

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM DE CANA-
DE- AÇÚCAR
COM ADITIVOS MICROBIANOS

Autora: Gábata Nathalia Borges Pereira
Orientadora: Prof. Dra. Mariana Costa Mello Gonçalves

Rio Verde – GO
Outubro – 2016

PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM DE CANA-
DE- AÇÚCAR
COM ADITIVOS MICROBIANOS

Autora: Gábata Nathalia Borges Pereira
Orientadora: Prof. Dra. Mariana Costa Mello Gonçalves

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – campus Rio Verde – Área de concentração Zootecnia.

Rio Verde – GO
Outubro– 2016

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

P436p Pereira, Gábata Nathalia Borges
 PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM DE CANA-DE- AÇÚCAR
 COM ADITIVOS MICROBIANOS / Gábata Nathalia Borges
 Pereira; orientadora Mariana Costa Mello Gonçalves;
 co-orientadora Kátia Cyrene Guimarães. -- Rio
 Verde, 2016.
 79 p.

 Dissertação (Graduação em Zootecnia) -- Instituto
 Federal Goiano, Câmpus Rio Verde, 2016.

 1. Leveduras. 2. ruminantes. 3. forragem. 4.
 bactérias. 5. ensilagem. I. Gonçalves, Mariana Costa
 Mello, orient. II. Guimarães, Kátia Cyrene, co-
 orient. III. Título.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM DE CANA-DE
AÇÚCAR COM ADITIVOS MICROBIANOS**

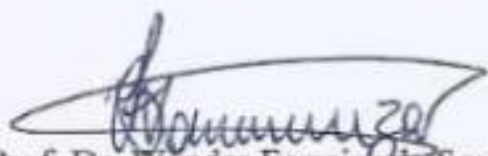
Autora: Gábata Nathalia Borges Pereira
Orientadora: Mariana Costa Mello Gonçalves

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de concentração Zootecnia
– Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

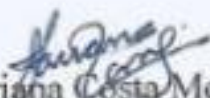
APROVADA em 26 de outubro de 2016.



Prof. Dr. André Luis da Silva Valente
Avaliador externo
UFG/Jataí



Prof. Dr. Wender Ferreira de Souza
Avaliador interno
IF Goiano/RV



Prof. Dr. Mariana Costa Mello Gonçalves
Presidente da banca
IF Goiano/RV



Prof. Dr. Kátia Cyrene Guimarães
Avaliadora interna
IF Goiano/RV

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- Tese Artigo Científico
 Dissertação Capítulo de Livro
 Monografia - Especialização Livro
 TCC - Graduação Trabalho Apresentado em Evento
 Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____

Nome Completo do Autor: Gábata Nathalia Borges Pereira
 Matrícula: RV40214230036
 Título do Trabalho: PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM DE CANA-DE- AÇÚCAR COM ADITIVOS MICROBIANOS

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIIF Goiano: __/__/__
 O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não
 O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde Local 04/03/2020 Data

Gábata Nathalia Borges Pereira
Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Profa. Mariana Costa Mello Gonçalves

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

- Tese Artigo Científico
 Dissertação Capítulo de Livro
 Monografia - Especialização Livro
 TCC - Graduação Trabalho Apresentado em Evento
 Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____

Nome Completo do Autor: Gábata Nathalia Borges Pereira
 Matrícula: RV40214230036
 Título do Trabalho: PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM DE CANA-DE- AÇÚCAR COM ADITIVOS MICROBIANOS

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIIF Goiano: __/__/__
 O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não
 O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde Local 04/03/2020 Data

Gábata Nathalia Borges Pereira
Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter sido tão bom em minha vida, principalmente nos últimos dois anos, por ter me guiado no caminho do bem e está sempre ao meu lado.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde.

A minha orientadora Profa. Dra. Mariana Costa Mello Gonçalves, pela confiança, amizade, dedicação e exemplo de profissionalismo.

A minha coorientadora Kátia Cyrene Guimarães, pela amizade e por se fazer presente me auxiliando quando precisei.

A secretária da Pós-graduação Viviane Potro, sempre que precisei de algum documento sempre estava disposta a me ajudar.

Ao meu esposo Mauricio Silva Pires, por ter me dado forças durante todo o período do mestrado, me incentivando e me fazendo olhar pra frente sempre e por ter me auxiliado no desenvolvimento do experimento.

A minha mãe Eleane Cícera Borges que mesmo distante sempre me motivou para que eu conquistasse meus sonhos.

Aos meus irmãos Anna Beatriz e Pedro Otavio e a minha avó Marli Fatima Alves Borges pelos incentivos.

Aos meus amigos Leticia, Vanessa e Luís Fernando que desde a graduação me acompanha deixando os dias na faculdade mais alegres e ajudado no desenvolvimento do experimento.

Aos amigos que de alguma forma me ajudou.

MUITO OBRIGADA!

“O Saber se aprende a gente aprende com os mestres e com os livros, a sabedoria se aprende é com a vida e com os humildes.”

Cora Coralina

BIOGRAFIA DO AUTOR

Gábata Nathalia Borges Pereira, filha de Mauro Cruz Pereira e Eleane Cícera Borges, nascida em Piranhas – GO em 10 de janeiro de 1991. Sua formação profissional se iniciou em 2010, no curso superior de Zootecnia pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO. Em 2014 iniciou o Mestrado em Zootecnia na área de Produção Animal também pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO, concluindo no ano de 2016.

ÍNDICE

	Pagina
INDÍCES DE TABELAS	VIII
LISTAS DE SIMBLOS, SILGAS, ABREVIACOES E UNIDADES	IX
RESUMO	X
ABSTRACT	XI
1. INTRODUÇÃO GERAL	2
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. PROCESSO DE ENSILAGEM	3
2.2. SILAGEM DE CANA-DE-ACÚCAR	5
2.3 MICRORGANISMOS NA SILAGEM	6
2.3.1 BACTERIAS ÁCIDOS LÁTICAS	6
2.3.2 BACTÉRIAS DO GÊNERO CLOSTRIDIUM	6
2.3.3 FUNGOS E LEVEDURAS	6
2.4 ADITIVOS MICRIBIANOS PARA ENSILAGEM	7
2.4.1 BACILLUS SUBTILLIS	8
2.4.2 LACTOBACILLUS BUCHNERI	8
2.4.3 PROPIONIBACTERIUM ACIDIPROPIONICCI	9
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	10
CAPITULO I	18
RESUMO	19
ABSTRACT	20
1. INTRODUÇÃO	21
2. MATERIAL E METODOS	22
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
CONCLUSÃO.....	34
4. REFÊRENCIAS.....	34
CAPITULO II	42
RESUMO	43
ABSTRACT	44

1. INTRODUÇÃO.....	45
2. MATERIAL E METODOS	46
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4. CONCLUSÃO.....	59
5. REFERÊNCIAS	59
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	66

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Análise química da cana-de-açúcar in natura com aditivos microbianos.....	27
Tabela 2. Percentuais dos teores de matéria seca (MS), matéria Mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente (FDA), lignina (LIG), digestibilidade in vitro (DIVMS), nitrogênio amoniacal N-NH ₃ para silagens de cana-de-açúcar após 60 dias de incubação	27
Tabela 3. Efeitos do processo nos teores de nutrientes da silagem de cana-de-açúcar em relação a matéria in natura.....	28
Tabela 4. Perdas por gases das silagens tratadas com aditivos	29
Tabela 5. Teores médios de pH registrados para os diferentes dias de abertura das silagens	29
Tabela 6. Teores médios de ácido lático (LAT), ácido acético (ACE), ácido butírico (BUT), ácido propiônico (PROP)	31
Tabela 7 Composição microbiológica das silagens de cana-de-açúcar com e sem aditivos	33

ARTIGO II

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DE ADITIVOS MICROBIANOS NO PERFIL
FERMENTATIVO E VALOR NUTRICIONAL DA SILAGEM DE CANA-DE-
AÇÚCAR.**

Tabela 1. Análise química da cana-de-açúcar in natura com aditivos microbianos.....	51
Tabela 2. Percentuais de matéria seca (MS), matéria Mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente (FDA), lignina (LIG), digestibilidade in vitro (DIVMS), nitrogênio amoniacal N-NH ₃ para silagens de cana-de-açúcar após 60 dias de incubação.....	51
Tabela 3. Efeitos do processo nos teores de nutrientes da silagem de cana-de-açúcar em relação a matéria in natura.....	52
Tabela 3. Teores médios de perdas por gases (PG) durante o período d ensilagem.....	53
Tabela 5. Teores médios de pH registrados para os diferentes dias de abertura das silagens	54
Tabela 6. Teores médios de ácido láctico (LAT), ácido acético (ACE), ácido butírico (BUT), ácido propiônico (PROP)	56
Tabela 6. Composição microbiológica das silagens de cana-de-açúcar com e sem aditivos	58

LISTA DE SIMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACOES E UNIDADES

FDA	Fibra em detergente �cido
FDN	Fibra em detergente neutro
LAT	�cido lático
LIG	Lignina
MI	Metro
Mm	Milimetro
MM	Matéria mineral
MS	Matéria seca
N-NH ₃	Nitrogênio Amoniacal
PB	Proteína Bruta
PG	Perdas por Gases
Ph	Potencial Hidrogenionico
PROP	�cido Propionico
Rpm	Rotacao por minuto
�C	Graus Celsius
%	Por cento
�m	Micrometro

RESUMO

A silagem como forma de volumoso, possibilita a oferta de alimento de qualidade para o animal durante o ano todo. Vem se utilizando para a produção de silagem como forrageira a cana-de-açúcar que apresenta uma elevada produtividade de massa por área, porém pode apresentar algumas características indesejáveis como a elevada produção de etanol pela ocorrência da fermentação alcoólica. Considerando as peculiaridades dessa forrageira a ensilagem de cana-de-açúcar requer a inclusão de aditivos, químicos ou microbianos, visando controlar as perdas durante o processo fermentativo. Com isso, foram realizados experimentos no Instituto Federal Goiano-Campus Rio Verde (IFGoiano), com o objetivo de avaliar o perfil fermentativo e a composição química de silagem produzida à base de cana-de-açúcar com os aditivos microbianos *Lactobacillus buchneri*, *Bacillus subtilis* e *Propionibacterium acidipropionici*, isolados ou combinados. Não foram observadas diferenças significativas com relação a composição bromatológica das silagens que receberam os aditivos, porém, pode-se observar uma melhor recuperação de matéria seca. Atribui-se a isso a inibição do crescimento de leveduras pelos aditivos que são as responsáveis pela fermentação alcoólica e consequente produção de etanol. Além disso, os aditivos foram eficientes em garantir uma expressiva redução do pH da silagem e alteraram os teores de ácidos graxos voláteis. Pode-se observar ainda que a associação dos aditivos *L. buchneri* e *P. acidipropionici* garantiu um efeito sinérgico dos benefícios inerentes a cada espécie. Com isso, comprovamos o efeito benéfico da adição de aditivos microbianos na silagem de cana-de-açúcar como forma de garantir a produção de um alimento de qualidade.

Palavras-chave: Leveduras, ruminantes, forragem, bactérias, ensilagem.

ABSTRACT

Silage comes as a form of bulky, enabling the delivery of quality food for the animals throughout the year. The sugarcane has been used for the production of silage because has a high mass productivity per area, however, it may have some undesirable characteristics such as high production of ethanol by the occurrence of alcoholic fermentation. Considering the peculiarities of this forage, the ensiling of sugarcane requires the inclusion of additives, chemical or microbial, in order to control the losses during the fermentation process. Thus, were conducted trials at the Goiano Federal Institute Institute (IFGoiano), to evaluate the fermentative profile and the chemical composition of silage produced with microbial additives: *Lactobacillus buchneri*, *Bacillus subtilis* and *Propionibacterium acidipropionici*, alone or combined. There were no significant differences regarding the chemical composition of silages receiving additives, however, it can be observed better recovery of dry matter. This can be attributed to inhibition of yeast growth by additives, which are responsible for the alcoholic fermentation and subsequent ethanol production. Furthermore, the additives were effective in ensuring a significant reduction in the pH of silage and alter the contents of volatile fatty acids. We could observe that the combination of *L. buchneri* and *P. acidipropionici* secured a synergistic effect of the benefits inherent in each species. Thus, we proved the beneficial effect of the addition of microbial additives in sugarcane silage in order to ensure the production of a quality food.

Key words: Yeasts, ruminants, forage, bacteria, ensiling.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A variação na disponibilidade de forragem durante o ano tem sido apontada como um dos fatores que contribuem para a baixa produção dos rebanhos brasileiros. A silagem como forma de volumoso surge para minimizar os efeitos da sazonalidade na produção de forragem das pastagens, possibilitando a oferta de alimentos de qualidade durante o período de escassez.

A crescente adoção da cana-de-açúcar como fonte de volumoso complementar para animais durante a seca baseia-se na facilidade e tradição do cultivo, e, sobretudo, por constituir-se em uma opção competitiva quando comparada a outras fontes de volumosos (REZENDE et al. 2009). Porém, o fogo e a queima por geada representam riscos para o canavial, sendo a ensilagem uma forma de redução desses acidentes. A cana-de-açúcar é considerada como sendo a opção forrageira de melhor desempenho bioeconômico para ser utilizado na alimentação de ruminantes (SIQUEIRA et al., 2008). A cana-de-açúcar é a espécie agronomicamente mais simples quando comparada ao milho e ao sorgo, devido a necessidade de tratos culturais, trata-se de uma cultura altamente rica em CS, que são utilizados como substratos pelos microrganismos fermentadores (SIQUEIRA et al., 2011).

A produção da silagem é baseada na fermentação de carboidratos solúveis por bactérias ácido lácticas (BAL), que produzem ácidos orgânicos, principalmente ácido lático, em condições anaeróbicas. Este processo permite evitar as operações diárias de corte (BERNARDES et al., 2007).

A cana-de-açúcar pode ser considerada uma opção para ensilagem por possuir teores elevados de carboidratos (CHO), matéria seca (MS), elevada produção de massa por área e longo período de maturação do valor nutritivo (SIQUEIRA et al. 2008). Entretanto a alta concentração de carboidratos solúveis na forma de sacarose faz com que ocorra intenso crescimento de leveduras possibilitando altas taxas de perda de MS (CARVALHO, 2010).

Nesse processo ocorrem reações de reversão da sacarose o que influencia a perda do valor alimentício e a capacidade de estocagem do material no canavial (BERNARDES et al., 2007). De acordo com PEDROSO et al. (2005), a maior limitação na ensilagem da cana-de-açúcar consiste na elevada produção de etanol, pois o material

ensilado apresenta rápida proliferação de leveduras que em anaerobiose fermentam carboidratos e produzem etanol.

Aditivos são substâncias que têm como finalidade, quando adicionados à forragem, melhorar os padrões fermentativos da massa ensilada e, conseqüentemente, seu valor nutritivo (EVANGELISTA e LIMA 2001). Por essa razão os aditivos químicos e inoculantes microbianos têm sido utilizados com o objetivo de melhorar o padrão de fermentação e a qualidade das silagens. Inoculantes bacterianos têm sido utilizados com o intuito de obter uma silagem de boa qualidade e manter sua conservação mesmo após abertura do silo. Normalmente os inoculantes contém bactérias que promovem o desenvolvimento dos microrganismos benéficos e inibem os indesejáveis, como as leveduras e clostrídios (PEDROSO et al., 2007).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Processo de ensilagem

A ensilagem é um processo de conservação de forragens em determinado grau de umidade, de forma a preservar o conteúdo de matéria seca (MS) e o seu valor nutricional (SANTOS et al., 2013). O processo de ensilagem geralmente controla a atividade microbiana pela combinação entre o ambiente anaeróbico com a fermentação natural dos açúcares por bactérias produtoras de ácido lático (JOBIM et al., 2007).

Segundo MC DONALD 1981, os carboidratos são os principais substratos da fermentação na ensilagem. Após o fechamento do silo o oxigênio presente na forragem é reduzido pela ocorrência da respiração de células da planta e dos microrganismos aeróbicos. Em seguida, inicia-se a fermentação, com a proliferação, principalmente, de bactérias produtoras de ácido lático (BAL) (PEREIRA et al., 2002). Para que tenha uma silagem de boa qualidade devem-se utilizar forrageiras que apresentem entre 30 e 35% de matéria seca (PAIVA, 1976), o pH deve ser inferior a 4,2 e a análise de ácidos orgânicos produzidos durante o processo de fermentação deve indicar valores de 6 a 8% de ácido lático na MS, ácido acético menor que 2% e ácido butírico inferior a 0,1% da MS. Além disso, o nível de nitrogênio amoniacal de uma silagem adequada deve ser inferior a 11% do nitrogênio total (FERREIRA, 2001).

A ensilagem é uma alternativa cada vez mais empregada como estratégia alimentar para a conservação da forragem, (OLIVEIRA et al., 2007).

De acordo com NASCIMENTO et al., 2013, o estágio de maturidade da planta também possui papel importante na confecção de uma boa silagem, uma vez que esta técnica visa conservar a planta com o valor nutritivo do momento em que a mesma foi cortada. Além disso, ela deve conter a quantidade necessária de açúcares para a fermentação bacteriana. Para PEREIRA e REIS, 2001 o corte das plantas forrageiras destinadas à ensilagem deve ser feito no estágio vegetativo, ocasião em que a planta se encontra no seu ponto de equilíbrio entre produção de matéria seca e qualidade nutricional.

Sabe-se que diversos fatores podem interferir no processo fermentativo da silagem, entre eles o corte e tamanho de partículas, compactação, vedação e pH inicial. A redução no tamanho da partícula diminui a fermentação butírica por proporcionar maior compactação e queda mais rápida do pH durante a ensilagem (SANTOS et al., 2010). SENGER et al., 2005 relata que para produzir uma silagem de boa qualidade, o silo deve ser compactado para retirada de ar e vedado no menor espaço de tempo possível para garantir condições anaeróbias de preservação dos nutrientes. A vedação de forma correta é fator importante para o sucesso da conservação por maior período em boas condições de uso (GERON e ZEOULA, 2008).

O processo da ensilagem ocorre em quatro fases, na primeira fase as células vegetais continuam o processo de respiração após o corte e a picagem das plantas forrageiras. Na fase aeróbica haverá também o desenvolvimento de bactérias aeróbias e microrganismos aeróbios facultativos (leveduras, mofos e certas bactérias), o que contribui para a perda de açúcares e redução do valor energético da forragem. Estes microrganismos, e as células da planta, competem, por açúcares, com as bactérias produtoras de ácido láctico (responsáveis pela acidificação e estabilização da silagem). Se a fase aeróbia for prolongada, haverá o desenvolvimento intenso de leveduras e mofos, podendo resultar no aquecimento excessivo da silagem, predispondo-a a ser pouco estável após a abertura.

Na fase anaeróbica ou de fermentação é quando a condição anaeróbia (ausência de oxigênio) é alcançada na silagem diversos processos são iniciados. Nesta fase ocorre a produção de efluentes, quando a forragem possui menos de 30% de matéria seca. Nesta fase inicia-se a multiplicação dos microrganismos anaeróbios, sendo que os mais relevantes ao processo de ensilagem são as bactérias homoláticas (produtoras de

ácido láctico), as enterobactérias, as leveduras e clostridia. Os microrganismos mais importantes para o processo de ensilagem são as bactérias homoláticas, já que o acúmulo

deste ácido na silagem causa o rápido abaixamento do pH e estabilização da silagem.

Fase estável Após o abaixamento do pH, causado pelo desenvolvimento das bactérias lácticas durante a fase anaeróbia, o material ensilado entra na fase estável, onde ocorre pequena atividade biológica, se o silo for corretamente vedado. Nesta fase pode ocorrer uma lenta degradação da hemicelulose e liberação de açúcares.

2.2. Silagem de cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta rica em açúcares solúveis, cerca de 20%, e adequado teor de matéria seca 25 a 30%, porém com baixa capacidade tampão e baixos valores de proteína bruta que variam de 1,91 a 3,81%. O teor de proteína é considerado um empecilho para a adoção da cana-de-açúcar como alimento volumoso pois os ruminantes precisam de no mínimo 7% para sua manutenção. (BONOMO et al., 2009, SCHMIDT et al., 2007). A vantagem de se utilizar a cana-de-açúcar na nutrição de ruminantes apresenta uma possibilidade de ser utilizada em animais de baixo potencial tanto em animais de mais elevado nível de produção (SIQUEIRA et al., 2008).

A ensilagem permite o aproveitamento do excesso de forragem produzida e possibilita seu uso durante todo o ano. Porém o processo de fermentação da silagem de cana-de-açúcar é instável e comumente ocorre fermentação alcoólica por leveduras acarretando alta perda de MS e redução da digestibilidade (CARVALHO, 2010, FREITAS et al., 2006).

A grande disponibilidade de substrato potencialmente fermentescível presente na cana-de-açúcar faz com que a ensilagem seja caracterizada por uma sucessão de espécies de microrganismos em que a forragem está mais sujeita às perdas nutritivas e à ocorrência de fermentações secundárias (AVILA et al., 2009). Teores de etanol de 8 a 17% da matéria seca têm sido relatados na silagem sem o uso de aditivos, resultando em perdas de aproximadamente 30% de MS durante o processo (PEDROSO et al., 2005).

De acordo com NUSSIO & SCHMIDT (2004), na ensilagem da cana-de-açúcar, a obtenção de resultados técnicos e econômicos positivos depende da escolha correta do aditivo a ser usado.

2.3. Microrganismos na silagem

2.3.1. Bactérias ácido lácticas

As bactérias ácido lácticas são as mais abundantes nas forragens e as mais importantes para o processo fermentativo. Em relação ao metabolismo, as bactérias ácido lácticas podem ser homofermentativas obrigatórias, heterofermentativas facultativas e heterofermentativas obrigatórias (STEFANIE et al., 2000).

2.3.2. Bactérias do gênero clostridium

Dentre as bactérias mais indesejáveis relacionadas ao processo de ensilagem, as bactérias do gênero *Clostridium* são as principais, esses microrganismos crescem sob condições anaeróbicas, (McDONALD et al., 1991). Segundo STEFANIE et al., 2000 a presença de *Clostridium* spp tem efeito negativo sobre a qualidade da silagem se o pH não for baixo para inibir o seu crescimento, pois esses microrganismos fermentam açúcares, ácido láctico e aminoácidos produzindo ácido butírico as quais podem prejudicar a ingestão de forragem.

2.3.3. Fungos e leveduras

Os fungos filamentosos utilizam carboidratos e ácido láctico e hidrolisam e metabolizam celulose e outros componentes da parede celular (McDonald ., 1991). Os principais gêneros de fungos filamentosos que tem sido isolados de silagens são *Aspergillus*, *Penicillium* (EI-SHANAWANYA et al., 2005). A inibição do crescimento de fungos pode ser ocasionada pela baixa concentração de oxigênio, altas concentrações dos ácido produzidos durante a fermentação.

As leveduras promovem a fermentação alcoólica de açúcares, convertendo carboidratos simples em etanol, gás carbônico e água. Leveduras são microrganismos eucarióticos unicelulares e sua importância no processo fermentativo da silagem está relacionado com perdas durante o processo de fermentação. (WOOLFORD, 1984).

2.4. Aditivos microbianos para ensilagem

O uso de aditivos microbiológicos em silagens tem o objetivo de inibir o crescimento de microrganismos aeróbios, inibir o crescimento de organismos anaeróbios indesejáveis e adicionar microrganismos benéficos para dominar a fermentação. Com isso, tem-se a formação de produtos finais benéficos para estimular o consumo e a produção do animal pela melhora na recuperação de matéria seca da forragem conservada (KUNG JR. et al., 2003).

Dentre os inoculantes biológicos podem-se utilizar os compostos por bactérias homofermentativas ou heterofermentativas. As homofermentativas produzem ácido láctico a partir de hexoses como a glicose. As heterofermentativas produzem, a partir de hexoses, tanto ácido láctico, quanto pentoses e dióxido de carbono, etanol e ácido acético. (MUCK, 2010).

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

As silagens produzidas com a adição de inoculantes bacterianos homofermentativos podem resultar em silagens menos estáveis quando expostas ao ar, comparadas às não inoculadas. Isto ocorre porque o ácido láctico produzido por estas bactérias pode ser utilizado como substrato por microrganismos indesejáveis que deterioram a silagem em condições aeróbias (PAHLOW et al., 2003).

Por isso os aditivos microbianos recomendados para silagem de cana-de-açúcar contêm principalmente bactérias heterofermentativas do gênero *Lactobacillus*. Os lactobacilos são resistentes à condição ácida e podendo crescer em pH em torno de 4,0 a 5,0. Com isso se mantem durante fermentações lácticas (MADIGAN et al., 1997). Inoculantes contendo *Lactobacillus buchneri*, que produz ácido acético em detrimento do ácido láctico, têm se mostrado mais eficazes em reduzir a população de leveduras e aumentar a estabilidade aeróbia de silagens de milho e de gramíneas de clima temperado (RANJIT & KUNG JR., 2000; TAYLOR et al., 2002).

O uso de aditivos microbianos *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus buchneri* na ensilagem da cana-de-açúcar resultou em melhor recuperação de MS, redução na produção de etanol e aumento da estabilidade aeróbia das silagens, além de aumento no

consumo e no ganho de peso em bovinos (PEDROSO et al., 2006). A inoculação da bactéria homolática *Lactobacillus plantarum* em silagens de cana-de-açúcar tem ocasionado elevação nas perdas de MS e na produção de etanol (FREITAS et al., 2006).

Entre os fatores que determinam o sucesso da aplicação de microrganismos, estão a habilidade de crescimento da bactéria na massa da forragem e a inoculação de uma população suficiente em relação à população microbiana epífita da forragem (ZOPOLLATTO et al., 2009). Espera-se ainda que os aditivos microbianos sejam capazes de inibir o crescimento de microrganismos deteriorantes após a abertura dos silos (KUNG JR, 2009).

2.4.1. *Bacillus subtilis*

As bactérias do gênero *Bacillus* caracterizam-se como microrganismos aeróbicos, entretanto, algumas linhagens podem crescer sob condições anaeróbicas, indicando diferenças quanto à tolerância ao oxigênio (BARBOSA et al., 2005). Elas são conhecidas como produtoras de uma série de peptídeos com propriedades antibióticas eficazes contra outras bactérias, fungos e leveduras (KATZ & DEMAIN, 1977, TODOVORA e KOZHUHAROVA., 2010; LANNA FILHO et al., 2010).

ARAÚJO 1995 utilizou o *Bacillus subtilis* no tratamento de sementes de soja visando o controle do desenvolvimento de fungos e observou efeito benéfico desta aplicação junto às sementes e ao solo, devido ao antagonismo contra os patógenos. Efeitos semelhantes foram observados por ARAUJO, 2008 utilizando sementes de milho e algodão.

A utilização do *Bacillus subtilis* tem sido estudada em silagens de milho, e já foram observados efeitos positivos uma vez que essa adição não alterou a composição química e as perdas no processo de fermentação da silagem, (BASSO et al 2012). PHILLIP & FELLNER (1992) avaliaram a aplicação de *B. subtilis* em silagens de milho e verificaram efeito positivo sobre a estabilidade aeróbia desses volumosos.

2.4.2. *Lactobacillus buchneri*

O *Lactobacillus buchneri* é uma bactéria heterofermentativa que produz ácido lático e acético a partir de açúcares de seis carbonos ou a partir do ácido lático para produzir ácido acético (MUCK, 2008). NUSSIO et al. (2003) foram os pioneiros em

utilizaram *L. buchneri* na ensilagem da cana-de-açúcar, com base em resultados positivos sobre o controle de leveduras durante a exposição aeróbia de silagens de milho e sorgo.

A adição de inoculantes contendo bactérias heterofermentativas como o *L. buchneri* pode inibir o crescimento de leveduras e melhorar a estabilidade aeróbica das silagens de cana-de-açúcar em decorrência do aumento na concentração do ácido acético (AVILA et al., 2009). Com isso, inoculantes contendo *L. buchneri* inibem a produção de álcool e evitam perdas por fermentações indesejáveis durante a ensilagem (PEDROSO et al. 2007).

O *L. buchneri* foi considerado por NUSSIO & SCHMIDT (2004) um dos aditivos mais promissores no controle de perdas na ensilagem da cana-de-açúcar. Já SCHMIDT (2008) apontou o óxido de cálcio como o aditivo que apresentou os melhores resultados em relação a fermentação, todavia com poucos trabalhos avaliando o desempenho animal.

A inoculação da silagem de cana-de-açúcar com essas bactérias, na concentração de $3,64 \times 10^5$ ufc/g de matéria seca verde, promoveu reduções de 50% na produção de etanol e de 56% na perda total de matéria seca, em relação à silagem não aditivada (PEDROSO, 2003.) SIQUEIRA et al (2005), constataram baixos valores de FDN em silagens de cana-de-açúcar tratadas com *L. buchneri* em comparação aos valores obtidos na silagem controle, 66,7% e 75,1% de MS, respectivamente.

2.4.3. *Propionibacterium acidipropionici*

O gênero *Propionibacterium* é caracterizado pela produção dos ácidos acético e propiônico durante a fermentação de carboidratos solúveis e ácido láctico (McDONALD et al., 1991). As silagens de milho tratadas com *P. acidipropionici* apresentaram maiores teores de MS e aumento na estabilidade aeróbica (SIQUEIRA et al 2010).

O *Propionibacterium acidipropionici* é um inoculante para cana-de-açúcar indicado para proteger o material ensilado contra o ataque de fungos devido a utilização do ácido láctico para a produção de ácido propiônico e acético, que reduzem o pH e inibem o crescimento destes microrganismos. Sabe-se que este efeito é extremamente importante para a ensilagem da cana-de-açúcar, pois além de aumentar a estabilidade aeróbia, a diminuição na população fungica reduz a fermentação alcoólica e as perdas de matéria seca (NUSSIO & SCHMIDT, 2004).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, F. F. **Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostra e desenvolvimento de milho, soja e algodão.** Ciência e Agrotecnologia, v. 2, p. 456-462, 2008.
- ÁVILA,C,I,S; PINTO,J,C; FIGUEREID,H,C,P; SCHWAN,R,F ; **Effects of na indigenous and a commercial lactobacillus buchneri strain on quality of sugar cane silage.** Grass and Science, Oxford, v.64, n.4,p.384-394, dec.2009.
- BARBOSA, T.M.; SERRA, C.R.; LA RAGIONE, R.M.; WOODWARD, M.J.; HENRIQUES, A.O. **Screening for Bacillus Isolates in the broiler gastrointestinal tract.** Applied and Environmental Microbiology, v.71, n.2, p.968–978, 2005.
- BASSO,F,C.;LARA,E,C.;ASSIS,F,B.;RABELO,C,H,S.;MORELLI,M.;REIS,R,A.
Características da fermentação e estabilidade aeróbica de silagens de milho inoculadas com *Bacillus subtilis*. Revista. Brasileira. Saúde, Produção Animal, Salvador, v.13, n,4, p.1009-1019. 2012.
- BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; et al. **Avaliação da queima e da adição de milho desintegrado com palha e sabugo na ensilagem de cana-de-açúcar.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 269-275, 2007.
- BONOMO, P.; CARDOSO, C.M.M.; PEDREIRA,M.S. **Potencial forrageiro de variedades de cana-de-açúcar para alimentação de ruminantes.** Acta Scientiarum. Animal Sciences, Maringá, v.31, n.1, p.53-59, 2009.
- CANDIDO, A.R.; AMARAL, P.N.C.; JUNGES, L.; SANTOS, C.G.; COUTO NETO, O.; MACHADO, W.K.R. **Composição bromatológica da silagem de sorgo submetida a diferentes níveis de aditivo farinha de bocaiúva.** Anais...8º ENEPE-UFMG. 2012.

- CARVALHO, B, F.; **Características da silagem de cana-de-açúcar aditivadas com cal, propionato e *Lactobacillus buchneri***. Dissertação de Mestrado. Lavras, 2010.
- EVANGELISTA, A.R.; LIMA, J.A. **Utilização de silagens de girassol na alimentação animal**. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 1., 2001, Maringá. Anais... Maringá: Universidade Estadual de Maringá, p.177-217. 2001.
- FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho para silagem**. Produção de milho Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, p.336-337. 2000.
- FERREIRA, J.J. Estágio de maturação ideal para ensilagem do milho e do sorgo. In: CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; RODRIGUES, J.A.S. et al. (Ed.) **Produção e utilização de silagem de milho e sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p.405-428, 2001.
- FERREIRA, J.J. **Estágio de maturação ideal para ensilagem do milho e do sorgo**. In: CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; RODRIGUES, J.A.S. et al. (Ed.) **Produção e utilização de silagem de milho e sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p.405-428, 2001.
- FREITAS, A.W.P.F.; PEREIRA, J.C.; ROCHA, F.C., et al. **Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduos da colheita da soja**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 35, n. 1, p. 38-47, 2006.
- GERON, L. J. V.; ZEOULA, L. M. **Silagem do resíduo úmido de cervejaria: uma alternativa na alimentação de vacas leiteiras**. Pubvet, Londrina, v. 2, n. 38, 2008.

- JOBIM,C.C.; NUSSIO,L.G.; REIS,R.A.; SCHMITD,P. **Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.36, p.101-119, 2007.
- KUNG JR., L. Effects of microbial additives in silages: facts and perspectives. In: ZOPOLLATTO, M.; MURARO, G.B.; NUSSIO, L.G. (Ed.). International symposium on forage quality and conservation, São Pedro, 2009. **Proceedings.** Piracicaba: FEALQ, 2009. v. 1, p.7-22. 2009.
- 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, p.305-360. 2003.
- LANNA FILHO, R.; FERRO, H.M.; PINHO, R.S.C. **Controle biológico mediado por Bacillus subtilis.** Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas, v.4, n.2, p.12-20, 2010.
- LIMA, J.A.; EVANGELISTA, A.R. **Silagem de capim-elefante (Pennisetum purpureum Schum).** Lavras: Editora UFLA, 28p. (UFLA. Boletim técnico científico, 85). 2002.
- MADINGAN,M.T.; MARTINKO,J.M.; PARKER,J. **Brock Biology of Microorganisms.** 8.ed. New Jersey: Prentice Hall, 986p. 1997.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage.** 2.ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991.
- MUCK,R,E. **Advances in inoculantes for silage.** In: Symposium on Strategic Management of pasture And 2; International Symposium on animal production under grazing, 2, 2008. Viçosa, mg UFV, p.221-232. 2008.
- MUCK,R,E. **Silage microbiology and its control through additives.** Revista Brasileira de Zootecnia. Viçosa, v.39, p. 183-19, 2010.

- NASCIMENTO, M.C.O.; SOUZA, B.B.; SILVA, F.V.; MELO, T.S. **Armazenamento de forragem para caprinos e ovinos no semiárido do nordeste**. ACSA – Agropecuária Científica no Semiárido, V. 9, n. 4, p. 20 - 27, 2013.
- NUSSIO, L.G.; SCHIMDT, 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/ CCA/DZO, p.1-33. 2004.
- NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P.; PEDROSO, A.F. **Silagem de cana-de-açúcar**. In: PEIXOTO, A.M; MOURA, J.C.; Da SILVA, S.C. et al. (Ed) Simpósio de pastagens. Piracicaba: FEALQ/USP/ESALQ,. p.100-150. 2003.
- OLIVEIRA, M.D.S.; ANDRADE, A.T.; BARBOSA, J.C. et al. **Digestibilidade da cana-de-açúcar hidrolisada, in natura e ensilada para bovinos**. Ciência Animal Brasileira, v.8, n.1, p. 41-50, 2007.
- PAHLOW, G.; MUCK,R,E.; DRIEHUIS,F.; ELFERINK,S.J.W.H.O.; SPOELTRA,S,F. **Microbiology of ensiling**. In: Buxton, D.R; Muck,R,E.; Harrison,J,H (ed) Silage Science and technology. Madison **American Society of Agronomy**, P.31-94. 2003.
- PAIVA, J.A.J. **Qualidade da silagem dasilagem da região metalúrgica de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Escola deVeterinária da UFMG, 83f.Dissertação (Mestrado em Zootecnia) –Escola de Veterinária, UFMG, BeloHorizonte, MG. 1976.
- PEDROSO, A.F. **Aditivos químicos e microbianos no controle de perdas e na qualidade de silagem de cana-de-açúcar (Saccharum officinarum L)**. 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo, 2003.

- PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; BARIONI JR., W. et al. **Performance of holstein heifers fed sugarcane silages treated with urea, sodium benzoate or *Lactobacillus buchneri***. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.41, n.4, p.649-654, 2006
- PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; LOURES, D.R.S. et al. **Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, n.3, p.558-564, 2007.
- PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F. et al. **Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage**. Scientia Agricola, v.62, n.5, p.427-432, 2005.
- PEDROSO, A.F. **Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage**. Sci. Agric. Piracicaba, v.62, n.5, p.427-432, 2005.
- PEREIRA, J.R.A.; REIS, R.A. **Produção e utilização de forragem pré-secada**. In: **Simpósio de Forragicultura e Pastagens**. Anais... Lavras: UFLA, p. 311-338, 2001.
- PEREIRA, O.G.; RIBEIRO, K.G.; PEREIRA, D.H. **Produção e utilização de forragens conservadas**. In: **Semana de Zootecnia, 2, Diamantina**. Anais... Diamantina. MG. p.75-118. 2004.
- PHILLIP, L.E.; FELLNER, V. **Effects of bacterial inoculation of high-moisture ear corn on its aerobic stability, digestion, and utilization for growth by beef steers**. Journal of Animal Science, v.70, p.3178-3187, 1992.
- 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.526-535, 2000.

- REZENDE, A.V. et al. **Qualidade bromatológica das silagens de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) aditivadas com raspa de batata.** Ciênc. Agrotec. [online]. vol.33, n.1, pp. 292-297. ISSN 1413-7054. 2009.
- SANTOS, M.C **Aditivos químicos para o tratamento da cana-de-acucar *in natura* e ensilada (*Saccharum officinarum* L.)** 2007. 112f. Dissertacao (Mestrado em Ciencia Animal e Pastagens) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- SANTOS, M.C., NUSSIO, L.G., MOURÃO, G.B., SCHMIDT, P., MARI, L.J. E RIBEIRO, J.L. 2008. **Influência da utilização de aditivos químicos no perfil da fermentação, no valor nutritivo e nas perdas de silagens de cana-de-açúcar.** Revista Brasileira de Zootecnia, Brasília, v.37, n.9, p. 1555-1563,2008.
- SANTOS,F,S.; GONÇALVES,F,M.; RIOS,P,M.; RODRIGUES,R,R.;GOMES,R,R,L.;RODRIGUES,G,G.;SOUZA,R,R.;FERREIRA,C,I. **Principais tipos de silos e microrganismos envolvidos no processo de ensilagem.** Vet.Not., Uberlandia, v.19. n.2,p.140-152, 2013.
- SANTOS,M.V.F.; GOMES CASTRO.A,G.; PEREA. J,M.; GARACIA,A.; GUIM,A.; PERES,H.M. **Fatores que afetam o valor nutritivo da silagem de forrageiras tropicais.** Arch. Zootec.v,59 p.25-43, 2010.
- SCHMIDT, P. **Aditivos químicos e biológicos no tratamento de cana-de- açúcar para alimentação de bovinos.** In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W. (Eds.) Produção e utilização de forragens conservadas. Maringá: Masson,. p.117-152. 2008.
- SCHMIDT, P.; MARI, L.J.; NUSSIO, L.G. et al. **Aditivos químicos e biológicos na ensilagem de cana-de-açúcar. 1. Composição química das silagens, ingestão,**

- digestibilidade e comportamento ingestivo.** Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, n. 5, p. 1666-1675, 2007 (suplemento).
- SENGER, C. C. D.; MÜHLBACH, P. R. F.; SÁNCHEZ, L. M. B.; NETTO, D. P.; LIMA, L. D. **Composição e digestibilidade “in vitro” de silagens de milho com distintos teores de umidade e níveis de compactação.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1393-1399, 2005.
- SIQUEIRA, G. R. ; REIS, R. A. 3,4, ITURRINO, R. P.S.; PIRE, A. J. V.; BERNARDES, T. F.; ROTH, M. T. P. **Queima e aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar.** R. Bras. Zootec., v.39, n.1, p.103-112, 2010.
- SIQUEIRA, G.R. **Cana-de-açúcar (Saccharum officinarum L.) ensilada com aditivos químicos e microbianos.** Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2005. 92p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2005.
- SIQUEIRA, G.R.; RESENDE, F.D.; ROMAN, J. **Uso estratégico de forragens conservadas em sistema de produção de carne. Produção e utilização de forragens conservadas.** Maringá: Masson, p.41-89. 2008.
- TAYLOR, C.C.; RANJIT, N.J.; MILLS, J.A. et al. **The effect of treating whole-plant barley with Lactobacillus buchneri 40788 on silage fermentation, aerobic stability and nutritive value for dairy cows.** Journal of Dairy Science, v.85, n.7, p.1793- 1800, 2002.
- TODOVORA, S., KOZHUHAROVA, L., **Characteristics and antimicrobial activity of Bacillus subtilis strains isolated from soil.** World J. Microbiol. Biotechnol. 26, 1207–1216, 2010.

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.** Revista Brasileira de Zootecnia, viçosa,MG, v.38 n.1, p.170-189, jan,2009.

CAPITULO I

**PERFIL MICROBIOLÓGICO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE
SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR ADITIVADA COM *Lactobacillus buchneri*,
Propionibacterium acidipropionici ou *Bacillus subtilis***

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da adição dos aditivos microbianos *Lactobacillus buchneri*, *Propionibacterium acidipropionici* e *Bacillus subtilis*, sobre as características químicas e microbiológicas das silagens de cana-de-açúcar. O experimento constituiu-se de silagem de cana-de-açúcar *in natura* que foi considerada o controle (C) e os aditivos microbianos foram aplicados no seguinte delineamento: silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* (Lb) silagem de cana-de-açúcar com *Bacillus subtilis* (Bs) e *Propionibacterium acidipropionici* (Pa). A forragem foi armazenada por 60 dias em silos de PVC, e foram avaliados a composição química das silagens no momento da ensilagem e após 60 dias. Para determinação do perfil microbiológico foram mensurados o pH, bactérias ácido lácticas, leveduras e fungos nos dias 0, 2,7,14,21 e 60. Pode-se observar um aumento no teor de FDN na silagem que recebeu Lb, enquanto que o *Propionibacterium acidipropionici* apresentou maior teor de FDA e uma redução na digestibilidade. Embora não tenha afetado outros parâmetros de maneira significativa, o tratamento com *B. subtilis* levou a uma maior concentração de lignina e ácido butírico no momento da abertura dos silos. Todos os aditivos garantiram uma população de bactérias ácido lácticas superior a silagem controle e a silagem que recebeu Pa mostrou uma redução na população média de leveduras, o que pode significar um aumento na estabilidade aeróbia. A adição de aditivos microbianos mostrou-se favorável no processo de ensilagem da cana-de-açúcar.

Palavras-chaves: bactérias, fermentação, inoculantes, matéria seca, ácidos orgânicos

ABSTRACT

Key words:

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e conquista cada vez mais o mercado externo (MAPA, 2015). O uso da cana-de-açúcar como alimento para os animais durante a seca é uma prática utilizada por muitos produtores no Brasil (LOPES E EVANGELISTA, 2010; PEDROSO et al ., 2011). A ensilagem é uma forma de concentrar a mão-de-obra em apenas um período, promover um crescimento mais uniforme da rebrota e aproveitá-la no estágio de melhor valor nutritivo, (Rocha et al ., 2015). Tem-se observado a valorização do cultivo da cana-de-açúcar, sobretudo pela demanda na produção de biocombustíveis e com o uso para a alimentação animal (VOLTOLINI et al ., 2012). Um dos principais pontos que justificam a ensilagem de cana é o risco do fogo acidental, além disso a ensilagem de cana-de-açúcar justifica-se por permitir um melhor manejo agrônômico dos talhões e resolver o problema do corte diário, além de ser uma forma de estocagem de elevadas quantidades de volumoso nas propriedades.

Esta forrageira é caracterizada por possuir uma elevada concentração de açúcares solúveis e por apresentar alta população de leveduras que se multiplicam depois do processo de ensilagem. (AVILA et al 2010). A maioria das espécies de leveduras atua preferencialmente em condições de aerobiose, todavia algumas podem manter a população em condições de anaerobiose fermentando açúcares solúveis e gerando etanol. A ocorrência da fermentação alcoólica é comum durante a ensilagem da cana-de-açúcar, podendo inclusive predominar sobre a fermentação láctica, situação que acarreta expressivas perdas de matéria seca, (FORTALEZA et al 2012). Sabe-se que a silagem da cana-de-açúcar representa uma boa alternativa para a alimentação de ruminantes, mas há ainda necessidade de estudos para a otimização do processo, principalmente com relação a utilização de aditivos que regularizem o padrão fermentativo.

Bactérias ácido lácticas como *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus plantarum* são alternativas interessantes para a ensilagem de cana-de-açúcar por serem produtoras de ácido láctico e acético, o que leva a inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis (AVILA et al 2010). A bactéria heterolática *Lactobacillus buchneri* tem apresentado resultados promissores principalmente na inibição do crescimento de fungos e no aumento da estabilidade aeróbia para silagem de cana-de-açúcar. (FILYA et al., 2003). O *Bacillus subtilis* em silagens pode controlar a instabilidade aeróbica e

também controla o crescimento dos microrganismos indesejáveis (BASSO et al 2012). O uso do inoculante *Propionibacterium acidipropionici* vem sendo destacado por apresentar perdas por gases e efluentes com uma boa recuperação de matéria seca, (MONCAO et al., 2012).

Visando otimizar o processo de ensilagem da cana-de-açúcar foi realizado o presente estudo com o objetivo de avaliar o efeito da adição dos aditivos microbianos *Lactobacillus buchneri*, *Propionibacterium acidipropionici* e *Bacillus subtilis*, sobre o valor nutricional e microbiológicas das silagens de cana-de-açúcar.

MATERIAL E MÉTODOS

Colheita da cana-de-açúcar e preparo das silagens

O experimento foi realizado no município de Rio Verde Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. Foi utilizada a variedade RB 8554513 de cana-de-açúcar colhida em 11 /2015 do próprio plantel da faculdade. Os aditivos microbianos aplicados foram fornecidos pela empresa Lallemand Animal Nutrition e Fatec Indústria de Nutrição e Saúde Animal Ltda.

O experimento constitui-se de silagem de cana-de-açúcar *in natura* que foi considerada o controle (C) sem adição de inoculantes. Os aditivos microbianos foram aplicados no seguinte delineamento: silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* (Lb) $2,5 \times 10^{10}$ UFC/g contido no produto Lalsil Cana (Lallemand); silagem de cana-de-açúcar com *Bacillus subtilis* (Bs) $1,0 \times 10^9$ UFC/g contido no produto BIOTOP fornecido pela empresa Fatec Indústria de nutrição e saúde animal Ltda e *Propionibacterium acidipropionici* (Pa) $2,5 \times 10^{10}$ UFC/g contido no produto BioMax Cana (Lallemand). Todos os aditivos foram aplicados na dosagem de 2g/tonelada segundo recomendação dos fabricantes, onde foram diluídos 0,18 gramas do produto em 90 ml de água destilada. Além disso, todos os tratamentos foram aplicados em triplicata.

A ensilagem foi realizada em canos de PVC, com diâmetro de 100 mm, altura de 0,50 m e densidade de 0,003925 m³, a cana-de-açúcar foi cortada no triturador. Todos foram fechados com duas camadas de plástico para impossibilitar a entrada de oxigênio e foram mantidos por até 60 dias.

Após a vedação e seu respectivo período de incubação, os silos foram pesados para a mensuração dos gases produzidos antes e após o processo fermentativo de acordo com a metodologia descrita por ZANINE et al. (2006).

Análises Laboratoriais

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal e no Laboratório de Microbiologia do mesmo campus. Imediatamente após a abertura dos silos foram analisados o pH e o nitrogênio amoniacal (N-NH₃/NT). O pH foi determinado de acordo com SILVA e QUEIROZ (2002). O N-NH₃/NT foi realizado através da metodologia da AOAC (1980).

As análises químicas para determinação da matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) foram realizadas pelo método descrito por AOAC (1980). Todas as análises foram realizadas em duplicata.

Para a obtenção das amostras pré-secas após o período de fermentação, os silos foram abertos e as porções superior e inferior de cada um foram descartadas. A porção central do silo foi homogeneizada e colocada em bandejas de plástico onde foram pesados e levados para estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72 horas. As amostras pré-secas foram moídas em um moinho do tipo Willey, em peneira com malha de 1 mm.

No ensaio da digestibilidade in vitro da MS (DIVMS), foi utilizada a metodologia descrita por TILLEY e TERRY (1963) modificada para o fermentador ruminal DAISY II, seguindo-se a metodologia apresentada no manual de utilização do equipamento (ANKOM® Technology), fornecida pelo fabricante.

Para a análise da produção dos ácidos orgânicos foram avaliados os silos submetidos a todos os tratamentos e abertos após 7 e 60 dias de fermentação. Pesaram-se 25 g de silagem úmida que foram adicionadas a 225 ml de água destilada e posteriormente batidas no liquidificador por 1 minuto. Após isso, as amostras foram filtradas em peneira fina, e armazenados em freezer. Após descongelamento, essas amostras foram centrifugadas (15 minutos a 4.000 rpm) e filtradas em náilon com porosidade de 0,45µm. Foram mensurados os ácidos láctico, acético e butírico e propiônico em um cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho (HPLC), marca SHIMADZU, modelo SPD-10A VP acoplado ao Detector Ultra Violeta (UV) utilizando-se um comprimento de ondas: 210 nm.

As análises microbiológicas para contagem de bactérias ácido lácticas (BAL), leveduras e fungos foram iniciadas com a diluição de 25 gramas de amostra de cada um dos silos em 225mL de solução salina estéril. Posteriormente foi realizada uma diluição seriada até 10^{-7} na mesma solução. Para contagem dos fungos e leveduras utilizou-se 100 μ L de cada uma das diluições 10^{-3} ; 10^{-4} e 10^{-5} que foram inoculadas em duplicata no meio BDA (Agar Batata Dextrose), para BAL foram utilizadas as diluições 10^{-5} ; 10^{-6} e 10^{-7} também inoculadas em duplicata. As placas foram incubadas a 32°C por até dois dias para a contagem das BAL, até três dias com a temperatura de 28°C para contagem de leveduras e até cinco dias para contagem de fungos filamentosos. Após o período de crescimento foi realizada a contagem das unidades formadora de colônias (UFC) das placas que continham entre 25 e 250 colônias. Na análise dos dados, os valores obtidos nas contagens foram submetidos ao cálculo da média, que foi multiplicada pela diluição e a esse valor foi aplicado o logaritmo de base dez. As análises microbiológicas foram realizadas no momento da ensilagem e após 2, 7, 14, 21 e 60 dias de incubação.

O cálculo da tabela 3 foi calculado da seguinte forma, temos o valor inicial, faz uma regra de três, o resultado da regra de três tira os 100%.

Modelagem e Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x4) com três repetições.

Os dados foram analisados com o auxílio do software R (The R Development Core Team, 2011) e para comparação de médias, quando necessário, foi usado teste Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 01 pode-se observar a composição química do material utilizado para a ensilagem *in natura*, já após a adição dos aditivos. A composição química da silagem de cana-de-açúcar produzida após 60 dias de incubação está apresentada na tabela 2. A tabela 03 apresenta os efeitos dos tratamentos, com relação a aumento ou redução sobre todos os parâmetros avaliados, após a produção da silagem.

Nas silagens produzidas com a adição de *L. buchneri*, *B. subtilis* e *P. accidipropionici* não foi observada diferença significativa com relação a composição na MS, PB, FDA, LIG e N-NH₃. Apesar disso, pode-se observar que o *L. buchneri*

acarretou a maior redução na matéria seca com relação a cana-de-açúcar *in natura* enquanto o *P. acidipropionici* garantiu a maior recuperação. Diversos fatores podem interferir na maior ou menor perda fermentativa, como a picagem do material ensilado, que determina o tamanho das partículas e a eficiência na compactação, influenciando as perdas por gases e por efluentes. (RIBEIRO et al., 2010). Os teores ideais de MS para a ensilagem devem estar entre 28 e 43% (McDONALD et al., 1991). O material utilizado para a ensilagem apresentou composições adequadas, exceto o que foi utilizado para ensilagem com o *P. acidipropionici*, que ainda apresentou a menor perda de MS após os 60 dias de fermentação. SIQUEIRA et al. 2007 relataram reduções de MS de 35,6% para 28% e de 35,1% para 31,9% após 60 dias de incubação da cana-de-açúcar com *P. acidipropionici* e *L. buchneri* respectivamente. SCHMIDT et al. 2007 trabalhando com aditivos químicos e biológicos na silagem de cana-de-açúcar observaram que houve um teor de matéria seca mais elevado no tratamento controle 30,9% em relação aos tratamentos com ureia, benzoato, *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus plantarum* que variaram entre 30,3% a 30,2%. Neste estudo observamos uma porcentagem de redução maior para o *L. buchneri* que para o *P. acidipropionici*.

Com relação a MM o *P. acidipropionici* foi o único tratamento que levou a uma redução com relação à composição inicial, sendo o *L. buchneri* o que garantiu o maior aumento. SANTOS et al. 2009, avaliando silagem de cana-de-açúcar aditivadas com cal virgem e calcário encontraram concentrações menores de cinzas no momento da ensilagem sendo 2,3% de MM para silagem controle e 4,5 % e 3,2% para as silagens contendo cal ou calcário. Podem-se observar teores próximos aos obtidos para a silagem tratada com cal após a adição do *L. buchneri*.

ALLI et al., 1983 relataram que os problemas observados na ensilagem da cana-de-açúcar são decorrentes, principalmente, da intensa atividade de leveduras que naturalmente colonizam a planta (epifíticas) e convertem os açúcares solúveis a etanol, CO₂ e água, levando a redução no teor de carboidratos solúveis, baixos teores de ácidos láctico e acético e aumento nos teores de fibra da silagem.

Para PB os três tratamentos levaram a um aumento menos expressivo que a silagem produzida sem aditivos, sendo que o *L. buchneri* produziu a silagem com a menor quantidade de PB. Com relação à composição em fibras, o menor valor de FDN foi observado no tratamento com *P. acidipropionici* e o inverso foi observado para FDA, onde o maior valor pode ser atribuído ao mesmo tratamento. Todos os tratamentos acarretaram aumentos mais expressivos na composição em FDA que a

silagem controle. Porém pode-se observar na tabela 03 que o tratamento com *L. buchneri* levou ao maior aumento em FDN enquanto o *P. acidipropionici* acarretou maior aumento para FDA.

BALIEIRO NETO et al 2007 observaram teores médios de FDN de silagens de cana-de-açúcar tratadas com óxido de cálcio no momento da ensilagem de 55,48 com aumento progressivo até o nono dia de incubação, onde atingiu 70,48%. Sabe-se que este índice está diretamente relacionado ao consumo de carboidratos solúveis durante a fermentação. Os teores médios de lignina para esse estudo não mostraram diferenças significativas entre os tratamentos e a silagem controle após os 60 dias de incubação, porém pode-se observar que os tratamentos acarretam um acréscimo expressivo deste composto. O maior aumento no teor de lignina foi observado na silagem produzida com *B. subtilis* com relação ao material *in natura*.

Para TEIXEIRA, 2004, os maiores índices de FDN, FDA e LIG influenciam na DIVMS e pode ser observado que todos os tratamentos apresentaram teores de digestibilidade inferiores a silagem controle, inclusive para a silagem produzida com *P. acidipropionici* o valor obtido para digestibilidade da silagem foi inferior ao do material *in natura*. SIQUEIRA et al 2007, relataram reduções significativas na DIVMS para silagem de cana-de-açúcar aditivada com *Propionibacterium acidipropionici* e para *L. buchneri*, o tratamento com *P. acidipropionici* reduziu a DIVMS de 57,8 para 34,6 e para o *L. buchneri* a redução foi de 52,7 para 48,4. Neste estudo o tratamento com *L. buchneri*, embora tenha levado a um incremento expressivo no teor de FDN não mostrou uma redução significativa da DIVMS com relação à silagem controle.

Para a concentração de N-NH₃ não foi observada diferença significativa entre os tratamentos e a silagem controle obtida após 60 dias de incubação. Todas as silagens obtidas apresentaram índices de N-NH₃ inferiores a 10%. Este parâmetro estabelecido por Mc DONALD et al. (1991) é considerado o ideal para silagens de ótima qualidade, e pode evidenciar um baixo teor de carboidratos solúveis após a fermentação (Van Soest 1994). O baixo valor de nitrogênio amoniacal encontrado nas silagens indica uma baixa degradação dos compostos proteicos pelas enzimas que são secretadas, especialmente, pelas bactérias do gênero *Clostridium*.

Tabela 1. Análise química da cana-de-açúcar em natura com aditivos microbianos (% da MS no material a ser ensilado).

Trat.	MS	MM	PB	FDN	FDA	LIG	DIVMS
C	32,86 ^B	2,79	3,90	59,08	42,89	4,49	74,54
Lb	53,50 ^A	2,52	3,75	49,72	31,80	4,62	72,47
Bs	28,58 ^B	2,86	4,25	55,19	32,31	3,28	72,66
Pa	25,15 ^B	3,85	3,93	58,14	31,81	4,64	71,10
Media	34,97	3,00	3,96	55,53	34,70	4,26	72,70
SD	15,09	1,08	0,57	12,23	8,18	1,35	5,27
CV (%)	31,11	34,01	14,77	22,49	20,38	30,88	7,55

Medidas seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna, não diferem ($P>0,05$) C= Controle, Lb= *Lactobacillus buchneri*, Bs= *Bacillus subtilis*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*. MS= matéria seca, MM=matéria mineral, PB= proteína bruta, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido, LIG= lignina, DIVMS= digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Tabela 2. Percentuais dos teores de matéria seca (MS), matéria Mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente (FDA), lignina (LIG), digestibilidade *in vitro* (DIVMS), nitrogênio amoniacal N-NH₃ para silagens de cana-de-açúcar após 60 dias de fermentação.

Trat.	MS	MM	PB	FDN	FDA	LIG	DIVMS	N-NH ₃
C	24,04	2,98 ^B	4,60	71,65 ^A	40,37	6,68	81,94 ^A	1,55
Lb	21,89	3,64 ^A	4,14	68,04 ^{AB}	40,05	8,24	77,28 ^{AB}	1,51
Bs	23,39	3,22 ^{AB}	4,54	70,35 ^{AB}	40,98	7,82	78,79 ^A	0,93
Pa	24,11	3,50 ^{AB}	4,54	67,93 ^B	43,40	7,88	66,40 ^B	0,79
Media	23,36	3,33	4,46	69,49	41,20	7,66	76,10	1,19
SD	1,92	0,44	0,46	2,67	2,86	1,09	8,87	0,40
CV (%)	7,75	11,57	10,07	3,29	6,57	12,79	9,24	17,75

Medidas seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna, não diferem ($P>0,05$) pelo teste de Tukey. C= Controle, Lb= *Lactobacillus buchneri*, Bs= *Bacillus subtilis*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*. MS= matéria seca, MM=matéria mineral, PB= proteína bruta, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido, LIG= lignina, DIVMS= digestibilidade *in vitro* da matéria seca, N-NH₃= nitrogênio amoniacal.

Tabela 03. Efeito do processo nos teores de nutrientes da silagem de cana-de-açúcar em relação a matéria *in natura*.

Tratamentos	MS	MM	PB	FDN	FDA	LIG	DIVMS
C	-27	+7	+18	+21	-6	+49	+10
Lb	-59	+44	+10	+37	+26	+78	+7
Bs	-18	+12	+7	+27	+27	+138	+8
Pa	-4	-9	+15	+17	+36	+70	-7

C= Controle, Lb= *Lactobacillus buchneri*, Bs= *Bacillus subtilis*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*
 (-) representa redução e (+ aumento dos índices com relação ao material fresco).

Na tabela 4, estão apresentados os valores de perda por gases. Não foi observada diferença significativa neste parâmetro entre os tratamentos com relação à silagem controle durante todo o período de incubação. Porém, no dia 60 pode-se constatar um aumento expressivo nas perdas por gases para a silagem produzida com o *L. buchneri*. Tal teor reflete-se na maior perda de MS que foi observada para o mesmo tratamento.

As perdas gasosas podem evidenciar o consumo de açúcares em um processo fermentativo dominado por leveduras (PRESTON et al., 1976; ALLI et al., 1982). Pode-se observar que o *L. buchneri* apresentou a maior média na contagem de leveduras durante o período de incubação (tabela 06). Possivelmente o aditivo não conseguiu inibir a ocorrência predominante da fermentação alcoólica, onde os carboidratos solúveis são convertidos em etanol e CO₂.

Tabela 4. Perdas por gases das silagens tratadas com aditivos. *

Trat	2	7	14	21	60	Media	SD	CV (%)
C	2,38	2,56	2,44	2,73	2,33 ^B	2,51	0,23	8,64
Lb	2,57	2,68	2,69	2,45	2,74 ^A	2,61	0,21	8,1
Bs	2,58	2,69	2,66	2,60	2,41 ^{AB}	2,59	0,17	6,7
Pa	2,65	2,52	2,53	2,44	2,40 ^B	2,51	0,19	8,39
Media	2,54	2,62	2,58	2,56	2,47	---	---	---
SD	0,21	0,24	0,20	0,20	0,20	---	---	---
CV (%)	8,52	10,02	7,97	7,23	5,15	---	---	---

Medidas seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna, não diferem (P>0,05) C= Controle, Lb= *Lactobacillus buchneri*, Bs= *Bacillus subtilis*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*. SD= Desvio padrão, CV= coeficiente de variação.

*valores apresentados em percentuais da matéria seca.

Os valores obtidos pelas mensurações de pH durante todo o experimento estão apresentados na tabela 5. De maneira geral houve uma redução do pH após 2 dias de incubação em todos os silos, e esta redução continuou com 7 dias de incubação. Até o final do período de incubação os valores se mantiveram relativamente estáveis e pode-se observar que o menor valor de pH no momento da abertura dos silos, após 60 dias, foi obtido pela silagem aditivada com *L. buchneri*. Isto pode influenciar no período de estabilidade aeróbia, pois esta acidificação tende a inibir a proliferação de microrganismos aeróbios deteriorantes.

Segundo PADUA 2014, os valores de pH entre 3,8 e 4,2 podem ser considerados ideais para a silagem, porém todos os valores obtidos neste estudo foram inferiores a este parâmetro. Acredita-se que os baixos valores obtidos para o pH sejam decorrentes de características intrínsecas da cana-de-açúcar como a sua baixa capacidade tampão (JUNQUEIRA 2006), pois SÁ NETO et al., 2013 trabalhando com silagem de milho observaram valores de pH que variaram de 3,70 no tratamento *L. buchneri* + *L. plantarum*, a 3,79 no tratamento *L. buchneri*. Os valores de pH relativamente baixos e a composição em ácidos orgânicos, podem ter auxiliado na prevenção do crescimento destas bactérias indesejáveis que estão entre os principais microrganismos deterioradores das silagens e que podem acarretar risco a saúde animal.

Tabela5. Teores médios de pH registrados para os diferentes dias de abertura das silagens.

Trat.	pH						Media	SD	CV (%)
	0	2	7	14	21	60			
C	4,75 ^{Ba}	3,92 ^b	3,26 ^c	3,23 ^{ABc}	3,46 ^c	3,44 ^c	3,68	0,55	2,38
Lb	5,51 ^{Aa}	3,94 ^b	3,30 ^d	3,11 ^{Be}	3,50 ^c	3,30 ^d	3,78	0,84	1,48
Bs	5,69 ^{Aa}	3,91 ^b	3,28 ^{cd}	3,21 ^{ABd}	3,46 ^c	3,33 ^{cd}	3,81	0,90	2,0
Pa	5,70 ^{Aa}	3,87 ^b	3,27 ^c	3,27 ^{Ac}	3,47 ^c	3,39 ^c	3,83	0,89	2,21
Media	5,41	3,91	3,28	3,20	3,47	3,37	---	---	---
SD	0,42	0,06	0,07	0,07	0,06	0,08	---	---	---
CV (%)	2,13	1,54	2,34	1,66	2,09	2,04	---	---	---

Medidas seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna, não diferem (P>0,05) C= Controle, Lb= *Lactobacillus buchneri*, Bs= *Bacillus subtilis*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*. SD=desvio padrão, CV=coeficiente de variação.

Os valores obtidos pela análise da composição das silagens com relação aos ácidos graxos voláteis após 7 e 60 dias de incubação estão apresentados na tabela 6 onde pode-se observar a concentração dos ácidos láctico, acético, propiônico e butírico.

Para o ácido láctico não foi observada diferença significativa entre os tratamentos e a silagem controle. Porém houve uma relação direta entre a concentração de lactato e o pH neste experimento onde aos 07 dias a silagem contendo *L. buchneri* apresentou o maior valor de pH e a menor concentração de ácido láctico, evidenciando o potencial acidificante deste composto secretado pelas BAL. O contrário foi observado aos 60 dias onde a mesma silagem atingiu o maior teor de ácido láctico e o menor valor de pH. O menor teor de ácido láctico após 60 dias de incubação foi observado para a silagem com *B. subtilis* e *P. acidipropionici*.

De extrema importância para a redução do pH durante a ensilagem, o ácido láctico também pode ser consumido por algumas leveduras, o que após a abertura dos silos reduz a estabilidade aeróbica (AVILA et al 2014, FREITAS 2006).

A redução expressiva do pH em silagens aditivadas com *L. buchneri* já foi observada em outros estudos. Tal potencial também é atribuído à capacidade de produção de ácido acético por esta bactéria.

Para o ácido acético no dia 07 o tratamento com *L. buchneri* apresentou o maior valor em relação aos demais tratamentos, porém após 60 dias de incubação a silagem com *P. acidipropionici* continha o maior teor deste composto, embora não tenha sido observada diferença significativa em nenhum dos períodos. Sabe-se que o *L. buchneri* pode produzir preferencialmente ácido acético como produto metabólico, enquanto o gênero *Propionibacterium* é caracterizado pela produção dos ácidos acético e propiônico durante a fermentação de carboidratos solúveis ou de ácido láctico (MCDONALD et al., 1991).

Esperava-se uma produção expressiva de ácido acético pelo *L. buchneri* considerando-se uma capacidade heterofermentativa obrigatória. Este composto apresenta uma ação inibitória sobre o crescimento de leveduras e fungos filamentosos que são os responsáveis pela deterioração aeróbia da silagem após sua abertura (PAHLOW et al., 2003).

Em estudo com silagem de milho armazenado por 90 dias, FYLIA 2003 observou que as silagens tratadas com *L. buchneri* apresentaram maiores teores de ácido acético e menores concentrações de ácido láctico enquanto as silagens que continham *L. buchneri* e *L. plantarum* apresentaram maiores teores de ácido láctico e ácido acético.

Ambos os tratamentos foram efetivos em manter a silagem estável durante o período de exposição aeróbica por um tempo maior que a silagem controle. MENDES et al 2008 observou concentrações maiores de ácido acético na silagens de cana-de-açúcar aditivada com *L. buchneri* em relação as silagens sem aditivos. Embora possua efeitos positivos sobre a estabilidade aeróbia, (TOMICH et al 2003), mencionam que altas concentrações de ácido acético podem indicar a presença excessiva de oxigênio na massa ensilada que viabiliza o desenvolvimento das bactérias produtoras de ácido acético e dificulta o desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido láctico.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos e a silagem controle com relação ao teor de ácidos propiônico e butírico após 7 ou 60 dias de fermentação.

O teor de ácido butírico reflete a atividade clostridiana sobre a massa ensilada com conseqüente consumo de proteínas. Este é considerado um dos principais indicadores negativos da qualidade do processo fermentativo por apresentar ainda a redução da aceitação e do consumo pelos animais (TOMICH et al 2003).

Tabela 6. Teores médios de ácido láctico (LAT), ácido acético (ACE), ácido butírico (BUT), ácido propiônico (PROP). *

Tratamento	Lactato Dias		Acetato Dias	
	07	60	07	60
C	197,98	201,03	33,58	20,92
Lb	167,90	203,05	43,19	33,32
Bs	175,12	144,26	31,38	17,17
Pa	175,12	163,82	27,86	46,97
Cv (%)	21,66		63,27	
Tratamento	Propionato Dias		Butirato Dias	
	07	60	07	60
C	8,06	7,26	0,77b	1,10 ^b
Lb	8,52	9,35	0,99ab	1,38 ^{ab}
Bs	9,91	12,71	0,95ab	1,59 ^a
Pa	5,57	7,31	1,13 ^a	1,20 ^{ab}
Cv (%)	38,22		63,27	

Medidas seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem (P>0,05) C= Controle, Lb= *Lactobacillus buchneri*, Bs= *Bacillus subtilis*, Pa= *Propionibacterium acidipropionicci*.

*valores apresentados em ppm.

Os valores obtidos para as contagens de unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias ácido lácticas, leveduras e fungos desde a produção até a abertura dos silos

estão apresentados na tabela 7. Os tratamentos apresentaram populações de BAL significativamente superior ao controle apenas aos 14 dias de incubação, pois nos demais intervalos avaliados não houve diferença significativa. Mas, pode-se observar que a média de populações bacterianas foi superior durante todo o processo os tratamentos em relação ao controle. O favorecimento do crescimento das BAL pelos aditivos representa um efeito positivo considerando-se que estes microrganismos são os principais responsáveis pela acidificação da silagem e manutenção de adequadas condições de conservação da forragem.

Durante o período de ensilagem, pode-se observar que houve um aumento da população bacteriana após 7 dias de incubação, momento em que também foi observada uma redução significativa do pH. AVILA et al 2008 trabalhando com silagem de cana aditivada com uma cepa de *L. buchneri* observaram que a população de BAL foi maior para silagem inoculada com relação a silagem controle, indicando um efeito positivo da adição dos inoculantes sobre esta população.

Para as leveduras pode-se observar que houve uma redução nas populações com relação a microbiota epifítica durante o processo de ensilagem sendo a menor população média observada para a silagens que recebeu o aditivo *P. acidipropionicii*. Pode-se constatar que este tratamento também respondeu pelas maiores concentrações de ácido acético ao final do período de incubação, evidenciando o efeito inibitório deste composto. O decréscimo na população das leveduras deve ter um efeito positivo sobre o período de estabilidade aeróbia, pois este grupo de microrganismos é o principal responsável pela deterioração das silagens após a abertura (ASHBELL et al., 2002).

Além disso, as leveduras competem com as BAL pelos açúcares podendo ser responsáveis pela diminuição das fermentações desejáveis que garantam a acidificação da silagem e a conservação do alimento. Além disso, a ocorrência da fermentação alcoólica acarreta aumento da perda de MS por efluentes (PAHLOW, 1984).

O uso de aditivos a base bactérias heteroláticas tem sido eficiente para controlar a população de leveduras e reduzir a fermentação alcoólica na massa ensilada, além de melhor a estabilidade aeróbia (AVILA et al 2008, QUEIROZ et al 2012, TABACO et al 2011).

Não houve diferença significativa para as contagens de fungos filamentosos em nenhum dos tratamentos nos intervalos avaliados. Porém pode-se observar que apenas os tratamentos *B. subtilis* e *P. acidipropionicii* apresentaram contagens inferiores ao controle, sendo os menores índices atribuídos ao tratamento com *B. subtilis*. Houve uma

redução significativa na população de fungos durante o período de incubação para as silagens produzidas com *L. buchneri* e *B. subtilis* em relação a microbiota epifítica quantificada no dia 0.

A ocorrência de fungos filamentosos em silagens está associada a falhas na hora da compactação da forrageira, que pode ocorrer em função do teor de MS e tamanho das partículas (MUCK, 2001). Esses microrganismos são responsáveis por perdas nutricionais, deterioração aeróbica da silagem e produção de micotoxinas que reduzem a ingestão e comprometem a saúde do animal (DRIEHUIS, 2012). Bactéria da espécie *B. subtilis* produzem peptídeos ativos contra bactérias gram-positivas e compostos inibidores para leveduras e fungos, como bacilomicina, micobacilina e fungistatina (TABBENE et al., 2009).

Tabela 7. Composição microbiológica das silagens de cana-de-açúcar com e sem aditivos.

Bactérias									
Trat.	Dias						Media	SD	Cv(%)
	0	02	07	14	21	60			
C	6,73 ^a	7,24 ^a	7,57 ^a	6,21 ^{Bab}	6,95 ^a	4,28 ^{ab}	6,50	1,69	21,47
Lb	8,98 ^{ab}	7,19 ^a	6,97 ^{ab}	7,2 ^{Aa}	6,85 ^{ab}	6,39 ^b	6,93	0,46	5,66
Bs	6,9 ^{ab}	7,33 ^a	8,25 ^a	7,03 ^{Aab}	7,34 ^a	5,03 ^b	6,98	1,48	17,14
Pa	7,11 ^{ab}	6,69 ^{ab}	8,04 ^a	7,23 ^{Aab}	7,25 ^{ab}	6,05 ^b	7,11	0,93	10,89
Media	6,93	7,18	7,71	6,92	7,10	5,44	---	---	---
SD	0,69	0,29	0,94	0,54	0,55	2,14	---	---	---
Cv(%)	10,55	3,8	11,06	5,16	7,69	38,73	---	---	---

Leveduras									
Trat.	Dias						Media	SD	Cv(%)
	0	02	07	14	21	60			
C	5,14 ^{Ca}	4,92 ^{Aa}	5,54 ^a	5,03 ^{ABa}	2,91 ^b	5,17 ^{Aa}	4,78	1,30	21,80
Lb	5,31 ^{Aa}	4,78 ^{Ab}	4,93 ^b	6,68 ^{Aa}	4,76 ^b	3,92 ^{Bc}	5,23	1,02	6,77
Bs	5,66 ^{AB}	4,45 ^b	5,29	4,93 ^B	4,92	4,39 ^{AB}	4,94	1,02	20,15
Pa	4,99 ^{Cabc}	4,65 ^{ABabc}	5,12 ^{ab}	5,34 ^{ABa}	4,12 ^{bc}	3,68 ^{Bc}	4,58	0,79	13,06
Media	5,42	4,70	5,22	5,50	4,18	4,29	---	---	---
SD	0,80	0,26	0,55	1,20	1,52	0,75	---	---	---
Cv(%)	9,41	4,3	10,28	18,91	33,15	11,79	---	---	---

Fungos									
Trat.	Dias						Media	SD	Cv(%)
	0	02	07	14	21	60			
C	3,26	3,78	3,68	3,46	3,65	2,52	3,39	1,10	32,4
Lb	3,72 ^a	3,69 ^a	3,63 ^{ab}	3,64 ^{ab}	3,95 ^a	2,27 ^b	3,48	0,93	22,94
Bs	3,62 ^a	3,50 ^a	3,51 ^a	3,51 ^a	2,85 ^{ab}	1,05 ^b	2,91	1,35	37,75
Pa	3,12	4,05	3,46	3,46	3,00	2,00	3,20	1,20	34,4
Media	3,43	3,76	3,57	3,57	3,36	1,96	---	---	---
SD	1,09	0,44	0,31	0,31	1,11	1,72	---	---	---
Cv(%)	32,27	11,17	9,04	9,04	32,27	88,97	---	---	---

CONCLUSÃO

A ensilagem de cana-de-açúcar requer a inclusão de aditivos que são capazes de controlar as perdas durante o processo de fermentação. O tratamento *Pa* garantiu a maior recuperação de matéria seca e a menor perda média por gases, porém reduziu a DIVMS. Neste tratamento também foi observada a menor população média de leveduras e maior concentração de acetato ao final do período de incubação. Nas silagens com tratamento *Lb* foram observados os menores valores de pH no final do período de incubação, a maior concentração de lactato e a maior população de BAL. O tratamento *Bs* teve menor população de fungos ao final da incubação e a menor população média destes microrganismos deteriorantes.

REFERÊNCIAS

- ADESOGAN, A., SALAWU, M., ROSS, A., DAVIES, D., BROOKS, A. **Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* inoculants, or a chemical additive on the fermentation, aerobic stability, and nutritive value of crimped wheat grains.** J. Dairy Sci. 86,1789–1796, [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73764-3](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73764-3), 2003.
- ALLI, I.; BAKER, B. E. **Studies on the fermentation of chopped sugarcane.** Animal Feed Science and Technology, Amsterdam, v. 7, n. 4, p. 411-417, 1982.
- ALLI, I.; FAIRBAIRN, R.; BACKER, B. E.; GARCIA, G. **The effects of ammonia on the fermentation of chopped sugarcane (Silage preparation).** Animal Feed Science and Technology, Amsterdam, v. 9, n. 4, p. 291-299, 1983.

- AOAC, **Association Official Analytical Chemists. Official methods of analysis.** 13. ed. Washington: AOAC, 1015p. 1980.
- ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G.; HEN, Y.; FILYA, I. **The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages.** Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, v.28, p.261-263, 2002.
- AVILA C.L.S., CARVALHO B.F., PINTO J.C., DUARTE W.F. and SCHWAN R.F. **Use of Lactobacillus hilgardii strains for enhancing quality of sugarcane silage.** Journal of Dairy Science, 97, 940–951, 2014.
- AVILA, C.L.S., VALERIANO, A.R., PINTO, J.C., FIGUEIREDO, H.C.P.F., REZENDE, A.V. and Schwan, R.F. **Chemical and microbiological characteristics of sugarcane silages treated with microbial inoculants.** Braz J Anim Sci 39, 25–32, 2010.
- AVILA, S,L,C.; PINTO,C,J.SUGAWARA,S,M.; SILVA,S.; SCHAWAN,F,R. **Qualidade da Silagem de cana-de-açúcar inoculada com uma cepa de lactobacillus buchneri.** Acta. Sci. Anim. Sci. Maringá, v.30,n. 3, p.255-261, 2008.
- BALEIRO N.G.; S,RG.; REIS,A,R.; NOGUEIRA, R,J.; ROTH, P,T,M.; ROTH, P,T,P,A. **Oxido de cálcio como aditivo na ensilagem de cana-de-açúcar.** Revista Brasileira de Zootecnia v.36, n.5, p.1231-1239, 2007.
- BERNARDES, T.F.; REIAS, R.A.; MOREIRA,A.L. **Fermentative and microbiológica ensiled with citrus pulp pellets.** Scientia Agricola, 62: 214-220. 2005.
- CARVALHO, B.F; AVILA.C,L,S; PINTO,J,C; PEREIRA,M,N; SCHWAN,R,F. **Effects of propionic acid and Lactobacillus bucheri (UFLA SIL 72) addition**

on fermentative and microbiological characteristics of sugar cane silage treated whit and without calium oxide. Grass and Forage Science, v.67, p.462-471, 2012.

COAN, R. M.; SILVEIRA, R. N.; BERNARDES, T. F.; REIS, R. A.; MORENO, T. T. B.; MOREIRA, A. L. **Composição química da cana-de-açúcar crua ou queimada ensilada com aditivo.** In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. Anais... Recife: SBZ, 2002.

CORREA,C.E.S.; PEREIRA,M.N.; OLIVEIRA, S.G et al. **Performace of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of diferent grain textures.** Scientia Agricola, v.60, p.221-229, 2003.

DANIEL, J.L.P. et al. **Effect of chemical and microbial additives on the dynamics of gas production during the fermentation of sugarcane silage.** XVII International Silage Conference, Piracicaba- São Paulo, pg, 446-447, 2015.

de cana-de-açúcar: perdas na conservação, estabilidade aeróbica e o desempenho de animais. 2006. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

DRIEHUIS.F.; WIKSELAAR.P.G. **Silage and the safety and quality of dairy foods: a review** In: International Silage Coference, 16., 2012, Proceedings.. ISC, p.84-104. 2012.

FILYA, I. et al. **The effect of Lactobacillus buchneri, withor without homofermentative lactic acid bacteria, on thefermentation, aerobic stability**

- and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages.** J. Appl. Microbiol, Oxford, v. 95, n. 5, p. 1080-1086, 2003.
- FORTALEZA, A. P. S.; SILVA, L. D. F.; ZACKM, E.; BARBERO, R. P.; RIBEIRO, E. L. A.; PEGORARO, M.; SANTOS, L. E.; MIZUBUTI, I. Y. **Composição química e degradabilidade ruminal de silagens de cana-de-açúcar tratada com aditivos químicos e bacteriano.** Semina: Ciências Agrárias, v. 33, suplemento 2, p. 3341-3352, 2012.
- FREITAS, A.W.P.; PEREIRA, J.C.; ROCHA, F.C.; COSTA, M.G.; LEONEL, F.P.; RIBEIRO, M.D. **Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo da colheita de soja.** Revista Brasileira de Zootecnia, Brasília, v. 35, n.1, p. 38-47, 2006.
- ITAVO, L.C.V. ; ITAVO, C.C.B.F.; MORAIS, M.G. ; DIAS, A.M. ; COELHO E.M.H.; ELLER, H.; SOUZA, A.D.V. **Composição química e parâmetros fermentativos de silagens de capim-elefante e cana-de-açúcar tratadas com aditivos.** Rev Bras Saúde Prod Anim; 11:606-617. 2010.
- JUNQUEIRA, M.C. **Aditivos químicos e inoculantes microbianos em silagens**
- LOPES, J.; EVANGELISTA, A. R. **Características bromatológicas, fermentativas e população de leveduras de silagens de cana-de-açúcar acrescidas de uréia e aditivos absorventes de umidade.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v. 39, n. 5, p. 984-991, 2010.
- MAPA, 2015. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/ministerio>.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J.E. *The biochemistry of silage.* 2. ed. Marlow: Chalcombe Publications, 340. 1991.

- MENDES, C.Q.; SUSIN, I.; NUSSIO, L.G.; PIRES, A.V.; RODRIGUES, G.H.; URANO, F.S. **Efeito do *Lactobacillusuchneri* na fermentação, estabilidade aeróbia e no valor nutritivo desilagem de cana-de-açúcar.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.37,p.2191-2198, 2008. DOI: 10.1590/S1516-35982008001200017.
- MERTENS, D. R. **Using neutral detergent fiber to formulate dairy rations.** In: Proceedings gainut conference for the Feed Industry. Athens University ofGeorgia, p. 116-126. 1982.
- MUCK, R.E., SHINNERS, K.J. 2001. **Conserved forage (silage and hay): progress and priorities.** In: International Grassland Congress, XIX.. São Pedro. Proceedings... Piracicaba: Brazilian Society of Animal Husbandry. p.753-762. 2001.
- PÁDUA, F. T.; FONTES, C. A. A.; ALMEIDA, J. C. C.; DEMINICIS, B. B.; ALMEIDA, C. L.; CABRAL NETO, O.; OLIVEIRA, V. C. **Fermentation characteristicsof silage of sugar cane treated with calcium oxide, *Lactobacillus buchneri* and their associations.** *AmericanJournal of Plant Sciences*, Coulterville, v. 5, n. 5, p. 636-646, 2014.
- PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. et al. Microbiology ofensiling In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H.(Eds.). **Silage science and technology.** Madison: AmericanSociety of Agronomy, Crop Science Society of America, SoilScience Society of America,. p.31-94. 2003.
- PEDROSO A F. **Chemical additive and microbial inoculants effects on the fermentation and on the control of the alcohol production in sugarcane silages.** Ph D thesis, University ofSão Paulo, Piracicaba, Brasil. p. 120. 2003.

- PEDROSO, A.; RODRIGUES, A de.; BARIONI JUNIOR, W.; SOUZA,G.B.
Fermentation parameters, quality and losses in sugarcane silages treated with chemical additives and a bacterial inoculant. Revista Brasileira de Zootecnia, v,40, p.2318-2322, 2011.
- PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F. et al. **Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage.** Scientia Agricola, v.26, n.5, p.427-432, 2005.
- PRESTON, T.R. **Ammonia/molasses and urea/ molasses as additives for ensiled sugar cane.** Tropical Animal Production, v.1, p.98-104, 1976.
- QUEIROZ, O.C.M.; ADESOGAN, A.T.; ARRIOLA, K.G.; QUEIROZ, M.F.S. **Effect of a dual purpose inoculant on the quality and nutrient losses from corn silage produced in farmscale silos.** Journal of Dairy Science, v.95, p.3354-3362, DOI:10.3168/jds.2011-5207. 2012.
- RIBEIRO, L. S. O.; PIRES, A. J. V.; CARVALHO, G. G. P.; SANTOS, A. B.; FERREIRA, A. F.; BONOMO, P.; SILVA, F. F. **Composição química e perdas fermentativas de silagem de cana-de-açúcar tratada com ureia ou hidróxido de sódio.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.39, n.9, p.1911-1918, 2010.
- ROCHA,B.J.C.; JUNIOR,R,R,V.;REIS,T,S.;PALMA,N,N,M.; OLIVEIRA,M,L.
Cinética de fermentação ruminal da matéria seca e dos carboidratos de silagens de cana-de-açúcar com aditivos. Revista Caatinga, Mossoró,v.28, n.1, p.228-238, 2015.
- SÁ NETO, A.; NUSSIO,G,L.; ZOPOLLATTO,M.; JUNGES, D.; BISPO,W,A.
Silagem de milho ou de cana-de-açúcar com Lactobacillus buchneri

- exclusivamente ou em associação com *L. plantarium***. Pesquis Agropecuaria. Bras. Brasilia, v.48n.5,p.528-535, 2013.
- SCHMIDT, P.; MARI, L.J.; NUSSIO, L.G.; PEDROSO, A. de F.; PAZIANI, S. de F.; WECHSLER, F.S. **Aditivos químicos e biológicos na ensilagem de cana-de-açúcar. 1. Composição química das silagens, ingestão, digestibilidade e comportamento ingestivo**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, p.1666-1675, Suplemento. DOI: 10.1590/S1516-35982007000700027. 2007.
- SEGLAR, B. **Fermentation analysis and silage quality testing**. In: Minnesota Dairy Health Conference College of Veterinary Medicine, 1., 2003. Saint Paul University of Minnesota, 2003.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: UFV, 235 p. 2002.
- SIQUEIRA, G.R. et al. **Associação entre aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar**. Rev. Bras. Zootec., Viçosa, v. 36, n. 4, p. 789-798, 2007.
- 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, DOI: 10.3168/jds.2011-4286. 2011.
- TABENNE, O.; SLIMENE, I.B.; BOUABDALLAH, F.; MANGONI, M.L.; URDACI, M.C.; LIMAN, F. **Production of anti-methicillin-resistant Staphylococcus activity from Bacillus subtilis sp. Strain B38 newly isolated from soil**. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.157, p.407-419, 2009.

- TEIXEIRA, C.B. **Determinantes da degradabilidade entre clones de cana-de-açúcar no rúmen de bovinos**. Lavras, 2004. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.
- R, THE R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A Language and environment statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 1706p, 2011.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. **A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crop**. Journal British Grassland Society, v.18, n.2, p.104-111, 1963.
- TODOVORA, S; KOZHUHAROVA, L. **Characteristics and antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* strains isolated from soil**. Journal of Microbiology and Biotechnology, v.96, p.1151-1161, 2009.
- TOMICH, T.R. et al. **Características químicas para avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para qualificação da fermentação**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 20p. (Documentos, 57). 2003.
- VOLTOLINI, T. V.; SILVA, J. G.; SILVA, W. E. L.; NASCIMENTO, J. M. L.; QUEIROZ, M. A. A.; OLIVEIRA, A. R. **Valor nutritivo de cultivares de cana-de-açúcar sob irrigação**. Revista Brasileira de Saúde Produção Animal, v.13, n.4, p.894-901, 2012.
- WALKER, G.M. **Yeast physiology and biotechnology**. London: Wiley Editorial Offices, 1998. 350p.
- ZANINE, A.M., SANTOS, E.M., FERREIRA, D.J., PEREIRA, O.G. E ALMEIDA, J.C.C. **Efeito do farelo de trigo sobre perdas recuperação da matéria seca e composição bromatológica de capim Mombaça**. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., 43: 803-809. 2006.

CAPITULO II

EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DOS ADITIVOS MICROBIANOS *Lactobacillus buchneri* E *Propionibacterium acidipropionici* NO PERFIL FERMENTATIVO E VALOR NUTRICIONAL DA SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO: Objetivou-se avaliar o efeito da adição dos aditivos microbianos *Lactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici* isolados e associados, visando verificar a relação sinérgica dos efeitos positivos de ambos sobre as características químicas e microbiológicas das silagens de cana-de-açúcar. O experimento constitui-se de silagem de cana-de-açúcar *in natura* que foi considerada o controle (C). Os aditivos microbianos foram aplicados no seguinte delineamento: silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* (*Lb*); silagem de cana-de-açúcar com *Propionibacterium acidipropionici* (*Pa*); silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici* (*Lb+Pa*) e; silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici* (*2Lb+2Pa*). Os valores obtidos pelas análises bromatológicas foram considerados ideias para uma silagem de boa qualidade. As silagens tratadas com (*Pa*) e associadas com (*Lb+Pa*, *2Lb+2Pa*), apresentaram maiores índices de recuperação de MS. A adição de *Lb* levou aos maiores aumentos de FDN e FDA, porém não foi observada diferença significativa na digestibilidade. Todos os tratamentos garantiram perdas médias por gases inferiores a silagem controle. O tratamento *2Lb+2Pa* mostrou a maior concentração de ácido acético no momento da abertura dos silos, o que pode representar um aumento no período de estabilidade aeróbia. Porém, o mesmo tratamento atingiu a maior concentração de ácido butírico, o que pode evidenciar a ocorrência de fermentações indesejáveis durante o período de anaerobiose. Acredita-se que a adição dos aditivos trouxe efeitos benéficos ao processo de ensilagem, sobretudo pela observação do aumento da população média de bactérias ácido lácticas e redução na população média de fungos e leveduras que todos os tratamentos garantiram.

Palavras-chaves: Composição química, microbiologia, inoculantes, ensilagem.

ABSTRACT**Key words:**

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar se destaca como uma forrageira com grande potencial de produção de matéria seca (MS) e energia por área (PEDROSO et al., 2007). Entretanto essa cultura demanda mão de obra diária para cortes, despalha, transporte e picagem, o que determina restrições operacionais quando se pretende utilizá-la para suplementar os animais (LOPES e EVANGELISTA, 2010). Tal aplicação pode ser viabilizada com a utilização da técnica de ensilagem (BALIEIRO NETO et al 2007).

Porém, é comum que o processo fermentativo durante a ensilagem da cana-de-açúcar seja dominado por leveduras que produzem álcool e acarretam perda de matéria seca, tornando imprescindível o uso de aditivos para controlar fermentações indesejáveis (AVILA et al 2010).

Mudanças na rota de fermentação das silagens, mediante aplicação de aditivos, podem alterar a composição final do alimento e afetar o consumo de MS e a digestão dos nutrientes em ruminantes (PEDROSO et al., 2006, CASTRO NETO, 2003). Vários aditivos têm sido utilizados na ensilagem de cana-de-açúcar, porém os resultados têm sido bastante variáveis (PEDROSO, 2003; FREITAS et al., 2006).

Os aditivos foram testados com a intenção de controlar a ação das leveduras nas silagens de cana-de-açúcar, pois elas oxidam os ácidos orgânicos que atuam como conservantes, e geralmente iniciam o processo de degradação aeróbica e desenvolvimento de outros microrganismos como os fungos, *Bacillus* e *Listeria monocytogenes*, que reduzem o tempo de utilização da silagem e colocam em risco a saúde dos animais (AVILA et al 2009; WOOLFORD, 1990; DRIEHUIS & OUDE ELFERINK, 2000).

Os inoculantes microbianos utilizados como aditivos incluem bactérias homofermentativas ou heterofermentativas (ZOPOLLATTO et al 2009). Os microrganismos homofermentativos geralmente caracterizam-se pela taxa de fermentação mais rápida, menor proteólise, maior produção 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 e tendem a prolongar o período de estabilidade aeróbia (ZOPOLLATTO et al 2009).

Tais microrganismos, heterofermentativos, têm sido aplicados eficientemente para aprimorar o processo de ensilagem da cana-de-açúcar, principalmente o *Lactobacillus buchneri*, e resultados positivos tem sido verificados.(VALERIANO et al 2009).

A partir disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição dos aditivos microbianos *Lactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici* isolados e associados, visando verificar a relação sinérgica dos efeitos positivos de ambos sobre as características químicas e microbiológicas das silagens de cana-de-açúcar.

MATERIAL E MÉTODOS

Colheita da cana-de-açúcar e preparo das silagens

O experimento foi realizado no Instituto Federal Goiano – campus Rio Verde. Foi utilizada a variedade RB 8554513 de cana-de-açúcar colhida em 03 /2015, e a mesma foi doada pelo Instituto Federal Goiano- campus Rio Verde. Os aditivos microbianos aplicados foram fornecidos pela empresa Lallemand Animal Nutrition.

O experimento constitui-se de silagem de cana-de-açúcar *in natura* que foi considerada o controle (C). Os aditivos microbianos foram aplicados no seguinte delineamento: silagem de cana- de - açúcar com *Lactobacillus buchneri* (*Lb*) contido no produto Lalsil Cana (Lallemand); silagem de cana-de-açúcar com *Propionibacterium acidipropionici* (*Pa*) contido no produto BioMax Cana (Lallemand); silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici* (*Lb+Pa*) contido no produto BactoSilo MAS, (Lallemand) e; silagem de cana-de-açúcar *Lactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici* (*2Lb+2Pa*) contido nos produtos Lalsil Cana e BioMax Cana (Lallemand) respectivamente.

Todos os aditivos foram aplicados na dosagem de 2g/tonelada segundo recomendação dos fabricantes. Além disso, todos os tratamentos foram aplicados em triplicata.

A ensilagem foi realizada em canos de PVC, com diâmetro de 100 mm, altura de 0,50 m e volume de 0,003925 m³. Todos foram fechados com duas camadas de plástico para impossibilitar a entrada de oxigênio. Os silos foram mantidos por até 60 dias.

Após a vedação e seu respectivo período de incubação, os silos foram pesados para a mensuração dos gases produzidos antes e após o processo fermentativo de acordo com a metodologia descrita por (ZANINE et al. 2006).

Imediatamente após a abertura dos silos foram analisados o pH e o nitrogênio amoniacal (N-NH₃/NT). O pH foi determinado de acordo com (SILVA e QUEIROZ 2002). O N-NH₃/NT foi realizado através da metodologia da (AOAC 1980).

Análises Laboratoriais

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal e no Laboratório de Microbiologia do mesmo campus

As análises químicas para determinação da matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra solúvel em detergente neutro (FDN), fibra solúvel em detergente ácido (FDA) foram realizadas pelo método descrito por SILVA e QUEIROZ (2002). Todas as análises foram realizadas em duplicata.

Para a obtenção das amostras pré-secas após o período de fermentação, os silos foram abertos e as porções superior e inferior de cada um foram descartadas. A porção central do silo foi homogeneizada e colocada em bandejas de plástico onde foram pesados e levados para estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72 horas. As amostras pré-secas foram moídas em um moinho do tipo Willey, em peneira com malha de 1 mm.

No ensaio da digestibilidade in vitro da MS (DIVMS), foi utilizada a metodologia descrita por TILLEY e TERRY (1963) modificada para o fermentador ruminal DAISY II, seguindo-se a metodologia apresentada no manual de utilização do equipamento (ANKOM® Technology), fornecida pelo fabricante.

Para a análise da produção dos ácidos orgânicos foram avaliados os silos submetidos a todos os tratamentos e abertos após 7 e 60 dias de fermentação. Pesaram-se 25 g de silagem úmida que foram adicionadas a 225 ml de água destilada e posteriormente batidas no liquidificador por 1 minuto. Após isso, as amostras foram filtradas em peneira fina, e armazenados em freezer. Após descongelamento, essas amostras foram centrifugadas (15 minutos a 4.000 rpm) e filtradas em náilon com porosidade de 0,45µm. Foram mensurados os ácidos láctico, acético e butírico e propionico em um Cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho (HPLC), marca

SHIMADZU , modelo SPD-10A VP acoplado ao Detector Ultra Violêta (UV) utilizando-se um comprimento de ondas: 210 nm.

Modelagem e Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x4) com três repetições.

Os dados foram analisados com o auxílio do software R (The R Development Core Team, 2011) e para comparação de médias, quando necessário, foi usado teste Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à composição química da matéria fresca de cana-de-açúcar após a aplicação dos aditivos estão apresentados na Tabela 01.

Os mesmos parâmetros foram avaliados para todos os silos após os 60 dias de incubação e os dados estão apresentados na Tabela 02. Os teores de variação para as análises bromatológica estão apresentados na tabela 03.

Pode-se observar que os valores obtidos para todos os parâmetros avaliados mantiveram-se dentro dos intervalos considerados ideais para que se obtenha uma silagem de boa qualidade. Recomenda-se que os teores médios de matéria seca (MS) variem em torno de 25 a 35%, matéria mineral (MM) 3% e os teores de proteína bruta (PB) devem estar entre 1,91 a 3%. Teores de MS abaixo de 28% aumentam as perdas por efluentes e também favorecem a atuação de microrganismos indesejáveis na massa ensilada. Valores de MS acima de 40% indicam problemas relacionados a compactação inadequada e crescimento excessivo de microrganismos anaeróbicos e aeróbicos facultativos (PITT et al., 1991). A cana-de-açúcar normalmente apresenta baixa porcentagem de fibra em detergente neutro (FDN) que varia de 40 a 50%. Os valores de fibra em detergente ácido (FDA) ficam em torno de 25 a 40%, como foi observado neste estudo (ANDRADE et al 2004; BONOMO et al 2009, AZEVEDO et al 2003).

Após 60 dias de incubação não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para os parâmetros avaliados (MS, PB, FDN, FDA, LIG, DIVMS e N-NH₃), exceto para a matéria mineral (MM) que também apresentou diferenças entre os tratamentos antes da ensilagem. SANTOS et al (2008) também observou aumento dos

valores de matéria mineral em silagem de cana-de-açúcar, porém este foi, possivelmente, decorrente da adição de cal virgem. Pode-se observar que os maiores valores de matéria seca foram obtidos para a silagem produzida após incubação com *P. acidipropionici* (Pa), e com as associações de *L. buchneri* e *P. acidipropionici* (Lb+Pa e 2Lb+2Pa). Com relação a MS inicial o tratamento 2Lb+2Pa promoveu o menor índice de perda após a ensilagem.

WOORFORD 1984 relatou que a redução de MS está relacionada à diminuição do conteúdo celular, principalmente de carboidratos solúveis, durante o processo de fermentação e este fenômeno tem sido relatado em estudos com silos de laboratório (KUNG JR. & STANLEY, 1982; PEDROSO et al., 2005).

A quantidade de MS perdida durante a ensilagem depende de fatores como a MS inicial, tamanho da partícula e o grau de compactação HOLMES 2009. Para isso recomenda-se que a forragem seja picada em partículas de 1 a 2 cm, visando garantir uma melhor compactação (PEREIRA & REIS, 2001).

SCHMIDT et al 2011 trabalhando com silagem de cana-de-açúcar tratada com *L. buchneri*, encontraram redução nos teores de MS da forragem de 33,4% para 28,6% após 90 dias de conservação (redução de 14,37%). Índices inferiores de redução foram observados neste estudo em todos os tratamentos contendo *P. acidipropionici* isolado ou associado ao *L. buchneri*.

Para os teores de FDN foi observado um menor aumento em todos os tratamentos contendo *P. acidipropionici* em comparação aos valores iniciais (matéria fresca), ficando estes abaixo do aumento observado para a silagem controle. O maior aumento em FDN com relação ao material fresco foi observado para o tratamento contendo apenas *L. buchneri*, sendo este superior ao valor de incremento fibroso da silagem controle. Em cana-de-açúcar existe uma correlação positiva entre as perdas de MS durante o processo de fermentação e o aumento no teor fibroso, ou seja, menores aumentos na fração fibrosa indicam menores perdas ao longo do período de incubação (PEDROSO et al 2005). Tal relação pode ser observada em nosso experimento, pois a silagem produzida com *L. buchneri* apresentou o menor teor de recuperação em MS e os maiores valores de FDN, já as silagens contendo *P. acidipropionici* apresentaram os maiores teores de recuperação de MS e os menores teores de FDN com relação a composição inicial do material.

HERNANDEZ (1998) relata que o teor de FDN da cana-de-açúcar apresenta baixa digestibilidade, em média 40%, portanto o aumento em seu teor implica em

menor qualidade de volumoso. De acordo com SCHMIDT et al. (2007), a FDN é a principal fração alimentar que exerce limitação sobre o consumo das dietas, pois a ingestão de MS de forragens por ruminantes é limitada. O aumento no teor de FDA foi inferior a silagem controle apenas nos tratamentos com *P. acidipropionici* (Pa) e na associação *L. buchneri* + *P. acidipropionici* (Lb+Pa) e foram estes também que apresentaram teores abaixo de 40%. Segundo VAN SOEST (1994) este é o teor de FDA limitante para a digestibilidade.

Com relação a PB o maior teor foi observado para a silagem produzida com *L. buchneri* (3,5%), e os menores incrementos relativos ao material inicial foram obtidos nas associações de *L. buchneri* e *P. acidipropionici* (Lb+Pa e 2Lb+2Pa). SIQUEIRA et al 2011 encontraram valores de PB superiores aos observados nestes estudo nas silagens de cana-de-açúcar *in natura* (3,58% de PB) e nas silagens de cana queimada e tratada com *L.buchneri* (3,79%).

Todos os tratamentos apresentaram aumento no teor de lignina após 60 dias de incubação, com relação a silagem controle, com exceção da silagem aditivada com *L. buchneri*+*P. acidipropionici* (2Lb+2Pa) que mostrou um aumento inferior ao observado no controle.

Embora os tratamentos aplicados neste estudo tenham garantido incrementos nos teores de fibras e lignina, e considerando que estes estão diretamente relacionados a digestibilidade do alimento os índices de DIVMS aqui obtidos foram muito semelhantes a silagem controle. Reduções na DIVMS também foram observadas por SIQUEIRA et al 2007 após aplicação de aditivos químicos (benzoato, ureia e hidróxido de sódio) e aditivos microbiológicos (*P. acidipropionici* +*Lactobacillus plantarum* e *L. buchneri*) na silagem de cana-de-açúcar.

Outro parâmetro associado à qualidade fermentativa da silagem é o teor de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) (McDonald et al 1991). Dentre os tratamentos aplicados o Lb+Pa apresentou a menor quantidade deste composto. De acordo com WOOLFORD (1984) as silagens podem ser classificadas quanto ao teor de nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total em, muito boa quando os valores de N-NH₃ são inferiores a 10%, aceitável de 10 a 15% e insatisfatório quando os valores se situam acima de 20%. Menores teores de nitrogênio amoniacal indicam menor intensidade de proteólise durante o processo de fermentação, como resultados da menor atuação das bactérias do gênero *Clostridium* (McDONALDet al., 1991).

Tabela 1. Análise química da cana-de-açúcar em natura com aditivos microbianos (% da MS no material a ser ensilado).

Tratamentos	MS	MM	PB	FDN	FDA	LIG	DIVMS
C	27,47	1,69 ^B	2,05	40,54	25,18	4,49	68,22
Lb	28,32	2,44 ^A	2,28	41,57	23,10	4,62	72,86
Pa	28,73	1,94 ^{AB}	2,17	51,69	25,86	3,28	73,29
Lb+Pa	27,75	2,33 ^A	2,53	42,48	23,60	4,64	74,04
2Lb+2Pa	28,46	2,07 ^{AB}	2,45	45,85	26,34	4,66	69,47
Media	28,15	2,09	2,30	44,38	24,81	4,34	71,58
SD	1,47	0,42	0,42	10,09	7,76	1,28	6,82
CV (%)	16,49	16,49	18,05	22,34	33,24	28,93	9,65

C= Controle, Lb= *Lactobacillus Buchneri*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*, Lb+Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici*, 2Lb+2Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici*, MS= matéria seca, MM= matéria mineral, PB= proteína bruta, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido, LIG= lignina, DIVMS= digestibilidade *in vitro* da matéria seca. Letras maiúsculas representam diferenças entre os tratamentos para o mesmo parâmetro avaliado,

Tabela 2. Percentuais de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), digestibilidade *in vitro* (DIVMS), nitrogênio amoniacal (N-NH₃) da cana-de-açúcar utilizada para ensilagem após 60 dias de fermentação.

Trat.	MS	MM	PB	FDN	FDA	LIG	DIVMS	N-NH ₃
C	23,57	2,79 ^{AB}	3,40	63,03	42,62	4,70	14,35	1,12 ^{AB}
Lb	22,93	3,79 ^A	3,50	68,79	46,07	5,63	13,83	1,15 ^{AB}
Pa	25,77	2,85 ^{AB}	3,33	72,30	37,42	4,27	14,75	0,93 ^{AB}
Lb+Pa	24,87	2,60 ^B	3,45	61,41	34,74	6,63	14,77	0,79 ^B
2Lb+2Pa	26,15	2,49 ^B	3,09	66,78	47,07	4,39	13,59	1,26 ^A
Media	24,66	2,90	3,36	66,46	41,58	5,12	14,26	1,05
SD	2,37	0,75	0,64	10,52	10,16	2,94	1,20	0,28
CV (%)	8,79	2,63	19,93	15,77	23,08	58,86	8,26	22,96

C= Controle, Lb= *Lactobacillus Buchneri*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*, Lb+Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici*, 2Lb+2Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici*, MS= matéria seca, MM= matéria mineral, PB= proteína bruta, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido, LIG= lignina, DIVMS= digestibilidade *in vitro* da matéria seca, N-NH₃= nitrogênio amoniacal. Letras maiúsculas representam diferenças entre os tratamentos para o mesmo parâmetro avaliado.

Tabela 03. Efeito dos processos nos teores de nutrientes da silagem de cana-de-açúcar em relação a matéria *in natura*.

Tratamentos	MS	MM	PB	FDN	FDA	LIG	DIVMS
C	-14	+65	+66	+55	+69	+5	-79
Lb	-19	+55	+53	+65	+99	+22	-81
Pa	-10	+45	+53	+40	+45	+30	-80
Lb+Pa	-10	+11	+36	+44	+47	+43	-80
2Lb+2Pa	-8	+20	+26	+46	+79	+1	-80

C= Controle, Lb= *Lactobacillus Buchneri*, Pa= *Propionibacterium acidipropionicii*, Lb+Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionicii*, 2Lb+2Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionicii*, MS= matéria seca, MM= matéria mineral, PB= proteína bruta, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido, LIG= lignina, DIVMS= digestibilidade *in vitro* da matéria seca, N-NH₃= nitrogênio amoniacal. (-) representa redução e (+) aumento dos índices com relação ao material fresco.

Embora não tenha havido diferença significativa com relação às perdas por gases a partir do início do período de ensilagem, todos os tratamentos mostraram menores médias de PG durante o período de incubação, com relação à silagem controle. De maneira geral as perdas por gases foram estáveis durante a ensilagem para todos os silos desde o dia 2 até o dia 60. Os menores índices de perdas foram atribuídos aos silos contendo *P. acidipropionicii* (Pa). As perdas por gases estão diretamente relacionadas a ação dos microrganismos sobre a massa ensilada e, no caso da silagem de cana-de-açúcar, pode-se inferir que as leveduras são as maiores responsáveis pela redução da MS, através da fermentação alcoólica, onde há intensa produção de CO₂ (SIQUEIRA et al 2011, MCDONALD et al 1991) . Observa-se ainda uma correlação positiva entre as PG e a produção de etanol (PEDROSO et al. 2005).

A elevada quantidade de carboidratos solúveis na cana-de-açúcar favorece o desenvolvimento de leveduras e o predomínio da fermentação alcoólica. Neste estudo, pode-se observar que os aditivos microbianos empregados foram eficientes inibidores destes microrganismos, garantindo maior conservação da MS pelos menores teores de perdas.

Tabela 4. Teores médios de perda por gases (PG) durante o período de ensilagem. *

Trat	2	7	14	21	60	Media	SD	CV (%)
C	2,60	2,60	2,67 ^A	2,69 ^A	2,59	2,63	0,07	2,49
Lb	2,46 ^{ab}	2,46 ^{ab}	2,62 ^{Aab}	2,61 ^{Aab}	2,43 ^b	2,55	0,12	3,39
Pa	2,47	2,47	2,35 ^C	2,33 ^B	2,35	2,43	0,18	7,26
Lb+Pa	2,52	2,52	2,52 ^{AB}	2,54 ^{AB}	2,42	2,50	0,08	3,35
2Lb+2Pa	2,50 ^{ab}	2,50 ^{ab}	2,45 ^{BCab}	2,33 ^{Bb}	2,43 ^{ab}	2,48	0,12	3,70
Media	2,51	2,51	2,53	2,50	2,45	---	---	---
SD	0,14	0,14	0,13	0,17	0,12	---	---	---
CV (%)	5,94	5,94	2,53	3,33	4,51	---	---	---

C= Controle, Lb= *Lactobacillus Buchneri*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*, Lb+Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici* 2Lb+2Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici*. Letras maiúsculas representam diferenças entre os tratamentos, letras minúsculas representam diferenças entre os dias. Sd= desvio padrão, CV= coeficiente de variação.

*valores apresentados em percentuais da matéria seca.

Os teores médios de pH também são determinantes para a qualificação do processo de ensilagem (WOOLFORD, 1984; McDONALD et al., 1991). Os valores obtidos neste estudo estão apresentados na tabela 5. Todos os tratamentos mostraram uma redução significativa de pH a partir do início da ensilagem (dia2) até o final (dia 60). Os maiores índices de redução observados em comparação do pH inicial com o dia 2 foram obtidos nos tratamentos contendo *P. acidipropionici*. Acredita-se que o *L. buchneri* seja mais eficiente na acidificação da silagem devido a predominância na produção de ácido acético sobre o ácido láctico. Esta redução inicial do pH tem potencial efeito inibitório sobre o metabolismo de leveduras e fungos filamentosos o que pode prolongar o tempo de estabilidade aeróbia da silagem (RANJIT & KUNG JR., 2000).

Considera-se que o valor de pH para silagens deve estar próximo a 4,4 no final do período fermentativo (MCDONALD et al, 1991) e pode-se observar neste estudo que todas as silagens produzidas tiveram índices inferiores a este. BRAVO-MARTINS et al 2006 verificaram que os valores de pH para silagem cana-de-açúcar, em diversas variedades, com ou sem aditivos, ficam entre 3,8 a 4,2, e este também pode ser adequado para a preservação do material ensilado (VILELA, 1998). MENDES et al 2008, trabalhando com silagem de cana-de-açúcar aditivadas com *L. buchneri* encontraram valores semelhantes de pH. Eles observaram que após 60 dias de incubação a silagem sem aditivos estava com pH 3,95 e a silagem com aditivos atingiu pH 3,52.

Tabela 5. Teores médios de pH para silagens de cana-de-açúcar acrescidas de aditivos microbianos e incubadas por até 60 dias.

Trat.	pH DIAS						Media	SD	CV (%)
	0	2	7	14	21	60			
C	4,78 ^{Ca}	3,88 ^b	3,37 ^{cd}	3,31 ^d	3,49 ^{Bc}	3,31 ^{Ad}	3,69	0,54	1,5
Lb	5,51 ^{Ba}	3,91 ^b	3,37 ^c	3,40 ^c	3,40 ^{Bc}	3,18 ^{Bd}	3,79	0,82	0,84
Pa	5,72 ^{Aa}	3,91 ^b	3,49 ^c	3,46 ^{cd}	3,61 ^{Ac}	3,31 ^{Ad}	3,91	0,85	1,65
Lb+Pa	5,57 ^{ABa}	3,86 ^b	3,46 ^c	3,41 ^c	3,46 ^{Bc}	3,19 ^{ABd}	3,83	0,84	1,59
2Lb+2Pa	5,75 ^{Aa}	3,88 ^b	3,48 ^c	3,42 ^c	3,46 ^{Bc}	3,19 ^{ABd}	3,86	0,84	0,92
Media	5,47	3,88	3,43	3,4	3,48	3,24	---	---	---
SD	0,37	0,039	0,07	0,07	0,08	0,07	---	---	---
CV (%)	1,24	1,02	1,43	1,85	1,02	1,39	---	---	---

C= Controle, Lb= *Lactobacillus Buchneri*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*, Lb+Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici* 2Lb+2Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici*. Letras maiúsculas representam diferenças entre os tratamentos, letras minúsculas representam diferenças entre os dias. SD= desvio padrão, CV= coeficiente de variação.

Os teores de ácidos orgânicos obtidos pelas silagens produzidas após 7 e 60 dias de incubação estão apresentados na tabela 06. Foram avaliados os teores de ácidos láctico, acético, propiônico e butírico.

Todos os tratamentos mostraram quantidades inferiores de lactato com relação ao tratamento controle no início da ensilagem, no dia 07, já para o dia 60 não houve diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos, o que evidencia a eficiência dos aditivos em garantir a acidificação do material ensilado. Pode-se observar ainda que a silagem produzida com *L. buchneri* (Lb) apresentou o maior teor de lactato entre os tratamentos e também o menor valor de pH nos dias 07 e 60 de incubação. Sabe-se que entre os ácidos orgânicos o ácido láctico é muito eficiente em garantir um rápido declínio do pH e a manutenção da estabilidade da silagem, com consequente conservação do alimento.

Em silagens com boa fermentação, o ácido láctico compõe mais de 60% do total de ácidos orgânicos, com concentração entre 3 e 8 % na MS, (NUSSIO et al 2008) e esta proporção foi observada em nosso estudo.

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para os valores de acetato em relação aos tratamentos do dia 07, mas o maior valor pode ser atribuído para as silagens contendo *L. buchneri* (Lb, Lb+Pa e 2Lb+2Pa). Observou-se uma diferença significativa

($P < 0,05$) no final do período de incubação sendo o maior teor encontrado no tratamento Lb+Pa .

Durante o processo de fermentação o *L. buchneri* produz ácido acético a partir de carboidratos solúveis e também pode utilizar como substrato o ácido láctico. Sabe-se que o acetato é um eficiente inibidor de crescimento para fungos e leveduras e esta ação deve garantir um aumento na período de estabilidade aeróbica da silagem (DANNER et al ., 2003.KLEINSCHMIT e KUNG JUNIOR,2006, mencionaram que o ácido acético é o principal ácido orgânico responsável pelo controle de microrganismos deterioradores. O potencial de produção de acetato pelo *L. buchneri* já foi observado também em silagens de milho onde a utilização deste microrganismo elevou a concentração do ácido acético em 21% quando a dose utilizada foi inferior a 1×10^5 ufc/g da massa ensilada, já nas doses superiores a essa concentração foi aumentada em 78% (KLEINSCHMIT & KUNG JUNIOR 2006). Em estudo com silagem de milho armazenado por 90 dias, FILYA (2003) observou que as silagens tratadas com *L. buchneri* apresentaram maiores teores de ácido acético e menores concentrações de ácido láctico, já em silagens que continham *L. buchneri* e *L. plantarum* foram observados maiores valores de ácido láctico e acético comparando com tratamento controle.

Com relação ao ácido propiônico, a maior concentração foi obtida após 60 dias de incubação nos silos contendo apenas *P. acidipropionici* (Pa). Sabe-se que este microrganismo tem capacidade de fermentar três moles de lactato e produzir dois moles de propionato, um mol de acetato e um mol de gás carbônico. O ácido propiônico é um ácido de cadeia curta que auxilia no controle de microrganismos indesejáveis, principalmente fungos podendo de essa forma prolongar o período de estabilidade aeróbia da silagem (KUNG JR, 2004).

Com relação ao ácido butírico, embora não tenha havido diferença significativa, pode-se observar que todos os aditivos aplicados foram eficientes em reduzir sua concentração em relação à silagem sem aditivo.

Tabela 6. Teores médios de ácido acético (ACE), ácido láctico (LAT), ácido propiônico (PROP), ácido butírico (BUT). *

Tratamento	Lactato		Acetato	
	Dias		Dias	
	07	60	07	60
C	448,12 ^a	201,39	49,31	63,99 ^b
Lb	271,87 ^b	267,08	53,77	88,55 ^b
Pa	233,33 ^b	204,11	40,03	62,02 ^b
Lb+Pa	159,83 ^b	249,56	36,57	151,07 ^a
2Lb+2Pa	196,31 ^b	266,73	33,54	90,45 ^b

Tratamento	Propionato		Butirato	
	Dias		Dias	
	07	60	07	60
C	4,73	8,62	1,64	1,54
Lb	8,22	9,35	1,21	1,40
Pa	6,61	10,07	0,93	1,19
Lb+Pa	6,71	8,14	0,89	1,00
2Lb+2Pa	8,47	8,72	1,16	0,85

C= Controle, Lb= *Lactobacillus Buchneri*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*, Lb+Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici* 2Lb+2Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici* letras minúsculas representam diferenças entre os dias.

*valores apresentados em ppm.

A tabela 07 mostra os valores obtidos pela contagem de bactérias ácido lácticas (BAL), fungos e leveduras durante todo o período de ensilagem. As amostras foram coletadas a partir da matéria fresca e consecutivamente os silos foram abertos nos dias 2, 7, 14, 21 e 60.

Sabe-se que a contagem de BAL está relacionada com as variações de pH pois elas são as principais produtoras de ácido láctico e com isso as responsáveis pela drástica redução de pH que se espera no início da ensilagem (PAHLOW et al 2003.). Neste estudo pode-se observar um aumento significativo na quantidade de bactérias em todas as silagens que receberam aditivos após 2 dias de incubação e a redução significativa de pH também foi constatada neste momento. As maiores populações de BALs foram observadas para o tratamento Lb+Pa. Embora não tenha havido diferença estatística, pode-se observar que a partir do dia 14 todas as silagens aditivadas já apresentavam populações superiores de BALs em relação a silagem controle. Pode-se observar ainda que a partir de 2 dias de incubação há um aumento significativo na contagem de bactérias e este índice se mantém estável até o final da ensilagem para todos os

tratamentos, exceto o Lb+Pa que apresenta uma redução no índice de BALs entre os dias 21 e 60. Correlacionando-se estes dados com os valores obtidos de pH pode-se observar que os tratamentos foram eficientes em manter a acidez da silagem similar ou abaixo do tratamento controle.

Para as concentrações de leveduras pode-se observar que as menores populações foram encontradas nos tratamentos contendo *L. buchneri* (Lb, Lb+Pa e 2Lb+2Pa), em todo o período de ensilagem, inclusive no momento de abertura dos silos as menores contagens foram constatadas nestas silagens. Esta observação pode representar uma menor população de microrganismos deteriorantes e um conseqüente aumento do período de estabilidade aeróbia das silagens. A redução nas populações de leveduras representa ainda um aspecto positivo, pois sabe-se que a atividade expressiva destes microrganismos leva a um consumo excessivo de açúcares solúveis e a conseqüente redução da MS e DIVMS (PEDROSO et al.,2005). Este efeito inibidor decorrente da adição de *L. buchneri* na silagem de cana-de-açúcar já foi observado por SIQUEIRA et al, 2011 e PEDROSO et al, 2005. O *L. buchneri* tem efeito na redução da população de leveduras nas silagens de cana-de-açúcar devido a sua capacidade de produzir ácido acético, que é um composto capaz de inibir o crescimento de leveduras (OUDE ELFERINK et al 2004). FILYA 2003 observaram queda de 3,86 ufc/g de forragem para 2 ufc/g na população de leveduras em silagem de milho ensilada por 90 dias quando os teores de ácido acético aumentaram de 1,3 para 3,9 %, evidenciando a capacidade desse ácido em controlar o desenvolvimento desses microrganismos.

O ácido propiônico também tem efeito inibitório sobre o metabolismo de leveduras (MOON 1983) e pode-se observar em nosso estudo uma redução ainda mais acentuada nos tratamentos contendo *L. buchneri* e *P. acidipropionici* (Lb+Pa e 2Lb+2Pa). Segundo DAWSON et al 1998, a inclusão de *P. acidipropionici* foi eficiente em elevar a estabilidade aeróbica da silagem de grãos úmidos de milho pois diminuiu as populações de leveduras, mofos e bactérias aeróbicas.

Em relação aos fungos pode-se observar em nosso estudo que todos os tratamentos aplicados foram eficazes em reduzir as populações medias em relação a silagem controle. De forma semelhante ao observado para as leveduras a ação inibidora dos aditivos pode se refletir no aumento do período de estabilidade aeróbia pela redução das populações de microrganismos deteriorantes da silagem.

Tabela 7 Composição microbiológica das silagens de cana-de-açúcar com e sem aditivos. *

BACTERIAS									
DIAS									
Trat.	0	2	7	14	21	60	Media	SD	CV (%)
C	3,41	6,97	7,17 ^{AB}	5,19	6,67 ^B	4,28	5,61	2,57	41
Lb	2,17 ^b	7,20 ^a	7,22 ^{Aa}	6,09 ^a	7,06 ^{Aa}	6,39 ^a	6,02	2,23	23,68
Pa	3,84 ^b	6,87 ^a	7,43 ^{Aa}	7,03 ^a	6,81 ^{ABa}	5,03 ^{ab}	6,17	1,97	25,93
Lb+Pa	4,08 ^b	6,87 ^a	6,77 ^{B^{Ca}}	7,20 ^a	6,76 ^{ABa}	6,05 ^b	6,29	1,68	22,47
2Lb+2Pa	3,19 ^b	6,86 ^a	6,66 ^{Ca}	6,43 ^a	6,68 ^{Ba}	7,25 ^a	6,18	1,93	23,71
Media	3,33	6,95	7,05	6,39	6,80	5,80	---	---	---
SD	3,21	0,33	0,38	1,36	0,25	2,06	---	---	---
CV (%)	11,44	4,81	3,59	19,34	3,18	32,92	---	---	---

LEVEDURAS									
DIAS									
Trat.	0	2	7	14	21	60	Media	SD	CV (%)
C	5,25 ^{Ab}	7,01 ^a	4,73 ^{ABb}	4,79 ^b	4,79 ^b	5,17 ^{Ab}	5,92	0,91	8,78
Lb	4,52 ^{ABbc}	6,99 ^a	4,58 ^{Bbc}	3,40 ^c	5,55 ^{ab}	3,92 ^{Bc}	4,82	1,43	17,75
Pa	4,28 ^{ABb}	7,30 ^a	5,08 ^{Ab}	5,19 ^b	5,51 ^b	4,39 ^{ABb}	5,29	1,24	14,65
Lb+Pa	3,40 ^{Bd}	7,22 ^a	4,79 ^{ABbcd}	5,02 ^{bc}	5,58 ^b	3,68 ^{Bcd}	4,95	1,49	16,57
2Lb+2Pa	5,35 ^{Aab}	6,79 ^a	4,82 ^{ABbc}	3,60 ^c	4,92 ^{bc}	3,87 ^{Bc}	4,89	1,31	16,98
Media	4,56	7,06	4,79	4,39	5,27	4,20	---	---	---
SD	1,19	0,43	0,28	1,39	0,68	0,72	---	---	---
CV (%)	22,17	5,99	5,13	28,58	11,93	12,04	---	---	---

FUNGOS									
DIAS									
Trat.	0	2	7	14	21	60	Media	SD	CV (%)
C	4,37 ^a	4,11 ^{ab}	3,71 ^{ab}	3,38 ^{ab}	3,51 ^{Aab}	2,52 ^b	3,60	1,07	26,75
Lb	3,52 ^{ab}	2,90 ^{ab}	3,49 ^{ab}	3,71 ^a	1,20 ^{Bb}	2,27 ^{ab}	2,85	1,59	49,91
Pa	4,01 ^a	2,38 ^{ab}	3,77 ^a	2,39 ^{ab}	3,51 ^{Aa}	1,05 ^b	2,85	1,57	44,77
Lb+Pa	2,48 ^{ab}	3,98 ^a	3,65 ^{ab}	3,58 ^{ab}	3,63 ^{Aab}	2,00 ^b	3,22	1,20	32,05
2Lb+2Pa	3,68	3,08	3,58	3,72	2,62 ^{AB}	2,34	3,17	1,19	36,04
Media	3,61	3,29	3,64	3,35	2,89	2,03	---	---	---
SD	1,30	1,42	0,30	0,94	1,35	1,72	---	---	---
CV (%)	33,65	41,09	8,28	25,5	36,38	86,56	---	---	---

C= Controle, Lb= *Lactobacillus Buchneri*, Pa= *Propionibacterium acidipropionici*, Lb+Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici*, 2Lb+2Pa= *Lactobacillus Buchneri*+ *Propionibacterium acidipropionici* Letras maiúsculas representam diferenças entre os tratamentos, letras minúsculas representam diferenças entre os dias no mesmo tratamento. Sd= desvio padrão, CV= coeficiente de variação.

*valores apresentados em unidades formadoras de colônias.

CONCLUSÃO

De maneira geral pode-se observar que todos os tratamentos contendo *Lactobacillus buchneri* garantiram os melhores índices com relação a composição química da silagem. Além disso, a presença deste microrganismo, associado ao *Propionibacterium acidipropionici* mostrou ao final do período de incubação as melhores condições para a manutenção da estabilidade aeróbia por maior tempo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ANDRADE, J.B.; FERRARI JUNIOR, E.; POSSENTI, R.A.; OTSUK, I.P.; ZIMBACK, L.; LANDELL, M.G.A. **Composição química de genótipos de cana-de-açúcar em duas idades, para fins de nutrição animal**. *Bragantia*, v.63, n.3, p.341-349, 2004.
- AOAC, **Association Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis. 13. ed. Washington: AOAC, 1015p. 1980.
- AVILA C.L.S., VALERIANO A.R., PINTO J.C., FIGUEIREDO H.C.P.F., REZENDE A.V. and SCHWAN R.F. **Chemical and microbiological characteristics of sugarcane silages treated with microbial inoculants**. *Brazilian Journal of Animal Science*, 39, 25–32. 2010
- AVILA, C.L.S.; PINTO, J.C.; FIGUEREIDO, H.C.P et al. **Effects of an indigenous and a commercial *Lactobacillus buchneri*, strain on quality of sugar cane silage**. *Grass and Forage Science*, v.64, n.4, p.384-394, 2009.
- AZEVÊDO, J.A.G.; PEREIRA, J.C.; CARNEIRO, P.C.S.; QUEIROZ, A.C.; BARBOSA, M.H.P.; FERNANDES, A.M.; RENNÓ, F.P. **Avaliação da divergência nutricional de variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.L.*)**. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.6, p.1431-1442, 2003.

- BALIEIRO NETO, G.; SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A. et al. **Óxido de cálcio como aditivo na ensilagem de cana-de-açúcar.** *Rev. Bras. Zootec.*, v.36, p.1231-1239, 2007.
- BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A. **Importancia do planejamento na produção e uso da silagem.** In: EVANGELISTA, A.R. et al (Eds) *Forragicultura e pastagens: tema em evidencia.* Lavras UFLA, 2005. P.121-176. 2005.
- BONOMO, P.; CARDOSO, C.M. DA N N E R H., HO L Z E R M., MA Y R H U B E R E. and BR A U N R. **Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions.** *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 562–567. 2003.
- BONOMO, P.; CARDOSO, C.M.M.; PEDREIRA, M.S.; SANTOS, C.C.; PIRES, A.J.V.; SILVA, F.F. **Potencial forrageiro de variedades de cana-de-açúcar para alimentação de ruminantes.** *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v.31, n.1, p.53-59, 2009.
- BRAVO-MARTINS ,C.E.C.; CARNEIRO,H.; CASTRO-GOMEZ, R.J.H. et al. **Chemical and microbiological evaluation of ensiled sugar cane with diferente additives.** *Brazilian Journal of Microbiology*, v.37, p.499-504, 2006.
- CASTRO NETO,A.G. **Avaliação de silagens de cana-de-açúcar submetidas a diferentes tratamentos .** Belo Horizonte : universidade Federal de Minas Gerais, 101p. Dissertação Mestrado Zootecnia. 2003.
- CORREA,C.E.S.; PEREIRA,M.N.; OLIVEIRA, S.G et al. **Performace of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of diferent grain textures.** *Scientia Agricola*, v.60, p.221-229, 2003.

- DANNER, H.; HOLZER, M.; MAYRHUBER, E. et al. **Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions**. Applied and Environmental Microbiology, v.69, p.562-567, 2003.
- DAWSON, T.E.; RUST, S.R.; YOKOYAMA, M.T. **Improved fermentation and aerobic stability of ensiled, high moisture corn with use of Propionibacterium acidipropionici**. Journal of Dairy Science, v.81, p.1015-1021, 1998.
- DRIEHUIS F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H. **The impact of the quality of silage on animal health and food safety: a review**. Veterinary Quarterly, v. 22, p. 212-217, 2000.
- FILYA, I. et al. **The effect of Lactobacillus buchneri, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages**. J. Appl. Microbiol., Oxford, v. 95, n. 5, p. 1080-1086, 2003.
- FREITAS, A.W.P.; PEREIRA, J.C.; ROCHA, F.C.; COSTA, M.G.; LEONEL, F.P.; RIBEIRO, M.D. **Avaliação da qualidade nutricional da silagem decana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo da colheita de soja**. Revista Brasileira de Zootecnia, Brasília, v. 35, n.1, p. 38-47, 2006.
- HERNANDEZ, M.R. **Avaliação de variedades decana-de-açúcar através de estudo de desempenho e digestibilidade aparente com bovinos**. 1998. 78p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária de Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 1998.

- KLEINSCHMIT D.H. and KUNG L. JR **A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grains silages.** Journal of Dairy Science, 89, 4005–4013. 2006.
- KUNG JR., STOKES, M.R.; LIN, C.J. **Silage additives.** In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. Silage Science and technology. P.251-304. 2003.
- LOPES, J.; EVANGELISTA, A.R. **Características bromatológicas, fermentativas e população de leveduras de silagens de cana-de-açúcar acrescidas de ureia e aditivos absorventes de umidade.** Rev. Bras. Zootec., v.39, p.984-991, 2010.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J.E. *The biochemistry of silage.* 2. ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991. 340.
- MENDES, C.Q.; SUSIN, I.; PIRES, A.V. et al . **Desempenho, parâmetros da carcaça e comportamento ingestivo de cordeiros alimentados com cana-de-açúcar ensilada ou in natura.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.60, n.3, p.733-740, 2008.
- MOON, N.J. **Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures.** Journal of Applied Bacteriology, v.55, p.453-460, 1983.
- MUCK, R.E.; SHINNERS, K.J. **Conserved forages (silage and hay): Progress and priorities,** In: INTERNACIONAL GRASSLAND CONGRESS, 29., 2001, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: Brazilian Society of Animal Husbandry. P.753-762. 2001.
- OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; KROONEMAN, J.; GOTTSCHAL, J.C. et al . **Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*.** Applied and Environmental Microbiology, v.67, p.125-132, 2001.

- PAHLOW,G.; MUCK,R.E.; DRIEHUIS,F.; et al **Microbiology of ensiling**. In: BUXTON,D.R.; MUCK,R.E; HARRISON.J.H. **Silage Science and technology**. Madison: ASA,CSSA,SSSA. p.31-94. 2003.
- PEDROSO, A.F. **Aditivos químicos e microbianos como inibidores da produção de etanol em silagens de canade-açúcar (Saccharum officinarum L.)**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2003. 140p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2003.
- PEDROSO, A.F. et al. **Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage**. Sci. Agric.,Piracicaba, v. 62, n. 5, p. 427-432, 2005.
- PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; LOURES, D.R.S. et al. **Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, n.3, p.558-564, 2007.
- PEDROSO,A.F. **Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage**. Sci. Agric. Piracicaba,v.62,n.5p.427-432, 2005.
- PEDROSO,A.F.; NUSSIO,L.G.; BARIONI JUNIOR,W. et al. **Perfomance of Holstein heifers fed sugarcane silages treated with urea, sodium benzoate or Lactobacillus buchneri**. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, v.41, n.4, p.649-654, 2006.
- PEREIRA, J.R.A.; REIS . R.A. **Producao de silagem pré-secada com forrageira temperadas e tropicais**. IN: SIMPOSIO SOBRE PRODUCAO E UTILIZACAO DE FORRAGENS CONSERVADAS, Maringá, 2001. ANAIS... Maringá: Universidade Estadual de Maringá,. P.64-86. 2001.

- PITT,R.E.; MUCK,R.E.;PICKERING,N.B . **A modelo f aerobic fungal growth in silage. 2 Aerobicstability.** Grass and Forange Science, v.46, p.301-312, 1991.
- RANJIT,N.K.; KUNG JR., L. **The effects of Lactobacillus buchneri, Lactobacillus plantarum, or a chemical preservation fermentation and aeróbica stability of corn silage.** Journal of Dairy Science, v.83, p.526-535, 2000.
- SÁ NETO,A.; BISPO,A.W.; JUNGES,D.;ZOPOLLATTO,M.; DANIEL,J.L.P.; NUSSIO,L.G. **Sugarcane silage replacing com silage in lactating dairy xows rations .** In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Helsinki. Proceedings... Helsinki MTT, 2012. P.486-488.
- SANTOS, M.C.; NUSSIO, L.G.; MOURÃO, G.B.;SCHIMIDT, P.; MARI, L.J.; RIBEIRO, J.L.**Influência da utilização de aditivos químicos noperfil da fermentação, no valor nutritivo e nasperdas de silagens de cana-de-açúcar.** Revista Brasileira de Zootecnia, Brasília, v.37, n.9,p.1555-1563, 2008.
- SANTOS, M.C.; NUSSIO, L.G.; MOURÃO, G.B.CHIMIDT, P.; MARI, L.J.; RIBEIRO, J.L.**Influência da utilização de aditivos químicos noperfil da fermentação, no valor nutritivo e nas perdas de silagens de cana-de-açúcar.** Revista Brasileira de Zootecnia, Brasília, v.37, n.9,p.1555-1563, 2008.
- SCHMIDT, P.; NOVINSK, C.O.,; JUNGES, D. **Riscos ambientais oriundos de compostos orgânicos voláteis e do efluentes produzidos por silagens.** In: Simposio Producao e Utilizacao de Forragens conservadas, 4., 2011, Maringá. Ed. Sthampa, P.251-270. 2011.
- SCHMIDT, P.; NUSSIO, L. G.; ZOPOLLATTO, M.;RIBEIRO, J. L.; SANTOS, V. P.; PIRES, A. V. **Aditivosquímicos ou biológicos na ensilagem de cana-deaçúcar. 2. Parâmetros ruminais e degradabilidade da matéria seca e das**

- frações fibrosas.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v. 36, n. 5, p. 1676-1684, 2007b.
- SCHMIDT, P.; NUSSIO, L. G.; ZOPOLLATTO, M.; RIBEIRO, J. L.; SANTOS, V. P.; PIRES, A. V. **Aditivos químicos ou biológicos na ensilagem de cana-de-açúcar. 2. Parâmetros ruminais e degradabilidade da matéria seca e das frações fibrosas.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v. 36, n. 5, p. 1676-1684, 2007b. Suplemento.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.** 3.ed. Viçosa, MG: UFV, Imprensa Universitária, 235p. 2002.
- SIQUEIRA, G.R.; ROTH, A.P.T.P.; ROTH, M.T.P. et al. **Silagem de cana-de-açúcar queimada: manejo da ensilagem e desempenho de bovinos.** In: EVANGELISTA, A.R. et al (Ed). Forragicultura e pastagem: temas em evidência as forrageiras e suas relações com o solo, ambientes e o animal. Lavras: Suprema Grafica e Editora, P.173-195. 2011.
- SIQUEIRA, G.R. et al. **Associação entre aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar.** Rev. Bras. Zootec., Viçosa, v. 36, n. 4, p. 789-798, 2007.
- R, THE R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A Language and environment statistical computing.** Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 1706p, 2011.
- TILLEY, J.M.; TERRY, R.A. **A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops.** Journal of British Grassland Society, v.18, n.2 p.104-111, 1963.
- VALERIANO, A.R.; PINTO, J.C.; AVILA, C.L.S.; EVANGELISTA, A.R.; TAVARES, V.B.; SCHWAN, R.F. **Efeito da adição de Lactobacillus sp. Na ensilagem de cana-de-açúcar.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, n.6, p.1009-1017, 2009.

- WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker, 1984. 350p.
- WOOLFORD, M.K. **The detrimental effects of mold on silage**. *Journal of Applied Bacteriology*, v.68, p.101-116, 1990.
- ZANINE, A.M., SANTOS, E.M., FERREIRA, D.J., PEREIRA, O.G. E ALMEIDA, J.C.C. **Efeito do farelo de trigo sobre perdas, recuperação da matéria seca e composição bromatológica de silagem de capim mombaça**. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 43: 803-809. 2006.
- ZOPOLLATTO M., DANIEL J.L.P. and NUSSIO L.G. **Aditivos microbianos em silagens no Brasil: revisando todos os aspectos da ensilagem e do desempenho de animais**. (Microbial additives in Brazilian silages: a review of silage and animal performance). *Brazilian Journal of Animal Science*, 38, 170–189. 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em virtude das alterações no valor nutritivo da cana-de-açúcar é necessária a presença de aditivos no processo de ensilagem, o uso de aditivos tem efeitos positivos pois eles propiciam as menores alterações químicas durante o processo de fermentação. Pode observar que de um experimento para o outro houve variação com relação à composição bromatológica das silagens de cana-de-açúcar que receberam os mesmos tratamentos. Acredita-se que houve influência da idade de maturação da planta que interfere nos teores de FDN e FDA. O aumento no teor de FDN pode ser explicado pelo fato da lignificação dos tecidos e redução dos conteúdos celulares com o avanço da maturidade fisiológica das plantas. Para a fração FDA das forragens, sabe-se que esta é constituída principalmente pelas frações celulose e lignina que tendem a aumentar com o avanço da idade das plantas (MERTENS, 1982, VAN SOEST, 1994).

