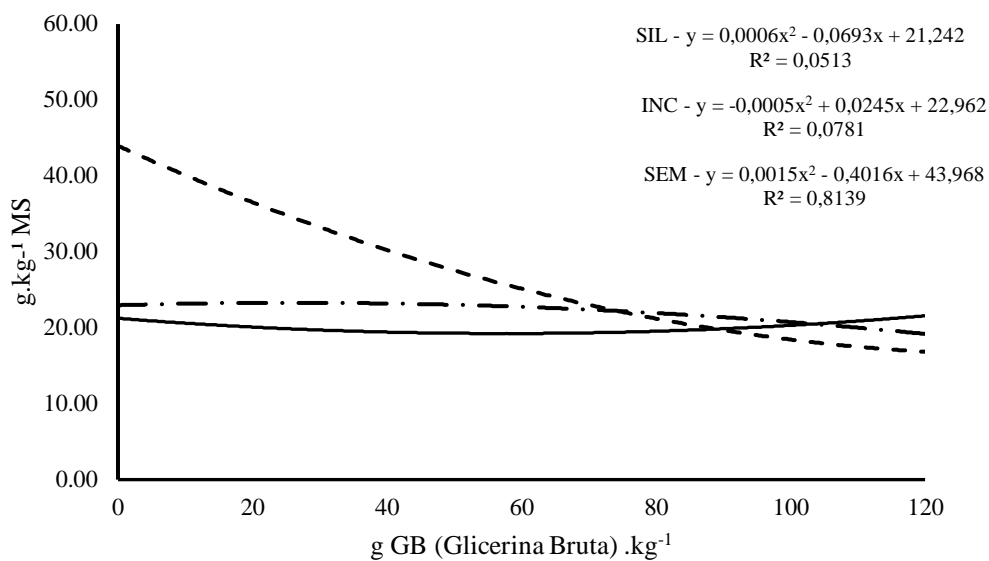


Figura 2. Comportamento da produção de Ácido Acético e tendência da linha em relação a inclusão das doses de glicerina bruta e inoculantes microbianos na silagem pré-secada de *Tifton 85*.

Ácido Butírico

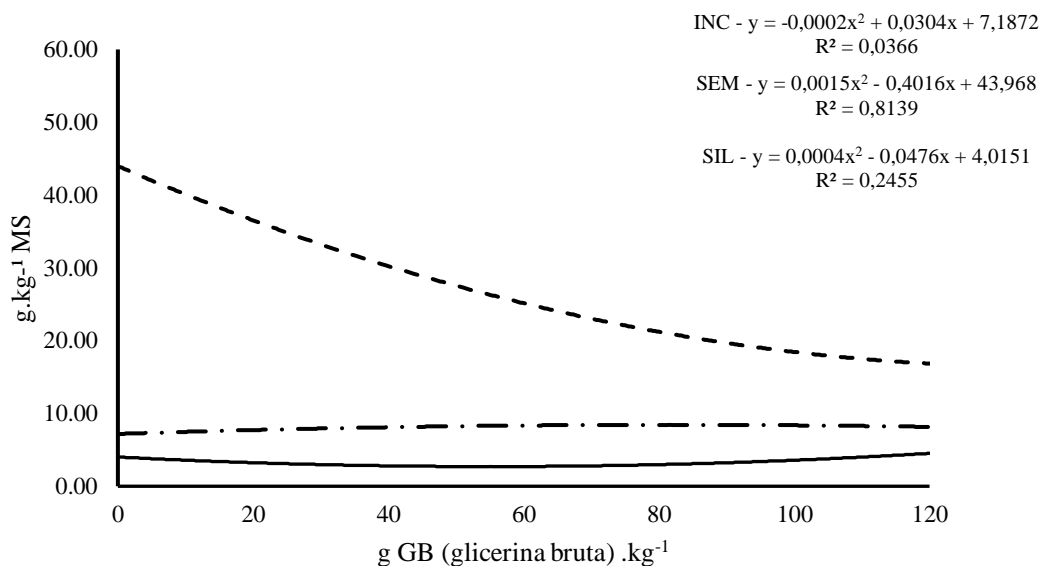
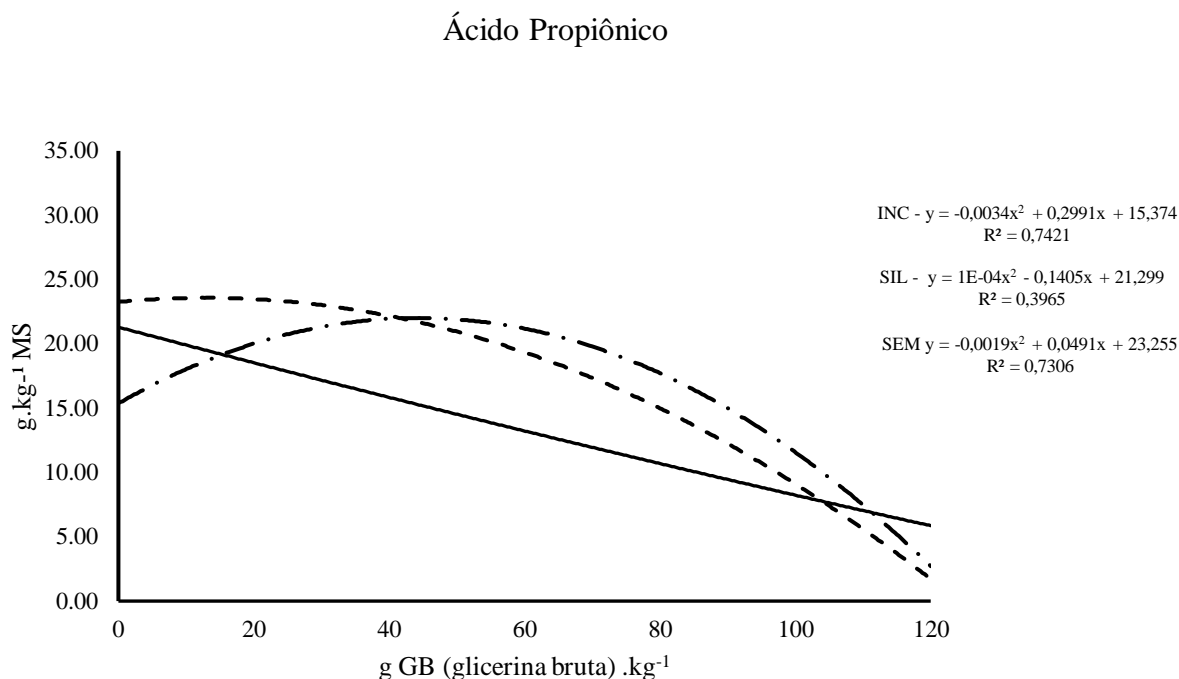


Figura 3. Comportamento da produção de Ácido Butírico e tendência da linha em relação a inclusão das doses de glicerina bruta e inoculantes microbianos na silagem pré-secada de *Tifton 85*.

Figura 4. Comportamento da produção de Ácido Propiônico e tendência da linha em relação a inclusão das doses de glicerina bruta e inoculantes microbianos na silagem pré-secada de *Tifton 85*.



Os valores de ácido láctico foram de 6,4 g.kg⁻¹ da MS e 18,2 g.kg⁻¹ da MS, para as doses de 0 e 120 de glicerina bruta por g.kg⁻¹ da MN o que representa um aumento de 184% na produção deste ácido. O ácido acético diminuiu de 29,3 para 19,2 g.kg⁻¹ da MS entre as doses de 0 e 120 g.kg⁻¹ da MN de glicerina bruta, respectivamente (Tabela 2). Essa inversão na produção dos ácidos orgânicos fez com que a relação ácido láctico/ácido acético saísse de 2,1 para 9,4 g.kg⁻¹ da MS.

Dos inoculantes testados o SIL foi o que apresentou maiores produções de ácido láctico e menores produções dos demais ácidos orgânicos avaliados, resultando na melhor relação ácido láctico/ácido acético (Tabela 2). O inoculante INC apresentou, juntamente com o tratamento testemunha, a menor produção de ácido láctico e a pior relação ácido láctico/ácido acético.

As populações de fungos filamentosos, leveduras, bactérias ácido lácticas e bactérias mesofílicas não apresentaram significativa em função da adição de glicerina bruta e inoculantes microbianos.

Tabela 3- Perdas fermentativas, pH, estabilidade aeróbia, perfil fermentativo e população microbiana (Log UFC g-1) na silagem pré secada de capim *Tifton 85* com doses crescentes de glicerina (0, 60 e 120 Doses de Glicerina (g.kg⁻¹ de MN)) e inoculantes microbiológicos comerciais (INC e SIL) na MS ensilada.

Variáveis	Doses de Glicerina (g.kg ⁻¹ de MN)			Inoculante			EPM	P- valor			p-valor contrastes	
	0	60	120	Sem	INC	SIL		Glic.	Inoc.	Glic x Inoc	L	Q
pH	5,28a	4,88b	4,84b	4,92a	4,99a	5,08b	0,03	<0,001	0,030	0,413	<0,001	0,002
PG g.kg ⁻¹ da MS	62,1a	53,1a	29,1b	40,4	44,6	59,3	0,41	0,002	0,099	0,686	0,006	0,050
PMS g.kg ⁻¹ da MS	203,4	183,9	162,9	175,0	169,8	205,6	1,16	0,394	0,432	0,853	-	-
EA (Horas)	199,1	180,2	177,0	199,9	178,9	178,0	9,19	0,611	0,582	0,919	-	-
Ácido lático g.kg ⁻¹ da MS	0,64c	1,52b	1,82a	1,28b	1,05c	1,66 ^a	0,03	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,058
Acido butírico g.kg ⁻¹ da MS	7,9	6,4	5,4	8,1a	7,8a	3,2b	0,07	0,066	0,002	0,030	-	-
Acido propiônico g.kg ⁻¹ da MS	19,9a	16,5a	13,5b	14,9	13,0	12,1	0,49	<0,001	0,564	0,043	<0,001	0,002
Acido acético g.kg ⁻¹ da MS	29,3a	22,3b	19,2b	28,8a	21,6b	20,6b	0,35	0,001	0,001	<0,001	0,008	0,432
Fungos filamentosos (UFC/g)	2,74	2,78	2,69	2,69	2,71	2,82	0,40	0,922	0,846	0,533	-	-
Leveduras (UFC/g)	3,12	3,04	3,25	2,96	3,24	3,19	0,86	0,823	0,687	0,872	-	-
Bac. Láticas (UFC/g)	4,40	4,64	4,59	4,54	4,35	4,75	0,72	0,727	0,446	0,505	-	-
Bac. Mesofílicas (UFC/g)	4,10	3,97	4,54	4,22	4,09	4,28	0,57	0,138	0,854	0,772	-	-

pH: potencial hidrogeniônico, PG: perdas por gases, PMS: perdas de matéria seca, EA: estabilidade aeróbia, Bac. Láticas: bactérias ácido láticas; Bac. Mesofílicas: bactérias mesofílicas. Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha evidenciam diferença estatística (p<0.05) entre os tratamentos.

DISCUSSÃO

As reduções das frações fibrosas das silagens em função da inclusão de glicerina bruta se deve ao efeito de diluição provocado por esse aditivo. A glicerina bruta não possui carboidratos fibrosos na sua composição, o que acaba colaborando para redução destes constituintes em função do seu acréscimo nas silagens. Rigueira et al. (2017) também observaram reduções nos teores de FDN e FDA quando utilizaram melaço de cana de açúcar e glicerina como aditivos para melhorar o processo fermentativo de silagem de *Tifton-85*. Gomes et al. (2015) ao introduzir 200 g.kg⁻¹ de MS de glicerina na silagem de cana de açúcar obtiveram uma redução de 35% de FDN e 39,8% de FDA em comparação com a silagem de cana-de-açúcar sem glicerina.

A redução nos teores de fibra das silagens proporcionaram melhorias nos coeficientes de digestibilidade *in vitro* da MS. Segundo Branco et al (2010) o teor de fibra de uma forrageira possui correlação negativa a digestibilidade da mesma. Assim a inclusão de glicerina bruta na ensilagem do capim *Tifton-85* poderia proporcionar aos animais uma maior digestibilidade e conseqüentemente uma maior ingestão de matéria seca. Orrico Junior et al. (2017) também observaram aumentos lineares dos coeficientes de digestibilidade “*in vitro*” da MS em função da adição de glicerina bruta na ensilagem de *Urochloa brizantha* cv. Piatã.

Apesar da glicerina bruta não possuir proteína na sua composição química, não foram observadas reduções significativas nos teores de PB nas silagens em função da adição de glicerina bruta. Esse resultado difere dos obtidos por Orrico Junior et al. (2017) e Rigueira et al. (2017) que encontraram reduções nos teores de PB a medida em que a glicerina bruta foi adicionada as silagens.

Segundo McDonald et al. (1991) valores de pH iguais ou menores que 4,0 são necessários para garantir a estabilidade do processo de ensilagem e conseqüentemente garantir a qualidade da forragem ensilada. No entanto, silagens com grandes concentrações de matéria seca (silagem pré secada) possuem reduções significativas nos teores de ácido lático e acético, decorrente do menor crescimento microbiano observado nessas condições. Apesar da silagem pré secada apresentar valores de pH mais elevados (menor produção de ácidos), este parâmetro ainda continua sendo um dos fatores que mais contribuem para a manutenção da qualidade da silagem, sendo importante a utilização de práticas que maximizem a produção de ácidos e promovam a redução dos valores de pH (MULLER et al., 2007).

Os valores de pH obtidos para os tratamentos com a inclusão de glicerina bruta foram semelhantes aos obtidos por Rigueira et al. (2017). Neste trabalho, os autores utilizaram níveis crescentes de glicerina bruta (0, 50, 100 e 150 g.kg⁻¹ de MN) obtendo melhoras nas qualidade fermentativa das silagens.

Os pHs dos aditivos microbianos testados foram iguais ou inferiores ao tratamento testemunha. Vendramini et al. (2016) também não observaram diferenças significativas no pH de silagens inoculadas com aditivos comerciais Ecosyl e B500, aditivos estes que possuem *Pediococcus pentosaceus* semelhante ao aditivo SIL que foi utilizado neste experimento. Segundo os autores as baixas concentrações de açúcares solúveis nos capins utilizados (*Jiggs e Tifton 85*) foram os principais responsáveis por inibir a resposta dos aditivos microbianos.

A redução das perdas por gases deve-se, provavelmente, à redução na ação dos microrganismos produtores de gás, como as enterobactérias e bactérias clostrídicas, que se desenvolvem em silagens mal fermentadas Zanine et al. (2006).

Orrico Junior et al. (2017) observaram diminuição da perda de gás em função dos níveis crescentes de inclusão de glicerina bruta. Nesta pesquisa os autores observaram reduções de 78% nas perdas de gases ao comparar a dose de 0 de inclusão com a de 300 g.kg⁻¹ de MN inclusão de glicerina bruta. O mesmo comportamento foi observado por Dias et al. (2014) ao testarem a inclusão de glicerina bruta na ensilagem da cana-de-açúcar. Segundo os autores o glicerol presente na glicerina bruta favorece o processo de fermentação, reduzindo as perdas e conseqüentemente melhorando a qualidade do produto final.

As perdas de gases não foram influenciadas pelos inoculantes microbianos. Schmidt et al. (2011) utilizando as mesmas cepas utilizadas neste experimento (*L. brevis* + *Enterococcus faecium* + *L. plantarum*) em silagem pré-secada de cana de açúcar encontraram aumento de 96% de perdas de gases em relação a silagens sem inoculantes, representando com esses valores insucesso na inoculação com aditivos microbiológicos.

A maior produção de ácido lático foi observado no tratamento onde o pH obteve o menor valor. A produção de ácido lático obteve diferença significativa $p < 0,001$ para a variável Dose de Glicerina, mostrando que houve uma colonização eficiente e uma boa adaptação das bactérias às silagens. Já no tratamento com os inoculantes microbianos foi observado diferença significativa negativa se comparado a produção de ácido lático do tratamento controle onde o pH mais alto favoreceu a diminuição da produção de ácido lático. Silva et al. (2014) consideraram que a maior produção de ácido lático pode levar

a menores perdas de MS em silagens, considerando-se que a fermentação láctica resulta em mínimas perdas, ao passo que as fermentações acética e butírica estão associadas a fermentações secundárias e perdas de MS na forma de gases. Apesar de não ter sido observada diferença significativa, as médias dos tratamentos para PMS com a introdução de 6% e 12% de glicerina foram menores que a testemunha. A diferença observada entre os inoculantes microbiológicos para a variável produção de ácido láctico pode ser explicada pela homolaticidade dos inoculantes.

De acordo com Ferreira et al. (2013), a maior produção de ácido láctico pode levar a menores perdas de MS em silagens de capim, considerando-se que a fermentação láctica resulta em mínimas perdas, ao passo que as fermentações acética e butírica estão associadas a fermentações secundárias e perdas de MS na forma de gases.

Para a produção de ácido butírico a glicerina não obteve resultados significativos, mais o inoculante microbiológico SIL obteve $p < 0,002$, mostrando que a adição deste aditivo foi eficiente para a redução das concentrações de ácido butírico. Os valores encontrados (tabela 03) para essa variável permaneceram dentro do recomendado na literatura, que seria de menos de $2,0\text{g/kg}^{-1}$ para caracterização de silagens bem preservadas. Para a variável produção de ácido acético (Tabela 2), o tratamento com inclusões de doses de glicerina obteve $p < 0,001$ onde foi observado diminuição da produção de ácido acético. Para o outro tratamento com aditivos microbianos também foram encontrados resultados semelhantes, onde o valor de $p < 0,013$ confirmando a diferença estatística através do teste Tukey a 5% de probabilidade. A presença de quantidades moderadas desse ácido, constitui um fator importante na fermentação, pois ele atua com propriedades anti fúngicas.

Igarase (2012) utilizou o inoculante bacteriano INOC (*L. plantarum*) onde não apresentou efeito significativo ($P > 0,05$) sobre a estabilidade aeróbia.

As respostas à adição de inoculantes para silagens de capins tropicais são inconsistentes (VENDRAMINI et al. 2010), portanto, pesquisas adicionais são necessárias para definir mais claramente as práticas de gestão e aditivos que aumentarão a probabilidade de sucesso na ensilagem.

Vendramini et al. (2016) não observaram diferenças significativa ao utilizar o melaço e inoculantes microbiológicos na ensilagem de cana de açúcar.

Os maiores valores de ácido láctico observados nas silagens com adição de glicerina bruta, não resultaram em aumento nas populações de bactérias ácido lácticas nas silagens de *Tifton 85*. Resultados contrários foram encontrados por Orrico Junior et al.

(2017), onde populações bacterianas produtoras de ácido lático e bactérias anaeróbias mesofílas facultativas aumentaram em função da inclusão de glicerina (100, 200 e 300 g.kg⁻¹ da MS) a população de leveduras também mostrou diferenças significativas em função dos níveis de inclusão de glicerina. O glicerol é uma fonte de carbono assimilável por bactérias e leveduras sob condições aeróbicas e anaeróbicas (TACCARI et al., 2012).

O crescimento de microrganismos em fontes de carbono alternativas aos carboidratos, como exemplo o glicerol, requer a capacidade de sintetizar hexoses (gliconeogênese) necessárias para a produção de vários componentes celulares (SPECTOR, 2002). Condições adversas de temperatura e pH afetam a expressão de genes que codificam a síntese de enzimas responsáveis pelo catabolismo de fontes de carbono como o glicerol (GONZALEZ et al., 2008; POLADYAN et al., 2013). Possivelmente o elevado teor de matéria seca foi o fator que não contribuiu para crescimento desses microrganismos a ponto de obter diferença significativa da silagem pré-secada.

CONCLUSÃO

A glicerina interferiu positivamente para o desempenho da silagem pré-secada do capim *Tifton 85*, contribuindo para o abaixamento do pH, reduzindo perdas por gases, aumentando a produção de ácido láctico, diminuindo a produção de ácido butírico, propinólico e acético e pode ser considerada um bom aditivo para a produção da silagem pré-secada, pois reduz a fração fibrosa, evita perdas de gases e aumenta a digestibilidade do material ensilado. Os aditivos microbiológicos comerciais INC e SIL contribuíram para aumentar a produção de ácido láctico, diminuiram a produção de ácido butírico e acético e aumentou a digestibilidade da silagem pré-secada de *Tifton 85*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAVO-MARTINS, C. E. C.; CARNEIRO, H.; CASTRO-GOMEZ, R. J. H.; FIGUEIREDO, H. C. P.; SCHWAN, R. F. 2006. Chemical and microbiological evaluation of ensiled sugar cane with different additives. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2006.

BRANCO, R.H, RODRIGUES, M.T; SILVA, M.M.C; RODRIGUES, C.A.F; QUEIROZ, A.C; ARAÚJO, F.L. Efeito dos níveis de fibra da forragem sobre o consumo, a produção e a eficiência de utilização de nutrientes em cabras lactantes. *R. Bras. Zootec.*, v.39, n.11, p.2477-2485, 2010.

CORRÊA, L. A.; POTT, E. B. Silagem de Capim. In: CONGRESSO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 2., Lavras. Anais... Lavras: NEFOR, 2007.

HANCOCK, D.W.; EDWARDS, N.R.; GREEN, T.W. et al. Selecting a forage bermudagrass variety. University of Georgia, Cooperative Extension Colleges of Agricultural and Environmental Sciences, 2010.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of in vitro matter digestibility for ten feeds. *Journal Dairy Science*, 1999.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal British Grassland Society*, p.104-111, 1963.

CARVALHO, B. F.; AVILA, C. L. S.; PEREIRA, M. N. AND SCHWAN, R. F. 2017. Methylophilic yeast, lactic acid bacteria and glycerol as additives for sugarcane silage. *Grass and Forage Science* 2017.

DIAS, A.M.; ÍTAVO, L.C.V.; ÍTAVO, C.C.B.F. et al. Ureia e glicerina bruta como aditivos na ensilagem de cana-de-açúcar. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.66, p.1874-1882, 2014.

DUARTE, J. A. V. Glicerina bruta na ensilagem de *Urochloa brizantha* cv. Piatã. 2015. 52f. Dissertação de Mestrado (Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, 2015.

FERREIRA, D.J.; LANA, R.P.; ZANINE, A.M.; SANTOS, E.M.; VELOSO, C.M.; RIBEIRO, G.A. Silage fermentation and chemical composition of elephant grass inoculated with rumen strains of *Streptococcus bovis*. *Animal Feed Science and Technology*, v.183, p.22-28, 2013.

GOMES, M.A.B.; MORAES, G.V.M. ; JOBIM, C.C. ; SANTOS, T.C ; OLIVEIRA, M.R.; ROSSI, R.M. Aerobic stability, chemical composition and ruminal degradability of sugarcane silage with glycerin from biodiesel. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 36, p. 1531-1544, maio/jun. 2015.

GONZALEZ, R. et al. A new model for the anaerobic fermentation of glycerol in enteric bacteria: trunk and auxiliary pathways in *Escherichia coli*. *Metabolic Engineering*, London, v. 10, n. 5, p. 234-245, May 2008.

IGARASSI, M.S. Controle de perdas na ensilagem de capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. Cv. Tanzânia) sob os efeitos do teor de matéria seca, do tamanho de partícula, da estação do ano e da presença do inoculante bacteriano. Piracicaba, 2002. 152p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

IGARASI, M.S. controle de perdas na ensilagem de capim tanzânia (*panicum maximum* jacq. cv. tanzânia) sob os efeitos do teor de matéria seca, do tamanho de partícula, da estação do ano e da presença do inoculante bacteriano ,(Mestre em Agronomia) Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Piracicaba 2012.

JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, p.101-119, 2007.

KUNG JUNIOR, L. Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *Journal of Dairy Science*, v.67, p.299-306, 1984.

MCDONALD, P. *The biochemistry of silage*. 3th ed. Chalcombe Publications, New York. 1991.

MONÇÃO, F.P.; OLIVEIRA, E.R.; GABRIEL, A.M.A.; NASCIMENTO, F.A.; PEDROSO, F.W. & FREITAS, L.L - Nutritional parameters of leaf blade from different tropical forages. *Scientia Agraria Paranaensis*, vol. 15, p. 185-193, 2016.

MÜLLER, C. E.; UDÉN, P. Preference of horses for grass conserved as hay, haylage or silage. *Animal Feed Science and Technology*, v.132, p. 66–78, 2007.

OLIVEIRA, T.M. Uso de glicerina na ensilagem de milho ou no concentrado para terminação de cordeiros. 84f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá Centro De Ciências Agrárias. 2014.

ORRICO JUNIOR, The use of crude glycerin as an alternative to reduce fermentation losses and enhance the nutritional value of Piatã grass. *R. Bras. Zootec.*, 46(8):638-644, 2017.

PLAYNE, M.J.; McDONALD, P. The buffering constituents of herbage and of silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.17, p.264-268, 1966

POLADYAN, A. et al. Oxidative and reductive routes of glycerol and glucose fermentation by *Escherichia coli* bath cultures and their regulation by oxidizing and reducing reagents at different pHs. *Current Microbiology*, New York, v. 66, n. 29, p. 49-55, Sept. 2013.

RIGUEIRA, J.P.S.; MONÇÃO, F.P.; SALES, E.C.J.; BRANT, L.M.S.; PIRES, D.A.A.; MATOS, A.M.; LEITE, G.D.O.; JÚNIOR, V.R.R. Níveis de glicerina bruta na ensilagem

de capim *Tifton 85* (*Cynodon dactylon*): perfil fermentativo e valor nutricional. Revista de Ciências Agrárias, 2017.

SANTOS, W. P.; CARVALHO, B. F.; AVILA, C. L. S.; DIAS JUNIOR, G. S.; PEREIRA, M. N.; SCHWAN, R. F. 2014. Glycerin as an additive for sugarcane silage. *Annals of Microbiology* 65:1547-1556.

SILVA, D.J. QUEIROZ, A.C. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. 338 3.ed. Viçosa: Editora Universitária, 2006. 166p.

SILVA, E. T. P. Nutritional and fermentation parameters of Xaraés grass silage produced with bacterial additive. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, Maringá, v. 36, n. 3, p. 265-269, jul.-set., 2014.

SPECTOR, M. P.; MOAT, A. G.; FOSTER, J. W. Central pathways of carbohydrate metabolism. . *Microbial physiology*. New York: Wiley-Liss, 2002. p. 363.

SCHMIDT, P.; JUNIOR,P.R; JUNGES,D.; LAILA TALARICO DIAS, L.T.; ALMEIDA, R.; MARI, L. J. Novos aditivos microbianos na ensilagem da cana-de-açúcar: composição bromatológica, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. *R. Bras. Zootec.*, v.40, n.3, p.543-549, 2011

SOLLENBERGER, L. E., R. A. REIS, L. G. NUSSIO; W. F. KUNKLE. 2004. Conserved forages. In: L. E. Moser, B. L. Burson, and L. E. Sollenberger, editors, Warm-season (C4) grasses. *Agron. Monog.* 45. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI. p. 355–387.

TACCARI, M. Screening of yeasts for growth on crude glycerol and optimization of biomass production. *Bioresource Technology*, Essex, v. 110, p. 488-495, Feb. 2012.

TAYLOR, C.C. The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 85, p. 1793-1800, 2002.

VENDRAMINI, J. M. B., A. T. ADESOGAN, M. L. A. SILVEIRA, L. E. SOLLENBERGER, O. C. M. QUEIROZ; W. F. ANDERSON. 2010. Nutritive value and fermentation parameters of warm-season grass silage. *Sci.* 26:193–200.

VENDRAMINI, J. M. B; AGUIAR, A. D; ADESOGAN, A.T; SOLLENBERGER, L. E; ALVES; GALZERANO, L; SALVO, P; VALENTE, A.L; ARRIOLA, K.G; MA, Z.X; OLIVEIRA F. C. L. Effects of genotype, wilting, and additives on the nutritive value and fermentation of bermudagrass silage. 2016 American Society of Animal Science. All rights reserved. *J.* 2016.94:3061–3071, 2016.

ZANINE, A.M.; SANTOS, E.M.; FERREIRA, D.J.; OLIVEIRA, J.S.; ALMEIDA, J.C.C.; PEREIRA, O.G. Avaliação da silagem de capim-elefante com adição de farelo de trigo. *Archivos de Zootecnia*, v.54, p.1-10, 2006.

APÊNDICE

Apêndice 1. Parcela experimental após o corte de uniformização do *Tifton 85*.



Apêndice 2. Parcela experimental após o corte do *Tifton 85* para realizar o processo de ensilagem.



IMPLICAÇÕES

O presente estudo constata que o emurchecimento da forragem mais a introdução de glicerina bruta como aditivo no processo de ensilagem do capim *Tifton 85* contribuiu para o abaixamento do pH do material ensilado, aumentou a produção de ácido láctico, diminuiu a produção de ácido acético, butírico e propíonico, trazendo benefícios para o processo de conservação da forrageira, bem como aumentou a digestibilidade do material ensilado pois reduziu a fração fibrosa do capim. Além dos benefícios para o processo de conservação da forrageira, a utilização da glicerina bruta diminuiria os custos de produção, pois é considerado um aditivo energético de baixo custo e a sua utilização no processo de ensilagem seria um método de destinação adequado para uma parte do excedente da glicerina bruta que não é absorvida pela indústria do país. Experimentos que avaliem o comportamento de ingestão da silagem pré-secada pelos animais é um ponto que deve ser estudado para complementar o trabalho.