



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA



MICHELLE DE SOUZA ARRUDA

**SILAGEM DE CAPIM MOMBAÇA ADICIONADA COM INOCULANTE
MICROBIANO E ENZIMA XILANASE: PERDAS E ESTABILIDADE
AEROBICA**

DOURADOS – MS

2017

MICHELLE DE SOUZA ARRUDA

**SILAGEM DE CAPIM MOMBAÇA ADICIONADA COM INOCULANTE
MICROBIANO E ENZIMA XILANASE: PERDAS E ESTABILIDADE
AEROBICA**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção de grau em Bacharel em Zootecnia.

Orientador: Prof.Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

Dourados - MS

2017

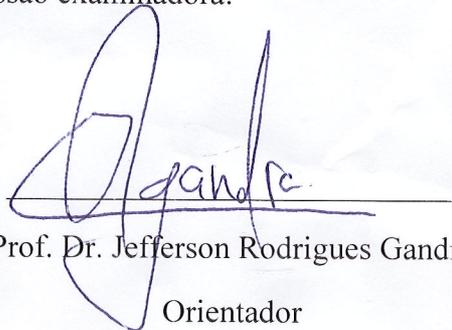
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: SILAGEM DE CAPIM MOMBAÇA ADICIONADA COM INOCULANTE MICROBIANO E ENZIMA XILANASE: PERDAS E ESTABILIDADE AEROBICA

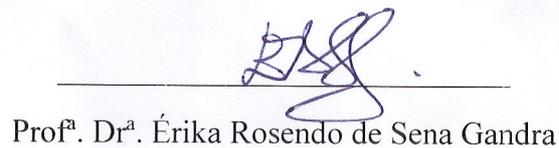
AUTORA: Michelle de Souza Arruda

ORIENTADOR: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

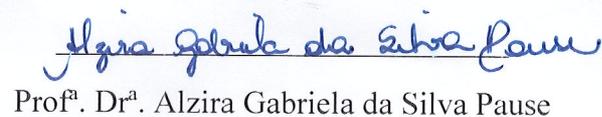
Aprovada como parte das exigências para obtenção do grau de bacharel em **ZOOTECNIA** pela comissão examinadora:



Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra
Orientador

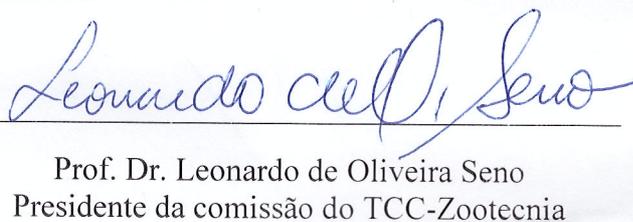


Prof.ª Dr.ª Érika Rosendo de Sena Gandra



Prof.ª Dr.ª Alzira Gabriela da Silva Pause

Data de realização: 30 de Março de 2017.



Prof. Dr. Leonardo de Oliveira Seno
Presidente da comissão do TCC-Zootecnia

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

A778s Arruda, Michelle De Souza

SILAGEM DE CAPIM MOMBAÇA ADICIONADA COM INOCULANTE
MICROBIANO E ENZIMA XILANASE: PERDAS E ESTABILIDADE
AEROBICA / Michelle De Souza Arruda -- Dourados: UFGD, 2017.
44f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Jefferson Rodrigues Gandra

TCC (Graduação em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias,
Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Lactobacillus Plantarum. 2. Xilanase. 3. Capim mombaça. I. 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.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter estado sempre comigo ao longo desta jornada, guiando meus passos e não me deixando desalentar, me dando forças para prosseguir e vencer os obstáculos da vida.

Meus pais, José Orivaldo de Arruda e Diva de Souza pelo carinho, amor, confiança, incentivo e sacrifícios feitos a mim. Aos meus familiares, em especial minhas primas Thais Portioli, Patricia Portioli e Thiago Portioli pelos conselhos, amizades e carinho. Ao meu irmão Gledson Portioli e minha cunhada Daiana Coelho pela grande ajuda, força e muito companheirismo.

Meu namorado Jales Filho pela compreensão, ajuda, amor, incentivo, confiança e por acreditar sempre em mim.

Meus amigos da graduação, que nunca vou esquecer, em especial Natalia Novaes, Loan Silva, Andrei Zanini, Luis Aldo, Marcos Rubens, Anderson Smal pela grande colaboração na condução do experimento e continuam preservando a amizade e acima de tudo sendo verdadeiros companheiros.

Minha amigas Débora Monteiro e Gabriella Bom que acompanharam cada dia, pela amizade, cumplicidade, conselhos de todos os momentos e pelo carinho.

Minha avó materna Adélia Portioli de Souza (*in memoriam*) que se faz presente sempre em todos os dias da minha vida, sei que de seu lugar olha por mim e está comigo em minhas vitórias.

À Universidade Federal da Grande Dourados, seu corpo docente, direção e administração, que possibilitou o desenvolvimento deste trabalho e por toda a aprendizagem durante minha formação.

Ao meu orientador Prof^o. Dr^o. Jefferson Rodrigues Gandra, pela dedicação, competência, paciência e por todos os ensinamentos não apenas na construção deste trabalho, como em toda sua participação na minha vida acadêmica.

A todos que direta e indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada!

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Composição química do capim antes do momento a ensilagem.....	27
Tabela 02. Perdas fermentativas de acordo com os tratamentos experimentais.....	30
Tabela 03. Estabilidade aeróbica de acordo com os tratamentos experimentais.....	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Estabilidade aeróbica de acordo com os tratamentos experimentais em diferentes horários (Ph).....	34
Figura 02. Estabilidade aeróbica de acordo com os tratamentos experimentais em diferentes horários (Matéria Seca).....	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1 Capim mombaça na produção de silagem.....	11
2.2 Silagem e Ensilagem.....	12
2.3 Aditivos biológicos para silagem.....	15
2.4 <i>Lactobacillus plantarum</i>	21
2.5 <i>Pediococcus acidilactici</i>	23
3 MATERIAL E METÓDOS.....	27
3.1 Tratamento e ensilagem.....	27
3.2 Perdas fermentativas e efluentes.....	28
3.3 Estabilidade aeróbica.....	29
3.4 Análises estatísticas.....	29
4 RESULTADO E DISCUSSÕES.....	30
4.1 Perdas fermentativas.....	30
4.2 Estabilidade aeróbica.....	31
5 CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

SILAGEM DE CAPIM MOMBAÇA ADICIONADA COM INOCULANTE MICROBIANO E ENZIMA XILANASE: PERDAS E ESTABILIDADE AEROBICA

RESUMO: A silagem é uma importante alternativa para alimentação de ruminantes no período da escassez de alimentos. Com o intuito de diminuir as perdas e melhorar características bromatológicas são adicionados aditivos durante o processo de ensilagem. O Objetivo deste trabalho foi avaliar as perdas fermentativas e estabilidade aeróbica da silagem de capim mombaça inoculada com *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*, e a utilização de enzima Xilanase. O experimento foi conduzido nas dependências do setor de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, no período de Maio à setembro de 2013. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, composto por 60 mini-silos com 3 níveis e inoculantes e dois níveis de produtos enzimáticos. Antes da ensilagem, a forragem foi amostrada e para posteriores análises bromatológicas. Após a compactação da forragem, os silos foram vedados, pesados e armazenados. Aos 60 dias de fermentação. As temperaturas da silagem no período após abertura foram obtidas a cada 8 horas durante 5 dias por meio de um termômetro infravermelho. A silagem com o tratamento *Xilanase 0 UI/g* apresentou maior ($P < 0,05$) perda por gases (%MS). Os inoculantes diminuíram gás e as perdas de efluentes. Tratamento com enzima *Xilanase 0 UI/g* demonstrou menores perdas de gás e efluentes totais do que a *Xilanase 1 UI/g*. Inoculantes diminuíram o pH em relação ao tratamento controle, na silagem que foi utilizado enzimas foi observado pH menor do que o controle. Os inoculantes não diminuíram a temperatura de estabilidade dos silos. O uso de inoculantes e enzimas não favorece a estabilidade aeróbia, diminuíram as perdas totais e aumentaram o número de bactérias lácticas em silagem de capim mombaça.

Palavras-chaves: *Lactobacillus plantarum*, Xilanase e Capim mombaça.

Grass silage Mombasa added with microbial inoculants and enzyme xylanase: losses and stability aerobica

ABSTRACT: The silage is an important alternative for feeding ruminants in the period of food shortages. In order to reduce losses and improve qualitative characteristics, are added during the process of silage additives. The aim of this study was to evaluate the losses and aerobic stability of silage fermentative of Mombasa grass inoculated with *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* and the use of the enzyme *Xylanase*. The experiment was conducted on the premises of the Department of animal science, Faculty of agricultural sciences of the Universidade Federal da Grande Dourados, from May to September 2013. The experimental design used was the completely randomized design, composed of 60 mini-silos with three levels of Inoculants and two levels of enzyme products. Before the silage, forage was sampled for further analysis and qualitative characteristics. After the compression of the forage, the silos were sealed, weighed and stored. To 60 days of fermentation. Silage temperatures in the period after opening were taken every 8 hours during 5 days by means of an infrared thermometer. The Inoculants increased the protein content of silage. The Inoculants decreased gas and effluent losses. Enzyme treatment showed minor losses, total effluent gas than the control. Inoculants not have decreased the pH compared to control, in silage used enzymes was observed pH less than the control. The Inoculants not have decreased the temperature stability of the silos. The use of Inoculants and enzymes not improve aerobic stability and nutritional composition, decreased total losses and increased the number of lactic acid bacteria in Mombasa grass silage.

Key words: *Lactobacillus plantarum*, xylanase and Mombasa grass.

1 INTRODUÇÃO

Uma alternativa que vem sendo adotada por muitos produtores para eliminar o déficit de quantidade e qualidade de alimentos no período seco é a utilização de silagem de gramíneas tropicais perenes, que tem se mostrado alternativa barata e segura. Dentre as gramíneas mais conhecidas, o gênero *Panicum spp.*, principalmente o cultivar mombaça, tem apresentado alto potencial produtivo e satisfatório valor nutricional. Por apresentar elevada produção de matéria seca, gera um excedente de forragem que pode ser aproveitado na forma de silagem para utilização na época de escassez de alimento. (PORTAL KLFF,2017)

Assim o desenvolvimento de alternativas alimentares para o período seco do ano tem se tornado um dos principais desafios dos profissionais das ciências agrárias assim como dos produtores rurais, os quais buscam produzir proteína animal com eficiência. Como alternativa para diminuir a nutrição baixa dos animais no período seco, a cana de açúcar se destaca entre as gramíneas tropicais utilizada como forragem.

Para a obtenção da silagem é necessário que ocorra a fermentação dos carboidratos solúveis em meio anaeróbio mediado por bactérias do gênero *Lactobacillus*, visando obter ácidos orgânicos, principalmente o ácido lático. A fermentação láctica inibe o crescimento de microrganismos indesejáveis, como clostrídeos, enterobactérias, leveduras e fungos (COAN et al., 2007), o que contribui para preservação qualitativa da forragem. O uso de aditivos pode contornar os fatores que limitam o processo fermentativo das forrageiras, podendo ser utilizados para reduzir as perdas de matéria seca e/ou melhorar a estabilidade aeróbia, a composição nutricional e/ou digestibilidade alterando assim, a dinâmica da fermentação. Estudos indicam que os aditivos utilizados atualmente para a confecção das silagens podem ser usados em conjunto. Essa prática objetiva potencializar os efeitos esperados quanto ao aumento de ácido lático, elemento principal atuante na redução de pH. Alguns obstáculos como baixo teor de carboidratos solúveis e matéria seca reduzem a produção deste ácido orgânico responsável pela preservação dos nutrientes (BERNARDES et al.,2013).

Aditivos químicos e microbiológicos podem ser utilizados para manipular o perfil fermentativo de silagens, a perda da matéria seca e a estabilidade aeróbica (MUCK & KUNG JR., 1997).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Capim de mombaça na produção de silagem

O capim Mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) é considerado uma das forrageiras tropicais mais produtivas à disposição dos pecuaristas. Em pastagens, em situações de baixa fertilidade, a produção é reduzida, caracterizando a exigência do capim Mombaça em fertilidade do solo (SILVA, 1995). Podendo atingir PMS anual em torno de 33 t/ha (JANK et al., 1994) e ainda apresentar satisfatória composição química.

Wilson (1982) afirma que a quantidade de folhas presente na forragem altera a qualidade da dieta ofertada, pois uma alta relação folha: colmo representa uma forragem de elevado teor de proteína, boa digestibilidade e, conseqüentemente, alto consumo. Assim, animais em pastejo apresentam preferência pelas folhas, por elas constituírem a porção da planta que apresenta melhor qualidade nutricional, menor tempo de retenção no rúmen e, por conseqüência, maior taxa de passagem. Os teores de PB do capim mombaça relatados por Jank et al. (1994) e Jank, (1995) revelam, em média, 13,4% para as folhas e 9,7% para os colmos, enquanto que Cecato et al (2002) apontam valores de 11,09% para o período de verão e de 10,42% para o inverno na planta inteira. Estes teores encontram-se acima do mínimo requerido para não prejudicar o consumo. O capim-Mombaça tem uma boa produção em massa e pode render até quatro colheitas por ano. A produção total chega a cerca de 40 toneladas/corte. O momento ideal para o corte do capim-Mombaça ocorre em até 55 dias após o rebote. Nessa época, o capim apresenta 53% de nutrientes digestivos, 9% de proteína e 24% de matéria seca.

A base da alimentação dos ruminantes, independentemente do sistema de suplementação adotado no Brasil, é o volumoso. Por isso, justificam-se estudos de formas alternativas de suplementação volumosa. A utilização de forragens conservadas, principalmente na forma de silagem, é uma alternativa viável, para que se possa garantir o fornecimento de forragem de elevada qualidade, durante o período de escassez de alimentos. A confecção de silagem de capins tropicais é mais uma alternativa para minimizar problemas de falta de alimento nas propriedades pecuárias. Apesar do baixo custo de produção da forragem e da boa produtividade quando bem manejados, o uso de capins tropicais para ensilagem deve ser bem avaliado.

A qualidade da silagem obtida está diretamente relacionada ao material que lhe deu origem, e às condições em que foi ensilado (TAVARES et al., 2009). O potencial da espécie

forageira para ensilagem depende de seu teor de umidade e carboidratos solúveis e de seu poder tampão no momento do corte (MCDONALD et al., 1991; REIS & COAN, 2001).

2.2 Ensilagem e silagem

A ensilagem é prática antiga, realizada pelos egípcios entre 1000 e 1500 a.C. Em épocas remotas, usava-se o processo de ensilagem como forma de conservar folhas de videira e gramíneas para o período de escassez. No Brasil, a introdução da técnica de ensilagem ocorreu, provavelmente, no século passado (ANDRIGUETO et al. 2002). Segundo Woolford (1984), a silagem é o produto formado quando gramíneas ou outro material com teor de umidade suficientemente alto, sujeito a deteriorização por microrganismos aeróbicos, é armazenado anaerobicamente. Já para Andrigueto et al. (2002), o termo silagem é definido como produto decorrente de processo de acidificação fermentativa de forragens verdes, que resulta na preservação, servindo como alimento ao gado. Enquanto Cardoso e Silva (1995), denominam de silagem, a forragem verde, com alto teor de umidade, conservada por meio de processo de fermentação anaeróbica.

O processo de ensilagem é o método de conservação de forragens mais empregado no mundo todo. Quantidades adequadas de forragens de alta qualidade constituem a base da crescente produção leiteira e de carne. A silagem cresce em popularidade devido à possibilidade de incremento do potencial produtivo do solo, redução do custo de produção do alimento, baixo índice de perdas e melhoria na qualidade da forragem (BJORGE, 1998). Outro fator que tem contribuído para o aumento da ensilagem é a integração lavoura-pecuária, entrando o componente agrícola como forma de reduzir o custo de recuperação ou renovação da pastagem (SILVA, 2001).

Gramíneas perenes são susceptíveis a perdas durante a ensilagem, devido ao seu alto poder tampão, alta umidade no momento da ensilagem e baixo teor de carboidratos solúveis (RIBEIRO et al., 2009). Estas características prejudicam a produção de ácido láctico, e, conseqüentemente, a redução do pH em silagens, o que resulta num processo fermentativo ineficiente (WOOLFORD et al., 1984). A utilização de material absorvente, como subprodutos da agricultura, promove um aumento do teor de matéria seca da silagem e garante a melhoria das condições de fermentação.

O principal objetivo da ensilagem é maximizar a preservação original dos nutrientes encontrados na forragem fresca, durante o armazenamento, com o mínimo de perdas de matéria seca e energia (PEREIRA et al., 2002). Segundo o mesmo autor, para se obter uma fermentação efetiva do material ensilado, algumas estratégias têm sido usadas, visando à

produção de altos níveis de ácido láctico e queda brusca do pH (>4,2), durante a fermentação, obtendo uma silagem de boa qualidade.

A estacionalidade na produção de forragem é fator limitante na oferta de alimentos para os animais, prejudicando o desempenho zootécnico e assim consequentemente na obtenção de carne, leite e lã durante todo ano. O processo de ensilagem, método de conservação de forragem, cita-se como uma ferramenta de grande importância a se adotar na propriedade, pois permite principalmente manter a produção em épocas de escassez de alimentos, aproveitando o excesso de forragem produzido nos períodos das águas. A alta umidade no material a ser ensilado pode ocasionar proliferação das bactérias do gênero *Clostridium* promovendo uma fermentação indesejável. Contudo, o uso de aditivos com intuito de elevar o teor de matéria seca pode ser considerado como uma forma de melhorar o perfil fermentativo de silagens.

As fases do processo de ensilagem são, respectivamente:

- Fase aeróbia: ocorre durante o enchimento e se prolonga até poucas horas depois do fechamento do silo. A elevada concentração de O₂ favorece o crescimento de microorganismos aeróbicos, como fungos, leveduras e algumas bactérias. A atuação destes microorganismos, juntamente com o processo respiratório da planta, promove redução do O₂ e dá início a segunda fase.

- Fase de fermentação ativa: nesta fase há queda acentuada do pH da silagem devido à formação de ácidos orgânicos, a partir de açúcares. Inicialmente, atuam enterobactérias e bactérias heterofermentativas, posteriormente, tornam-se dominantes as homofermentativas. Esta fase se prolonga até que o pH caia para valores abaixo de 5,0.

- Fase de estabilidade: O pH ácido da silagem e a condição de anaerobiose conservam a mesma até o momento da abertura do silo. Nesta fase, somente as bactérias ácidas lácticas se encontram em atividade, porém muito reduzida.

- Fase de descarga: ocorre por ocasião da abertura do silo, e a exposição de elevadas concentrações de O₂, normalmente favorece o crescimento de fungos e leveduras. É chamada de estabilidade aeróbia, a propriedade de inibição da proliferação de fungos e leveduras, após o contato com o O₂. No estágio inicial de fermentação, lactococos como o *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Pediococcus acidilactici*, *Leuconostoc mesenteroides*, e lactobacilos como os *Lb. plantarum*, *Lb. Cellobioses* crescem juntamente com microorganismos aeróbicos, como as leveduras, fungos e bactérias aeróbicas, devido à presença de ar entre as partículas das plantas. Ao mesmo tempo, ocorre o processo de respiração das plantas. Para promover a fermentação um ambiente anaeróbio é formado, tornando predominante a população de BAL

(bactérias acidoláticas). As BAL envolvidas são predominantemente Lactococos e lactobacilos. No estágio final da fermentação, lactobacilos tornam-se predominantes, devido à sua tolerância à acidez do meio. Não obstante, as BAL nas silagens são bem diversificadas, dependendo das propriedades dos materiais das plantas, tecnologia de ensilagem e tipo de silo (PORTAL ENSILAGEM, 2017).

Os capins cultivados nas condições de clima tropical apresentam elevada produção nas épocas favoráveis e redução acentuada nas épocas desfavoráveis. Normalmente observa-se um excedente de forragem nas épocas das águas, que deveria ser conservado, para posterior fornecimento nas épocas mais secas do ano. Neste contexto, a ensilagem do excedente de capins pode ser um bom expediente para aumentar a oferta de matéria seca aos animais nas ocasiões desfavoráveis. Não obstante, como já visto, capins possuem um baixo teor de matéria seca e carboidratos solúveis, bem como um reduzido número de bactérias endógenas, de modo que sua utilização requer o emprego de técnicas que possibilitem o aumento do teor de matéria seca e o favorecimento das bactérias ácido-láticas (MOUSQUER et al., 2013).

O capim Mombaça (*Panicum maximum* CV. Mombaça) consiste numa boa opção para silagem por conter uma elevada produção por unidade área. Todavia, essas gramíneas apresentam baixo teor de matéria seca, alto poder tampão e baixo teor de carboidratos solúveis nos estádios de crescimento em que apresentam bom valor nutritivo, colocando em risco o processo de conservação por meio da ensilagem, devido às possibilidades de surgirem fermentações secundárias (EVANGELISTA et al., 2004).

O processo de ensilagem é reconhecido como a prática de suplementação volumosa aplicada nas propriedades. Conservação do excedente do pasto, na forma de silagem, é cada dia mais comum entre os produtores, e têm proporcionado bons resultados, e, com isso, aumentando a disponibilidade de alimento barato e de qualidade. Contudo, silagens de capim costumam apresentar problemas no processo fermentativo devido ao alto teor de umidade, baixo teor de carboidratos solúveis e alto poder tampão. Estes problemas podem ser contornados com o uso de aditivos químicos, físicos e microbiológicos. Na maioria das vezes, têm-se utilizado subprodutos da agroindústria ou resíduos agrícolas como aditivos físicos.

O uso de inoculantes contendo bactérias lácticas visando à melhoria do processo fermentativo, e, como consequência, do valor nutritivo poderia ser uma técnica viável, entretanto, apesar dos efeitos benéficos esperados pela inoculação, nem sempre se observa na prática melhoria do desempenho animal, o que pode estar associado a diversos fatores, mas que segundo Muck (2010).

2.3 Aditivos biológicos para silagem

Entende – se por aditivos biológicos todo produto comercial ou não, que, quando aplicado a planta forrageira, durante o processo de ensilagem, poderá reduzir as perdas de nutrientes, estimular ou inibir as fermentações, ou ainda interagir no valor nutritivo da planta (PORTAL EMBRAPA, 2006).

Vale ressaltar, no entanto, que antes de serem analisadas as vantagens da utilização de inoculantes bacterianos, outros fatores do processo de ensilagem devem estar devidamente adequados, como: manejo de colheita, idade e maturidade do capim, regulagem do maquinário, tempo de enchimento do silo, tamanho de partícula, taxa de compactação, forma de enchimento do silo, desensilagem, entre outros. Após a “checagem” do processo de ensilagem, o uso de inoculantes bacterianos seria uma alternativa para otimizar o processo de fermentação do material ensilado, sendo que, caso algum dos processos de manejo da ensilagem apresente falhas ou seja negligenciado, o uso de inoculante não vai proporcionar os resultados esperados. De maneira geral, a utilização deste tipo de aditivo apresenta-se como uma ferramenta complementar, de forma a melhorar e garantir a qualidade do material, e não corretivo da falta de critérios técnicos no processo (PORTAL SCOT CONSULTORIA, 2008).

O principal objetivo do processo de ensilagem é propiciar a fermentação láctica, tornando o ambiente dentro do silo anaeróbico, ou seja, sem a presença de oxigênio. Para tanto, é necessário promover durante o processo de ensilagem uma compactação adequada. De acordo com McDonald et al., (1991), os aditivos biológicos para silagem podem ser classificados em cinco categorias, sendo elas: os estimulantes de fermentação, os inibidores de fermentação, os inibidores de deterioração aeróbica, os nutrientes e os absorventes.

De acordo com McDonald et al. (1991), os aditivos estimulantes e os inibidores agem pelo estímulo da fermentação láctica ou por sua inibição (parcial ou completa) no crescimento microbiano. Já os inibidores de deterioração aeróbica agem principalmente no controle da deterioração da silagem quando exposta ao ar. Enquanto que os aditivos nutrientes têm o intuito de melhorarem o valor nutritivo da silagem, e são adicionados ao material no instante da ensilagem. E os absorventes por sua vez, são utilizados em forragens com baixo teor de matéria seca, para diminuir a perda de nutrientes e a produção de efluentes. Vale ressaltar que dependendo da composição do aditivo químico empregado ele pode pertencer ao grupo dos nutrientes e absorventes simultaneamente.

A adição de produtos externos ao processo de ensilagem surgiu como forma de melhorar o resultado final da fermentação, alterando a matéria seca, o teor de carboidratos

solúveis e o pH do material ensilado (COSTA et al., 2001). Vilela (1985) classificou os aditivos de acordo com as funções que exercem, ou seja, estimulantes da fermentação e inibidores da fermentação. Os estimulantes da fermentação podem ainda ser subdivididos em nutritivos (uréia, biureto, melação, carbonato de cálcio, concentrados e cana-de-açúcar), e não nutritivos (culturas de bactérias e enzimas, celulase e hemicelulase).

O teor de umidade do material que será ensilado está diretamente relacionado à facilidade de compactação. Sendo assim, quanto maior for o teor de umidade do material, melhor será a compactação. No entanto, o excesso de umidade, ocasionará maior produção de efluentes, ocorrendo perdas de nutrientes e dificultando o abaixamento do pH, além do risco de ocorrência de fermentações indesejáveis. Outro fator limitante seria a menor quantidade de carboidratos solúveis presentes nas gramíneas tropicais, que são de extrema importância para a produção e multiplicação de bactérias desejáveis (*Lactobacillus*), produtoras de ácido láctico, responsável pela estabilização do pH do silo e inibição de microorganismos indesejáveis (SCOT CONSULTORIA, 2008).

De acordo com Teixeira Júnior (2008), a utilização de aditivos para a melhoria da qualidade de alimentos volumosos destinados à alimentação de ruminantes é bastante antiga. Existem várias alternativas viáveis para melhorar o valor nutritivo dos alimentos, dentre eles, produtos químicos (hidróxidos, amônia anidra, ureia, etc.), além de aditivos biológicos como coprodutos da agroindústria ou inoculantes bacterianos. Coprodutos da agroindústria utilizados como aditivos na ensilagem de gramíneas tropicais podem aumentar o teor de matéria seca e melhorar o valor nutritivo da silagem produzida.

A utilização de inoculantes bacterianos irá fornecer cepas de bactérias homofermentativas acidoláticas (*Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus*, *Enterococcus*), cuja finalidade é estimular rapidamente a fermentação láctica, reduzindo o pH do silo, diminuindo a ação de bactérias indesejáveis e promovendo a desnaturação de enzimas proteolíticas (formadoras de N-amoniaco), favorecendo a aceleração da estabilidade do silo (SCOT CONSULTORIA, 2008).

As bactérias lácticas são um dos mais comuns aditivos para produção de silagens em todo o mundo. São denominados inóculos bacterianos (BOLSEN & BRENT, 2001) ou inoculantes biológicos (ANDRADE, 2000). Este produto tem como objetivos promover uma rápida e eficiente fermentação do material ensilado, resultando numa intensa produção de ácido láctico e rápida queda no pH (WEINBERG e MUCK, 1996). Esses inoculantes, contendo principalmente bactérias ácido lácticas (BAL), têm se tornado os aditivos dominantes em muitas partes do mundo, não somente por causa da conveniência e segurança, mas também

devido à perspectiva deles em controlar os eventos microbianos durante a fermentação da silagem (COSTA et al., 2001).

A eficiência do processo fermentativo, e, conseqüentemente, a qualidade da silagem depende das bactérias epífitas que são colocadas dentro do silo com a forragem (PEDROSO, et al., 2000). O aumento artificial da quantidade inicial de bactérias produtoras de ácido láctico na forragem, pode favorecer a fermentação e resultar em silagens de melhor qualidade, promovendo queda mais rápida do pH, valor final do pH mais baixo, aumento na relação entre os ácidos láctico e acético e diminuição nos teores de etanol e nitrogênio amoniacal (BOLSEN et al., 1995).

A fermentação anaeróbica é o principal processo envolvido na preservação das silagens. A eficiência do processo fermentativo e, conseqüentemente, a qualidade da silagem dependem das bactérias epífitas que são colocadas dentro do silo com a forragem. A população de microorganismos epífíticos, entre eles as bactérias produtoras de ácido láctico, pode ser pequena nas forragens (SPECKMAN et al., 1988), sendo afetada pelas condições ambientais (umidade, temperatura, radiação solar, espécie e características da planta), o que pode levar, ao longo do tempo, à obtenção de silagens de qualidade variável, a partir de um mesmo tipo de forragem e sistema de manejo (ASHBELL, 1995).

Para melhorar a qualidade da silagem, tanto do processo de fermentação, como do seu valor nutritivo, os produtores rurais passaram a adicionar alguns aditivos na silagem. Entre eles encontramos alguns inoculantes bacterianos, NNP, enzimas, ácidos, açúcares e sal. No entanto, tais aditivos só obterão bons resultados, se houver o manejo adequado da ensilagem, como a rapidez ao encher o silo, a plena compactação da silagem dentro do silo, a vedação adequado do silo, ou ainda o método correto de esvaziar o silo. Entre os aditivos mais utilizados temos os estimuladores ou os inibidores de fermentação. Ambos alteram o andamento da fermentação, bem como sua composição, para melhorar a preservação e aumentar o valor nutritivo da silagem.

Todas essas forrageiras podem ser conservadas por meio do processo de fermentação láctica, que promove a diminuição do pH da matéria orgânica. Essa acidificação interrompe o seu processo de decomposição e conserva as suas qualidades nutritivas.

O uso de aditivos microbiológicos em silagens tem o objetivo de inibir o crescimento de microorganismos aeróbios (especialmente aqueles associados com instabilidade aeróbia, ex. leveduras, *Listeria*), inibir o crescimento de organismos anaeróbios indesejáveis como enterobactérias e clostrídeos, inibir a atividade de proteases e deaminases da planta e de microorganismos, adicionar microorganismos 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).

O “aditivo ideal” é aquele que proporciona segurança no seu manuseio, contribui na redução de perdas de matéria seca (MS), propicia a melhoria da qualidade higiênica da silagem, restringe fermentações secundárias, aumenta o valor nutritivo e melhora a estabilidade aeróbia, além de oferecer o maior retorno na produção animal em relação ao seu custo (HENDERSON, 1993). Contudo, dificilmente todas essas características serão encontradas em um único aditivo. Woolford (1984) afirma que a busca por aditivos se deve a dificuldade em se atingir o “teor ideal de MS” durante a ensilagem, em função das variações climáticas, e a anaerobiose em função dos tipos de silos usados.

O aditivo nas silagens de capim deve apresentar alto teor de matéria seca, alta capacidade de retenção de água, boa palatabilidade, além de fornecer carboidratos para fermentação. Incluem bactérias homofermentativas, heterofermentativas, ou a combinação destas. Os microrganismos homofermentativos caracterizam-se pela taxa de fermentação mais rápida, menor proteólise, maior concentração de ácido lático, menores teores de ácidos acético e butírico, menor teor de etanol, e maior recuperação de energia e matéria seca. Bactérias heterofermentativas utilizam ácido lático e glicose como substrato para produção de ácido acético e propiônico, os quais são efetivos no controle de fungos, sob baixo pH (SILVA et al., 2001).

A fermentação do tipo homofermentativa é considerada ideal para conservação de silagens, uma vez que produz o ácido lático em grandes quantidades, o qual reduz o pH de forma mais eficaz do que o ácido acético e evita a perda de MS associada à produção de gás pela fermentação do tipo heterofermentativa. Entretanto, estudos têm demonstrado que a utilização de bactérias homofermentativas pode comprometer a estabilidade aeróbia das silagens (RANJIT & KUNG JR., 2000; FILYA, 2003; KLEINSCHMIT et al., 2005; HU et al., 2009).

Ensilagem é o método de preservação para a maioria das forragens. É baseado na conversão de carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, principalmente lactato, por bactérias ácido-láticas (BAL). Como resultado, há redução do pH e o material, ainda úmido, torna-se livre da ação de microrganismos danosos. As bactérias ácido-láticas são gram-positivas, não apresentam mobilidade nem produzem esporos, são catalase negativas. O produto final da fermentação é o ácido lático, entretanto, alguns grupos produzem quantidade considerável de CO₂, etanol e outros metabólitos, sendo estas denominadas de heterofermentativas. Particularmente, *Lactobacillus plantarum* são os maiores fermentadores da silagem

(OHMOMO et al. 2002). Embora, os *Lactococcus* sejam muito importantes no estágio inicial de fermentação, na manutenção de um ambiente ácido, posteriormente, tornam-se os lactobacilos predominantes.

Para ser escolhido o aditivo não se pode deixar resíduos tóxicos na silagem, deve ser de fácil aplicação e eficácia fazendo com que a silagem ganhe maior valor energético e proteico tornando o processo de fermentação eficiente.

Os aditivos têm dois principais propósitos na silagem: influenciar o processo fermentativo favorecendo a conservação e melhorar o valor nutritivo. Outros propósitos como a diminuição de perdas superficiais e na camada exposta da silagem, aumento da vida útil, aumento do valor energético, melhora da digestibilidade da fibra e da matéria seca e melhora no desempenho animal, também são observados em silagem com o uso de aditivos bacterianos (KEPLIN, 2006). Segundo Bergamaschine et al. (2006), o ingrediente usado como aditivo nas silagens de capim deve apresentar alto teor de matéria seca, alta capacidade de retenção de água, boa palatabilidade, além de fornecer carboidratos para fermentação. Como também ser de fácil manipulação, baixo custo e fácil aquisição.

Desta forma os inoculantes para silagem podem facilitar ou acelerar o processo de ensilagem, mas eles não substituem os fatores fundamentais (maturidade da planta, teor de matéria seca, a exclusão de oxigênio), que são primordiais para produção de silagem de boa qualidade. Dentre estes fatores a idade de rebrotação é a que influencia todas as características da silagem desde a fermentação até o valor nutritivo, considerando-se as perdas.

A fermentação láctica é o ponto chave do qual depende todo o processo de ensilagem, devido à menor perda de nutrientes e preservação adequada do material ensilado. O uso de bactérias lácticas como aditivos para melhorar a qualidade das silagens deve levar em consideração a interação microrganismo-espécie forrageira, por que as estirpes apresentam efeito pronunciado nas espécies das quais já fazem parte da microflora epifítica (SILVA et al. 2001).

Nesse sentido, Nussio e Schmidt (2004) propuseram a classificação dos aditivos mais frequentemente usados no Brasil em três grupos: aditivos químicos, aditivos microbianos e sequestrantes de umidade. Harrison et al. (1994) afirma que os aditivos mais utilizados são os bacterianos (estimulantes da fermentação), sendo que outras formas de aditivos também são bastante empregadas, como as enzimas, os ácidos (propiónico e fórmico) e fontes de nitrogênio não protéico (amônia e uréia).

Weinberg e Muck (1996) acreditam que os aditivos comercialmente mais disponíveis são as bactérias homofermentativas ácido lácticas, devido à sua capacidade de promover uma

adequada fermentação. Nesse caso, vale lembrar que os aditivos microbianos também podem ser encontrados na forma das bactérias heterofermentativas e a na combinação entre elas, homo e heterofermentativas.

Os microrganismos homofermentativos caracterizam-se pela taxa de fermentação mais rápida, menor proteólise, maior concentração de ácido lático, menores teores de ácidos acético e butírico, menor teor de etanol, e maior recuperação de energia e matéria seca. Bactérias heterofermentativas utilizam ácido lático 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).

Inoculantes bacterianos apresentam algumas vantagens em relação aos aditivos químicos, uma vez que são seguros, de fácil manipulação, não poluentes, não corrosivos ao maquinário e são considerados produtos naturais (SÁ NETO, 2012).

Para Silva (2011) os aditivos biológicos e/ou enzimáticos têm como vantagem a fácil aplicação, diminuição de perdas e melhora do desempenho animal, porém pioram a estabilidade aeróbica da silagem. No entanto, Pereira et al. (2001), acredita que os resultados com inoculantes contendo bactérias em forrageiras tropicais tem sido pouco consistente e conclusivo.

O ideal seria que os aditivos tivessem comprovada capacidade de reduzir as perdas de matéria seca, aumentar a qualidade higiênica, limitar fermentações secundárias e aumentar a estabilidade aeróbica da silagem (WARDYNSKI et al., 1993)

Os aditivos usados no processo de ensilagem devem elevar a recuperação de nutrientes e energia da forragem, com conseqüente benefício no desempenho dos animais (KUNG JR., 2009). Deve – se ressaltar, que para obter – se uma silagem de boa qualidade e nutritiva é de suma importância o manejo que será empregado à cultura forrageira escolhida, como época de corte, tamanho de partículas e compactação do silo, do que propriamente a escolha de aditivos que possam melhorar a silagem. Ou seja, nenhum aditivo oferecerá bom resultado quando o manejo ocorrer de forma inadequada.

Portanto o sucesso na utilização de aditivos microbiológicos durante a ensilagem depende da habilidade da bactéria inoculada crescer e desenvolver – se rapidamente na massa da forragem, da presença de substrato adequado e da população bacteriana inoculada em relação à população epífita da forragem. Para Muck & Kung Jr. (1997) e Kung Jr. et al (2003) o insucesso da utilização dos inoculantes em silagens depende da atividade competitiva de população epífita da planta originada a partir de cepas selvagens, do baixo teor de açúcares da forragem, dos efeitos do antecedente histórico da cultura agrícola utilizada como fonte de

ferragem, excesso de oxigênio, extremos de atividade de água na massa ensilada e problemas na aplicação do produto.

Nesse sentido, Muck (1996) afirma que os inoculantes microbianos nem sempre funcionam da maneira esperada, sendo a principal causa à competição com a população natural de bactérias lácticas. Se a população de bactérias lácticas é suficientemente maior do que o número aplicado, é difícil para as bactérias introduzidas superarem as existentes na ferragem.

2.4 *Lactobacillus Plantarum*

Dentre os aditivos microbianos, as bactérias do gênero *Lactobacillus* são as mais estudadas e consolidadas no mercado, podendo ser divididas em homofermentativas (*Lactobacillus lactis*), heterofermentativas facultativas (*Lactobacillus plantarum*) ou heterofermentativas obrigatórias (*Lactobacillus buchneri*). As primeiras caracterizam-se por produção exclusiva de ácido láctico, enquanto as duas últimas produzem, além do ácido láctico, outros compostos como ácido acético, etanol e CO₂. Todos os gêneros apresentam importância no processo de ensilagem, tanto durante a fermentação como no período após a abertura do silo, e por isso são atualmente, os principais microrganismos encontrados nos produtos comerciais, de forma exclusiva ou combinados. Bactérias ácido lácticas possuem a habilidade de produzir ácido láctico como principal produto (SÁ NETO, 2012).

Seis gêneros são regularmente associados à silagem: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* e *Streptococcus*. Estas bactérias podem ser divididas em homofermentativas, as quais produzem principalmente ácido láctico, ou heterofermentativas, onde produtos adicionais como etanol e ácido acético, assim como CO₂ são formados. A via homofermentativa é mais eficiente em termos de produção de ácido e perda de energia (PAHLOW et al., 2003).

A maior parte do grupo das bactérias ácido lácticas em silagens pertencem ao grupo heterofermentativas. *Lactobacillus plantarum* foi uma das espécies pioneiras de estudo em silagens, por ser a espécie isolada com mais frequência e por apresentar as características consideradas ideais para um microrganismo na silagem, dentre elas: crescimento vigoroso e habilidade de competir e dominar outros microrganismos, possuir rota homofermentativa, no caso da fermentação de hexoses (principais açúcares em forragens), para produzir quantidades elevadas de ácido láctico a partir de açúcares (hexoses) prontamente disponíveis, ser ácido tolerante e capaz de produzir pH de pelo menos 4,0, de preferência o mais rápido possível para inibir a atividade de outros microrganismos, ser capaz de fermentar glicose, frutose,

sucrose, frutanas, e preferencialmente açúcares de 5 carbonos (pentoses), não apresentar ação sobre ácidos orgânicos, possuir faixa de temperatura de crescimento até 50°C, e ser hábil em crescer em substratos com baixo teor de umidade (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

O *Lactobacillus plantarum* é uma BAL heterofermentativa facultativa, capaz de elevar a taxa de fermentação da silagem, com queda acentuada de pH, diminuindo a proteólise e aumentando a concentração de ácido lático, resultando em maior preservação de nutrientes. Ao comparar resultados de pesquisas envolvendo silagem de milho inoculadas com *Lactobacillus plantarum*, Zopollatto et al. (2009) verificaram que houve aumento de 0,65% no teor de proteína bruta e 8 de 1,8% na digestibilidade in vitro da matéria seca e os teores de celulose, hemicelulose e fibra em detergente neutro reduziram em 2,48; 8,0 e 3,52%, respectivamente. O valor de pH de 3,3 foi aproximadamente 1,07% inferior ao da silagem controle.

Segundo Muck (2008), a principal bactéria utilizada como inoculante é o *Lactobacillus plantarum*, com o propósito de controlar o processo de fermentação, através da produção de ácido lático e consequente queda do pH da massa ensilada, inibindo o crescimento de microrganismos como clostrídeos e enterobactérias. No entanto, a deterioração da silagem na fase de esvaziamento do silo é inevitável, podendo resultar em perdas expressivas (até 40% de perdas em silo de superfície) de matéria seca (WOOLFORD, 1990). Isso ocorre principalmente em silagens resultantes de boa fermentação, com elevado teor de lactato (FILYA, 2002) e açúcares remanescentes, que servem como substrato para microrganismos esses microrganismos deterioradores. Sendo assim, torna-se necessário a inoculação da forragem com "microrganismos alternativos", capazes de inibir o crescimento de microrganismos deterioradores através da produção de ácido acético ou propiônico (DANNER et al., 2003; FILYA, 2003 a, b).

2.5 Enzimas na nutrição de ruminantes

O papel elementar dos volumosos é fornecer fibra, que é fonte de carboidratos usados como energia pelos microrganismos ruminais. Os ácidos graxos voláteis produzidos durante o processo de fermentação ruminal são a principal fonte de energia para o animal. A fibra também é essencial para estimular a mastigação, a produção de saliva e a ruminação, além de ser fonte de nutrientes como proteínas e minerais. Visando potencializar a utilização dos alimentos fibrosos pelos ruminantes pesquisas têm sido realizadas com o intuito de aumentar a digestibilidade da MS. Uma das formas encontradas para esse fim é aumentar a quantidade

de enzimas fibrolíticas presentes dentro do rúmen e do intestino, o que pode ser conseguido através da suplementação com enzimas fibrolíticas exógenas. A maioria das preparações comerciais enzimáticas é um produto da fermentação fúngica, predominantemente das espécies *Trichoderma* e *Aspergillus*, e bacteriana, principalmente *Bacillus*. A celulose e hemicelulose são os principais alvos das enzimas fibrolíticas celulases e hemicelulases, respectivamente. A aplicação de enzimas exógenas a rações concentradas para vacas leiteiras aumentou a eficiência alimentar em 6 a 12%, dependendo do nível de adição (BEAUCHEMIN et al., 1997).

Ao considerar que nem todos os sítios ativos dos substratos disponíveis para a atuação das enzimas microbianas são ocupados, o aumento na concentração de enzimas poderia proporcionar aumento na taxa de digestão da parede celular no rúmen com o auxílio da atividade microbiana (DEHORITY; TIRABASSO, 1998).

Segundo Loures (2004), a aplicação de enzimas fibrolíticas durante a ensilagem do capim Tanzânia emurchecido ou não, apesar de ter reduzido o conteúdo de FDN e FDA da silagem, não provocou alterações significativas nos parâmetros ruminais (pH, amônia e ácidos graxos voláteis), nem aumentou o potencial de utilização da silagem pelos animais, através das variáveis; consumo de MS e degradabilidade da MS e da fibra. Não se observou efeito do pré-emurchecimento ou não do capim Tanzânia na ação das enzimas exógenas, no entanto, a literatura relata que as enzimas podem ser mais efetivas quando adicionadas em forragens secas do que úmidas (FENG et al., 1996). A autora conclui ainda que a aplicação da preparação enzimática minutos antes do fornecimento da dieta constituída de silagem de capim não tratado, proporcionou os melhores resultados sobre a digestibilidade da fração fibrosa, indicando que talvez essa forma de aplicação seja o método mais viável para garantir maior efetividade das enzimas fibrolíticas.

A utilização de enzimas fibrolíticas na ensilagem visa aumentar a eficiência do processo fermentativo, favorecendo a atuação de microrganismos desejáveis, como as bactérias produtoras de ácido láctico (MUCK; KUNG JR., 1997; KUNG JR., 2000). As principais enzimas fibrolíticas utilizadas, como as hemicelulases, celulases, pectinases e xilanases, atuam disponibilizando açúcares simples como fonte de nutrientes para as bactérias fermentadoras (MUCK; KUNG JR., 1997). Tem-se verificado que os resultados dos aditivos enzimáticos, tanto na ensilagem de forragens como no preparo de rações, utilizando os métodos *in situ* ou *in vivo*, nem sempre são semelhantes, sendo que os resultados *in vivo* têm sido mais satisfatórios (BEAUCHEMIN; RODE, 1996). Os autores destacam ainda que a aplicação direta das enzimas no ambiente ruminal pode apresentar menor eficiência

enzimática que a aplicação direta no alimento fornecido. Alguns autores sugerem que as enzimas fibrolíticas podem ser parcialmente protegidas da degradação ruminal, em decorrência da alteração conformacional provocada por forte ligação com o substrato, quando aplicadas diretamente no alimento fornecido (FONTES et al., 1995).

Produtos à base de enzimas fibrolíticas, tais como celulasas e xilanases, há algum tempo têm sido usados como aditivos durante o processo de ensilagem com a finalidade de melhorar o processo fermentativo e as características químicas das silagens resultantes e, conseqüentemente, a performance animal (MCDONALD et al., 1991). A redução dos conteúdos de fibra em detergente neutro (FDN) e de fibra em detergente ácido (FDA) da forragem ensilada é uma das vantagens a ser destacada, tendo em vista a possibilidade de aumento da ingestão e da eficiência da digestão de matéria seca (MS), quando oferecida aos ruminantes. Durante a degradação de um substrato complexo, como a celulose, várias enzimas agem em associação para uma digestão eficiente. O primeiro passo na degradação de um substrato insolúvel parece ser a vinculação do complexo enzimático ou microrganismo ao substrato. Assim, a aderência é obrigatória para que ocorra a degradação dos componentes da planta pelas bactérias do rúmen. A aderência dos microrganismos e das enzimas que degradam os polissacarídeos não somente coloca os sistemas de enzimas em proximidade ao substrato, mas pode agir rompendo ligações entre celulose e polissacarídeos não-celulolíticos, bem como ligações dentro das fibrilas de celulose (BEAUCHEMIN et al., 2003). As enzimas adicionadas na ensilagem deverão agir de maneira similar às bactérias que iniciam a digestão no rúmen, iniciando a digestão dos componentes estruturais da parede celular, o que cria sítios adicionais de digestão e a liberação de produtos que atraem as bactérias do rúmen aos sítios de digestão.

Logo, as enzimas deverão degradar parcialmente os componentes da parede celular, fornecendo às bactérias da cultura ensilada mais substrato fermentável (NADEAU et al., 2000). O aumento da produção de ácido lático, a partir da degradação de tais componentes, diminui o pH da silagem, restringindo a atividade proteolítica e aumentando a estabilidade aeróbica. A degradação dos componentes estruturais das plantas pelas enzimas possibilita o aumento da taxa e da extensão da digestão das silagens no rúmen (COLOMBATTO et al., 2004).

Ao considerar que nem todos os sítios ativos dos substratos disponíveis para a atuação das enzimas microbianas são ocupados, o aumento na concentração de enzimas poderia proporcionar aumento na taxa de digestão da parede celular no rúmen com o auxílio da atividade microbiana (DEHORITY; TIRABASSO, 1998).

As enzimas são aditivos relativamente novos quando comparados aos inoculantes bacterianos. Os Aditivos enzimáticos são produtos contendo uma variedade de proteínas que auxiliam em certas reações bioquímicas na silagem (PEREIRA et al., 2002).

Estudos apontam que o uso de enzimas em forragens ensiladas como Alfafa (*Medicago sativa L.*) e *Phleum pratense L.*, por exemplo, quando utilizadas no início do processo de ensilagem podem melhorar a fermentação dentro do silo, pois aumenta a degradação do tecido parenquimatoso, reduz as frações de FDN, FDA, hemicelulose e celulose (ISHIDA et al., 2001; ANIWARU et al., 2001).

Os produtos comerciais à base de enzimas são extratos da fermentação de bactérias (*Bacillus sp.*) ou fungos (*Trichoderma e Aspergillus sp.*), principalmente. Graminha et al. (2008) propuseram o emprego de resíduos agroindustriais após processo de fermentação em fase sólida (diferente do utilizado nas culturas de microorganismos) como substrato de cultivo, como uma nova alternativa para a produção de enzimas. Os autores citaram diversos trabalhos com resultados promissores ao utilizar essa técnica na extração de enzimas como pectinases, celulasas, xilanases, amilases e ligninases.

De acordo com Berchielli e Bertipaglia (2010) o método de aplicação das enzimas exógenas é uma área de estudo ativa. Procura-se determinar a efetividade dos produtos e a aplicação das enzimas horas antes do oferecimento, em forragem ou no concentrado, podendo influenciar a eficiência alimentar. As autoras frisam que a importância destes estudos coincide com o fato de que a forragem consumida pelos ruminantes caracteriza-se pela diversidade de origem e valor nutricional, utilizadas no estado in natura ou conservado, além da mistura com outros ingredientes em rações completas.

Resultados obtidos com a adição de enzimas fibrolíticas em dietas para ruminantes têm comprovado aumento na degradabilidade da MS e fibra em detergente neutro (FDN) (FENG et al., 1996), na produção de leite (SCHINGOETHE et al., 1999) e no ganho de peso em bovinos (BEAUCHEMIN et al., 1995).

A utilização de aditivos alimentares na nutrição de ruminantes, no intuito de melhorar a eficiência de produção e reduzir perdas de nutrientes pelo estímulo do metabolismo energético, pode ser considerada como alternativa segura e eficaz. Os aditivos enzimáticos, juntamente com os demais tipos de aditivos, são potenciais substitutos aos antibióticos e aos promotores de crescimento, o uso de enzimas fibrolíticas exógenas apresenta-se como ferramenta estratégica na alimentação de ruminantes. Porém, a grande variabilidade das respostas obtidas até o momento é resultante de ampla diversidade de produtos comerciais disponíveis, que variam com o tipo de enzima contida no produto, a fonte dessa enzima,

método de aplicação na dieta, quantidade de inclusão e atividade da enzima (STIVARI, et al., 2014).

3 MATERIAL E METODOS

3.1 Tratamentos e ensilagem

O experimento foi realizado nas dependências do setor de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados - FCA/UFGD, localizada no município de Dourados – MS no período de maio a setembro de 2013, com latitude de 22°14' S, longitude de 54° 49' W e altitude de 450 m.

O Capim mombaça (*Panicum maximum*. Cultivar Mombaça) foi colhido manualmente no nível do solo com 45 dias após o plantio de dez localidades de um 4.0- há parcela. Amostras de (1000g) de capim, foram congelados e posteriormente analisado o conteúdo de MS (950.15), cinzas (942.05), MO (MS – Cinzas), proteína bruta (PB, N x 6,25; 984.13) e extrato etéreo (920.39) de acordo com a AOAC(2000). Fibra em detergente neutro (e sem sulfato de sódio), fibra em detergente ácido e lignina (ácido sulfúrico) foram determinadas de acordo com Van Soest et al. (1991). Líquido de energia da lactação foi estimado de acordo com NRC (2001). A composição química da planta de capim Mombaça após a colheita é mostrado na Tabela 01.

Tabela 1. Composição química capim mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) antes da ensilagem (g/kg MS).

Materia seca	235
Fibra em detergente neutra	622
Fibra em detergente acida	403
Lignina	52.2
Proteína bruta	133
Carboidrato não fibroso ¹	126
Cinzas	106
Extrato etéreo	14.1
Energia líquida de lactação ² (Mcal/kg DM)	1.23

¹Carboidrato não fibroso= 1000 – (PB + FDN + EE + cinzas), valores expressos g/kg MS (Hall, 2003).

²Calculado de acordo com NRC (2001).

Sessenta mini-silos foram utilizados em um 3 x 2 arranjo fatorial de tratamento experimental composto por três níveis (0, 4 ou 8 g/ t de forragem fresca) de inoculante microbiano (NOI, financeira Kera SIL®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), dois níveis (0 ou 1 UI/ g de forragem fresca) do produto enzimático (ENZ, Fibrozyme, Alltech Inc., Nicholasville, KY) e controle. INO apresentou *L. plantarum* a 4x 10¹⁰ ufc/ g e

P. Acidilactici a 4×10^{10} ufc/ g e foi diluído em água (2 g / l) e pulverizado sobre a forragem separadamente para cada mini-silo. O produto enzimático é um extrato da fermentação de *Trichoderma longibrachiatum* (mistura seca de levedura inativa, levedura de cervejaria seca, extrato de mandioca) contendo um mínimo de 100 UI de atividade de Xilanase por grama. O produto enzimático foi revestido e misturado na forragem atribuída a cada mini-silo, e em todos foram misturados as mesmas quantidade de água e melão de cana (200 g /kg de forragem fresca). Foram adicionados areia (2 Kg) a baldes de plásticos (30 cm de altura e 30 cm de diâmetro), e uma tela de nylon foi colocada sobre a areia e assim adicionado forragem fresca para se obter uma densidade de 650 kg / m³, depois os silos foram selados, pesados e armazenado à temperatura ambiente ($28,5 \pm 23$ °C) durante 60 dias. Todos os silos continham válvulas de Bunsen para permitir a formação de gases. A densidade do silo foi obtida após o cálculos do volume do silo, como segue: $V = \pi r^2 x h$, onde r é o raio e h é a altura do baldo de plástico.

3.2 Perdas fermentativas e efluentes

Os mini-silos foram pesados com 60 dias para determinar perdas de gás, depois foram abertos mini-silos, Após a retirada da silagem, o conjunto silo, areia, tela e tecido de náilon foram pesados para quantificação do efluente produzido. A determinação da perda gasosa foi calculada pela fórmula:

$$PG = (PSI - PSF) / MSI \times 100,$$

Em que: PG = perda por gases (% 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)

A determinação da produção de efluente foi calculada pela equação:

$$PE = (PSAF - PSAI) / MNI \times 1000,$$

Em que: PE = produção de efluente (kg de efluente/t de matéria verde ensilada); PSAF = peso do conjunto silo, areia, tela e náilon após a abertura (kg); PSAI = peso do conjunto silo, areia, tela e náilon antes da ensilagem (kg); e MNI = quantidade de forragem ensilada (kg).

Recuperação de MS: $(MS_f / MS_i) * 100$, em que: MS_f = quantidade de MS final; MS_i = quantidade de MS inicial.

A variação dos teores de MS foi calculada como a diferença em módulo da porcentagem de MS no momento da ensilagem e da porcentagem de MS na abertura.

3.3 Estabilidade aeróbica

As temperaturas das silagens no período após abertura foram obtidas a cada 8 horas durante 5 dias por meio de um termômetro digital infravermelho. A estabilidade aeróbia foi calculada como o tempo gasto, em horas, para a massa de forragem elevar em 1°C em relação à temperatura do ambiente (DRIEHUIS et al., 2001). Ainda no período de estabilidade aeróbica foi escolhido um balde e coletado uma amostra a cada 24 horas a fim de mensurar a matéria seca e pH no período de estabilidade aeróbica. As amostras foram coletadas, sendo o pH mensurado por metodologia de Kung Jr. et al. (1984) e a MS por metodologia da (AOAC, 2002).

3.4 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Versão 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_i = \mu + T_i + e_i$$

Onde: Y_i = variável dependente, μ = média geral, T_i = efeito de tratamento. Os graus de liberdade foram calculados de acordo com o método satterthwaite (ddfm = satterth).

Para as análises de matéria seca e pH durante a estabilidade aeróbica foi utilizado o PROC MIXED do SAS (SAS 2004), com médias repetidas no tempo utilizando seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + Te_j + T_i(Te_j) + e_{ij}$$

Onde: μ = média avaliada, T_i = efeito fixo de tratamento; Te_j = efeito aleatório de tempo (horas); $T_i(Te_j)$ = interação horas * tratamento; e_{ij} = erro aleatório.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Perdas fermentativas e efluentes

As silagens de capim mombaça tratada com *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici* associado com enzima *Xilanase*

Tabela 2- Perdas fermentativas de acordo com os tratamentos experimentais

Item	Tratamentos						EPM	Valor de P			
	Xilanase 0 UI/g			Xilanase 1 UI/g				ENZ	INO		INT
	Ino 0	Ino4	Ino8	Ino0	Ino4	Ino8			Linear	Quad	
Perdas fermentativas											
Gases (%MN)	1.99	0.55	1.95	0.63	0.89	0.40	0.13	0.005	0.629	0.004	0.004
Gases (%MS)	7.79	7.09	20.53	11.34	9.33	10.19	1.18	0.479	0.069	0.035	0.087
Efluente (kg/ton)	24.29	22.56	23.41	21.23	23.42	22.44	0.44	0.247	0.882	0.883	0.282
Efluente (%MS)	2.28	2.11	1.86	1.89	2.14	2.02	0.04	0.419	0.139	0.276	0.026
Total (%MS)	10.07	9.20	22.39	13.23	11.47	12.22	1.16	0.453	0.073	0.036	0.098
Recuperação (%MS)	89.92	90.79	77.60	86.76	88.52	87.77	1.16	0.453	0.073	0.036	0.098

¹Inoculante microbiano (*L. plantarum* at 4×10^{10} ufc/g and *P. acidilactici* at 4×10^{10} ufc/g) adição de 0, 4 or 8 g/ton forragem fresca (INO0, INO4 e INO8, respectivamente), e produto enzimático fibrolítico adição de 1 IU/g de forragem fresca. ²Efeito de enzima (ENZ), dose de inoculante (INO) e interação inoculante por enzima (INT).

Os resultados obtidos de perdas fermentativas, apresentados na tabela 2, demonstram que os tratamentos com *Xilanase 0 UI/g* (Ino 0, Ino 4 e Ino 8 g/ton forragem fresca), 1.99 % e 1.95% (%MN) foram maiores nos resultados de perdas por gases em porcentagem natural do que os tratamentos com *Xilanase 1 UI/g* (Ino 0, Ino 4 e Ino 8 g/ton forragem fresca).

O tratamento *Xilanase 0 UI/g* com adição de inoculante 8 g/ton forragem fresca, apresentou maiores resultados de perdas por gases em porcentagem de matéria seca 20.53% e consequentemente perdas totais 22.39% do que os demais tratamentos.

Segundo BEAUCHEMIN et al. (1998), a diversidade de respostas obtidas com o uso de enzimas pode ser causada por vários fatores, o que inclui o nível de enzima adicionado na ensilagem.

Os valores de perdas por efluente não apresentaram diferença significativas entre si, em todos os tratamentos, respectivamente (tabela 2). No entanto, a soma das perdas por efluentes apresentaram maiores resultados nas silagens tratadas com inoculantes ($P < 0,05$). Já as perdas de recuperação de MS foram maiores no tratamento com efeito de enzima (ENZ) ($P < 0,05$), porém não ocorreu interação entre os outros tratamentos ($P > 0,05$).

A silagem com efeito enzimático ENZ apresentou maior perda por efluente ($P > 0,05$), em relação às silagens INO e INT, no entanto, verificou-se maior recuperação de MS ($P = 0,453$) (Tabela 2), o que pode ser explicado pela menor produção de gases. Uma vez que, elevada produção de efluente em silagens interfere negativamente no valor nutricional, visto que, o efluente é constituído principalmente de conteúdo celular (Bernades *et al.*, 2008). Loures et al., (2003) observaram que 55% da produção de efluente durante a ensilagem ocorre nos dois primeiros dias após o fechamento dos silos.

Para Henderson (1993), os aditivos microbianos deveriam ter capacidade comprovada para redução de perdas de matéria seca e limitação de fermentações secundárias, aumento da estabilidade aeróbia e do valor nutritivo. No entanto, os efeitos do uso desses aditivos, seja sobre a fermentação ou composição da silagem, estão condicionados ao tipo de inoculante e sua atividade biológica, à quantidade aplicada e ao tipo de forragem, além do teor de matéria seca e composição química.

4.2 Estabilidade Aeróbia

Tabela 3- de Estabilidade aeróbica de acordo com os tratamentos experimentais.

Item	Tratamentos						EPM	Valor de P			
	Xilanase 0 UI/g			Xilanase 1 UI/g				ENZ	INO	INT	
	Ino0	Ino4	Ino8	Ino0	Ino4	Ino8		Linear		Quad	
Temperatura (°C)											
Máxima	28.00	30.47	30.30	37.50	35.02	34.25	0.61	0.001	0.586	0.812	0.003
Soma	516	547	542	583	567	556	5.24	0.008	0.948	0.481	0.021
Estabilidade	26.32	24.77	29.47	27.00	30.52	30.75	0.43	0.002	0.003	0.244	0.003
Tempo (Horas)											
Estabilidade	30.00	94.00	120.00	72.00	94.00	100.00	5.03	0.306	0.001	0.053	0.008
Ph	6.52	5.22	5.49	5.79	4.56	4.84	0.12	0.654	0.006	0.078	0.658
Matéria seca	22.69	21.67	22.79	22.16	21.26	24.38	0.43	0.513	0.687	0.043	0.543
Perdas (%MN)	23.89	24.61	24.93	27.43	29.60	28.47	0.12	0.002	0.061	0.056	0.139
Perdas (%MS)	8.88	4.47	7.68	5.23	6.50	7.49	0.06	0.312	0.412	0.005	0.513

¹Inoculante microbiano (*L. plantarum* at 4×10^{10} ufc/4 g and *P. acidilactici* at 4×10^{10} ufc/g) adição de 0, 4 ou 8 g/ton forragem fresca (INO0, INO4 e INO8, respectivamente), e produto enzimático fibrolítico adição de 1 IU/g de forragem fresca. ²Efeito de enzima (ENZ), dose de inoculante (INO) e interação inoculante por enzima (INT).

Os resultados de estabilidade aeróbica em temperatura teve maiores resultados nos tratamentos com *Xilanase 0 UI/g* Ino 4 (24,77), já os tratamentos com *Xilanase 1 UI/g* Ino 4 (30,52) e Ino 8 (30,75) não diferiram significativamente entre si (tabela 3).

A estabilização dos parâmetros de pH e temperatura (°C) foram encontrados os valores de 4,56 e de 37,50°C respectivamente em ambos com *Xilanase 1 UI/g*. Oetterer (2002) indica que a estabilidade da silagem dependerá da manutenção do pH abaixo de 4,5 sendo, dessa forma mantida por mais de um ano sob temperatura ambiente. Desta forma o pH da

silagem enzimática elaborada na presente pesquisa esteve acima do indicado por este autor, indicando menor tempo de manutenção sob temperatura ambiente

De acordo com Novaes et al (2004) a estabilidade do processo de fermentação ocorre quando o pH fica em torno de 4,2 e a concentração de ácido lático em torno de 1 a 2%, o que ocorre até os 27 dias. Após a abertura do silo, este deve ser realizado o corte diário de no mínimo 20 cm de espessura, devido à exposição com o ar. A silagem deve apresentar cheiro característico e bom aspecto visual.

Em relação a adição de aditivos em silagens de capim-mombaça, é possível observar que houve uma variação significativa dos valores de pH entre os tempos de abertura dos silos. Os resultados foram maiores no tratamento com Xilanase e adição de Ino 4 (4,56) que comparado com o tratamento controle, foi mais eficiente em reduzir o pH.

Considerando o valor de pH da estabilidade aeróbica, constatou-se que houve diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$) sendo que o maior valor obtido foi para a silagem com Efeito de enzima (ENZ) e interação inoculante por enzima (INT)

A acidez é considerada um fator importante na conservação das silagens. Um pH elevado indica perdas de nutrientes, principalmente de proteína. Neste experimento, o tratamento enzimático foi capaz de manter o valor de pH dentro da faixa ideal para reduzir a atividade de proteases dos microrganismos da cultura ensilada, o que está de acordo com dados obtidos por NADEAU et al. (2000). Em associação, a solução enzimática não apresentou atividade de protease e não ocorreu degradação de proteína com o tratamento enzimático.

A redução no pH e o aumento na recuperação da MS em silagens de gramíneas observado em alguns trabalhos, demonstra que, nos casos em que a enzima foi eficiente, favoreceu a solubilização da fibra e disponibilidade de maiores quantidades de açúcares a serem utilizados na fermentação para síntese dos ácidos orgânicos. Segundo DANIEL et al. (2010), estudos com respostas positivas a adição de enzimas fibrolíticas proporcionaram silagens com menores valores de pH, maior síntese dos ácidos orgânicos, o que pôde levar a redução na deaminação de proteínas da forrageira, nos teores de NNH_3 e possibilitou aumento na estabilidade aeróbica após a abertura dos silos.

No entanto, Woolford (1984), sugeriu que o pH final não pode ser tomado isoladamente como um bom critério para avaliação das fermentações, pois a inibição de

fermentações secundárias depende mais da velocidade de abaixamento do mesmo, da concentração iônica e da umidade do meio do que do pH final do produto. Segundo o mesmo autor, o pH ideal resultante de uma boa fermentação deve ser menor que 4,2; porém, mesmo as silagens sem aditivos, com pH de 4,82 mostraram bom aspecto de conservação.

Já os valores de matéria seca não tiveram efeito significativo, mas os valores de perdas em porcentagem de matéria seca com o tratamento de Xilanase 0 e adição de Ino 4 (4,47) foi maiores quando comparado aos demais, pois ele apresentou baixos valores de perdas, ao contrário dos resultados obtidos no tratamento Xilanase 0 sem adição de Inoculante, que apresentou o maior percentual de perdas (8,88) (tabela 3).

Na tabela 3 pode ser observado o teor de MS nas perdas fermentativas. Notou-se que houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos, para o teor de matéria seca da silagem de capim-mombaça e não houve interação ($P > 0,05$) entre os tratamentos em perdas de MS a dose de inoculante no método quadrático não teve um valor significativo.

Segundo McDonald et al. (1991), as populações de bactérias lácticas homofermentativas são menores em silagens com pH mais elevados, e, conseqüentemente, as perdas de matéria seca são maiores, como conseqüência de fermentações secundárias.

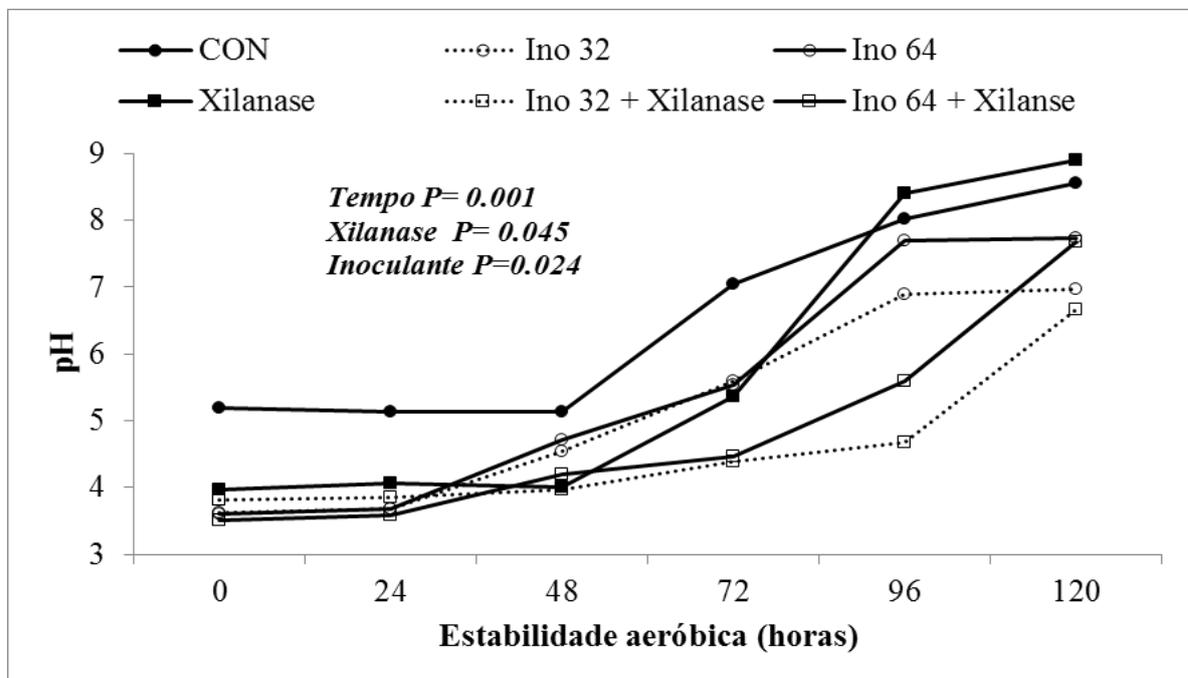


Figura 1- Estabilidade aeróbica de acordo com os tratamentos experimentais em diferentes horários.

De forma geral, as silagens controle e tratadas alteraram os valores de pH com o incremento da estabilidade aeróbica. Houve diferença ($P < 0,05$) entre o tratamento controle com os demais, no tempo 0 o tratamento controle teve início com o pH 5. A silagem controle e com Xilanase apresentaram valores superiores ($P < 0,05$) aos da silagem com inoculante que foram observadas oscilações de menor estabilidade a partir de 48 hora. Entre os tratamentos, a silagem com inoculantes apresentou menos estabilidade a partir das 24 horas em relação à silagem controle e a silagem com Xilanase, o que pode estar relacionado com a menor presença de oxigênio no interior do silo favorecendo maior atividade de bactérias homo e heterofermentativas.

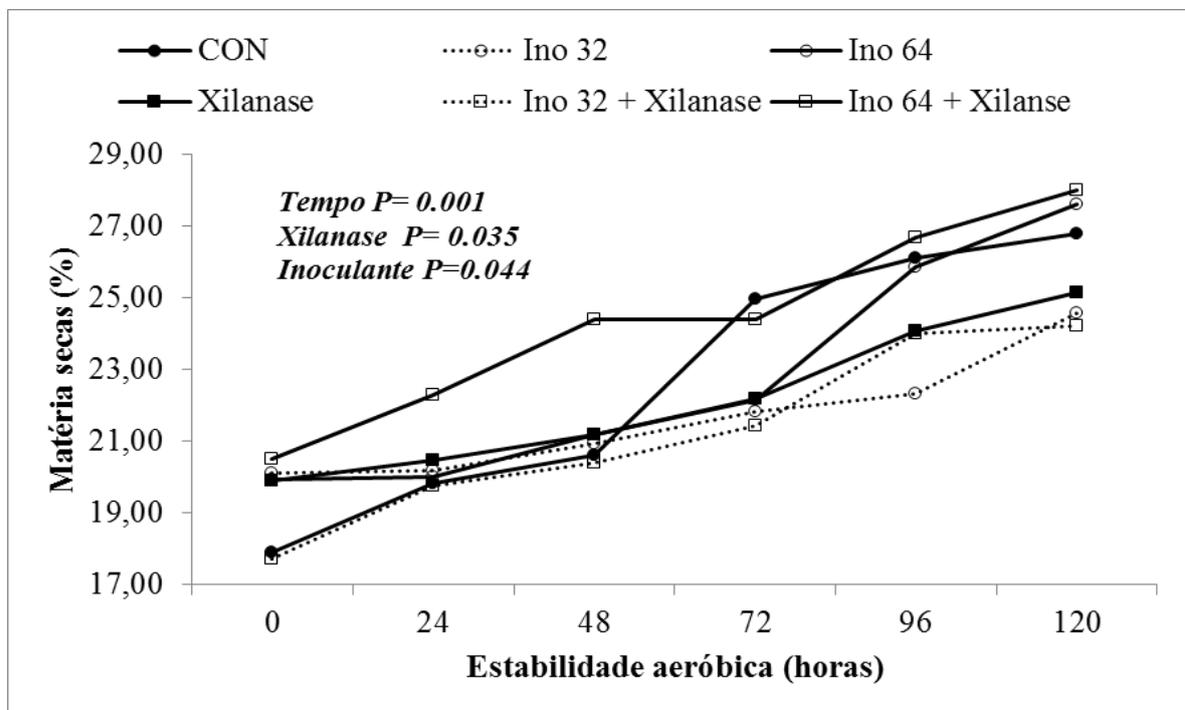


Figura 2- Estabilidade aeróbica de acordo com os tratamentos experimentais em diferentes horários.

A silagem com Xilanase, Ino 32 e Ino 32 + Xilanase apresentou menores teores de MS a partir das 48 horas de ensilagem, variando de 20% a 24,74% (48 a 120 horas após ensilagem) com média final de 25%. Para a silagem controle a variação marginal foi de 18 % e 26% do momento da ensilagem até 120 horas.

A partir do momento da ensilagem, a silagem com Ino 64 e Ino 64 + Xilanase apresentou maiores teores de MS dentro de cada horário e entre cada tratamento com médias variando de 20,85% a 28,80% de 0 a 120 horas, respectivamente. Após a quebra da vedação, os microrganismos aeróbios iniciam seu crescimento e utilizam o

ácido láctico como fonte de energia, o que determina o aumento dos valores de pH quando as silagens são expostas ao ar (Weinberg et al., 1993).

5 CONCLUSÃO

O uso de inoculantes contendo *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici* e enzima Xilanase ou associados reduz as perdas de matéria seca durante a fermentação mas não favorece a estabilidade aeróbia do pH em silagens de capim. Pensado em custo benefício ao produtor é recomendado o uso de inoculante com 4 g/ton forragem fresca sem o uso de enzima Xilanase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, J.B.; FERRARI JR., E.; POSSENTI, R.A. et al. Aditivo biológico na ensilagem de cana-de-açúcar tratada com uréia. **Boletim da Indústria Animal**, v.57, n.2, p.16, 2000.
- ANDRIGUETO, J.M; et al. Nutrição Animal- As bases e os fundamentos da nutrição animal- Os alimentos. Reimpressão-v.l. São Paulo: Nobel. p.12, 2002.
- ASHBELL, G. 1995. *Basic principles of preservation of forage, by-products and residues as silage or hay*. Bet Dagan: Agricultural Research Organization, The Volcani Center. (n.1664-E). p.10-17, 1995.
- BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M.; YAG, W.Z.; KARREN, D. Use of feed enzymes in ruminant nutrition. In: PACIFIC NORTHWEST NUTRITION CONFERENCE, 33rd, 1998. Vancouver. Proceedings... Vancouver, p.16-23-25, 1997.
- BERCHIELLI, T.T.; BERTIPAGLIA,L.M.A. Utilização de aditivos na produção de bovinos de corte. In: PIRES, A. V. (Ed). *Bovinocultura de Corte*. Piracicaba: FEALQ, v.1, p.25, 2010.
- BERGAMASCHINE, A. F.; PASSIPIÉRI, M.; FILHO, W. V. V.; VERIANO FILHO, W. V.; ISEPONI, O. J.; CORREA, L. de A. Qualidade e valor nutritivo de silagens de capimmarandu (*B. brizantha* cv. Marandu) produzidas com aditivos ou forragem emurchedida. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Brasília, DF, v. 35, n. 4, p.12-24, 2006.
- Bergamaschine, A.F., M. Passipieri e W.V. Veriano Filho. 2006. Qualidade e valor nutritivo de silagens de capim-marandu (*B. brizantha* cv. Marandu) produzidas com aditivos ou forragem emurchedida. *Rev. Bras. Zootecn.*, 35. p.19, 2006.
- BERNARDES, T. F; SOUZA, N. S. S; SILVA, J. S. L. P. et al. Uso de inoculante bacteriano e melaço na ensilagem de capim-elefante. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 56, n. 2, p.10, 2013.

BJORGE, M. Silage Production: Ensiling Process, 1998. Disponível em: <<http://www.agric.gov.ab.ca/crops/forage/silage/silaege 1. html>>. Acesso em: 22 de fevereiro de 2017 p.12.

BOLSEN, K.K., ASHBELL, G., WILKINSON, J.M. 2001. Silage additives. In: WALLACE, J., CHESSON, A. (Ed.) *Biotechnology in animal feeds and animal feeding*. New York: VCH Weinheim. p.16-17, 2001.

CARDOSO, E.G.; SILVA, J. M. Silos, silagem e ensilagem. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, n. 2, p.12, 1995.

CECATO,U.; CASTRO, C,R, de C.; CANTO, M.W. do; CANO, C.C.P; SANTOS, G.T. dos. Perdas de forragem em pastagem de capim tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. tanzânia) manejada em diferentes alturas. Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais**. p.11, 2002.

COAN, R.M.; VIEIRA, P.F.; SILVEIRA, R.N. et al. Inoculante enzimático-bacteriano, composição química e parâmetros fermentativos das silagens dos capins tanzânia e mombaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.10-12, 2007.

COLOMBATTO, D.; MOULD, F.L.; BHAT, M.K. et al. In vitro evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage. I. Effects of ensiling temperature, enzyme source and addition level or thermophilic sources. *Animal Feed Science and Technology*. Amsterdam, v. 111, n. 1, p.24, 2004.

COSTA, J. C.; VALENTIN, J. F.; WENDLING, I. J. Avaliação de *Brachiaria* spp., nas condições edafoclimáticas do Acre. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.16, 2001.

DEHORITY, B.A.; TIRABASSO, P.A. Effect of ruminal cellulolytic bacterial concentrations on in situ digestion of forage cellulose. *Journal of Animal Science*, v.76, p.16-23-24, 1998.

DANNER, H.; HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; BRAUN, R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 69, n. 1, p.22, 2003.

EVANGELISTA, A.R.; ABREU, J.G.; AMARAL, P.N.C.; PEREIRA, R.C.; SALVADOR, F.M.; SANTANA, R.A.V. Produção de silagem de capimmarandu (*Brachiaria brizantha* stapf cv. Marandu) com e sem emurhecimento. *Ciência Agrotecnica*, p.05-14, 2004.

FENG, P.; HUNT, C.W.; PRITCHARD, G. T. et al. Effect of enzyme preparations on in situ and in vitro degradation and in vivo digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. *Journal of Animal Science*, v.74, p.17-19-22-23-25, 1996.

FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p. 18-22, 2003.

FONTES, C.M; HALL J.; HIRST, B.H. et al. The resistance of cellulases and xylanases to proteolytic inactivation. ***Applied Microbiology and Biotechnology***, v.43, p.24, 1995.

GRAMINHA, E.B.N.; GONÇALVES, R.D.P.B.; PIROTA, M.A.A. et al. Enzyme production by solidstate fermentation: Application to animal nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, v.144, p.25, 2008.

HENDERSON N. Silage additives. ***Animal Feed Science and Technology***, v.45, p.18, 1993.

HU, W.; SCHIMIDT, R.J.; MCDONELL, E.E; KLINGERMAN, C.M.; KUNGJR., L. the effect of *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. ***Journal of Dairy Science***, v.92, p.18, 2009.

ISHIDA, T.; AISAN, A.; TOMIYAMA, K. et al. The effect of cellulase on cell wall structure and the rumen digestion of alfalfa silage. In: International Grassland Congress, 19, São Pedro. Anais... Manaus: Sonopress, 2001. CDROM. Forage Conservation. Papers, ID 21-17. p.25, 2001.

JANK, L.; SAVIDAN, Y.; SOUZA, M.T; COSTA, J.G.C. Avaliação de germoplasma de *Panicum maximum* introduzido da África. 1. Produção forrageira. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, v. 23, n.3, p.11, 1994.

Keplin, L. 2006. Produção de silagem de qualidade e uso de inoculantes. Em: Encontro Técnico sobre Conservação de Forragens (Silagens), 2006. Nova Odessa. Anais... Instituto de Zootecnia. Nova Odessa. p.19, 2006.

KLEINSCHMIT, D.H.; SCHMIDT, R.J.; KUNG JR., L. the effect of *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.18, 2005.

KUNG JR., L.; MUCK, R.E. Animal response to silage additives. In: **Silage : field to feedbunk**. NRAES-99. Hershey: North America Conference, Ithaca: Northeast Reg. Agric. Eng. Serv., Coop. Ext., 1997. p.14-20, 1997.

KUNG JR., L. Microbial and chemical additives for silage effects on fermentation and animal response. In: **WORKSHOP SOBRE MILHO PARA SILAGEM**, 2003, 2., Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", p.10-14-18-20, 2003.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. Biochemistry of silage. 2.ed. Marlow: Chalcombe, p.12-16-22, 1991.

MOUSQUER, C.J. et al. Potencial de utilização de silagem de gramíneas tropicais não convencionais e cana-de-açúcar. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 22, Ed. 245, Art. 1622, p.14, Novembro, 2013.

MUCK, R.E.; PITT, R.E.; LEIBENSPERGER, R.Y. A model of aerobic fungal growth in silage. 1. Microbial characteristics. **Grass Forage Science.**, v.46, n.3, p.15-22, 2008.

MUCK, R.E.; KUNG JR., L. Effects of silages additives on ensiling. In: **THE SILAGE: FIELD TO FEED BUNK NORTH AMERICAN CONFERENCE**, 1997, Hershey. **Proceedings...** Hershey: National Regional Agricultural Engineering Service. p.10-14-16-21, 1997.

MUCK, R.E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.14, 2010.

NADEAU, E.M.; BUXTON, D.R.; RUSSELL, J.R.; ALISON, J.M.; YOUNG, J.W. Enzyme, bacterial inoculant, and formic acid effects on silage composition of orchardgrass and alfafa. **Journal Dairy Science**, v. 83, n. 7, p.18-24, 2000.

NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de cana-de-açúcar. In: **SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS**, 2., 2004, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, p.19, 2004.

OETTERER, M.(2002). Industrialização do pescado cultivado. 1ª ed. Guaíba: Agropecuária, p.11, 2002.

OHMOMO, S.; TANAKA, O.; KITAMOTO, H.K.;CAI, Y. Silage and microbial performance, oldhistory but new problem. p.19, 2002.

PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.H.W.; SPOELSTRAS.F.; Microbiology of ensuing. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Ed.). Silage science and technology. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, p.21, 2003.

PEDROSO, A. F., FREITAS, A. R., SOUZA, G. B. Efeito de inoculante bacteriano sobre a qualidade da silagem e perda de matéria seca durante a ensilagem de sorgo. Revista Brasileira Zootecnia. vol.29, n.1, p.17, 2000.

PEREIRA, O. G. SOUZA, P.P.S. CECON, P.R. Composição bromatológica de silagem de Brachiaria decumbens tratadas com inoculantes microbianos, em diferentes idades de corte. XXXIX REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. Anais... UFRRP/Recife-PE. p.12-20-24, 2002.

RANJIT, N.K.; KUNG JR., L. The effect of Lactobacillus buchneri, Lactobacillus plantarum, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Journal of Dairy Science, v.83, p.18, 2000.

REIS, R.A., COAN, R.M. Produção e utilização de silagens de gramíneas. In: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, Goiânia. Anais... Goiânia: III Simpósio Goiano sobre Manejo e Nutrição de Bovinos, 2001. p.12, 2001.

RIBEIRO, E.G. et al. Influência da irrigação, nas épocas seca e chuvosa, sobre a produção e a composição química dos capins Napier e Mombaça submetidos lotação intermitente. Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, n.8, p.12, 2009.

STIVARI, T.S.S. et al. Aditivos enzimáticos na alimentação de ruminantes: estratégia para a produção animal. PUBVET, Londrina, V. 8, N. 11, Ed. 260, Art. 1728, Junho, p.25, 2014.

SA NETO, ADIR de. Caracterização microbiológica, parâmetros fermentativos e estabilidade aeróbica em silagens de forragens tropicais com aditivos microbianos. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, p.20-21, 2012.

- SILVA, S. C. Condições edafo-climáticas para a produção de *Panicum* sp. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, TEMA: O CAPIM COLONIÃO, 12., 2001, Piracicaba. 2001. Anais... Piracicaba: FEALQ, p.19-20, 2001.
- SILVA, T.C. et al. Papel da fermentação láctica na produção de silagem. PUBVET, Londrina, V. 5, N. 1, Ed. 148, Art. 998, p.18, 2011.
- SPECKMAN, C.A., PHILIPS, R.M., LINNERTZ, D.P. et al.1988. A survey for indigenous *Lactobacillus* species on standing field corn at ensiling maturity. *J. Anim. Sci.*, 53:99. (Suppl. 1) p.10-17, 1998.
- TAVARES, V. B., PINTO, J. C., EVANGELISTA, A. R., FIGUEIREDO, H. C. P., ÁVILA, C. L. S., LIMA, R. F. Efeitos da compactação, da inclusão de aditivo absorvente e do emurhecimento na composição bromatológica de silagens de capim-tanzânia. *Revista Brasileira Zootecnia*, v.38, n.1, p.11, 2009.
- TEIXEIRA JÚNIOR, D. J. Hidrólise da cana-de-açúcar com cal virgem e cal hidratada na alimentação de vacas leiteiras. 2008. 33 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária. Jaboticabal. p.16.
- VILELA, D. Aditivos para silagem de plantas de clima tropical. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 35., 1985 Botucatu, SP. Anais... Botucatu: SBZ p.08.
- WARDYNSKI, F.A., RUST, S.R., YOKOYAMA, M.T. 1993. Effect of microbial inoculation of high-moisture corn on fermentation characteristics, aerobic stability, and cattle performance. *J. Anim. Sci.*, 71(8):2246-2252. p.20, 1993.
- WEINBERG & MUCK, R.E. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, p.12-16-19, 1992.
- WILSON, J.R. Environmental and nutritional factors affecting herbage quality. In: HACKER, J.B.(Ed.) NUTRITIONAL LIMITS TO ANIMAL PRODUCTION FROM PASTURES (1982 : St. Lucia), Proceedings. St Lucia, Queensland, p.11, 1982.
- WOOLFORD, M.K. The silage fermentation. New York: [s. n.]. p.18, 1984.
- WOOLFORD, M.K. The detrimental effects of air on silage. *Journal of Applied Bacteriology*, v.68, p.15-22, 1990.

WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York: Microbiology series.

ZOPOLLATO, M.; SARTURI, J. O. Optimization of the animal production system based on the selection of corn cultivars for silage. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 1., 2009, São Pedro.Piracicaba: FEALQ, p.20-22, 2009.

<<http://www.ensilagem.com.br/uso-estrategico-de-aditivos-em-silagens-quando-e-como-usar/>> Acesso em 20 de Janeiro de 2017. p.12.

<<http://www.clubeklff.com.br/publicacao/oldlink-1116>> Acesso em 15 de Fevereiro de 2017. p.14.

<<http://www.cileite.com.br/sites/default/files/15Instrucao.pdf>> Acesso em 19 de Fevereiro de 2017. p.15.

<<https://www.scotconsultoria.com.br/imprimir/noticias/21244>> Acesso em 19 de Fevereiro de 2017. p.15-16.