

RODRIGO LOPES DE MORAES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PERFIL FERMENTATIVO E POPULAÇÕES
MICROBIANAS EM SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR TRATADA COM
INOCULANTES BACTERIANOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado profissional em Zootecnia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

M827c
2015
Moraes, Rodrigo Lopes de, 1984-
Composição química, perfil fermentativo e populações
microbianas em silagem de cana-de-açúcar tratada com
inoculantes bacterianos / Rodrigo Lopes de Moraes. – Viçosa,
MG, 2015.
vi, 14f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Karina Guimarães Ribeiro.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.12-14.

1. Cana-de-açúcar. 2. Silagem. 3. Fermentação .
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia.
Programa de Pós-graduação em Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.61

RODRIGO LOPES DE MORAES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PERFIL FERMENTATIVO E POPULAÇÕES
MICROBIANAS EM SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR TRATADA COM
INOCULANTES BACTERIANOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado profissional em Zootecnia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

APROVADA: 9 de julho de 2015.

Thiago Carvalho da Silva

Odilon Gomes Pereira
(Coorientador)

Karina Guimarães Ribeiro
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre ter me iluminado, protegido e abençoado.

À toda a minha família, pela ajuda e apoio durante essa jornada, em especial minha mãe Geovana e meu pai Marcos.

À Fernanda Carvalho Gomes, pelo carinho e companheirismo.

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

À professora Karina Guimarães Ribeiro, pela paciência, compreensão, orientação e prontidão que permitiram o desenvolvimento deste trabalho. O meu muito obrigado.

Ao professor Odilon Gomes Pereira, coordenador do curso de Mestrado Profissionalizante, o qual, através da sua visão, possibilitou a chance de pessoas como eu, ingressadas no mercado de trabalho, pudesse ampliar os conhecimentos científicos.

Ao Thiago Carvalho da Silva pela disponibilidade para participar da minha banca de defesa.

Aos professores da Universidade Federal de Viçosa, em especial do Departamento de Zootecnia, pelos ensinamentos desde a graduação.

À equipe do PDPL-RV, em especial ao Christiano Nascif, que foi de fundamental importância no enriquecimento do meu repertório técnico e prático.

Ao companheiro de graduação Lucas Ladeira, que não mediu esforços na orientação e explicação no desenvolvimento desse trabalho.

Aos estagiários do Setor de Forragicultura: Vanessa, Douglas, Felipe e Paula, pela ajuda no experimento de campo e nas análises laboratoriais.

Ao amigo Leonardo de Assis Duarte, pelo companheirismo nessa jornada.

Ao funcionário do Departamento de Zootecnia: Nataniel (Pum), que contribuiu de forma prática nesse trabalho.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização desse trabalho.

BIOGRAFIA

RODRIGO LOPES DE MORAES, filho de Marcos Antônio de Moraes e Geovana Sampaio Lopes de Moraes, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 22 de setembro de 1984.

Em março de 2005, ingressou no Curso de Graduação em Zootecnia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Em março de 2007 foi transferido para Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa – MG, colando grau em 22 de julho de 2011.

Em julho de 2011, ingressou o cargo de consultor técnico do Projeto Educampo-Leite, do SEBRAE-MG.

Em Janeiro de 2014, assumiu o cargo de Assistente Técnico Comercial pela DSM/Tortuga, no estado de Goiás-GO.

Em agosto de 2012, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa – MG, concentrando seus estudos na área de Produção e nutrição de ruminantes, submetendo-se à defesa de tese em 09 julho de 2015.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
Introdução	1
Material e Métodos	3
Resultados e discussões	5
Conclusões.....	11
Referências citadas	12

RESUMO

MORAES, Rodrigo Lopes de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2015. **Composição química, perfil fermentativo e populações microbianas em silagem de cana-de-açúcar tratada com inoculantes bacterianos.** Orientadora: Karina Guimarães Ribeiro. Coorientador: Odilon Gomes Pereira.

O objetivo desse experimento foi avaliar a composição química, a população de microrganismos, o perfil fermentativo e a recuperação de matéria seca. A cana-de-açúcar foi submetida aos seguintes tratamentos antes da ensilagem: cana-de-açúcar sem inoculante (Controle); cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* (LB); cana-de-açúcar com *Propionibacterium acidipropionici* (PA); cana-de-açúcar com *Propionibacterium acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum* (PALP); cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici* (LBPA); cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri*, *Propionibacterium acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum* (LBPALP). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e três repetições, totalizando 18 unidades experimentais. A cana-de-açúcar foi picada e ensilada em baldes de 20 kg, contendo válvulas de Bunsen, os quais foram abertos 90 dias após a ensilagem. Verificou-se que apenas o tratamento com *L. buchneri* proporcionou teor de MS semelhante ao da silagem controle (23,2%), que foi reduzido pelos demais tratamentos. Todos os tratamentos resultaram em teores de PB e NIDA/N-Total semelhantes aos da silagem controle, que foram 4,1% e 9,3%, respectivamente, e não afetaram os teores de fibra, cujas médias foram 61,4% de FDN e 38,6% de FDA. Não houve efeito de inoculante sobre a produção de efluente, cuja média foi 104,31 kg/t MN. Os tratamentos com PALP e LBPALP resultaram em menor recuperação de matéria seca que a silagem controle. Os teores de amônia e o pH foram incrementados pelos tratamentos com LBPA e LBPALP em relação à silagem controle (9,6% de amônia e pH de 3,28). Não houve diferença entre os tratamentos para as populações de bactérias do ácido láctico e leveduras, cujos valores médios foram 9,06 e 4,27 log ufc/g, respectivamente. Foi observada maior população de mofos na silagem controle (2,88 log ufc/g), em relação a todas as silagens, porém, foi semelhante à tratada com LBPA. Foi verificado maior teor de ácido láctico na silagem LBPALP em relação a controle (2,24%), que não diferiu das demais. Menor teor de ácido acético foi verificado na silagem controle (1,85%), que não diferiu da tratada com LB, sendo maiores valores obtidos com LBPA e LBPALP. Não verificou-se diferença para os teores de ácido butírico entre os tratamentos, cuja média foi 0,01%. A silagem com LBPA apresentou maior teor de etanol (6,15%) em relação à silagem controle e com PA e não diferiu das demais. Assim, conclui-se que os inoculantes e suas misturas não proporcionam resultados promissores em relação à composição química, perfil de fermentação e recuperação de matéria seca da silagem de cana-de-açúcar.

ABSTRACT

MORAES, Rodrigo Lopes de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2015. **Chemical composition, fermentation profile and population of microorganisms in silage of sugarcane treated with bacterial inoculants.** Adviser: Karina Guimarães Ribeiro. Co-adviser: Odilon Gomes Pereira.

The objective of this study was to evaluate the chemical composition, the population of microorganisms, the fermentation profile and recovery of dry matter. The following additives was applied onto the fresh forage before ensiling: sugarcane chopped no additives (Control Treatment); Silage of sugarcane with *Lactobacillus buchneri* (LB); Silage of sugarcane with *Propionibacterium acidipropionici* (PA); Silage of sugarcane with *Propionibacterium acidipropionici* and *Lactobacillus plantarum* (PALP); Silage of sugarcane with *Lactobacillus buchneri* and *Propionibacterium acidipropionici* (LBPA); Silage of sugarcane with *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* (LBPALP). It was used a completely randomized design with six treatments and three repetitions, totaling 18 experimental units. The sugarcane was chopped and ensiled to 20 kg buckets, containing Bunsen valves and opened 90 days after ensiling. It was verified that only the treatment with *L. buchneri* provided DM content similar to the control silage (23.2%), which was reduced by others treatments. All treatments provided PB and NIDA levels similar to the control silage, which were 4.1% and 9.3%, respectively, and did not affect the fiber content, which averages 61.4% FDN and 38.6 % of FDA. There was no treatment effect on the production of effluent with an average 104.31 kg / t MN. The treatments with and PALP LBPALP provided lower dry matter recovery than the control silage (82.1%). The ammonia concentrations and pH were increased by treatments with LBPA and LBPALP relative to control silage (9.6% of ammonia and pH 3.28). There was no difference between treatments for the lactic acid bacteria and yeast, whose values were 9.06 and 4.27 log cfu / g, respectively. During this experiment, was observed greater population of molds in the control treatment (2.88 cfu / g log) than the others treatments, however, was similar to that treated with LBPA. It was found higher lactic acid content in silage LBPALP relative to control (2.24%), which did not differ from the others. The lowest acetic acid content was observed in the control silage (1.85%), which did not differ from untreated LB, greater value was obtained from LBPA and LBPALP. No difference was observed for butyric acid content between treatments, with an average 0.01%. The silage with LBPA showed higher ethanol content (6.15%) compared to the control silage and with PA and did not differ from others. Thus, it is concluded that inoculants and their mixtures did not provide promising results regarding the chemical composition, profile fermentation and recovery of silage dry matter sugarcane.

Introdução

A utilização da cana-de-açúcar como forragem na alimentação de ruminantes, no Brasil constitui-se de fundamental importância, especialmente no período de escassez hídrica, que coincide com o momento de maturação e melhoria do seu valor nutritivo. A cana é uma forrageira com grande potencial de produção de matéria seca (MS) e energia por área e permite bom desempenho dos animais quando corretamente suplementada com proteínas e minerais (Pedroso et al., 2007). Contudo, sua utilização in natura apresenta algumas restrições, como a necessidade de corte diário, ou no máximo cinco em cinco dias, inteira abrigada da radiação solar, e tratos culturais periódicos que exigem maior disponibilidade de mão de obra. Além disso, a cultura pode apresentar algumas limitações quanto à conservação do seu valor nutritivo quando, por exemplo, permanece no campo por muito tempo sem ser colhida após a maturação, quando atingida por queimada ou pelo tombamento normalmente ocasionado por chuvas e ventos fortes (Andrade 2013). Ou ainda, impedimento químico e físico do solo que resultam em raízes superficiais. Em termos nutricionais é limitada pelos baixos teores de proteína e pela fibra de baixa digestibilidade (Barbosa et al., 2006).

Nesse contexto, a ensilagem da cana-de-açúcar é uma opção que permite concentração das operações de corte, picagem e armazenamento, facilita e maximiza a mão-de-obra nas fazendas e melhora a logística para sua utilização. Além disso, a correção adequada do nível de proteína por meio da adição de uréia/sulfato de amônio no momento da ensilagem resulta em maior aceitabilidade da silagem pelos animais. Entretanto, a presença natural de elevadas populações de leveduras e carboidratos solúveis em silagens de cana-de-açúcar resultam em intensa fermentação alcoólica e perdas de matéria seca (McDonald et al., 1991).

A perda de matéria seca da cana-de-açúcar ensilada, principalmente pela produção de etanol e gases, além de contribuir para redução do valor nutritivo deste alimento, leva a prejuízos econômicos, visto que com as perdas durante a ensilagem e mesmo pós-abertura de silo, aumenta-se o custo final por unidade de silagem (Andrade 2013).

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 contêm bactérias que foram selecionadas por sua capacidade de controlar a fermentação, promovendo o desenvolvimento dos microrganismos benéficos e a inibição dos indesejáveis, como as leveduras e clostrídios (Pedroso et al., 2007).

No entanto, são encontrados poucos resultados quanto ao efeito da mistura de linhagens de bactérias na composição química, perfil fermentativo e populações de microrganismos em silagens de cana-de-açúcar inoculadas.

Kleinschmit e Kung (2006) registraram que o uso do *L. buchneri* promoveu diminuição de pH, da concentração de ácido lático e do número de leveduras, bem como, elevou a concentração de ácido acético e promoveu maior estabilidade das silagens inoculadas. Vários autores observaram efeito do *L. buchneri* na redução das perdas de MS e atribuíram isso ao possível controle da população de leveduras (Siqueira et al. 2007; Schmidt et al., 2008; Siqueira et al., 2009). A explicação do controle da população de leveduras pelo *L. buchneri* está fundamentada na elevação da concentração de ácido acético (Oude Elferink, 2001) que, segundo Moon (1983), é um composto capaz de inibir o crescimento de leveduras.

Mendes et al. (2008) avaliaram os efeitos da fermentação no valor nutritivo e na capacidade do *Lactobacillus buchneri* em melhorar a estabilidade aeróbia de cana-de-açúcar conservada na forma de silagem. Neste estudo, não houve diferença para os teores de etanol encontrados nas silagens cujos valores foram 3,2 e 2,8% de etanol para silagens de cana-de-açúcar sem aditivo e com *Lactobacillus buchneri*, respectivamente. Entretanto, os autores concluíram que a adição do *Lactobacillus buchneri* melhorou a eficiência do processo de ensilagem da cana-de-açúcar, pois reduz as perdas de matéria seca e mantém o pH constante durante o período de aerobiose, promovendo maior estabilidade aeróbia do material ensilado.

Conforme Queiroz et al. (2008), o *Lactobacillus buchneri* produz o ácido acético e lático, mas não produz etanol, devido à ausência da enzima acetaldeído desidrogenase.

Utilizando doses de inoculante microbiano contendo *Propionibacterium acidipropionici*, Monção et al. (2012) avaliaram os seguintes tratamentos à base de silagem de cana-de-açúcar: controle (sem aditivo); $5,0 \times 10^4$ UFC/g; $1,0 \times 10^5$ UFC/g; $2,5 \times 10^5$ UFC/g; $5,0 \times 10^5$ UFC/g e $1,0 \times 10^6$ UFC/g de massa ensilada. Os autores concluíram que o aditivo não atuou de forma eficiente no controle de perdas fermentativas, pH e população de leveduras.

Na avaliação da ensilagem de cana-de-açúcar tratada ou não com aditivos químicos e microbianos (silagem de cana-de-açúcar sem aditivo; silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri*; silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*; silagem de cana-de-açúcar com cal; silagem de cana-de-açúcar com ureia), Cardoso (2013), verificou que as silagens apresentaram adequado perfil de fermentação, baixa população de leveduras e concentração de etanol e alta recuperação de matéria seca.

Souza et al. (2008) avaliaram o efeito do *Lactobacillus buchneri* em combinação ou não com *Pediococcus pentosaceus* e o aditivo químico ureia sobre a composição química, as perdas associadas à fermentação e o desenvolvimento da microflora epifítica em silagens de cana-de-açúcar. A combinação de *Lactobacillus buchneri* com *Pediococcus pentosaceus* resultou em menor produção de etanol (1,30%) em relação aos tratamentos com ureia (2,75%), *Lactobacillus buchneri* (11,53%) e o controle (8,27%).

Dessa forma, esse trabalho foi desenvolvido para avaliar a composição química, perfil fermentativo e populações de microrganismos em silagens de cana-de-açúcar tratadas com inoculantes bacterianos e suas misturas.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizada no município de Viçosa-MG, situada a 20° e 45' de latitude sul, 42° e 51' de longitude oeste.

Antes da ensilagem da cana-de-açúcar, o grau brix foi determinado no suco extraído por meio de esmagamento e torção da cana-de-açúcar, realizados manualmente, por meio de um refratômetro de campo (marca Instrutherm, modelo RT-30 ATC Portátil).

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e três repetições, totalizando 18 unidades experimentais. Os tratamentos consistiram de cana-de-açúcar-CA sem inoculante (Controle); CA com *Lactobacillus buchneri* (LB); CA com *Propionibacterium acidipropionici* (PA); CA com *P. acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum* (PALP); CA com *L. buchneri* e *P. acidipropionici* (LBPA); cana-de-açúcar com *L. buchneri*, *P. acidipropionici* e *L. plantarum* (LBPALP).

Os inoculantes microbianos foram adicionados à forragem por ocasião da ensilagem, de acordo com as recomendações da fabricante Lallemand Brasil LTDA, sendo o “Lalsil Cana” (*Lactobacillus buchneri* $2,5 \times 10^{10}$ UFC/g) aplicado na proporção de 2 g por tonelada de material picado, diluído em 2 L de água destilada; o “Biomax Milho” (*Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici* $2,5 \times 10^{10}$ UFC/g), aplicado na proporção de 2 g por tonelada de material picado, diluído em um 1 L de água destilada, e o “Biomax Cana” (*Propionibacterium acidipropionici* 26/4U 50,0 $\times 10^9$ UFC/g) aplicado na proporção de 2,5 g por tonelada de material picado, diluído em 1 L de água destilada. Para aspersão da solução com inoculante, foi utilizado pulverizador manual com capacidade para 5 litros de capacidade.

Foram utilizados baldes plásticos com capacidade de 20 litros como silos experimentais, com tampas contendo válvulas de Bunsen para permitir o escape dos gases oriundos da fermentação. No fundo dos baldes, foram colocados 4 kg de areia seca, dentro de saco de tecido de algodão, evitando que a forragem entrasse em contato com a areia e permitindo a drenagem do efluente.

Antes do enchimento dos baldes, foi tomado o peso do conjunto balde + tampa + areia + pano. Em seguida, procedeu-se o enchimento dos mesmos, efetuando-se a compactação da forragem com o auxílio dos pés. As tampas dos silos foram vedadas com fita adesiva após a ensilagem e os silos foram pesados e armazenados em área coberta, em temperatura ambiente, até o momento de abertura.

Decorridos 90 dias após o fechamento dos silos, procedeu-se a abertura dos mesmos, efetuando-se nesta oportunidade a pesagem dos baldes cheios e do conjunto balde + tampa + areia + pano úmido, após a retirada da silagem. Em seguida, procedeu-se a homogeneização da silagem da porção central dos silos, descartando-se a porção superior e inferior, e coletaram-se amostras para posteriores análises.

Para determinar a composição química das silagens, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel, pesadas e levadas à estufa com circulação forçada de ar a 55° C, por 72 h, procedendo-se, logo após, a sua moagem em moinho tipo Wiley, em partículas de 1 mm. Nessas amostras, foram determinados os teores de matéria seca (MS); proteína bruta (PB); fibra insolúvel em detergente neutro (FDN); fibra insolúvel em detergente ácido (FDA); e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), segundo metodologia descrita por Detmann et al. (2012), utilizando-se, na análise de FDN, amilase termoestável para solubilização de compostos amiláceos (Mertens, 2002).

As perdas de matéria seca nas silagens sob as formas de efluente e a recuperação de matéria seca foram calculadas conforme as equações descritas por Jobim et al. (2007).

Também foram colhidos 25 g de amostra de silagem, em cada silo, aos quais foram adicionados 100 mL de água destilada e homogeneizados em liquidificador industrial por 1 minuto, para leitura do pH no potenciômetro, e, em outros 25 g de silagem, foram adicionados 200 mL de solução de ácido sulfúrico 0,2N, deixando-se em repouso na geladeira por 48 h e, após filtragem em papel de filtro, o teor de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foi dosado no filtrado, utilizando-se KOH a 2N, segundo Bolsen et al. (1992), sendo expresso como porcentagem do nitrogênio total (N-NH₃/N-Total).

A enumeração dos grupos microbianos foi realizada a partir de 25g de uma amostra de cada silo (balde), aos quais foram adicionadas 225 mL de solução tampão fosfato, obtendo-se a diluição de 10^{-1} (Kung Jr., 1996). Em seguida, diluições sucessivas foram realizadas, objetivando-se obter diluições variando de 10^{-1} a 10^{-7} para bactérias ácido lácticas; de 10^{-2} a 10^{-6} para enterobactérias; de 10^{-1} e 10^{-5} para mofos + leveduras, nas forragens antes da ensilagem, e diluições variando de 10^{-2} a 10^{-6} para bactérias ácido lácticas e de 10^{-1} e 10^{-5} para enterobactérias e mofos + leveduras, nas silagens. Foram consideradas passíveis de contagem as placas com valores entre 30 e 300 unidades formadoras de colônias (UFC).

Para determinação dos ácidos orgânicos, aproximadamente 25 g de silagem de cada silo foram diluídos em 225 mL de água destilada e homogeneizadas em liquidificador industrial durante 1 minuto, e os extratos aquosos obtidos foram filtrados, acidificados com solução de ácido metafosfórico 20% e centrifugados por 15 minutos, segundo metodologia descrita por Kung Jr.; (1996). Em seguida, as análises dos ácidos orgânicos foram realizadas em um Cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho (HPLC). A identificação e quantificação dos ácidos láctico, acético, butírico e propiônico foram efetuadas utilizando-se a coluna C18 (Fase Reversa) da marca Biorad.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SAEG (2007).

Resultados e discussões

A cana-de-açúcar apresentou a seguinte composição química antes da ensilagem: 24,7% de MS; 3,7% de PB; 9,6% de NIDA; 51,6% de FDN e 32,0% de FDA. Foi obtido valor de 20° BX (grau Brix), o que significa que existem 20 g de açúcares em 100 g de solução. Também foi quantificada população de bactérias ácido lácticas (BAL) de 7,72 log ufc/g, de enterobactérias de 5,97 log ufc/g, de mofos de 4,53 log ufc/g e de leveduras de 5,61 log ufc/g. A cana apresentou tamanho médio de partículas de aproximadamente 1,0 cm e densidade de silagem de aproximadamente 700kg/t MN.

Na Tabela 1, são apresentados os resultados de composição química, perdas e recuperação de matéria seca nas silagens de cana-de-açúcar tratada e não tratada com diferentes aditivos microbianos. Todas as silagens apresentaram, em relação ao material original, maiores teores de PB, FDN e FDA e redução nos teores de MS.

Tabela 1 – Teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente ácido em relação ao N total (NIDA), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), perdas por efluente e recuperação de matéria seca (RMS) de silagens de cana-de-açúcar sem e com inoculantes microbianos.

Item	Tratamento						Sig	EPM
	Controle	LB	PA	PALP	LBPA	LBPALP		
MS (%)	23,24a	23,04ab	21,62cd	22,18bc	20,65de	20,39e	*	0,28
PB (%MS)	4,14ab	4,23ab	3,86b	4,31ab	4,47a	4,39ab	*	0,76
NIDA/N (%MS)	9,33ab	11,19ab	13,16a	9,44ab	8,48b	8,43b	*	0,63
FDN (%MS)	61,36	63,49	60,65	61,38	59,83	61,79	ns	0,55
FDA (%MS)	38,54	39,48	38,46	38,30	37,99	38,78	ns	0,33
Efluente (Kg/t MN)	102,33	104,81	101,84	107,79	103,23	105,87	ns	1,10
RMS (%)	82,13a	81,82a	79,40ab	78,48b	79,18ab	78,08b	*	0,54

LB: Silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri*; PA: Silagem de cana-de-açúcar com *Propionibacterium acidipropionici*; PALP: Silagem de cana-de-açúcar com *Propionibacterium acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum*; LBPA: Silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici*; LBPALP: Silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri*, *Propionibacterium acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum*.

*Significativo a 5%; ns: não significativo, pelo teste Tukey.

Apenas o tratamento com *L. buchneri* proporcionou teor de MS semelhante ao da silagem controle (23,2%), que foi reduzido nos demais tratamentos ($P < 0,05$) até 20,4% MS (LBPALP). O teor médio de matéria seca (MS) na cana-de-açúcar antes da ensilagem (24,7%) foi ligeiramente superior ao teor médio das silagens (21,8%), o que pode ser atribuído às perdas de MS durante o processo de fermentação. Cardoso (2013), trabalhando com silagens de cana-de-açúcar com inoculantes microbianos, obtiveram teores médios de MS de 26,6% e 25,6%, para silagem controle e silagens inoculadas, respectivamente.

Houve efeito de inoculante sobre os teores de PB e NIDA/N-Total ($P < 0,05$), mas todos apresentaram teores semelhantes aos da silagem controle, que foram 4,1% e 9,3%, respectivamente. Entretanto, o teor de PB para PA (3,86%) foi mais baixo em relação ao obtido com LBPA (4,47%). De forma geral, os teores médios de proteína bruta (PB) nas silagens foram maiores que aqueles antes da ensilagem, indicando um efeito de concentração deste nutriente nas silagens, provavelmente devido à diminuição da MS e consumo de carboidratos solúveis, aumentando os teores de fibras.

Os teores de fibras não foram afetados pelos tratamentos ($P>0,05$), cujas médias foram 61,42% de FDN e 38,59% de FDA, entretanto, verificaram-se aumentos nos teores de fibras em relação aos teores da cana-de-açúcar antes da ensilagem. Da mesma forma, Mendes et al. (2008) observaram teores de FDN, FDA e hemicelulose aumentados em comparação ao material original, mas semelhantes entre as silagens de cana-de-açúcar sem aditivo e com *L. buchneri*, indicando a conservação dos constituintes de parede celular nas silagens com uso deste inoculante.

Não houve efeito ($P>0,05$) de tratamento sobre a produção de efluente. Entretanto, pode ser considerada elevada e pode ser atribuída ao baixo teor de MS da cana-de-açúcar à ensilagem, ao pequeno tamanho de partícula e à elevada densidade da silagem. Elevadas perdas por efluente tem sido verificadas em silagens de cana-de-açúcar, como obtido por Cardoso (2013), que encontraram perdas de 88,3; 100,3; 90,0 e 90,7 kg/t MN, para silagem controle, inoculada com *L. buchneri*; *L. plantarum* e *P. Pentosaceu*; *Propionibacterium acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum*, respectivamente.

Os tratamentos com PALB e LBPALP proporcionaram menor ($P<0,05$) recuperação de matéria seca, 78,5 e 78,1%, respectivamente, em relação à silagem controle (82,1%), o que não seria interessante economicamente.

Na Tabela 2, são apresentados os resultados de características fermentativas, população de micro-organismo, ácidos orgânicos e etanol, analisadas nas silagens de cana-de-açúcar não tratada e tratada com diferentes aditivos microbianos. As concentrações de etanol, ácidos láctico, acético, propiônico e butírico nos diferentes tratamentos são apresentadas na Figura 1.

Tabela 2 – Teores de nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total (NH₃/N-Total), potencial hidrogeniônico (pH), população de bactérias ácido láticas (BAL), população de mofo, população de leveduras (LEV), ácido láctico, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e etanol de silagens de cana-de-açúcar sem (SI) e com inoculantes microbianos.

Item	Tratamento						Sig	EPM
	Controle	LB	PA	PALP	LBPA	LBPALP		
NH ₃ /N-Total	9,58b	11,50ab	13,95ab	12,73ab	14,56a	15,03a	*	0,66
pH	3,28c	3,29bc	3,29bc	3,29bc	3,31ab	3,32a	*	0,003
BAL (log ufc/g)	9,06	9,08	9,05	9,05	9,03	9,08	ns	0,040
LEV (log ufc/g)	4,28	4,08	4,44	4,33	3,81	4,67	ns	0,12
MOFOS (log ufc/g)	2,88a	2,42bc	2,30c	2,36c	2,73ab	2,26c	*	0,070
AC. LÁTICO	2,24b	2,13b	2,61ab	2,48ab	2,63ab	2,90a	*	0,086
AC. ACÉTICO	1,85b	1,67b	2,26a	2,30a	2,41a	2,41a	*	0,079
AC. PROP.	0,06c	0,08bc	0,09ab	0,08ab	0,09a	0,09a	*	0,002
AC. BUTÍRICO	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	ns	0,0
ETANOL	4,03b	4,42ab	4,22b	5,71ab	6,15a	4,99ab	*	0,28

LB: Silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri*; PA: Silagem de cana-de-açúcar com *Propionibacterium acidipropionici*; PALP: Silagem de cana-de-açúcar com *Propionibacterium acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum*; LBPA: Silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici*; LBPALP: Silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri*, *Propionibacterium acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum*.

*Significativo a 5%; ns: não significativo, pelo teste Tukey.

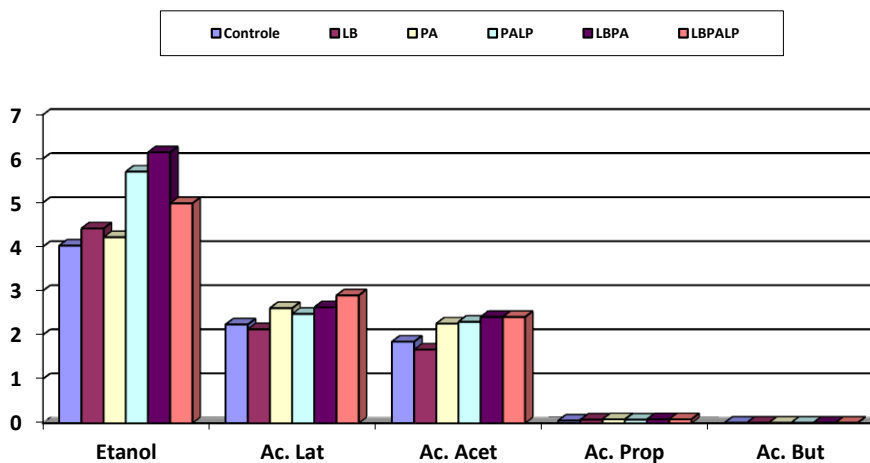


Figura 1 – Concentrações de etanol, ácidos láctico (Ac. Lat), acético (Ac. Acet), propiônico (Ac. Prop) e butírico (Ac. But) nos diferentes tratamentos.

SI: Silagem de cana-de-açúcar sem inoculante; LB: Silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri*; PA: Silagem de cana-de-açúcar com *Propionibacterium acidipropionici*; PALP: Silagem de cana-de-açúcar com *Propionibacterium acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum*; LBPA: Silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici*; LBPALP: Silagem de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri*, *Propionibacterium acidipropionici* e *Lactobacillus plantarum*.

Os teores de amônia e de pH foram incrementados ($P < 0,05$) pelos tratamentos com LBPA e LBPALP, que apresentaram 14,5 e 15,0% de amônia, e pH de 3,31 e 3,32, respectivamente, em relação à silagem controle (9,6% de amônia e pH de 3,28). Os valores de amônia se encontram no limite do nível crítico de 15%, proposto por Mahanna (1993) para silagens com aceitável qualidade. Todos valores de pH foram bem baixos, indicando que houve adequado decréscimo de pH.

Não houve diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$) para as bactérias do ácido láctico e leveduras, cujos valores médios foram 9,06 e 4,27 log ufc/g, respectivamente. Por outro lado, a população de mofos foi reduzida nos tratamentos com LB, PA, PALP e LBPALP.

Segundo Muck (1996), o valor mínimo recomendado de bactérias ácido lácticas na forragem antes da ensilagem é de 5 log UFC/g. Verifica-se que a população de BAL antes da ensilagem estava acima da mínima recomendada e foi acentuadamente aumentada com o uso dos inoculantes.

A população de leveduras encontra-se acima da observada por Cardoso (2013) para a silagem controle de cana-de-açúcar (3,9 log ufc/g), porém, nenhum dos tratamentos com inoculante foi efetivo no controle desses microrganismos.

Pedroso et al. (2005), avaliando dinâmica da fermentação e da microflora epífita em silagem em cana-de-açúcar, obteve contagem máxima de leveduras de 5,05 log ufc/g, no segundo dia após a ensilagem, e 4,5 log ufc/g, após quinze dias de fermentação, coincidindo com o ponto onde não foi mais observado acréscimo de concentração de etanol na silagem, indicando que a atividade da levedura foi inibida pelo álcool e a silagem estabilizada.

Menor população de mofos ($P < 0,05$) foi observada nas silagens inoculadas em relação à silagem controle (2,88 log ufc/g), que não diferiu da silagem tratada com LBPA (2,73 log ufc/g). Portanto, com exceção deste, todos os inoculantes foram efetivos na redução de mofos.

Maior teor de ácido láctico ($P < 0,05$) foi encontrado na silagem LBPALP (2,9%) em relação à controle (2,24%), que não diferiu das demais.

Menor teor de ácido acético ($P < 0,05$) foi verificado na silagem controle (1,85%), que não diferiu da tratada com LB, sendo maiores os valores obtidos com os demais inoculantes. Segundo, Mahanna (1994), são aceitáveis teores de ácido acético até 2%, em silagens de boa qualidade. Portanto, os valores encontrados com aqueles inoculantes estão acima da faixa recomendada, o que indica ter ocorrido o crescimento de enterobactérias, principais micro-organismos produtores de ácido acético e potente inibidor de leveduras (Moon, 1983).

Todos os tratamentos proporcionaram maior teor de ácido propiônico ($P < 0,05$) (com teores até 0,09%), em relação à silagem controle (0,06%), exceto LB, que manteve o teor deste ácido semelhante ao da silagem controle. Entretanto, segundo Mahanna (1994), são aceitáveis teores de ácido propiônico até 1% nas silagens de boa qualidade.

Não verificou-se diferença para os teores de ácido butírico entre os tratamentos ($P > 0,05$), cuja média foi 0,01%. Este valor está abaixo do limite crítico informado por Mahanna (1994) (0,1%), o que indica que houve pouco crescimento de micro-organismos do gênero *Clostridium*, anaeróbico obrigatório e um dos principais responsáveis por perdas de matéria seca nas silagens.

Maior teor de etanol foi obtido na silagem com LBPA (6,15%) em relação à silagem controle e PA, não diferindo das demais. Os valores encontrados foram inferiores a outros relatados na literatura para silagens de cana-de-açúcar, que estão na faixa de 6,9 a 19,3% (Andrade et al., 2001; Bernardes et al., 2002; Pedroso et al., 2005; Freitas et al., 2006; Santos et al., 2010). Em vários trabalhos, observaram-se baixos teores de etanol nas silagens de cana-de-açúcar, e, segundo alguns autores, o etanol pode ter sido perdido por volatilização durante o processo de retirada da forragem dos silos (Pedroso et al., 2006; Queiroz et al., 2008 e Schmidt et al., 2007).

A fermentação alcoólica resulta da presença de leveduras que utilizam açúcares e ácido láctico, competidores com as bactérias ácido lácticas no início do processo fermentativo. Ocorre, portanto, a produção de etanol, que não tem valor preservativo para a silagem, ocasionado principalmente perdas de matéria seca (MS) (Woolford, 1984). De acordo com McDonald et al. (1991), a produção de etanol nas silagens pode acarretar perdas de até 48% da MS, sendo que a maior causa de perda de MS na silagem de cana-de-açúcar é a reação bioquímica da produção de etanol, em que a MS é catalisada via fermentação pelas leveduras, de modo que cada molécula de glicose fermentada gera duas moléculas de etanol, duas de dióxido de carbono e duas moléculas de água.

Conclusões

Os inoculantes estudados e suas misturas não proporcionam resultados promissores sobre a composição química, fermentação e recuperação de matéria seca da silagem de cana-de-açúcar. Mais alta produção de etanol ocorreu com a mistura de *Lactobacillus buchneri* com *Propionibacterium acidipropionici*, em relação ao controle.

Referências citadas

- ANDRADE, F.L. **Silagem de cana-de-açúcar para vacas em lactação**. 2013. 37 f. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- ANDRADE, J.B.; JÚNIOR, E.F.; POSSENTI, R.A. Valor nutritivo da silagem de cana-de-açúcar, cortada aos 7 meses de idade, tratada com ureia e adicionada de rolão de milho. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38, Piracicaba, 2001. **Anais...** Piracicaba; SBZ, 2001.
- BARBOSA, M.H.P.; SIQUEIRA, L.C.I. Cana-de-açúcar: Variedades, estabelecimento e manejo. In: Simpósio sobre Manejo Estratégico da Pastagem. 3, Viçosa, 2006. **Anais...** Viçosa, UFV, 2006.
- BERNARDES, T.F.; SILVEIRA, R.N.; COAN, R.M. Características fermentativas e presença de levedura na cana-de-açúcar crua queimada ensilada com aditivo. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 39, 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002.
- CARDOSO, L.L. **Silagem de cana-de-açúcar tratada com aditivos químicos e microbianos: composição química e desempenho de vacas em lactação**. 2013. 54 f. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- DETMANN, E., SOUZA, M.A., VALADARES FILHO, S.C. et al. **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Universidade Federal de Viçosa, 2012. 214p.
- FREITAS, A.W.P.; PEREIRA, J.C.; ROCHA, F.C.; DETMANN, E.; RIBEIRO, M.D.; COSTA, M.G.; LEONEL, F.P. 2006. Características da silagem de cana-de-açúcar tratada com inoculante bacteriano e hidróxido de sódio e acrescida de resíduo da colheita de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.48-59, 2006.
- JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.S.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suplemento especial, p.101-119, 2007.
- KLEINSCHMIT, D.H. and KUNG JR., L. 2006. Metaanalysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. **Journal of Dairy Science**, 89: 4005-4013.
- KUNG JR., L. **Preparation of silage water extracts for chemical analyses**. Standard operating procedure – 001 2.03.96. ed. University of Delaware Ruminant Nutrition Lab. – Worrilow 309. 1996.
- MAHANNA, B. 1994. Proper management assures high-quality silage, grains. **Feedstuffs**, 10:12-18.

MAHANNA, B. Troubleshooting silage problems. In: STATE APPLIED NUTRITION CONFERENCE, 4., 1993. Wisconsin. **Proceedings...** Wisconsin, 1993. P. 1-24.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The biochemistry of silage**. Ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991. 226 p.

MENDES, Q.C.; SUSIN, I.; NUSSIO, L.G.; PIRES, A.V.; RODRIGUES, G.H.; URANO, F.S. 2008. Efeito do *Lactobacillus buchneri* na fermentação, estabilidade aeróbia e no valor nutritivo de silagem de cana-de-açúcar. **R. Bras. Zootec.**, vol.37, n.12, p. 2191-2198.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, n.6, p.1217-1240, 2002.

MONÇÃO, V.D.; CAMPOS, A.F.; ROTH, M.T.P.; OLIVEIRA, L.M.; RESENDE F.D.; SIQUEIRA, G.R.. Perdas fermentativas e população microbiana de leveduras da silagem de cana-de-açúcar inoculada com diferentes doses de *Propionibacterium acidipropionici*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49., 2012, Brasília. **Anais...** Brasília: SBZ, 2012.

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, n.3, p.453-460, 1983.

MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, p. 183-191, 2010.

MUCK, R. Silage inoculation. In: CONFERENCE WITH DAIRY AND INDUSTRIES, 1996, Madison. **Proceedings...** Dairy Forage Research Center, p.43-51, 1996.

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, n.1, p.125-132, 2001.

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, p.427-432, 2005.

QUEIROZ, O.C.M.; NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P.; RIBEIRO, J.L.; SANTOS, M.C.; ZOPOLLATTO, M. Silagem de cana-de-açúcar comparada a fontes tradicionais de volumosos suplementares no desempenho de vacas de alta produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.358-365, 2008.

SAEG. **Sistema para análises estatísticas**. Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes, UFV, Viçosa, MG, 2007.

SANTOS, M.V.F., GÓMEZ CASTRO, A.G., PEREA, J.M., GARCÍA, A., GUIM, A.E PÉREZ HERNÁNDEZ, M. Fatores que afetam o valor nutritivo das silagens de forrageiras

tropicais. **Archivos de Zootecnia**, 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.; PEDROSO, A.F.; PAZIANI S.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, n.5, p.1666-1675, 2007.

SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. et al. Queima e aditivos químicos e bacterianos na ensilagem da cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, 2009.

SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. et al. Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.2000-2009, 2007.

SOUSA, D.P., MATOS, W.R.S., NUSSIO, L.G., MARI, L.J., RIBEIRO, J.L., SANTOS, M.C. 2008. Efeito de aditivo químico e inoculantes microbianos na fermentação e no controle da produção de álcool em silagens de cana-de-açúcar. **R. Bras. Zootec.** vol.37, n.9, p. 1564-1572.

WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker, 1984. 350p.