**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Estratégias de controle de perdas em silagens de cana-de-açúcar

Letícia Custódio

Dissertação para obtenção do título de Mestra em
Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e
Pastagens

**Piracicaba
2013**

Letícia Custódio
Zootecnista

Estratégias de controle de perdas em silagens de cana-de-açúcar

Orientador:
Prof. Dr. **LUIZ GUSTAVO NUSSIO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

Piracicaba
2013

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Custódio, Letícia

Estratégias de controle de perdas em silagens de cana-de-açúcar / Letícia Custódio. - -
Piracicaba, 2013.
90 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.
Bibliografia.

1. Aditivos microbianos 2. Aditivos químicos 3. Clostrídios 4. Filmes plásticos 5. Controle
de perdas I. Título

CDD 636.08552
C987e

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

“Um caminho sem obstáculos, provavelmente não te leva a lugar nenhum”.

Frank A. Clark

Aos meus pais, Jaime José Custódio e Sueli Ferreira Custódio,

as minhas irmãs Larissa Custódio e Thaís Reis e

ao meu afilhado Enzo Reis

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus por acompanhar meus caminhos e me permitir ter saúde e alegria para enfrentar os obstáculos que surgem no dia a dia com leveza e sensatez.

Ao professor Luiz Gustavo Nussio por me acolher em seu grupo, transmitir sua grande sabedoria científica e pessoal e mais do que isso, por cuidar de cada um de nós com muito carinho e respeito.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) e ao Departamento de Zootecnia, por todas as oportunidades, aprendizado e experiências profissionais.

À minha família, em especial as minhas avós Alice e Adelaide e a todos os meus tios, tias, primos e primas que sempre me apoiaram e acreditaram em mim.

Aos membros do Grupo Qualidade e Conservação de Forragens, em especial a Greici, Cristiano, Juliana, João Daniel, Biribol, Bleine, Maity, Adir, Janaína, Álvaro, Daniel, Paula e Max e aos estagiários: 100-kina, Soldadiño, Poka Sombra, Menoti, Dheyne e Alsiane, pelo companheirismo, amizade e aprendizado. Agradeço a cada um com muito carinho, pois colaboraram muito na realização desse trabalho e, além disso, foram os responsáveis pelos meus bons momentos durante esses anos.

Ao meu namorado Attilio que, além de ser membro do grupo e me ajudar na realização desse trabalho, sempre está ao meu lado com muito amor, carinho, paciência e alegria.

À Greici, Ju e Bleine pela linda amizade que construímos durante esses anos, tenho certeza que essa será uma amizade para a vida inteira.

À Taninha, por cuidar de mim e de todos com muito amor.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia: Vagner, Néco, Heleninha, Jucelino e Emerson, pela ajuda, compreensão e paciência durante o trabalho no campo.

Ao César pelos auxílios na condução das análises laboratoriais.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por acreditar no meu trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
Referências	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Perdas em silagens de cana-de-açúcar	19
2.2 Estratégias de controle de perdas	20
2.2.1 Aditivos microbianos	20
2.2.2 Aditivos químicos	22
2.2.3 Estratégias de vedação	26
2.3 Desempenho animal	29
Referências	30
3 CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DE CLOSTRÍDIOS EM SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR TRATADAS COM ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS	37
Resumo	37
Abstract	37
3.1 Introdução	38
3.2 Material e Métodos	39
3.2.1 Análises estatísticas	42
3.3 Resultados e Discussão	42
3.3.1 Caracterização da forragem fresca	42
3.3.2 Caracterização da silagem	45
3.4 Conclusões	56
Referências	56
4 IMPACTO DO FILME DE VEDAÇÃO NO VALOR NUTRITIVO DE SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA VACAS LEITEIRAS	63
Resumo	63
Abstract	63
4.1 Introdução	64
4.2 Material e Métodos	65
4.2.1 Ensilagem e tratamentos	65
4.2.2 Avaliações nos silos	65
4.2.3 Animais e instalações experimentais	68

4.2.4 Rações experimentais e manejo alimentar	69
4.2.5 Digestibilidade <i>in vivo</i>	70
4.2.6 Análises estatísticas.....	70
4.3 Resultados e Discussão	70
4.3.1 Caracterização da forragem fresca	70
4.3.2 Caracterização da silagem.....	71
4.3.3 Desempenho dos animais	80
4.4 Conclusões	86
Referências	86

RESUMO

Estratégias de controle de perdas em silagens de cana-de-açúcar

O objetivo desse trabalho foi descobrir melhores estratégias de controle de perdas em silagens de cana-de-açúcar, utilizando combinações de aditivos químicos e microbianos ou estratégias de vedações. No primeiro experimento o intuito foi estudar estratégias de controle de clostrídios em silagens de cana-de-açúcar aditivadas com cal virgem. Os tratamentos foram: 1) controle; 2) 1,5% cal virgem (Cal); 3) 1,5% cal virgem + 5×10^5 ufc/g *Lactobacillus plantarum* Ma 18/5U (Cal+LP); 4) 1,5% cal virgem + 5×10^5 ufc/g *Lactobacillus buchneri* 40788 (Cal+LB); 5) 1,5% cal virgem + 0,07% nitrito de sódio (Cal+Nitrito); 6) 1,5% cal virgem + 0,15% benzoato de sódio (Cal+Benzoato). Como silos experimentais foram utilizados baldes plásticos com capacidade de 20 L. A cal não foi eficiente em diminuir perdas em relação ao controle (20,6% e 19,1%, respectivamente) já as combinações cal+Benzoato, cal+Nitrito, cal+LB e cal+LP, diminuíram perdas, apresentando os valores de 11,2%, 14,1%, 14,1% e 13,9%, respectivamente. A estabilidade aeróbia das silagens tratadas com cal (172 h), cal+Benzoato (155 h) e cal+Nitrito (223 h), foram maiores em comparação às tratadas com cal+LB (49 h), cal+LP (48,4 h) e controle (51,9 h). A silagem controle apresentou menores contagens de clostrídios (3,26 log ufc/g) e os tratamentos Cal e Cal+LB apresentaram as contagens mais altas (6,74 log ufc/g e 5,96 log ufc/g, respectivamente), enquanto Cal+nitrito (5,24 log ufc/g), Cal+LP (4,63 log ufc/g) e Cal+benzoato (4,41 log ufc/g) apresentaram contagens intermediárias. Nenhum tratamento imposto foi capaz de controlar o crescimento de clostrídios estimulado pela cal virgem. No segundo ensaio o objetivo foi comparar filmes plásticos na vedação de silagens de cana-de-açúcar. Os tratamentos impostos foram: 1) filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos (PA45+M); 2) filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face, 125µm (PA125); 3) filme de polietileno, dupla face, 200µm (DF). Três silos tipo trincheira foram preenchidos simultaneamente e durante o abastecimento a cana-de-açúcar picada foi tratada com benzoato de sódio na dose 0,15% da matéria natural. Decorridos 90 dias de armazenamento, os silos foram abertos e as silagens utilizadas como ingredientes para alimentação de vacas em lactação. Quinze vacas Holandesas (615 kg PV) foram alocadas aleatoriamente em três Quadrados Latinos 3x3, com períodos de 18 dias. O consumo de matéria seca (CMS). Amostras de leite foram coletadas para análises de proteína, gordura, lactose, caseína, ácidos graxos livres, sólidos totais, N-urético e contagem de células somáticas. O óxido de cromo foi utilizado como marcador externo para estimar a produção fecal. As diferentes estratégias de vedação não influenciaram a qualidade das silagens e, consequentemente, não afetaram o CMS 19,9 kg/dia, a produção 25,1 kg/dia e a composição do leite (gordura 3,5%, proteína 3,3%, lactose 4,4%), das vacas. As diferentes estratégias de vedação utilizadas não influenciam a qualidade das silagens de cana-de-açúcar e o desempenho de vacas leiteiras e se mostraram efetivas para vedação de silos horizontais. No presente estudo, tanto a utilização de aditivos como a adoção de estratégias de vedação não foram efetivas em controlar perdas em silagens de cana-de-açúcar.

Palavras-chave: Aditivos microbianos; Aditivos químicos; Clostrídios; Filmes plásticos; Controle de perdas

ABSTRACT

Strategies of control of losses in sugarcane silages

The aim of this study was to discover the best strategies to control losses in sugarcane silages, using combinations of chemical and microbial additives or covering strategies. In the first trial the aim was to compare strategies to prevent clostridium grow in sugarcane silages added with lime. Treatments were Control: no additives; L: 1.5% lime; L + LP: 1.5% lime + *Lactobacillus plantarum* Ma 18/5U (5×10^5 cfu/g fresh forage); L + LB: 1.5% lime + *Lactobacillus buchneri* 40788 (5×10^5 cfu/g fresh forage); L + N: 1.5% lime + 0.07% sodium nitrite; L + B: 1.5% lime + 0.15% sodium benzoate. As experimental silos were used plastic buckets with a capacity of 20 L. Mini bags were prepared with the following treatments 1) control, 2) 1.5 % of lime and 3) 1.5 % of lime + 5×10^5 cfu/g of *L. plantarum*, in order to analyze the pH drop at the onset of fermentation. The lime was not effective in decreasing losses compared to control silages (20.6% and 19.1%, respectively) however the treatments lime+Benzoate, lime+nitrite, lime+LP and lime+LB, decreased losses, showing lower values: 11.2%, 14.1%, 14.1% and 13.9%, respectively. The aerobic stability of silages treated with lime (172 h), lime+Benzoate (155 h) and lime+Nitrite (223 h) were higher compared to those treated with lime+LB (49 h), lime+LP (48.4 h) and control (51.9 h). The control treatment showed the lowest counts of clostridia (3.26 log cfu/g) and treatment with lime and lime+LB had the highest counts (6.74 log cfu/g and 5.96 log cfu/g, respectively), while lime+nitrite (5.24 log cfu/g), lime+LP (4.63 log cfu/g) and lime+benzoate (4.41 log cfu/g) showed intermediate counts of clostridia. None of additives combined with lime were able to provide butyric acid free silages. In the second trial the aim was to compare plastic films for sealing sugarcane silages. Treatments were: 1) polyamide film 45µm plus a protection against physical damage and ultraviolet light (PA45 + P), 2) polyethylene film coextruded with polyamide, black-on-white, 125µm (PA125), 3) polyethylene film, black-on-white 200µm (BW). Three trench silos were filled out simultaneously with chopped sugarcane treated with 0.15% of sodium benzoate (as fed basis). After 90 days of storage, the silos were opened and silages fed to lactating cows as total mixed rations. Fifteen Holstein cows (615 kg BW) were randomly allocated into 3x3 Latin square with periods of 18 days. Dry matter intake, diet apparent digestibility, milk yield and milk composition were evaluated on days 14 to 18 in each period. Chromium oxide was used as external marker to estimate fecal excretion. Sealing strategies had no influence on silage quality and cows performance. Dry matter intake (19.9 kg /day), milk yield (25.1 kg/day), and milk composition (fat 3.5%, 3.3% protein, and 4.4% lactose) were quite similar across treatments. The different sealing strategies do not affect sugarcane silage quality and dairy cows performance and proven effective for sealing horizontal silos. In the present study, neither additives nor covering strategies were effective in reducing losses in sugarcane silages.

Keywords: Microbial additives; Chemical additives; Clostridia; Plastic films; Losses control

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é um volumoso que se enquadra dentro de um sistema de produção animal, uma vez que ela se destaca como forrageira de potencial para uso na alimentação de ruminantes. É uma cultura de alta produtividade (MS/ha), a maturação é na época de escassez das outras forragens e possui valor energético elevado.

Ensilar uma forrageira proporciona facilidades de manejo, ou seja, não é necessário o corte diário da planta para alimentação dos animais, além disso, a cana-de-açúcar se constitui em forrageira interessante para ensilar devido às boas características fermentativas como alta concentração de açúcares solúveis (20 a 40% da matéria seca), baixo poder tampão (~ 5 g de ácido láctico/kg de matéria seca) e apresenta teores adequados de matéria seca no momento da colheita (~ 30%) podendo apresentar coeficiente de fermentabilidade (>45) (WEIßBACK, 2011). No entanto é caracterizada por apresentar altas contagens de leveduras na sua população epifítica original. Esse microrganismo é responsável por fermentar carboidratos solúveis da cana produzindo etanol, fazendo com que ocorra consideráveis perdas de matéria seca do material ensilado, acumulando componentes da parede celular e reduzindo a digestibilidade da forragem (FERREIRA et al., 2007). Na tentativa de resolver esse empasse a cal virgem é utilizada em silagens de cana-de-açúcar, pois esse aditivo pode reduzir potencialmente as perdas de matéria seca durante a fermentação dessa planta forrageira (BALIEIRO NETO et al., 2007).

Entretanto, a cal virgem trata-se de um aditivo alcalino, que quando adicionado na massa eleva o pH, fazendo com que ocorra resistência na queda do pH durante a fermentação e dessa forma abre caminho para o crescimento de bactérias indesejáveis que crescem em pH alto, como o clostrídio (CARVALHO et al., 2012). A utilização de alguns aditivos químicos que podem controlar clostrídios ou inoculantes microbianos que influenciam na queda acelerada do pH, associados à cal virgem podem constituir uma boa alternativa para essa problemática

Além do método de combinação de aditivos para controlar perdas em silagens de cana-de-açúcar, outras técnicas em relação ao manejo podem influenciar a qualidade do material, como estratégias adequadas de vedação. O fator que mais influência a preservação de forragens conservadas é o grau de anaerobiose que ocorre no silo (WOOLFORD, 1990), porém filmes plásticos tradicionais como os de polietileno são muito permeáveis ao oxigênio (DEGANO, 1999), dessa forma a região periférica da silagem é afetada e o material se deteriora, sendo necessário o descarte de boa parte do painel do silo.

Atualmente está disponível no mercado filmes com baixa permeabilidade ao oxigênio e alta resistência à ruptura, como é o caso dos filmes de poliamida, que consiste em um filme de duas camadas externas de polietileno e uma central de poliamida, totalizando 125 µm de espessura, com nome comercial de Silostop® 1-Step (OS) (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007). Outro filme de poliamida de 45 µm de espessura, transparente, porém sem proteção contra a radiação ultravioleta (UV), também é utilizado sob uma lona protetora de polipropileno, com nome comercial de Silostop® 2-Step (TS). (BERNARDES; AMARAL; NUSSIO, 2009). Borreani, Tabacco e Cavallarin (2007) avaliaram filmes plásticos com diferentes propriedades físico-químicas e observaram que os materiais confeccionados com polietileno coextrusado com poliamida, apresentaram menores perdas de matéria em silos comerciais.

Dessa forma o objetivo desse trabalho foi descobrir melhores estratégias de controle de perdas em silagens de cana-de-açúcar, utilizando combinações de aditivos químicos e microbianos ou estratégias de vedação.

Referências

- BALIEIRO NETO, G.; SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; NOGUEIRA, J.R.; ROTH, M.T.P.; ROTH, A.P.T.P. Óxido de cálcio como aditivo na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 1231-1239, 2007.
- BERNARDES, T.F.; AMARAL, R.C.; NUSSIO, L.G. Sealing strategies to control the top losses in horizontal silos. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro: FEALQ, 2009. p. 190-209.
- BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 90, p. 4701-4706, 2007.
- CARVALHO, B.F.; ÁVILA, C.L.S.; PINTO, J.C.; PEREIRA, M.N.; SCHWAN, R.F. Effects of propionic acid and *Lactobacillus buchneri* (UFLA SIL 72) addition on fermentative and microbiological characteristics of sugar cane silage treated with and without calcium oxide. **Journal of Grass and Forage Science**, Oxford, v. 10, p. 1365-2494, 2012.
- DEGANO, L. Improvement of silage quality by innovative covering system. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 1999, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala: SLU Conference Service, 1999. p. 296-297.
- FERREIRA, D.A.; GONÇALVES, L.C.; MOLINA, L.R.; CASTRO NETO, A.G.; TOMICH, T.R. Características de fermentação da silagem de cana-de-açúcar tratada com uréia, zeólita, inoculante bacteriano e inoculante bacteriano/enzimático. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 2, p. 423-433, 2007.

WEIßBACH, F. The future of forage conservation. In: II INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION 2., 2011, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2011. p. 319-363.

WOOLFORD, M.K. The detrimental effect of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, Chalgrove, v. 68, p. 101–116, 1990.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Perdas em silagens de cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta forrageira atraente para produção animal devido a sua alta produção de massa em comparação a outros volumosos (ARANDA et al., 2001) e níveis relativamente elevados de energia (2,0 a 2,4 Mcal/kg) (CORRÊA et al., 2003).

Maule, Mazza e Martha Jr. (2001) avaliando seis cultivares de cana-de-açúcar obtiveram produtividades médias de 137 e 175 t matéria verde/ha e Dias et al. (1999), avaliaram seis cultivares de cana-de-açúcar em seis tipos diferentes de solos e obtiveram produtividades médias de 85 a 171 t matéria verde/ha. Além disso, a cana amadurece durante a estação seca, quando a maioria das outras plantas forrageiras tropicais é limitada (GONÇALVES, 2006).

Entretanto quando a cana é oferecida *in natura* aos animais e o corte é feito diariamente gera necessidade de equipamentos e mão de obra para atender as demandas de produção de grandes rebanhos. Ainda, quando utilizada fora do período de safra, a cana-de-açúcar não apresenta seu maior valor nutritivo, pois ainda contém um baixo teor de sacarose (MATSUOCA; HOFFMANN, 1993), exigindo o escalonamento de variedades em grandes propriedades.

Por uma questão operacional, a ensilagem dessa forrageira tem se tornado uma boa opção de manejo e se mostrado eficiente para produção animal, principalmente em confinamentos como suplemento volumoso para os animais na época de escassez de forragem no pasto, no entanto ao ensilar a cana-de-açúcar deve-se tomar alguns cuidados, pois essa decisão pode gerar perdas de valor nutritivo e custo energético para o sistema (NUSSIO; SCHMIDT; PEDROSO, 2003).

Essa forrageira além de ser caracterizada por alta concentração de açúcar solúvel também apresenta alta população de leveduras (ÁVILA et al., 2010), assim durante a fermentação pode ocorrer até 49% de perdas de matéria seca como resultado da transformação de açúcar em etanol e dióxido de carbono (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Dessa forma, a dinâmica da fermentação e da microflora epifítica em silagem de cana-de-açúcar é caracterizada por apresentar intensa atividade de leveduras, alto teor de álcool e grandes perdas de matéria seca (PEDROSO et al., 2005).

McDonald, Henderson e Heron (1991) relatam que a fermentação alcoólica infere em perdas de 49% de matéria seca e do ponto de vista da conservação de energia líquida, 1 kg de etanol é gerado no silo por meio de aproximadamente 2 kg de sacarose. Ainda quando a

silagem é retirada do silo e, conseqüentemente, exposta ao ar, parte destes compostos é perdida por volatilização ou oxidada por microrganismos aeróbios. Entretanto Nussio; e Schmidt (2004) revisando artigos sobre o efeito do etanol no metabolismo animal, consideraram que o mesmo tem valor energético para o ruminante, visto que ele pode ser absorvido pela parede ruminal ou ser convertido no rúmen a ácidos graxos voláteis, principalmente ácido acético. Além disso, recentemente foi demonstrado que o etanol não inibiu o consumo voluntário do alimento, e melhorou o desempenho de vacas leiteiras de alta produção (DANIEL et al., 2013). Porém parte do etanol é convertida à acetato com aumento concomitante na produção de metano no rúmen, portanto, o consumo de etanol gera perda de energia líquida (DANIEL, 2011).

De maneira geral, os estudos em relação à ensilagem da cana-de-açúcar concluem que a silagem confeccionada sem aditivo controlador da população de leveduras apresenta grandes perdas de matéria seca e carboidratos solúveis devido à extensa produção de etanol (PEDROSO et al., 2007; FERREIRA et al., 2007; SIQUEIRA et al., 2007; SANTOS et al., 2008). Quando o material é ensilado sem aditivos Alli, Baker e Garcia (1982) observaram aumento de 29,9% para 43,1% de fibra em detergente ácido (FDA) em cana ensilada sem aditivos e Pedroso et al. (2005) verificaram redução no valor de carboidratos solúveis de 23% para 6,8% da MS e teor de etanol de 8% da MS. Ainda, relataram que síntese de etanol e gases oriundos da fermentação alcoólica geraram perdas de até 31% da matéria seca total e observaram redução de 15% na digestibilidade in vitro da matéria orgânica em silagens de cana-de-açúcar sem aditivos. Portanto, para melhorar a qualidade da fermentação no silo e reduzir perdas de nutrientes, é indicado o uso de aditivos em silagens de cana-de-açúcar (WILKINSON, 1999).

2.2 Estratégias de controle de perdas

2.2.1 Aditivos microbianos

O objetivo de utilização de aditivos microbianos nas silagens é a elevação artificial do número inicial de bactérias produtoras de ácidos benéficos para a qualidade do material, o ácido láctico é o ácido orgânico mais forte ($pka \sim 3,8$) do que os AGV ($pka \sim 4,8$), dessa forma o abaixamento de pH é mais rápido pela rota homolática, o que leva à diminuição da atividade microbiana e antecipa o estágio de preservação onde as perdas passam a ser menores (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Já os AGV são os mais visados quando se

trata de estabilidade aeróbia, por serem ácidos controladores da população de microrganismos deterioradores aeróbios.

Os inoculantes comerciais contêm, normalmente, linhagens de bactérias homofermentativas produtoras de ácido láctico exclusivo como: *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus faecium*, *Enterococcus faecium* e *Lactococcus lactis*. No caso dos inoculantes contendo bactérias heterofermentativas, produtoras de ácido acético e propiônico, são comuns: *Lactobacillus buchneri*, *Pediococcus cerevisiae*, *Propionibacterium shermani* e *Propionibacterium acidipropionici*, no intuito de melhorar a estabilidade aeróbia das silagens, o que implica no controle da população de leveduras, assim eficiente na ensilagem da cana-de-açúcar.

Diversas pesquisas têm mostrado elevação no teor de ácido láctico nas silagens de cana-de-açúcar quando nestas há adição de bactérias homoláticas, o que provavelmente possa ser responsável pelo aumento da produção de etanol das silagens, uma vez que leveduras utilizam o ácido láctico como substrato fermentativo, principalmente em condições aeróbias (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). A adição exclusiva de bactérias homofermentativas em silagem de cana-de-açúcar gera maiores perdas de energia. Pedroso et al. (2002) encontraram produções três vezes superiores (3,06 vs. 9,81% MS) de etanol quando a cana-de-açúcar foi inoculada com *L. plantarum* quando comparada à silagem controle. Além disso, a recuperação de MS foi a menor (77,0%) entre os tratamentos testados.

Ainda que as bactérias homofermentativas não sejam recomendadas para utilização em silagens de cana-de-açúcar, o poder dessas bactérias em baixar o pH do material pode ser bem vindo quando utilizadas em associação com aditivos alcalinos.

Segundo McDonald, Henderson e Heron (1991), o uso de bactérias produtoras de ácido láctico durante o processo de ensilagem, pode acelerar a queda do pH, reduzir o pH final, diminuir a produção de efluente e a perda de MS no silo. No entanto, essas bactérias homoláticas em geral, pioram a estabilidade aeróbia, pois o ácido láctico não apresenta características antifúngicas, além de ser substrato para leveduras e fungos, enquanto que as bactérias heterofermentativas tem um papel importante na preservação do material ensilado em relação aos fungos e leveduras. Essas bactérias produzem grandes quantidades de ácido acético e esse é o fator responsável pela inibição no crescimento de leveduras nessas silagens (MOON, 1983). Danner, Holzer e Mayrhuber (2003) afirma que o efeito antimicrobiano de um ácido orgânico depende de seu pKa e do pH do meio. O ácido acético tem pKa maior que o ácido láctico, assim, na faixa de pH normalmente encontrada nas silagens, o ácido acético se encontra menos dissociado que o ácido láctico, o que permite a ele penetrar a membrana

plasmática das leveduras. Dessa forma o ácido estará em um ambiente onde o pH é mais alto que o seu pka sendo que as leveduras e fungos apresentam pH próximo da neutralidade e, consequentemente, ocorrerá dissociação desse ácido fazendo com que as leveduras gastem energia na tentativa de eliminar H^+ do meio.

Além disso, a combinação entre aditivos químicos e microbianos também pode ser uma boa estratégia de controle de perdas em silagens de cana-de-açúcar, um exemplo é a combinação de aditivos alcalinos com bactérias homofermentativas. A acentuada e rápida acidificação causada pela atividade de bactérias ácido lácticas pode amenizar o efeito de tamponamento que os aditivos alcalinos causam na massa, assim poderia ser possível controlar a qualidade higiênica e nutritiva da forragem (CARVALHO et al., 2012).

Siqueira et al. (2007) avaliando combinação de aditivos químicos com microbianos verificaram que os melhores resultados deram-se na associação dos aditivos químicos com *L. buchneri*, no que se referiu à recuperação de MS durante a ensilagem e estabilidade aeróbia.

Roth et al. (2007) também verificaram que a associação de cal virgem com o inoculante *L. buchneri* reduziu perda por gases e efluente, além de proporcionar melhor recuperação de MS (76,5% MS) no processo de ensilagem de cana-de-açúcar.

2.2.2 Aditivos químicos

A utilização de aditivos químicos podem interferir na dinâmica fermentativa, afetando diretamente o pH final da silagem, alterando a pressão osmótica, e consequentemente, inibindo o desenvolvimento de determinados grupos de microrganismos e, ainda, seria possível a modificação da composição bromatológica do alimento (SANTOS, 2007).

Os aditivos químicos utilizados podem ser classificados de acordo com o modo de ação ou sua função em subgrupos como: agentes alcalinizantes ou hidrolíticos, aditivos nutrientes e aditivos conservantes, podendo ser estes ácidos ou sais (SANTOS, 2007). Alguns aditivos além de alterar o padrão fermentativo, possuem em sua composição química, elementos capazes de alterar a ingestão de MS pelos animais e/ou adicionar nutrientes às silagens (SCHMIDT, 2006).

Segundo Santos (2007), dentro do subgrupo dos aditivos químicos alcalinizantes ou hidrolíticos destacam-se os hidróxidos, os óxidos básicos e os carbonatos, sendo os mais utilizados: hidróxido de sódio ou soda cáustica (NaOH), hidróxido de potássio (KOH), hidróxido de amônio (NH_4OH), hidróxido de cálcio ou cal hidratada [$Ca(OH)_2$], carbonato de cálcio ou calcário ($CaCO_3$) e óxido de cálcio ou cal virgem (CaO). Há também alguns

produtos químicos utilizados como conservantes na indústria alimentícia que têm sido testados como aditivos para silagem, entre eles estão o benzoato de sódio, ácido sórbico e nitrito de sódio. Os ácidos sórbico e benzóico inibiram o crescimento de leveduras em testes de laboratório (WOOLFORD, 1975), o benzoato de sódio combinado à hexamina melhorou a conservação de silagens de capim emurchecido, promovendo redução no número de leveduras e diminuição na perda de carboidratos solúveis das silagens quando expostas ao ar (LÄTTEMÄE; LINGVALL, 1996) e o nitrito de sódio inibe o crescimento de bactérias formadoras de esporos (WOOLFORD, 1975).

Dentre os agentes alcalinizantes utilizados na ensilagem da cana-de-açúcar, vários experimentos foram conduzidos utilizando-se o hidróxido de sódio, comumente conhecido como soda cáustica. A soda cáustica é um agente alcalino forte, com comprovada ação sobre a fibra de volumosos (BERGER et al., 1994), inclusive cana-de-açúcar (EZEQUIEL et al., 2003). Esses trabalhos verificaram que o NaOH em silagem de cana com menores teores de FDN e hemicelulose após 144 horas de incubação *in vitro*. Contudo, o risco de toxicidade e o elevado custo dificultam o uso desse produto.

A cal virgem surgiu na tentativa de substituir, em alguns casos, o hidróxido de sódio. Os estudos com esse aditivo sugerem silagens apresentando perdas reduzidas de MS, com parte do valor nutritivo da cana-de-açúcar *in natura* preservada (SANTOS, 2007).

Diante disso, vários estudos vêm comparando diferentes doses de óxido de cálcio como aditivo para silagem de cana-de-açúcar. Domingues et al. (2007) verificaram quedas progressivas nos teores de FDN com o aumento das doses até 2% da MV. Com relação ao teor de FDA, a diminuição dessa fração deu-se em doses superiores a 1% da MV. Balieiro Neto et al. (2007) testaram a cal virgem na ensilagem da cana-de-açúcar em quatro doses (0; 0,5; 1,0 e 2,0% da MV) e verificaram que a dose de 1,0% foi capaz de reduzir os constituintes da parede celular, especialmente a hemicelulose, promover maior estabilidade da composição química e melhor qualidade da silagem após abertura do silo, até nove dias de ensaio de estabilidade aeróbia. O teor de FDN foi de 63,34% MS da silagem controle para 58,53% na silagem de cana-de-açúcar aditivada com 1,0% da cal virgem e chegou a valores de 49,47% MS na silagem de cana-de-açúcar que apresentou adição de 2,0% de óxido de cálcio. No teor de FDA, a diferença da silagem controle foi observada somente na dose mais elevada. Amaral et al. (2009) observou queda de 68,7% para 62,2% de FDN em silagens aditivadas com 1% de cal virgem.

Entretanto segundo Balieiro Neto et al. (2009) a redução no teor de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) da cana-de-açúcar, pela ação da cal virgem, ocorre na fração potencialmente digestível e não tem efeito sobre a digestibilidade *in vivo* da FDN.

Sendo assim, a vantagem da utilização da cal virgem se deve a interferência na rota de fermentação, fazendo com que ocorra queda na produção de etanol. Santos et al. (2008) tratando cana-de-açúcar com 1,5% de cal verificou decréscimo no teor de etanol quando comparada à silagem controle, (4,78% para 0,37%) e diminuição das perdas totais (34,3% para 15,9%). Amaral et al. (2009) observou queda de 4,3% para 1,2% de etanol da silagem controle para a aditivada com 1% de cal.

Apesar do óxido de cálcio apresentar alguns benefícios para a silagem, deve-se ter cuidados ao utilizar esse aditivo, pois é um álcali e interfere negativamente na queda do pH do material ensilado. Mari (2008) trabalhando com óxido de cálcio e calcário calcítico na ensilagem de cana-de-açúcar encontrou maiores valores de pH (maior que 3,91) nos tratamentos contendo CaO em solução aquosa ou seca quando comparados aos tratamentos controle e contendo *L. buchneri*, sendo os maiores valores encontrados nos tratamentos aditivados com CaO na forma seca ou na associação com *L. buchneri*. Segundo esse autor, a silagem aditivada de cal virgem, seja ela exclusiva ou associada ao *L. buchneri*, aplicada à seco ou em solução aquosa, apresentou maior teor de ácido butírico, variando entre 3,29 e 5,05% MS em relação ao tratamento controle que apresentou valores de 0,70%, indicando a presença de clostrídios. Segundo Miranda (2006), o uso de aditivos capazes de aumentar o pH, em períodos prolongados de ensilagem, pode induzir a ocorrência de fermentação clostrídica da cana.

Em experimento comparando a adição de CaO como controle químico, Miranda (2006) encontrou altos valores de pH nas silagens com óxido de cálcio em todos os tempos de abertura dos silos. Segundo o autor, as silagens tinham aparência anormal, com coloração que variou entre as tonalidades marrom-escura e preta. A ocorrência de silagens anormais, o odor não típico de silagem de cana e o pH acima de 4,8 sugerem a ocorrência de fermentação clostrídica (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

No mesmo sentido Amaral et al. (2009), em experimento testando diferentes aditivos químicos, encontrou valor de pH superior no tratamento contendo 1% de óxido de cálcio (4,0) quando comparado aos tratamentos contendo 1% de calcário (3,6) e controle (3,4). No mesmo experimento foram encontrados altos níveis de ácido butírico (3,1% MS) quando utilizou cal virgem comparado com o tratamento controle (0,2 % MS) e com a adição de calcário (0,4% MS). Esses maiores valores de pH e ácido butírico nas silagens tratadas com cal virgem a 1%

podem ser explicados pelo maior poder tamponante, o qual permitiu desenvolvimento de clostrídios.

Os clostrídios são bactérias obrigatoriamente anaeróbicas e que fermentam tanto carboidratos como proteínas, causando queda no valor nutricional da forragem e produzem aminas biogênicas que são compostos envolvidos diretamente em processos de neurotransmissão e, conseqüentemente, relacionados com doenças neurodegenerativas, além de poder prejudicar a qualidade do leite (THUAULT et al, 1991). Esse microrganismo é resistente ao aquecimento e outras condições adversas de meio, sendo que os esporos de algumas espécies podem resistir à pasteurização e em alguns casos até mesmo à esterilização, por isso são contaminantes do leite (DRIEHUIS, 2012). A rota de contaminação do leite se resume da seguinte forma: as vacas que se alimentam com silagens contaminadas por esporos de clostrídios defecam esses esporos, pois de acordo com Driehuis (2012) estes esporos passam pelo trato gastrointestinal e são excretados nas fezes, assim as fezes entram em contato com o úbere do animal e ocorre a contaminação do leite.

Bactérias deste gênero também podem degradar ácido láctico em ácido butírico, H_2 e CO_2 . A silagem que sofre fermentação clostrídica apresenta alta concentração de ácido butírico e alto pH.

Segundo Muck (1988), a atividade dos clostrídios também depende da atividade de água além do baixo valor de pH e da pressão osmótica (JOBIM; GONÇALVES, 2003). Utilizar aditivos que abaixam rapidamente o pH do material ensilado, como bactérias homofermentativas, ou que aumentam o teor de matéria seca, como polpa cítrica e farelo de milho, ajudam a controlar o crescimento da população de clostrídios, por elevação da pressão osmótica.

As bactérias homofermentativas fermentam hexoses quase que exclusivamente para ácido láctico, assim são capazes de abaixar o pH rapidamente. O nitrito de sódio controla o crescimento de clostrídios, sua potência é derivada da quebra de nitrato na forragem fresca para nitrito e óxido nítrico, sendo que ambos inibem o crescimento de bactérias indesejáveis na silagem (SPOELSTRA, 1983). No entanto, em forragens com baixos teores de nitrato e que podem apresentar risco de fermentação clostrídica seria interessante a adição de nitrito na massa.

Esse aditivo já é muito utilizado na indústria alimentícia e há alguns estudos sobre a ação do nitrito nesse sentido. Carpenter, Reddy e Cornforth (1987), analisando os efeitos do nitrito sobre o crescimento de clostrídio em embutidos, observaram que o aditivo inativa a piruvato ferredoxina oxidoreductase (PFO) e a ferredoxina, e concluíram, que a inibição foi

resultado da destruição dos centros de ferro-enxofre das enzimas, devido à formação de complexos ferro-enxofre-óxido nítrico (Fe-S-NO).

Estudos posteriores confirmaram que o nitrito atua na inibição de clostrídios ao interferir nas enzimas que apresentam ferro e enxofre em sua estrutura, impedindo a síntese de ATP (adenosina trifosfato) a partir do piruvato. No entanto, as bactérias lácticas são resistentes devido à falta de ferredoxina (JAY, 1994; FRANCO; LANDGRAF, 1996).

O benzoato de sódio também é um produto utilizado na indústria alimentícia e tem um poder antimicrobiano, o sal age como ácido benzóico e é um conservante que inibe o crescimento de fungos, leveduras e algumas bactérias. Então, o emprego de benzoato de sódio nas silagens reduz a concentração de etanol, pois inibe o desenvolvimento de leveduras e conserva carboidratos solúveis (PEDROSO, 2003). Ainda, devido ao seu poder antibacteriano pode inibir clostrídios. Schmidt et al. (2007) avaliaram diferentes aditivos químicos e biológicos em cana-de-açúcar e observaram em silagens que receberam a adição de benzoato de sódio (0,1%), apresentaram maior efetividade em preservar o teor de carboidratos solúveis.

2.2.3 Estratégias de vedação

Além da utilização de aditivos para controlar perdas em forragens conservadas, há outros fatores que também influenciam o processo de ensilagem e ajudam a diminuir perdas. Entre esses fatores que exigem atenção para a boa qualidade da silagem, a vedação influencia diretamente na conservação e nas perdas causadas pela deterioração nas camadas superficiais do produto. Há vários tipos de filmes plásticos no mercado com a função de proteger o material, porém há alguns filmes que podem não garantir a devida proteção contra os efeitos nocivos do oxigênio. Após a forragem ser colocada no silo, a eficiência na remoção de oxigênio da massa ensilada determina a perda de matéria seca na fase aeróbia da ensilagem (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Segundo Sprague (1974) apud Woolford (1990), em um silo bem vedado o oxigênio presente na massa é consumido rapidamente pelo processo de respiração celular e pela microbiota (microrganismos aeróbios facultativos), pois em 15 minutos cerca de 90% do oxigênio é removido e menos de 0,5% remanescente permanece após 30 minutos.

A deterioração de silagens ocorrida durante a estocagem e após a abertura dos silos é evidenciada por picos de aquecimento do material, resultantes do crescimento inicial de leveduras, seguidas pelo desenvolvimento de fungos filamentosos. Além disso, como esses microrganismos consomem ácidos orgânicos que são responsáveis pela conservação do

material, abrem caminhos para o crescimento de outros microrganismos que são inibidos pelo baixo pH da massa, como por exemplo enterobactérias e clostrídios. Como consequência da perda de nutrientes, aquecimento da massa, presença de bolores e bactérias indesejáveis pode haver redução do consumo pelo animal, com reflexos negativos no desempenho.

Uma forma de aperfeiçoar os filmes plásticos na vedação do silo é a utilização de alguns materiais como sacos com pedra, areia, terra ou pneu, que vão ajudar a diminuir o fluxo de ar entre a lona e a massa. Também esses materiais vão proteger os filmes plásticos contra fatores ambientais de degradação, no entanto, esses materiais dificultam o manejo e se não houver cuidados específicos podem ocasionar falta de higiene do produto levado ao cocho dos animais. Portanto, utilizar somente os filmes plásticos na vedação dos silos pode ser um facilitador do manejo e uma forma mais higiênica, desde que a lona seja de um material de boa qualidade para a proteção adequada.

Os filmes mais espessos são mais resistentes à danos físicos provocados por possíveis imprevistos como por exemplo pisoteio de animais e, também, são mais efetivos em barrar a penetração de oxigênio no interior do silo (SAVOIE, 1988). Segundo Kuzin e Savoie (2001) as perdas nas áreas periféricas do silo são influenciadas pela espessura do filme plástico que deve ser proporcional ao tempo de estocagem da silagem. De acordo com Savoie (1988), as espessuras de filmes de polietileno indicadas para confecção de silos horizontais são de 100, 150 e 200 μm e devem ser utilizadas para armazenar silagens durante 3, 7 e 12 meses, respectivamente.

O material mais comum utilizado para vedar silos é o filme de polietileno (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007). Entretanto, os filmes de polietileno apresentam permeabilidade ao oxigênio, que aumenta notadamente com a elevação da temperatura ambiental (DEGANO, 1999). Nos períodos quentes há movimento gasoso entre a massa ensilada e a massa de ar externa pela diferença de temperatura e pressão, então a lona se torna mais susceptível. Além disso, na escolha da lona é preferível optar pela cor branca, pois filmes de outras cores, especialmente os escuros, aumentam a permeabilidade ao oxigênio pela característica de absorver calor (TABACCO; BORREANI, 2002).

Apesar da relação da espessura e da cor com a permeabilidade ao oxigênio, a composição do material também parece ser um fator importante, atualmente está disponível no mercado filmes mais finos com baixa permeabilidade e alta resistência a rasgos, como é o caso dos filmes de poliamida. Este filme consiste em duas camadas externas de polietileno e uma central de poliamida, totalizando 125 μm de espessura (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007). Os trabalhos com esse filme se iniciaram nos anos 90, entretanto o

custo elevado do material causou desinteresse pela indústria (BORREANI; TABACCO; CAVALLARIN, 2007). Recentemente, foi desenvolvido um filme de poliamida de 45 μm de espessura, transparente, porém sem proteção contra a radiação ultra violeta (UV), o qual é utilizado sob uma lona protetora de polipropileno (BERNARDES; AMARAL; NUSSIO, 2009).

Borreani, Tabacco e Cavallarin (2007) avaliaram filmes plásticos com diferentes propriedades físico-químicas e observaram que os materiais confeccionados com polietileno coextrusado com poliamida, atuaram melhor como barreiras ao oxigênio. As silagens que foram vedadas com esse material apresentaram maior estabilidade aeróbia e menor perda de matéria seca comparada aos volumosos vedados com lonas convencionais de polietileno. Da mesma forma, Bernardes et al. (2009a) testando diferentes filmes plásticos na cobertura de silos de 500 L, observaram que o filme coextrusado com poliamida apresentou menores valores de pH e contagem de leveduras do os que filmes dupla-face.

Bernardes et al. (2009b) avaliaram a qualidade de silagens de milho sob filmes com barreira ao oxigênio em dois experimentos, os tratamentos foram: filme de polietileno dupla-face 180 μm e filme de poliamida (barreira ao oxigênio) transparente (45 μm) com cobertura adicional de filme de polietileno dupla-face (180 μm). No primeiro experimento houve redução nas contagens de fungos e de leveduras nas silagens sob o filme com barreira ao oxigênio, porém as perdas de matéria seca foram semelhantes para ambos os tratamentos. No segundo experimento não houve diferença significativa para os parâmetros avaliados. Os autores concluíram que a utilização do filme com barreira ao oxigênio proporcionou redução na população de microrganismos indesejáveis e melhoras no perfil fermentativo das silagens nas áreas periféricas do silo.

Estudando diferentes espessuras de filmes de polietileno e o impacto que os diversos níveis de permeabilidade ao oxigênio poderiam exercer sobre as perdas da silagem considerando a profundidade de 3 m ao longo do perfil, Kuzin e Savoie (2001) relataram que o filme com espessura aproximada de 100-200 μm promoveu menos de 2% de perdas de matéria orgânica após 7000 horas de armazenamento, enquanto que na espessura de 1 μm verificou-se 10% de perdas. Os autores concluíram que quando o período de estocagem for próximo de 125 dias pode-se utilizar filme com espessura de 0,1 mm e se o tempo for estendido para 300 dias a espessura deverá ser de 200 μm .

Snell et al. (2002) utilizando silos experimentais de 0,3 m³ para avaliar a influência de variações na coloração e na espessura do plástico sobre as condições de preservação e qualidade da silagem, sendo comparados cinco tipos de filmes plásticos: a) branco/9 μm , b)

transparente/150 µm, c) branco/15 µm, d) preto/150 µm, e e) branco/200 µm definiram que as características de fermentação das silagens não foram afetadas pelo tipo de filme e que houve diferença na temperatura da superfície externa dos plásticos, sendo que as silagens cobertas por plásticos preto e transparente tiveram valores superiores. Foi observada diferença de temperatura na camada de silagem próxima ao filme (0 a 20 cm), porém esta foi insuficiente para influenciar as condições de desenvolvimento de microrganismos.

2.3 Desempenho animal

A utilização de silagem de cana-de-açúcar como fonte de volumoso para a alimentação de ruminantes está cada vez mais visada pela comunidade científica. No entanto, quando se inclui esse alimento em programas de alimentação animal, devem ser levados em consideração às concentrações de energia, proteína, aminoácidos, vitaminas e minerais do produto e a categoria animal, suas exigências e os objetivos a serem atingidos. Esse volumoso apresenta baixos níveis de proteína e minerais, alta concentração de carboidratos solúveis, e a fibra é considerada de baixa digestibilidade (SIQUEIRA et al., 2012). Porém segundo Nussio, Schmidt e Queiroz (2005) a competência adquirida em formulações de rações contendo cana-de-açúcar e a adoção de boas práticas de manejo demonstram possibilidade de bons desempenhos, sob menor custo.

Pedroso et al. (2006) avaliaram o desempenho de novilhas da raça holandesas alimentadas com rações contendo silagens de cana-de-açúcar confeccionadas sem aditivos (controle) ou com aditivos químicos (uréia 0,5% na MV ou benzoato de sódio 0,1% MV) ou microbiano (*L. buchneri* $3,6 \times 10^5$ UFC/g MV). Esses autores verificaram taxas de ganho de peso médio diário 32 e 21% superiores à dieta controle, para as silagens de cana tratadas com *L. buchneri* e benzoato de sódio, respectivamente. A conversão alimentar para esses tratamentos seguiu tendência semelhante.

Schmidt et al. (2007) avaliando a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica observou que as silagens com aditivos químicos apresentaram menor teor de fibra e, conseqüentemente, foram mais digestíveis quando comparadas com aditivos microbianos ou controle. Também utilizando aditivos químicos em silagens de cana-de-açúcar Amaral (2007) não observou diferença na produção de leite de cabras quando essas consumiram silagem controle ou aditivadas com 1% de cal virgem ou 1% de calcário, apesar do consumo ter se apresentado menor quando os animais consumiram as silagens aditivadas. Já Mari (2008) observou menores ganhos de pesos diários para os animais consumindo silagem de cana-de-

açúcar aditivada com cal virgem (0,973 kg) ou carbonato de cálcio (0,989 kg) em relação aos animais consumindo silagem de cana sem aditivos (1,161 kg) ou aditivadas com *L. buchneri* (1,122 kg).

Em relação à comparação entre silagem de cana-de-açúcar e cana-de-açúcar *in natura*, Mendes, Susin e Nussio (2008) observou aumento da gordura do leite e melhora na eficiência alimentar quando cabras em lactação consumiram rações contendo silagem de cana-de-açúcar (com ou sem aditivos), quando comparados com cana-de-açúcar *in natura*. No mesmo sentido Pedroso et al. (2010) concluíram que vacas recebendo ração a base de silagem de cana-de-açúcar com aditivos podem melhorar a eficiência alimentar quando comparadas com cana *in natura*. A gordura no leite de vacas alimentadas com silagem inoculada com *L. buchneri* pode ser positivamente afetada, compensando pequenas reduções na produção de leite, permitindo a produção de 3,5% de gordura de leite.

A silagem de cana-de-açúcar, no entanto apresenta pontos controversos, e o que irá promover sucesso na qualidade do volumoso são basicamente as boas práticas de manejo no momento de confecção e utilização do material quando ofertado aos animais.

Referências

ALLI, I; BAKER, B.E.; GARCIA, G. Studies on the fermentation of chopped sugarcane. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 7, p. 411-417, 1982.

AMARAL, R.C. **Avaliação de aditivos químicos sobre as perdas e valor alimentício das silagens de cana-de-açúcar para ovinos**. 2007. 165 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

AMARAL, R.C.A.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; NUSSO, L.G.; MENDES, C.Q.M.; GASTALDELLO JUNIOR, A.L. Cana-de-açúcar ensilada com ou sem aditivos químicos: fermentação e composição química. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 8, p. 1413-1421, 2009.

ARANDA, E.; MENDOZA, G.D.; GARCIA-BOJALIL, C.; CASTREJON, F. Growth of heifers grazing star grass complemented with sugar cane, urea and a protein supplement. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 71, p. 201–206, 2001.

ÁVILA, C.L.S.; VALERIANO, A.R.; PINTO, J.C.; FIGUEIREDO, H.C.P.; REZENDE, A.V.; SCHWAN, R.F. Chemical and microbiological characteristics of sugar cane silages treated with microbial inoculants. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 1, p. 25-32, 2010.

BALIEIRO NETO, G.B.; FERRARI JUNIOR, E.; NOGUEIRA, J.R.; POSSENTI, R.; PAULINO, V.T.; BUENO, M.S. Perdas fermentativas, composição química, estabilidade aeróbia e digestibilidade aparente de silagem de cana-de-açúcar com aditivos químico e microbiano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 6, p. 621-630, jun. 2009.

BALIEIRO NETO, G.; SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; NOGUEIRA, J.R.; ROTH, M.T.P.; ROTH, A.P.T.P. Óxido de cálcio como aditivo na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 1231-1239, 2007.

BERGER, L.L.; FAHEY, G.C.; BOURQUIN, L.D.; TITGEMEYER, E.C. Modification of forage after harvest. In: FAHEY, D.C. (Ed.). **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society; Soil Science Society, 1994. p. 922-966.

BERNARDES, T.F.; AMARAL, R.C.; NUSSIO, L.G. Sealing strategies to control the top losses in horizontal silos. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro: FEALQ, 2009. p. 190-209.

BERNARDES, T.F.; NUSSIO, L.G.; AMARAL, R.C.; SCHOGOR, A.L.B. Sealing strategies to control the top losses of corn silage. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison: USDA, 2009a. p. 213- 214.

BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; MIYAZAKI, M.K.; ROTH, A.P.T.P. Aerobic deterioration in corn silage covered with oxygen barrier film in stack silos. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 15., 2009, Madison. **Proceedings...** Madison: USDA, 2009b. p. 213- 214.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 90, p. 4701-4706, 2007.

CARPENTER, C.E.; REDDY, D.S.; CORNFORTH, D.P. Inactivation of clostridial ferredoxin and pyruvate-ferredoxin oxidoreductase by sodium nitrite. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 53, n. 3, p. 549-552, 1987.

CARVALHO, B.F.; ÁVILA, C.L.S.; PINTO, J.C.; PEREIRA, M.N.; SCHWAN, R.F. Effects of propionic acid and *Lactobacillus buchneri* (UFLA SIL 72) addition on fermentative and microbiological characteristics of sugar cane silage treated with and without calcium oxide. **Journal of Grass and Forage Science**, Oxford, v. 10, p. 1365-2494, 2012.

CORRÊA, E.S.; PEREIRA, M.N.; OLIVEIRA, S.G. de; RAMOS, M.H. Performance of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. **Science Agricola**, Piracicaba, v. 60, p. 621-629, 2003.

DANIEL, J.L.P. **Contribuição da fração volátil no valor nutricional de silagens**. 2011. 162 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

DANIEL, J.L.P.; AMARAL, R.C.; GOULARD, R.S.; ZOPOLLATTO, M.; SANTOS, V.P.; TOLEDO FILHO, S.G.; CABEZAS-GARCIA, E.H.; LIMA, J.R.; SANTOS, M.C.; NUSSIO, L.G. Short-term effects of silage volatile compounds on feed intake and digestion in beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, p. 2321-2331, 2013.

DANNER, H.; HOLZER, M.; MAYRHUBER, E. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 1, p. 562-567, 2003.

DEGANO, L. Improvement of silage quality by innovative covering system. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 1999, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala: SLU, 1999. p. 296-297.

DIAS, F.L.F.; MAZZA, J.A.; MATSUOKA, S.; PERECIN, D.; MAULE, R.F. Produtividade da cana-de-açúcar em relação a clima e solos da região noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v. 23, p. 627-634, 1999.

DOMINGUES, F.N.; OLIVEIRA, M.D.S.; MOTA, D.A.; SIQUEIRA, G.R.; SANTOS, J.; TEIXEIRA JÚNIOR, D.J. Parâmetros bromatológicos da cana-de-açúcar tratada com doses crescentes de cal virgem (CaO) microprocessada em diferentes tempos de exposição ao ar. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: SBZ, 2007. 1 CD-ROM.

DRIEHUIS, F. Silage and safety and quality of dairy foods: a review. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Hammeenlinna, **Proceedings...** Hammeenlinna: MTT, 2012. p. 87-104.

EZEQUIEL, J.M.B.; QUEIROZ, M.A.A.; MENDES, A.R. NASCIMENTO FILHO, V. F. do; GALATI, R.L.; FEITOSA, J.V. Taxa de passagem, consumo e digestibilidade da fibra da cana-de-açúcar *in natura* ou hidrolisada em bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003. 1 CD-ROM.

FERREIRA, D.A.; GONÇALVES, L.C.; MOLINA, L.R.; CASTRO NETO, A.G.; TOMICH, T.R. Características de fermentação da silagem de cana-de-açúcar tratada com uréia, zeólita, inoculante bacteriano e inoculante bacteriano/enzimático. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 2, p. 423-433, 2007.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

GONCALVES, A.P. **Uso de uréia de liberação lenta em suplementos proteico-energéticos fornecidos a bovinos recebendo forragens de baixa qualidade**. 2006. 82 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

JAY, J.M. **Microbiologia moderna de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1994. 804 p.

- JOBIM, C. C., GONÇALVES, G. D. Microbiologia de forragens conservadas. In: _____. **Volumosos na produção de ruminantes: valor alimentício de forragens.** Jaboticabal: Funep, 2003. p. 1-26.
- KUZIN, V.; SAVOIE, P. Modeling air infiltration in bunker silos to optimize the cover. In: ANNUAL INTERNATIONAL MEETING SPONSORED, 2001, Sacramento. **Proceedings...** Saint Joseph: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2001. p. 10.
- LÄTTEMÄE, P.; LINGVALL, P. Effect of hexamine and sodium nitrite in combination with sodium benzoate and sodium propionate on fermentation and storage stability of wilted and long cut grass silage. **Swedish Journal of Agricultural Research**, Oslo, v. 26, p. 35-146, 1996.
- MARI, L.J. **Desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) fresca ou ensilada e o padrão de fermentação e a estabilidade aeróbia das silagens aditivadas.** 2008. 315 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.
- MATSUOKA, S.; HOFFMANN, H.P. Variedades de cana-de-açúcar para bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 1., 1993, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1993. p. 17-35.
- MAULE, R.F.; MAZZA, J.A.; MARTHA JR., G.B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, p. 295-301, 2001.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage.** 2nd ed. Marlow: Chalcomb Publ., 1991. 340 p.
- MENDES, C.Q.; SUSIN, I.; NUSSIO, L.G.; PIRES, A.V.; RODRIGUES, G.H.; URANO, F.S. Efeito do *Lactobacillus buchneri* na fermentação, estabilidade aeróbia e no valor nutritivo de silagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 12, p. 2191-2198, 2008.
- MIRANDA, D.C.L. **Perdas de matéria seca em silagem de cana-de-açúcar tratada com aditivos químicos e microbiológicos.** 2006. 74 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.
- MOON, N.J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 55, p. 453-460, 1983.
- MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and they implications for management. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 11, p. 2992-3002, 1988.
- NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2., 2004, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 2004. p. 1-33.

NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P.; PEDROSO, A.F. Silagem de cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO SOBRE FORRAGICULTURA E PASTAGENS TEMAS EM EVIDÊNCIA, 4., 2003, Lavras. **Anais...** Lavras: Ed. UFLA, 2003. p. 49-72.

NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P.; QUEIROZ, O.C.M. Alternativas de uso e manejo de cana-de-açúcar para bovinos. In: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS DE CORTE, 7., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: CBNA, 2005. p. 299-321.

PEDROSO, A.F. **Aditivos químicos e microbianos como inibidores da produção de etanol em silagens de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.).** 2003. 140 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; RODRIGUES, A.A.; SANTOS, F.A.P.; MOURÃO, G.B.; BARIONI JÚNIOR, W. Performance of dairy cows fed rations produced with sugarcane silages treated with additives or fresh sugarcane. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 1889-1893, 2010.

PEDROSO, A.F.P.; NUSSIO, L.G.; LOURES, D.R.S.; PAZIANI, S.F.; IGARASI, M.S.; COELHO, R.M.; RODRIGUES, A.A. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 3, p. 558-564, 2007.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; LOURES, D.R.S.; IGARASI, M.S.; COELHO, R.M.; PACKER, I.H.; HORII, J.; GOMES, L.H. Dinâmica da fermentação e da microflora epífita em silagem de cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 427-432, 2005.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; LOURES, D.R.S.; IGARASI, M.S.; MARI, L.J.; COELHO, R.M.; RIBEIRO, J.L.; ZOPOLLATTO, M.; HORII, J. Bacterial inoculants and chemical additives to improve fermentation in sugarcane (*Saccharum officinarum*) silage. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE PROCEEDINGS, 13., 2002, Auchincruive. **Proceedings...** Auchincruive, 2002. p. 66-67.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; BARIONI Jr., W. ; RODRIGUES, A.A.; LOURES, D.R.S.; CAMPOS, F.; RIBEIRO, J.L.; MARI, L.; ZOPOLLATTO, M.; JUNQUEIRA, M.; SCHMIDT, P.; PAZIANI, S.F.; HORII, J. Performance of holstein heifers fed sugarcane silages treated with urea, sodium benzoate or *Lactobacillus buchneri*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 4, p. 649-654, 2006.

ROTH, M.T.P.; SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; RESENDE, F.D.; ROTH, A.P.T.P.; MONTEIRO, R.R.; DOMINGUES, F.N. *Lactobacillus buchneri*, cal microprocessada e sua associação na ensilagem de cana-de-açúcar crua ou queimada. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: SBZ, 2007. 1 CD-ROM.

SANTOS, M.C. **Aditivos químicos para o tratamento da cana-de-açúcar in natura e ensilada (*Saccharum officinarum* L.).** 2007. 112 p. Dissertação (Mestrado em Ciência 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.; RIBEIRO, J.L. 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**, Viçosa, v. 37, n. 9, p. 1555-1563, 2008.

SAVOIE, P. Optimization of plastic covers for stack silos. **Journal of Agricultural Engineering Research**, Easton, v. 41, p. 65-73, 1988.

SCHMIDT, P. **Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar**. 2006. 228 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

SCHMIDT, P.; MARI, L.J.; NUSSIO, L.G.; PEDROSO, A.F.; PAZIANI, S.F.; WESCHSLER, 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**, Viçosa, v. 36, p. 1666-1675, 2007.

SIQUEIRA, G.R.; ROTH, M.T.P.; MORETTI, M.H.; BENATTI, J.M.B.; RESENDE, F.D. Uso da cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 13, n. 4, p. 991-1008, 2012.

SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; PIRES, A.J.V.P.; BERNARDES, T.F.; AMARAL, R.C. Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, p. 2000-2009, 2007.

SNELL, H.G.J.; OBERNDORFER, C.; LUCKE, W.; VAN DEN WEGHE, H.F.A. Effects of the colour and thickness of polyethylene film on ensiling conditions and silage quality of chopped maize, as investigated under ambient conditions and mini-silos. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 57, p. 342-350, 2002.

SPOELSTRA, S.F. Inhibition of clostridial growth by nitrate during the early phase of silage fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 34, p. 145-152, 1983.

TABACCO, E.; BORREANI, G. Extent of aerobic deterioration in farm maize silage as affected by silo management. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE PROCEEDINGS, 13., 2002, Auchincruive. **Proceedings...** Auchincruive: SAC, 2002. p. 178-179.

THUAULT, D.; BELIARD, E.; LE GUERN, J.; BOURGEOIS, C. Inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* by bacteriocin-like substances produced by lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 1145-1150, 1991.

WILKINSON, J.M. Silage and animal health. **Journal of Natural Toxins**, Amsterdam, v. 7, p. 221-232, 1999.

WOOLFORD, M.K. Microbial screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. **Journal of Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 26, p. 229-237, 1975.

WOOLFORD, M.K. The detrimental effect of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, Chalgrove, v. 68, p. 101–116, 1990.

3 CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DE CLOSTRÍDIOS EM SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR TRATADAS COM ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS

Resumo

O objetivo desse trabalho foi estudar estratégias de controle de clostrídios em silagens de cana-de-açúcar aditivadas com cal virgem. Os tratamentos foram: 1) controle; 2) 1,5% cal virgem (Cal); 3) 1,5% cal virgem + 5×10^5 ufc/g *Lactobacillus plantarum* Ma 18/5U (Cal+LP); 4) 1,5% cal virgem + 5×10^5 ufc/g *Lactobacillus buchneri* 40788 (Cal+LB); 5) 1,5% cal virgem + 0,07% nitrito de sódio (Cal+Nitrito); 6) 1,5% cal virgem + 0,15% benzoato de sódio (Cal+Benzoato). Como silos experimentais foram utilizados baldes plásticos com capacidade de 20 L. A cal não foi eficiente em diminuir perdas em relação ao controle (20,6% e 19,1%, respectivamente) já as combinações cal+Benzoato, cal+Nitrito, cal+LB e cal+LP, diminuíram perdas, apresentando os valores de 11,2%, 14,1%, 14,1% e 13,9%, respectivamente. A estabilidade aeróbia das silagens tratadas cal (172 h), cal+Benzoato (155 h) e cal+Nitrito (223 h), foram maiores em comparação às tratadas com cal+LB (49 h), cal+LP (48,4 h) e controle (51,9 h). A silagem controle apresentou menores contagens de clostrídios (3,26 log ufc/g) e os tratamentos Cal e Cal+LB apresentaram as contagens mais altas (6,74 log ufc/g e 5,96 log ufc/g, respectivamente), enquanto Cal+nitrito (5,24 log ufc/g), Cal+LP (4,63 log ufc/g) e Cal+benzoato (4,41 log ufc/g) apresentaram contagens intermediárias. Nenhum tratamento imposto foi capaz de controlar o crescimento de clostrídios estimulado pela cal virgem.

Palavras-chave: Cal virgem; Associação de aditivos; Perdas de matéria seca; Estabilidade aeróbia

Abstract

The aim of this study was to compare strategies to prevent clostridium grow in sugarcane silages added with lime. Treatments were Control: no additives; L: 1.5% lime; L + LP: 1.5% lime + *Lactobacillus plantarum* Ma 18/5U (5×10^5 cfu/g fresh forage); L + LB: 1.5% lime + *Lactobacillus buchneri* 40788 (5×10^5 cfu/g fresh forage); L + N: 1.5% lime + 0.07% sodium nitrite; L + B: 1.5% lime + 0.15% sodium benzoate. As experimental silos were used plastic buckets with a capacity of 20 L. Mini bags were prepared with the following treatments 1) control, 2) 1.5 % of lime and 3) 1.5 % of lime + 5×10^5 cfu/g of *L. plantarum*, in order to analyze the pH drop at the onset of fermentation. The lime was not effective in decreasing losses compared to control silages (20.6% and 19.1%, respectively) however the treatments lime+Benzoate, lime+nitrite, lime+LP and lime+LB, decreased losses, showing lower values: 11.2%, 14.1%, 14.1% and 13.9%, respectively. The aerobic stability of silages treated with lime (172 h), lime+Benzoate (155 h) and lime+Nitrite (223 h) were higher compared to those treated with lime+LB (49 h), lime+LP (48.4 h) and control (51.9 h). The control treatment showed the lowest counts of clostridia (3.26 log cfu/g) and treatment with lime and lime+LB had the highest counts (6.74 log cfu/g and 5.96 log cfu/g, respectively), while lime+nitrite (5.24 log cfu/g), lime+LP (4.63 log cfu/g) and lime+benzoate (4.41 log cfu/g) showed intermediate counts of clostridia. None of additives combined with lime were able to provide butyric acid free silages.

Keywords: Lime; Additives association; Dry matter losses; Aerobic stability

3.1 Introdução

A cana-de-açúcar é uma alternativa economicamente viável na maioria das simulações de custo de produção e mais que isso, tem gerado indicadores de desempenho animal satisfatórios quando comparada com qualquer outra fonte de alimento volumoso (NUSSIO; SANTOS; QUEIROZ, 2007).

Ensilar esta cultura é uma forma de viabilizar sua inserção em sistemas de produção, considerando que o corte diário requer grande demanda de mão-de-obra. No entanto, quando se ensila a cana-de-açúcar, a fermentação que ocorre naturalmente é predominantemente alcoólica (PEDROSO; NUSSIO; PAZIANI, 2005) e está associada a perdas elevadas de matéria seca e energia líquida (KUNG JR.; STANLEY, 1982; McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991; DANIEL; NUSSIO, 2011). Sugere-se que esta rota fermentativa ocorra devido a grande concentração de açúcares e população de leveduras epífitas, que metabolizam os açúcares liberando etanol e CO₂. Além disso, o teor de fibra da cana, que é de baixa qualidade, aumenta durante o processo de fermentação devido ao consumo de carboidratos solúveis.

No intuito de controlar perdas no processo de ensilagem da cana-de-açúcar, estratégias envolvendo aditivos químicos e microbianos têm sido recomendadas. Os aditivos químicos podem interferir na dinâmica fermentativa por alterar o pH, a pressão osmótica ou inibir de forma direta o desenvolvimento de microrganismos (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Entre os aditivos químicos propostos para ensilagem de cana, a cal virgem se destaca como apropriado para o controle perdas e ganhos no valor nutritivo da silagem, porém eleva o poder tampão da massa, dificultando o processo de acidificação e possibilitando o crescimento de microrganismos indesejáveis, em especial do gênero *Clostridium sp.*

A combinação de cal com outros aditivos de origem química ou microbiana poderia mitigar este problema. A partir desse contexto, o objetivo deste trabalho foi estudar estratégias de controle de clostrídios em silagens de cana-de-açúcar aditivadas com cal virgem.

3.2 Material e Métodos

O trabalho foi conduzido nas instalações do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ). O corte da cana-de-açúcar foi realizado aos 12 meses de crescimento vegetativo, a concentração média de sólidos no caldo da cana-de-açúcar determinada com refratômetro de campo (TOKYO® modelo 032) no momento da colheita foi 18° Brix. O que segundo Thiago (2008) leva a estimativa de 58% de NDT. A variedade utilizada foi a IAC 93 – 3046, colhida manualmente e posteriormente picada em picadora estacionária (Mentamit® Super 20T) ajustada para tamanho de partícula teórico de 10 mm.

Após a picagem, o material foi espalhado sobre lonas para aplicação e homogeneização dos aditivos. Os tratamentos utilizados foram:

- Controle – sem aditivo, adicionado de água destilada (5 L/t) para correção do teor de MS;
- Cal – 1,5% de Cal virgem;
- Cal+LP – 1,5% de Cal + *Lactobacillus plantarum* Ma 18/5U (5×10^5 ufc/g de forragem fresca);
- Cal+LB – 1,5% de Cal + *Lactobacillus buchneri* 40788 (5×10^5 ufc/g de forragem fresca);
- Cal+Nitrito – 1,5% de Cal e 0,07% Nitrito de sódio;
- Cal+Benzoato – 1,5% de Cal e 0,15% de Benzoato de sódio.

Como silos experimentais foram utilizados baldes plásticos com capacidade de 20 L e tampas próprias à vedação adaptadas com válvulas do tipo Bunsen, para que fosse possível o escape de gases e a avaliação das perdas gasosas durante a ensilagem. O abastecimento dos silos foi realizado em camadas de 10 a 15 cm e compactado por pisoteio humano. No fundo de cada balde foram colocados aproximadamente 2 kg de areia seca, separados da massa de forragem por tela fina de plástico e uma camada de tecido de algodão, com vista à avaliação quantitativa de efluentes. Após o enchimento, os silos foram fechados e a massa inicial foi registrada. Após a pesagem as tampas foram vedadas com fita plástica adesiva, para reduzir trocas gasosas.

No momento da ensilagem, a forragem tratada foi amostrada imediatamente após o tratamento e dividida em cinco subamostras. A primeira amostra foi utilizada para confecção de mini silos em sacos plásticos reforçados com o auxílio de uma embaladora a vácuo, modelo Jet25. Nos mini silos continham 250g de forragem dos seguintes tratamentos: controle, 1,5% de cal virgem e 1,5% de cal virgem + 5×10^5 ufc/g de *L. plantarum* (3 por tratamento por abertura). Os bags foram abertos nos dias 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20 e 70,

totalizando 81 bags. Amostras foram coletadas para determinação de pH ao longo da fermentação.

A segunda amostra foi usada para obtenção de extratos diluídos em água destilada que foram preparados para determinação do pH. A terceira amostra foi encaminhada para contagem de microrganismos, sendo os extratos diluídos e filtrados em solução Ringer (decimal seriada, 10^{-2} a 10^{-6}). Para determinação de fungos filamentosos e leveduras, placas com meio seletivo (Petrifilm 3M® YM) foram mantidas em BOD com temperatura de 25°C por 72 horas. Para contagens de bactérias ácido lácticas, as placas (Petrifilm 3M® AC) foram incubadas em jarras de anaerobiose e mantidas em BOD com temperatura de 33°C por 48 horas. Após os plaqueamentos para determinações de fungos, leveduras e bactérias lácticas, os tubos com os extratos diluídos (10^{-2} a 10^{-4}) foram imersos em banho Maria a 80°C para choque térmico (13 minutos). Em seguida, foi realizado plaqueamento em placas de Petri contendo meio reforçado para clostrídios adicionado de cicloserina e vermelho neutro (JONSSON, 1990), e as placas alocadas em jarras de anaerobiose e levadas a BOD por sete dias com temperatura de 37°C. Após as incubações, procedeu-se a contagem de microrganismos, em placas contendo mais de 20 e menos de 300, foram contados como unidades formadoras de colônia (UFC) e expressos como logaritmo na base 10.

A quarta subamostra foi usada para analisar a atividade de água com auxílio de um Higrômetro, modelo 650 Aw, marca TESTO®, onde a amostra de forragem ou silagem (25 gramas) foi acondicionada em recipiente de plástico com orifício na tampa, o que permite a introdução do sensor do aparelho.

A quinta subamostra foi desidratada em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas para determinação do teor de matéria seca (MS). Após a secagem, a amostra foi moída em moinho tipo Willey com peneira de malha 1 mm e armazenadas em recipientes de plástico. A composição bromatológica foi estimada por espectroscopia de reflectância de infravermelho proximal (NIRS). O equipamento utilizado foi o espectrômetro modelo NIRS 5000 (NIRSystems®, FOSS NIRSystems Inc., Silver Spring, MD, USA) acoplado a microcomputador equipado com *software* WinISI II versão 6.2 (Intrasoft International, PA). Após a coleta de espectros, os teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente ácido indigestível (FDNi) foram determinados com equações específicas para cana-de-açúcar.

Ainda com a amostra seca, foram determinados o poder tampão (PT, g ácido láctico/kg MS) das forragens tratadas (WEIßBACH, 1967) e o teor de carboidratos solúveis (CS) pelo

método fenol-sulfúrico (HALL, 2000). O coeficiente de fermentabilidade foi calculado como (WEIBBACH, 2011): $CF = MS (\%) + 8 \times CS(g/kg \text{ MS}) / PT (g \text{ ácido láctico/kg MS})$.

Decorridos 70 dias de armazenamento, a massa dos silos foi novamente quantificada e abertos. Após homogeneização da silagem, foram tomadas seis amostras. Quatro amostras foram utilizadas para determinação do teor de MS e das análises químicas, pH, microbiologia e atividade de água, conforme descrito anteriormente. Dos extratos preparados para determinação de pH, foram congeladas amostras para determinação de ácidos graxos voláteis, ácido láctico, etanol. Para análise de ácidos graxos voláteis (ácido acético e ácido butírico), 800 μL do extrato aquoso da silagem, juntamente com 200 μL de ácido fórmico e 100 μL de padrão interno foram transferidos para um frasco de vidro. A leitura foi realizada em cromatógrafo a gás (Hewlett Packard® 5890 series II) segundo Palmquist e Conrad (1971) e Nocek, Hart e Polan (1987). A concentração de ácido láctico foi determinada por método colorimétrico (PRYCE, 1969), onde as leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro MARCONI® Janway 6305, com $\lambda=565 \text{ nm}$.

O etanol foi determinado pelo Ultrasensitive Colorimetric Determination of Ethanol com $\lambda=565 \text{ nm}$, utilizando o EnzyChrom™ Ethanol Assay Kit (ECET-100) da empresa GENESE.

Também foi determinada a condutividade elétrica para quantificação da intensidade de rompimento celular com base no procedimento proposto por Kraus; Koeger; Straub (1997) e consistiu em agitar a forragem com água deionizada, filtragem e posterior leitura desta solução em um condutivímetro da marca DIGIMED® modelo CD 20, sendo os valores das leituras expressos em mS.cm^{-1} .

A quinta sub-amostra foi destinada para a determinação da estabilidade aeróbia, onde 4 kg de silagem foram colocados sem compactação em baldes de plástico sem tampa, os quais foram mantidos sob temperatura constante em câmara climática, com dispositivo programado para manter a temperatura média de 25°C , com $0,5^{\circ}\text{C}$ de variação tolerada, por período de 10 dias. No centro geométrico dos baldes foram acondicionados sensores de temperatura associados a sistema informatizado e eletrônico de aquisição de dados (*dataloggers* Chiplog EMPAC), programados para a tomada de temperatura da massa em intervalos constantes de 15 minutos. Com base nos dados de temperatura gerados pelos *dataloggers*, foram calculadas as seguintes variáveis: Tmax: temperatura máxima alcançada ($^{\circ}\text{C}$); Tmax: tempo para alcançar a temperatura máxima (horas); Tquebra: tempo, em horas, necessário para a temperatura da silagem atingir 2°C acima da temperatura ambiente; AC5: acúmulo de temperatura da amostra em relação à temperatura ambiente durante cinco dias de exposição

aeróbia (°C) e AC10: acúmulo de temperatura da amostra em relação à temperatura ambiente durante dez dias de exposição aeróbia (°C) (O'KIEL; CLANCY; DOYLE, 2001). A sexta amostra foi alocada em baldes pareados, submetidos às mesmas condições dos anteriores para determinações de pH e perda de MS. A massa dos baldes foi quantificada nos dias 0 (zero), cinco (5) e dez (10) e as amostras foram tomadas em dias alternados.

3.2.1 Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, totalizando 24 unidades experimentais. Os dados foram submetidos à análise de variância e as suas médias comparadas pelo Teste de Tukey (5%), utilizando-se o procedimento Mixed do SAS. As variáveis mensuradas mais de uma vez na mesma unidade experimental foram analisadas como medidas repetidas no tempo.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Caracterização da forragem fresca

A composição da cana-de-açúcar no momento da ensilagem está apresentada na Tabela 1. O teor de MS da forragem fresca aumentou aproximadamente 2 unidades percentuais com a inclusão de cal virgem (26,6% vs 28,5%). Rezende et al. (2011) ao adicionar esse aditivo na cana antes de ensilar também observou acréscimo de MS na forragem (25,3% vs 32,9%), segundo os autores a cal proporciona essa resposta devido a sua porcentagem de MS (99,0%). Da mesma forma Carvalho et al. (2012) relatou aumento de MS de 26,1% para 26,9% na forragem com adição de 1% de cal no material. Além disso, o fato da cal reagir com água e promover aquecimento da massa pode gerar desidratação do material, fazendo com que a MS aumente.

A adição da cal no momento da ensilagem também promoveu aumento nos teores de matéria mineral das forragens tratadas (6,1 vs 3,8 % da MS para o tratamento controle) devido ao fato de o aditivo utilizado ser de origem mineral e apresentar altas proporções desta fração em sua totalidade. Além disso, o aumento esperado na concentração de cinzas é maior do que o causado pela massa da cal adicionada, pois ocorre hidratação do aditivo. Considerando que a cal (óxido de cálcio = 56 g/mol) é convertida em hidróxido de cálcio (74 g/mol), o aumento esperado de MM seria aproximadamente 1,3 g/g de cal (74/56) (DANIEL et al., 2013).

Tabela 1 - Composição química da cana-de-açúcar tratada no momento da ensilagem

Parâmetro	Controle	Cal	Cal+Benzoato	Cal+Nitrito	Cal+LB ⁷	Cal+LP ⁸	Média
MS, % MN ¹	26,6	29,1	28,7	28,5	28,1	28,0	28,2
MM, % MS ²	3,83	6,61	6,09	7,54	6,13	6,97	6,20
PB, % MS ³	3,36	3,43	3,33	3,35	2,92	3,23	3,30
FDN, % MS ⁴	47,4	50,5	50,4	51,1	48,5	48,5	49,4
FDA, % MS ⁵	29,3	29,5	29,1	30,3	28,1	28,1	29,1
FDNi, % MS ⁶	25,1	18,8	20,4	18,1	20,2	17,4	20,0

¹Matéria seca; ²Matéria Mineral; ³Proteína bruta; ⁴Fibra insolúvel em detergente neutro; ⁵Fibra em detergente ácido; ⁶Fibra em detergente neutro indigestível; ⁷*Lactobacillus buchneri*; ⁸*Lactobacillus plantarum*

Os valores de PB estão de acordo com valores relatados por Schmidt et al. (2007) que observou dados de 3,34% da MS em cana-de-açúcar no momento da ensilagem, já os teores de FDN e FDA foram menores em relação aos valores observados por esses autores (54,60% e 36,70%, respectivamente). Ainda Daniel et al. (2013) analisando um conjunto de dados de composição de cana fresca, com ou sem cal verificou 53,5% de FDN e 32,9% de FDA. Os maiores teores de FDN e FDA nas amostras tratadas com cal virgem em relação ao tratamento controle, questionam a ação hidrolítica postulada a esse tratamento.

Na tabela 2, os teores de CS foram semelhantes dos reportados por Silva et al. (2008) que observou 41.14% na MS da variável na forragem fresca. Segundo Cabezas-Garcia (2011) a cana-de-açúcar é caracterizada pelas altas concentrações de CS solúveis, especialmente sacarose.

Vale ressaltar que a fração CS não é o mesmo que carboidrato não fibroso (CNF), mesmo que na cana-de-açúcar essas duas variáveis sejam bem parecidas, pois ainda há confundimento em publicações científicas entre CS e CNF (HALL, 2000). Nas plantas forrageiras, a soma dos açúcares simples e a frutose representam a fração CS, por outro lado o CNF é uma fração muito heterogênea e inclui qualquer carboidrato solúvel em detergente neutro, entre estes: 1) carboidratos associados ao conteúdo celular: açúcares, amido, 2) fibra solúvel em detergente neutro: substâncias pécticas, fructosanas e beta glucanas além de ácidos orgânicos e compostos associados (CABEZAS-GARCIA, 2011).

A atividade de água (Aw) da forragem foi ligeiramente menor que 94. O termo atividade de água se refere a água disponível para crescimento microbiano e reações que possam deteriorar os alimentos (DITCHFIELD, 2000). Segundo Jobim et al. (2007) o valor de Aw indica o nível de água em sua forma livre nos materiais e é expresso na escala de 0 a 1,0, 0 para materiais livre de água e 1,0 para água em sua forma líquida. Com a Aw próximo a 94 o ambiente fica mais propício para o crescimento de microrganismo, entre eles o clostrídio

que é uma bactéria que necessita de valores igual ou maior que 94 de Aw para crescer (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Tabela 2 - Aspectos de fermentabilidade e microbiologia da cana-de-açúcar tratada no momento da ensilagem

Parâmetro	Controle	Cal	Cal+ Benzoato	Cal+ Nitrito	Cal+LB ³	Cal+LP ⁴
MS, %	26,6	29,1	28,7	28,5	28,1	28,0
Aw ¹	91,8	93,2	92,1	92,3	90,9	92,1
pH	5,95	10,1	10,4	9,62	10,4	9,61
Poder tampão, g ác, láctico/kg MS	21,0	161	155	162	151	179
CS, g/kg MS	387	401	392	378	393	407
Coef, Fermentabilidade ²	183	48,0	48,0	47,0	49,0	46,0
BAL, log ufc/g	4,94	3,85	4,52	4,94	5,40	3,48
Leveduras, log ufc/g	5,00	3,00	3,60	3,90	4,32	4,18
Fungos, log ufc/g	4,23	<2	3,60	<2	3,48	3,60
Clostrídios, log ufc/g	3,81	3,40	3,00	3,60	3,78	3,70

¹Atividade de água; ²CF = MS (%) + 8 × [CS (g/kg) / Poder tampão (g/kg)]; ³*Lactobacillus buchneri*;

⁴*Lactobacillus plantarum*

Além disso, outro fator que pode estimular o crescimento de clostrídios é o alto valor de pH da massa e observando os valores de pH e poder tampão das forragens tratadas entre o controle, fica evidente o poder da cal virgem em alterar essas variáveis. Com a inclusão da cal, os valores de pH aumentaram aproximadamente 5 unidades percentuais e o poder tampão passou de 21 para 161 g de ácido láctico/kg MS.

Os coeficientes de fermentabilidade calculados segundo a equação proposta por Weißbach, Schmidt e Hein (1974) foram superiores ao valor crítico indicado na literatura (>45) para evitar a ocorrência de fermentação butírica (WEIßBACH, 2011). O coeficiente de fermentabilidade agrega características e discrimina forragens capazes de originar silagens anaerobicamente estáveis, em última análise, livres de ácido butírico (KAISER; WEIß; POLIP, 2002), ou seja, forragens que apresentem teor de MS adequado, alta concentração de CS e baixo poder tampão são caracterizadas adequadas para ensilar.

Os coeficientes de fermentabilidade da cana tratada com cal virgem e as tratadas com combinações de aditivos foram 281,3% menores comparados ao coeficiente de fermentabilidade do controle. Pelo fato da cal virgem aumentar o poder tampão, o coeficiente de fermentabilidade diminui. No entanto mesmo com a adição desse aditivo os valores ficaram acima do limite proposto por Weißbach (2011) (>45) para inibir a ocorrência de fermentação butírica.

A população média de bactérias ácido lácticas, leveduras, fungos e clostrídios foi de 4,5 log ufc/g, 4,4 log ufc/g, 3,7 log ufc/g e 3,5 log ufc/g, respectivamente. A população de bactérias ácido lácticas está de acordo com Pahlow (1986) que observou que a população de bactérias lácticas epifíticas nas forragens varia de 4 a 5 ufc/g MV.

Já a população de leveduras ficou abaixo dos dados encontrados na literatura, Pedroso (2003) observou população inicial de leveduras de 6,15 log ufc/g MV na cana-de-açúcar com 12 meses de idade, enquanto Bravo-Matins (2004) trabalhando com identificação de leveduras em silagens de diversas variedades de cana-de-açúcar, encontrou média de 6,5 log ufc/g MV na forragem fresca e Cabral Jr. et al. (2009) relataram média de 7,03 log ufc/g MV. No entanto, um fato interessante é que os aditivos químicos adicionados a forragem fresca no momento da ensilagem pareceram ter ação imediata sobre a população de leveduras observando que os valores encontrados para o tratamento controle foi 5 log ufc/g e para todas as forragens tratadas com cal obtiveram valores próximo de 3,8 log ufc/g. Segundo esses autores a alta contagem de leveduras associada a elevada concentração de açúcares solúveis é a provável causa da típica ocorrência de fermentação etanólica em silagens de cana-de-açúcar.

A população de fungos também foi inferior à observada por Ávila et al. (2010), que caracterizando a microbiologia da cana-de-açúcar, encontrou valores de 5,4 ufc/g de fungos filamentosos na forragem fresca.

Em relação à população de clostrídios na forragem fresca, Carvalho et al. (2012) observou população mais alta (5,3 ufc/g) que a encontrada no presente trabalho. No entanto a metodologia descrita por Jonsson (1990) preconiza a utilização de cicloserina no preparo do meio de cultura para plaqueamento de clostrídios, o que não consta do relato desses autores. Substratos como Reinforced Clostridium Medium (RCM), apresentam pouca ou nenhuma seletividade para crescimento de esporos, porém a cicloserina seleciona clostrídios inibindo o crescimento de microrganismos anaeróbios facultativos, pertencentes do gênero *Bacillus*, além disso, colônias de *Bacillus spp.* também podem ser distinguidas a partir de colônias de clostrídios com base em sua reação de cor em substratos contendo vermelho neutro (JONSSON, 1990).

3.3.2 Caracterização da silagem

Os valores referentes à composição química da silagem controle ou das tratadas estão apresentados na Tabela 3, onde se pode observar que o teor de MS do tratamento controle foi

menor para às silagens tratadas, como já discutido anteriormente, a cal virgem aumenta essa variável devido aos fatores mencionados.

O teor de matéria mineral (MM) também aumentou em todos os tratamentos inclusive no controle, esse fato se deve ao consumo e oxidação de compostos solúveis da forragem durante o processo de fermentação, onde são gerados ácidos, ésteres, álcoois, CO₂ e H₂O, assim outras porções da forragem se concentram, MM é um deles. No entanto, pode-se observar também que a fração MM para o tratamento controle foi de 5,6% da MS e a MM para as silagens tratadas foi em média 8,1% da MS, essa reposta é devido ao fato da cal virgem ser de origem mineral e aumentar esse conteúdo no material, como relatado anteriormente.

Tabela 3 - Composição química de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (controle) e tratadas com combinações de aditivos

Item	Tratamento						EPM	P
	Controle	Cal	Cal+Benzoato	Cal+Nitrito	Cal+LB ⁷	Cal+LP ⁸		
MS, % MN ¹	22,4 ^c	24,9 ^b	26,6 ^a	25,7 ^{ab}	25,3 ^b	25,2 ^b	0,27	<0,01
MM, % MS ²	5,60 ^b	7,89 ^a	8,10 ^a	8,05 ^a	8,07 ^a	8,45 ^a	0,20	<0,01
PB, % MS ³	3,73 ^a	2,63 ^b	2,67 ^b	2,57 ^b	2,51 ^b	2,47 ^b	0,06	<0,01
FDN, % MS ⁴	62,8 ^a	61,3 ^a	55,9 ^b	61,3 ^a	54,6 ^b	53,9 ^b	1,27	<0,01
FDA, % MS ⁵	38,1 ^a	37,3 ^a	33,4 ^b	36,3 ^a	33,6 ^b	32,9 ^b	0,39	<0,01
FDNi, % MS ⁶	33,7 ^a	19,8 ^b	20,4 ^b	18,7 ^b	18,6 ^b	17,5 ^b	0,58	<0,01

¹Matéria seca; ²Matéria Mineral; ³Proteína bruta; ⁴Fibra em detergente neutro; ⁵Fibra em detergente ácido; ⁶Fibra em detergente neutro indigestível; ⁷Cal+*Lactobacillus buchneri*; ⁸Cal+*Lactobacillus plantarum*

O teor de PB no momento da abertura dos silos foi significativamente menor ($P<0.01$) para as silagens aditivadas com cal em relação ao controle (2,6% vs 3,7%), possivelmente ocorreu proteólise na forragem ensilada, pois houve fermentação clostrídica no material, e clostrídios proteolíticos degradam proteína à amônia. As bactérias do gênero *Clostridium*, podem ser divididas em três grupos: as que produzem ácido butírico pela fermentação de açúcares; as de caráter proteolítico, degradando aminoácidos, e as que degradam tanto açúcares quanto aminoácidos (PAHLOW et al., 2003). Além disso, o maior consumo de açúcares na silagem controle, provavelmente permitiu que ocorresse maior concentração de PB, semelhantemente ao ocorrido com a fração MM.

Na Tabela 3 ainda estão apresentados os valores das frações fibrosas das silagens, todas as silagens apresentaram concentração mais alta das frações fibrosas em relação à cana fresca, esse fato pode ser resposta de vários processos ocorridos durante a fermentação, pois durante o processo de fermentação ocorre consumo de componentes orgânicos solúveis da forragem para a produção de produtos finais de fermentação (ácidos, álcoois, ésteres, cetonas

e aldeídos). Além disso, ocorrem perdas de MS e gases que são ainda maiores com a presença de microrganismos indesejáveis na massa.

Alcântara et al. (1989), observaram elevação dos componentes da parede celular em silagens em relação a cana fresca, esses autores encontraram na cana ensilada após 30 dias de fermentação, aumento de 17 unidades percentuais de FDN (50,2% vs 67,4%) e de 9 unidades percentuais no FDA (34,9% vs 44,1%). Entretanto, alguns aditivos são capazes de diminuir perdas que ocorrem durante a fermentação, assim a concentração de componentes não degradados se mantém inferior comparativamente aos tratamentos com maiores perdas. Balieiro Neto et al. (2005) observaram menores teores de FDN e FDA na silagem de cana-de-açúcar tratada com 2,0% de cal virgem (49,4% e 36,52%, respectivamente). Já no presente estudo, os materiais tratados com cal+Benzoato, cal+LB e cal+LP conseguiram manter valores de FDN e FDA mais baixos, em relação às silagens controle ou as tratadas com cal e cal+Nitrito. A explicação para as frações fibrosas dos tratamentos controle, cal e cal+Nitrito terem permanecido mais altas provavelmente é devido ao fato de que as silagens controle e tratadas com cal apresentaram maiores perdas de MS (Tabela 4) em relação aos outros tratamentos.

As perdas gasosas (Tabela 4) foram mais altas para as silagens controle, tratadas com cal e cal+Nitrito e a produção de etanol foi mais alta para o tratamento controle enquanto que a concentração de ácido butírico mais alta para as silagens tratadas com cal+Nitrito (Tabela 5). Esses produtos de fermentação são geradores de perdas nas silagens, pois na conversão de açúcar a etanol ou a ácido butírico ocorrem perdas na forma de CO₂ (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi significativamente menor para as silagens tratadas em relação ao controle (19,0% vs 33,7%), esse resultado pode ser pelo fato de ter ocorrido menores perdas de açúcares nas silagens tratadas e, assim menor concentração do FDNi em relação ao controle. Apesar da recomendação da cal virgem como um aditivo para melhorar o valor nutritivo da cana de açúcar por meio de possível hidrólise da fibra (KLOPFENSTEIN, 1978; OLIVEIRA et al., 2008), uma meta-análise recente com dados de cana-de-açúcar fresca tratada com virgem (DANIEL et al., 2013) mostra que ao contrario da expectativa, quando a cana foi tratada com cal houve aumento quadrático de FDN, FDNi e lignina, ou seja, o fato da cal diminuir perdas e aumentar o valor nutritivo em silagens de cana pode estar mais associado a conservação de açúcares do que a hidrólise da fibra.

Tabela 4 - Contagens microbianas, perdas e parâmetros físico-químicos de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (controle) e tratadas com combinações de aditivos

Item	Tratamento						EPM	P
	Controle	Cal	Cal+ Benzoato	Cal+ Nitrito	Cal+LB ²	Cal+LP ³		
Aw ¹	93,5	93,9	93,0	93,0	92,8	93,4	0,48	0,61
Condutividade, mS	1,51 ^b	2,77 ^a	2,90 ^a	2,92 ^a	2,89 ^a	2,93 ^a	0,13	<0,01
pH	3,62 ^c	4,78 ^{ab}	4,54 ^{ab}	4,83 ^a	4,41 ^b	4,51 ^{ab}	0,09	<0,01
BAL, log ufc/g	7,52	7,82	8,13	7,90	8,62	7,44	0,21	0,06
Leveduras, log ufc/g	2,70 ^{ab}	2,60 ^{ab}	<2,00 ^b	3,16 ^a	3,56 ^a	3,84 ^a	0,32	<0,01
Fungos, log ufc/g	4,15	2,22	2,00	3,07	3,00	2,30	0,46	0,10
Clostrídios, log ufc/g	3,26 ^c	6,74 ^a	4,41 ^{bc}	5,24 ^b	5,96 ^a	4,63 ^b	0,29	<0,01
Efluente, kg/t MV	20,3	24,7	20,2	20,73	26,1	23,1	1,61	0,08
Perda gasosa, %	14,4 ^a	10,9 ^{ab}	6,66 ^b	9,14 ^{ab}	6,55 ^b	8,14 ^b	1,41	<0,01
Perda de MS, %	20,6 ^a	19,1 ^a	11,2 ^b	14,1b	14,1 ^b	13,9 ^b	0,86	<0,01

¹ Atividade de água; ²Cal+*Lactobacillus buchneri*; ³Cal+*Lactobacillus plantarum*

A Aw não diferiu entre os tratamentos e os valores ficaram próximos de 93, como pode ser observado na Tabela 4. Os valores de atividade de água abaixo de 94 e MS entre 40 e 45% são indicados na literatura como limites para inibição do crescimento de clostrídios (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Esses dados foram confirmados por experiências mais recentes (KAISER et al., 2005; PAULY et al., 2008), onde ambos mostraram que o teor de MS mais alto alta inibe o desenvolvimento de clostrídios.

O valor de condutividade elétrica foi maior para as silagens tratadas com algum aditivo em relação ao controle. Segundo Jobim et al. (2007) a condutividade elétrica é definida como a capacidade que a água possui de conduzir corrente elétrica, ou seja, este parâmetro está relacionado com a presença de íons dissolvidos na água, que são partículas carregadas eletricamente, dessa forma, quanto maior for a quantidade de íons dissolvidos, maior será a condutividade elétrica. Assim, a maior condutividade elétrica decorrente das silagens tratadas provavelmente se deve a elevada concentração de íons causada na massa pela adição de Cal ($\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Ca}(\text{OH})_2 \leftrightarrow \text{Ca}^{++} + 2 \text{OH}^-$).

O pH foi significativamente ($P < 0.01$) maior para as silagens com cal em relação ao controle devido ao poder alcalino desse aditivo. Os altos valores de pH em silagens tratadas com óxido de cálcio estão de acordo com os observados por Balieiro Neto et al. (2005), que trabalhando com diferentes doses de óxido de cálcio em silagem de cana-de-açúcar, observaram pH final de 4,44 para as silagens com 1.0% de CaO e 3,66 para a silagem controle. Cavali et al. (2006) ao adicionar 1,0 e 1,5% de óxido de cálcio à silagem de cana-de-açúcar, observaram valores de 4,3 e 4,8, respectivamente. Segundo Pedroso et al. (2007),

silagens de cana-de-açúcar tratadas com agentes alcalinizantes geralmente apresentam pH superior ao nível máximo considerado adequado à estabilização de forragens ensiladas.

Sendo assim, se preconizou nesse trabalho utilizar aditivos que pudessem minimizar os efeitos negativos da cal, como o *L. plantarum*, esse aditivo é composto por bactérias homoláticas que fermentam com eficiência o açúcar a ácido lático, ou seja, com uma molécula de glicose ela é capaz de produzir dois ácido lácticos sem perdas de MS (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991) e dessa forma é capaz de abaixar o pH da massa rapidamente. Assim com a utilização de bags com os tratamentos controle, cal e cal+LP, foi possível observar a queda do pH durante o tempo de fermentação e como está representado na Figura 1 a silagem de cana-de-açúcar sem aditivos apresenta queda de pH logo no início da fermentação (3 dias). Esse fato é devido a grande quantidade de açúcar, ou seja, substratos para a produção de ácidos e também à falta de resistência ao abaixamento de pH, como indicado pelo baixo poder tampão. Já quando se adiciona cal o pH se eleva no início e depois começa a cair mais lentamente que o controle e com a combinação da cal com *L.plantarum* o pH final ficou um pouco mais baixo, porém ainda mais alto que o controle.

A população de bactérias ácido lácticas tendeu ($P=0.06$) ser maior para os tratamentos cal+benzoato e cal+LB, a combinação cal+LB também apresentou maior concentração de ácido lático ($P<0.01$) e numericamente a maior concentração de ácido acético ($P=0.07$). *L. buchneri* é um aditivo composto por bactérias heteroláticas que produzem ácido lático e ácido acético (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991), ou seja, esses números já eram de se esperar e, provavelmente, o tratamento com benzoato apresentou alta população de BAL e concentração de ácido lático devido a interferência que esse aditivo é capaz de proporcionar na população de leveduras, fazendo com que a competição por substratos entre leveduras e BAL diminua, favorecendo BAL.

Além disso, todas as silagens tratadas com cal apresentaram altas concentrações de ácido lático, esse fato pode ser devido ao efeito que a cal impõe barreira ao abaixamento de pH e o sistema fermentativo é forçado a produzir mais ácidos, ou seja, a população bacteriana encontra dificuldade em estabilizar o meio e se torna necessário produzir mais ácidos para abaixar o pH.

Figura 1 - pH de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (controle), tratada com 1,5% de cal virgem (cal) ou tratada com 1,5% de cal virgem + 5×10^5 ufc/g de *L. plantarum* (cal+LP). $P < 0,01$ para interação tratamento $\times$ tempo

Santos et al. (2008) avaliando a utilização de óxido de cálcio na ensilagem de cana-de-açúcar, observaram maiores valores de pH nas silagens com 1 e 1,5% (4,09 e 4,46) em relação a silagem sem aditivo (3,46) e, também observaram maiores concentrações de ácido lático nas silagens com maiores valores de pH. Os autores justificam que o aditivo tem ação tamponante sobre os ácidos produzidos durante a fermentação e dessa forma a dissociação do aditivo químico geram cargas aniônicas (hidroxilas) capazes de neutralizar os íons de hidrogênio oriundos dos ácidos orgânicos, principalmente do ácido lático. Assim, silagens com altos teores de ácido lático podem apresentar valores altos de pH, contrariando o ocorrido em fermentações convencionais, devido a ação tamponante dos aditivos químicos.

Também, o óxido de cálcio eleva o pH da forragem fazendo com que essas silagens apresentem maior pH mesmo em concentrações semelhantes de ácido lático. Por outro lado, a maior conversão de açúcares a ácido lático serve para maior conservação de substratos na silagem e pode diminuir a concentração de outros produtos geradores de perdas. Da mesma forma, Owens, Meiske e Goodrich (1969) trabalhando com 1,0% de carbonato de cálcio, um aditivo alcalino, em silagem de milho, encontraram valores de pH de 4,3 para as silagens aditivadas e de 3,9 para as silagens controle e a concentração de ácido lático foi de 7,9% da MS na silagem com carbonato de cálcio contra valores de aproximadamente 4,0% da MS para a silagem controle.

Foi observada concentração média de ácido acético de 6,9% da MS e houve tendência ($P=0,07$) de maior concentração para o tratamento cal+LB, isso porque o *L. buchneri* é uma bactéria heterofermentativa que produz ácido acético com base no uso de ácido láctico em sua rota de fermentação (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Zopollatto, Daniel e Nussio (2009) analisando dados de silagens de diferentes culturas observaram que a concentração máxima de ácido acético encontrado em silagem de cana-de-açúcar foi 9,3% da MS.

Tabela 5 - Produtos de fermentação de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (controle) e tratadas com combinações de aditivos

Item	Tratamento						EPM	P
	Controle	Cal	Cal+ Benzoato	Cal+ Nitrito	Cal+LB ¹	Cal+LP ³		
CS, % MS ¹	2,80	3,08	3,05	5,36	3,41	3,71	0,66	0,13
pH	3,62 ^c	4,78 ^{ab}	4,54 ^{ab}	4,83 ^a	4,41 ^b	4,51 ^{ab}	0,09	<0,01
Ác, láctico, % MS	3,53 ^c	7,12 ^b	9,15 ^b	5,62 ^b	11,5 ^a	8,67 ^b	0,36	<0,01
Ác, acético, % MS	6,46	6,89	7,77	6,28	7,91	6,62	0,42	0,07
Ác, propiônico, % MS	0,560	0,525	0,645	0,460	0,650	0,495	0,13	0,84
Ác, iso-butírico, % MS	0,412 ^b	0,521 ^{ab}	0,573 ^{ab}	0,392 ^c	0,672 ^a	0,561 ^{ab}	0,07	<0,01
Ác, butírico, % MS	0,672 ^b	1,94 ^{ab}	1,38 ^{ab}	2,23 ^a	1,43 ^{ab}	2,18 ^{ab}	0,35	<0,01
Ác, iso-valérico, mg/kg	<100 ^b	117 ^a	105 ^{ab}	127 ^a	116 ^a	108,71 ^a	24,0	<0,01
Ác, valérico, mg/kg	145	147	87,4	140	128	119,32	32,1	0,78
Lático/Acético	0,471 ^c	0,983 ^{ab}	1,19 ^{ab}	0,894 ^b	1,40 ^a	1,26 ^{ab}	0,09	<0,01
Etanol, % MS	13,2 ^a	5,77 ^c	7,64 ^{bc}	4,36 ^c	9,12 ^b	5,43 ^c	0,23	<0,01

¹Carboidrato solúvel; ²*Lactobacillus buchneri*; ³*Lactobacillus plantarum*

A população de fungos também não se diferenciou entre os tratamentos ($P=0,10$), com média de 2,8 log ufc/g, no entanto, o tratamento controle apresentou a maior população desse microrganismo e o aditivo que controlou com maior eficiência a população de fungos foi a combinação de cal+Benzoato. Em relação à população de leveduras, a cal não foi capaz de inibir esses microrganismos quando comparada com o controle. Apesar disso de forma que o tratamento cal+Benzoato diminuiu a população de fungos também diminuiu a contagem de leveduras. O benzoato de sódio tem grande influência na população de leveduras e fungos e é capaz de controlar perdas em silagens de cana-de-açúcar. O benzoato quando adicionado à massa tem comportamento de ácido fraco (ácido benzóico) e os ácidos fracos podem inibir a população desses microrganismos (MOON, 1983).

As combinações cal+Nitrito, cal+LP e cal+LB apresentaram as contagens mais altas de leveduras. A utilização do *L. plantarum* aumentou as contagens de leveduras pelo fato de

produzir essencialmente ácido láctico, o que também serve como substrato para leveduras como o açúcar (WILKINSON; DAVIES, 2012), facilitando a ação das mesmas.

O *L. buchneri* normalmente interfere no crescimento de leveduras por produzir ácido acético, composto capaz de inibir esse microrganismo (MOON, 1983), no entanto esse tratamento apresentou a concentração mais alta de ácido láctico, o que pode ter, ao contrário, favorecido a alta população de leveduras.

Observando valores de população de leveduras da literatura consultada pode-se observar que os valores são mais altos que os encontrados nesse trabalho. Bravo-Martins et al. (2006) verificaram que as populações de levedura na silagem de diferentes variedades de cana-de-açúcar variou de 6,43 e 6,66 log ufc/g, Ávila et al. (2009) observaram uma população de levedura de 7,1 log ufc/g em silagens sem aditivos, Zopollatto, Daniel e Nussio (2009) encontraram 5,6 log ufc/g de leveduras em silagens de cana e Carvalho et al. (2012) observaram uma população média de 4,3 log ufc/g em silagens com ácido propiônico ou *L. buchneri* e 5,9 log ufc/g em silagens tratadas com cal+ácido propiônico ou cal+ *L. buchneri*. Não era esperado que *L. buchneri* pudesse remeter em silagem com aumento expressivo de ácido láctico e sim de ácido acético. Não há explicação aparente para essa ocorrência.

A concentração de etanol, no entanto, não teve relação direta com a população de leveduras, todos os tratamentos diminuíram a concentração de etanol em relação ao controle. Uma explicação para isso é que apesar dos aditivos não diminuírem a contagem de leveduras, provavelmente inibiu a atividade desses microrganismos para produção de etanol. Da mesma forma Carvalho et al. (2012) também não observou relação direta entre levedura e etanol e as silagens tratadas com ácido propiônico ou *L. buchneri* apresentaram em média 3.6% de etanol, enquanto nos tratamentos com combinações cal+ácido propiônico ou cal+ *L. buchneri*, as concentrações de etanol foram em média de 0,6%.

A população de clostrídios presente na silagem foi alta e diferente entre os tratamentos. O controle apresentou menor população e as silagens tratadas com cal e cal+LB apresentaram as contagens mais altas. Como já foi comentado, a utilização de cal virgem encoraja o crescimento de clostrídios e a combinação desse aditivo com *L. buchneri* não foi eficiente em inibir o crescimento desse microrganismo. Curiosamente as silagens tratadas com cal+Nitrito também apresentaram consideráveis populações de clostrídios, levando em consideração que o intuito da utilização desse tratamento era controlar esses microrganismos. De acordo com Woolford (1975), o nitrito de sódio inibe o crescimento de bactérias formadoras de esporos, então se pode dizer que o nitrito não apresentou o efeito esperado. Hipoteticamente as doses de nitrito utilizadas foram abaixo do ótimo (0,07% Nitrito de sódio),

ou, como pode-se observar na Tabela 4, as silagens tratadas com cal+Nitrito tiveram pH final alto, o que pode ter favorecido o crescimento desses microrganismos e prejudicado o efeito desse tratamento.

O tratamento cal+benzoato foi o mais eficiente em controlar clostrídios, a ação germicida do benzoato (WOOLFORD, 1975) pode ter inibido o crescimento do microrganismo no início da ensilagem. Sabendo-se que o pH ótimo para o crescimento de clostrídios encontra-se em torno de 7,0 a 7,4 (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991) é provável que com o decorrer da fermentação o pH começou a abaixar, mesmo que lentamente por causa da presença de cal virgem, mas o meio proporcionou a dificuldades ao crescimento da população de clostrídios.

Devido às altas contagens de clostrídios, as silagens apresentaram teores de ácido butírico apreciáveis, sendo que a menor concentração foi para silagem controle (0,67% MS) e a maior concentração para a silagem tratada com cal+Nitrito (2,23% MS). Porém, todas as silagens apresentaram fermentação clostrídica, pois de acordo com Kaiser, Weiß e Polip (2002) silagens que apresentam fermentação clostrídicas são caracterizadas pelo teor de ácido butírico >0,3% MS.

Os ácidos iso-butírico, valérico e iso-valérico também foram encontrados nas silagens, esses compostos são típicos da degradação de proteína, neste caso, muito provavelmente pela ação de clostrídios.

O tratamento que apresentou a menor concentração de iso-butírico foi a combinação de cal+Nitrito e a maior concentração foi para o tratamento cal+LB. As concentrações de ácido valérico não se diferenciaram entre os tratamentos ($P=0,78$) e, a concentração do ácido iso-valérico ficou abaixo do limite de detecção no controle, enquanto que a maior concentração foi para o tratamento cal.

A cal virgem é utilizada como aditivo em silagens de cana-de-açúcar no intuito de minimizar perdas. Balieiro Neto et al. (2007) avaliando o efeito de óxido de cálcio em silagens de cana-de-açúcar, observou que silagens aditivadas com 2% do aditivo apresentaram 88,76% de recuperação da MS e Santos et al. (2008) observou 84,11% de recuperação da MS para a silagem de cana-de-açúcar aditivada com 1,5% cal virgem, no entanto, não foi o que ocorreu nesse trabalho, pois quando foi utilizada somente a cal virgem como aditivo, essa não foi eficiente em diminuir perdas em relação ao controle (Tabela 4).

Os valores de perdas das silagens controle e aditivadas com cal se assemelham às perdas de MS em silagens de cana sem aditivo observada por Balieiro et al. (2009) de 19,5% e Pedroso et al. (2007) de 18,3%. Já a combinação da cal virgem com aditivos químicos e

microbianos apresentaram valores de perdas de MS significativamente menor (Tabela 4). Possivelmente as silagens controle sofreram mais perdas devido ao maior consumo de açúcares solúveis e maior concentração de etanol, já as silagens aditivadas com cal apresentaram as maiores contagens de clostrídios, que também são geradores de perdas, pois com uma molécula de glicose geram uma de ácido butírico e 2 CO₂ (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

A produção de efluente não diferenciou significativamente (P=0,08) entre os tratamentos. Os fatores que influenciam a produção de efluente são MS, tipo e dimensionamento de silo, grau de compactação, efeito do tipo de corte e aditivos. Além disso, provavelmente o teor de MS da forragem fresca esteve adequado para ensilagem, pois segundo Jones e Jones (1995), teores 25% de MS seriam suficientes para evitar a produção significativa de efluente. No mesmo sentido, Igarasi (2002) encontrou regressão exponencial com MS para prever a produção de efluente, revelando tendência para diminuição de efluente (38,3 para 9,3 L/t) quando houve aumento de 20 para 30% de MS em silagens de capim tropicais.

Quando o silo é aberto a silagem fica exposta ao ar por algum tempo até ser fornecida ao animal e o painel pode ficar exposto a oxidação até a próxima retirada de silagem. Com isso alguns microrganismos indesejáveis como fungos e leveduras podem se proliferar, consumindo CS e ácidos orgânicos presentes no material e causar a quebra da estabilidade aeróbia com picos de temperatura, aumento do pH e liberação de CO₂ (RAJIT; KUNG JR., 2000; WEINBERG; CHEN; SOLOMON, 2008). A utilização de aditivos que possam inibir esses microrganismos como a cal virgem se torna importante, e nesse experimento, esse aditivo usado exclusivo ou combinado com benzoato e nitrito foi capaz de aumentar a estabilidade aeróbia.

De acordo com Pedroso (2003) alguns produtos químicos utilizados como conservantes na indústria alimentícia tem efeito na estabilidade aeróbia de silagens. Segundo Woolford (1975) o ácido benzóico mostrou poder de inibição no crescimento de leveduras em testes laboratoriais e o benzoato de sódio combinado a hexamina reduziu o número de leveduras e perdas de CS quando essas silagens ficaram expostas ao ar (LATTEMAE; LINGVALL, 1996).

Tabela 6 - Estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar sem aditivo (controle) e tratadas com combinações de aditivos

Item	Tratamento						EPM	P
	Controle	Cal	Cal+ Benzoato	Cal+ Nitrito	Cal+ LB ¹	Cal+ LP ²		
Estabilidade aeróbia, h	51,9 ^b	172 ^a	155 ^a	223 ^a	49,0 ^b	48,4 ^b	16,0	<0,01
Temp, acumulada 5d, °C	36,8 ^a	0 ^c	0 ^c	0 ^c	21,20 ^b	17,4 ^b	2,54	<0,01
Temp, acumulada 10d, °C	75,1 ^a	6,70 ^c	13,8 ^c	1,29 ^c	33,2 ^{bc}	42,0 ^b	4,56	<0,01

¹ *Lactobacillus buchneri*; ² *Lactobacillus plantarum*

O ácido benzoico é um ácido fraco e age da mesma forma que o ácido acético na inibição de microrganismos deterioradores, que segundo Moon (1983) o efeito antimicrobiano desse ácido orgânico depende de seu pKa e do pH do meio. O ácido butírico é um ácido ainda mais fraco que o ácido acético e quando presente na silagem também melhora a estabilidade aeróbia (ADESOGAN et al., 2004). No caso do tratamento cal+Nitrito, as silagens apresentaram maiores concentrações de ácido butírico e numericamente foi o tratamento que apresentou a maior estabilidade aeróbia.

Já a cal combinada com o *L. buchneri* e o *L. plantarum* não foram capazes de melhorar a estabilidade em relação ao tratamento controle, apesar do *L. buchneri* ser representante de bactérias heterofermentativas que produzam ácido acético e são eficientes em aumentar a estabilidade aeróbia (RAJIT; KUNG JR., 2000).

As concentrações de ácido acético (Tabela 5) foram numericamente maior ($P=0,07$) para o tratamento com *L. buchneri*, no entanto essa concentração não foi suficiente para aumentar a estabilidade aeróbia.

Já quando Mendes, Susin e Nussio (2008) utilizaram *L. buchneri* em silagens de cana-de-açúcar, observaram aumento na concentração de ácido acético (4,7 vs 5,7% da MS) e de estabilidade aeróbia (56 vs 92 horas). Queiroz et al. (2013) também observou aumento de ácido acético (2,78 vs 3,19% da MS) e aumento de 64% de estabilidade aeróbia em silagens aditivas com *L. buchneri*.

No presente trabalho a cal virgem pode ter interferido no efeito do ácido acético sobre a estabilidade aeróbia, da mesma forma que interferiu na queda do pH, devido a sua ação tamponante sobre os ácidos produzidos durante a fermentação.

O *L. plantarum* é uma bactéria homofermentativa, essas bactérias são eficientes na produção de ácido láctico, fazendo com que o pH diminua com mais rapidez (McDONALD et al., 1991), então esse microrganismo foi utilizado em combinação com a cal na tentativa de ajudar a abaixar o pH da silagem. Zopollatto, Daniel e Nussio (2009) avaliando resultados de diferentes experimentos observaram redução de 37,5% nos valores de pH em silagens

inoculadas com as bactérias homofermentativas, comprovando a eficácia do ácido lático em diminuir o pH na ensilagem. No entanto, já se sabe que o ácido lático não inibe leveduras e fungos, pelo contrário, serve de substrato para essa microbiota e dessa forma esse aditivo não é eficiente em melhorar a estabilidade aeróbia (WILKINSON; DAVIES, 2012), como apresentado na Tabela 6.

O acúmulo de temperatura após a abertura do silo é reflexo da deterioração aeróbia promovidas por fungos filamentosos, leveduras e bactérias aeróbias (O'KIELY, 2009). No presente trabalho foi avaliado o acúmulo da temperatura em 5 e 10 dias e as silagens tratadas com cal+LB e cal+LP apresentaram menores valores de temperatura que o controle, mas os valores ficaram maiores em relação as silagens tratadas com cal, cal+Benzoato e cal+Nitrito.

3.4 Conclusões

A cal virgem não foi eficiente no controle de leveduras e perdas de MS em silagens de cana-de-açúcar e proporcionou o crescimento de clostrídios. A combinação de cal com outros aditivos não foi capaz de inibir a população de clostrídios e, portanto, foram identificadas silagens com níveis importantes de ácido butírico.

Apesar disso, a combinação de cal virgem e benzoato de sódio mostrou-se promissora e novos estudos dessa associação podem permitir progressos na ensilagem da cana-de-açúcar.

Referências

- ADESOGAN, A.T.; KRUEGER, N.A.; SALAWU, M.B.; DEAN, D.B.; STAPLES, C.R. The influence of treatment with dual purpose inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of Bermuda grass. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 3407-3416, 2004.
- ALCÂNTARA, E.; AGUILERA, A.; ELLIOT, R.; SHIMADA, A. Fermentation and utilization by lambs of sugarcane harvested fresh and ensiled with and without NaOH. 4. Ruminant kinetics. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 23, p. 323-331, 1989.
- ÁVILA, C.L.S.; PINTO, J.C.; FIGUEIREDO, H.C.P.; SCHWAN, R.F. Effects of an indigenous and a commercial *Lactobacillus buchneri* strain on quality of sugarcane silage. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 64, p. 384-394, 2009.
- ÁVILA, C.L.S.; VALERIANO, A.R.; PINTO, J.C.; FIGUEIREDO, C.P.; REZENDE, A.V.; SCHWAN, R.F. Chemical and microbiological characteristics of sugar cane silages treated with microbial inoculants. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 1, p. 25-32, 2010.

BALIEIRO NETO, G.; SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; NOGUEIRA, J.R.; ROTH, M.T.P.; ROTH, A.P.T.P. Óxido de cálcio como aditivo na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 1231-1239, 2007.

BALIEIRO NETO, G.; SIQUEIRA, G.R.; NOGUEIRA, J.R.; REIS, R.A.; SILVA, D.N.; ROTH, A.P.T.P.; ROTH, M.T.P. Perdas na ensilagem da cana-de-açúcar cv. IAC86/2480 (*Saccharum officinarum* L.) com doses de óxido de cálcio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. 1 CD-ROM.

BALIEIRO NETO, G.; FERRARI JUNIOR, E.; NOGUEIRA, J.R.; POSSENTI, R.; PAULINO, V.T.; BUENO, M.S. Perdas fermentativas, composição química, estabilidade aeróbia e digestibilidade aparente de silagem de cana-de-açúcar com aditivos químico e microbiano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 6, p. 621-630, jun. 2009.

BRAVO-MARTINS, C.E.C. **Identificação de leveduras envolvidas no processo de ensilagem de cana-de-açúcar e utilização de extratos vegetais como seus inibidores**. 2004. 161 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

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

CABEZAS-GARCIA, E.H. **Avaliação da fração carboidratos solúveis em cana-de-açúcar para animais**. 2011. 118 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

CABRAL, J.R.; SILVA, D.; AMORIM, E.; ESFRAIN, W.; MIRANDA, E.; PINHEIRO, D.; CARNAUBA, J. Análise multivariada da microflora epífita em *S. officinarum* ensilada com *G. sepium*. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 58 n. 223 p. 395-404 2009.

CARVALHO, B.F.; ÁVILA, C.L.S.; PINTO, J.C.; PEREIRA, M.N.; SCHWAN, R.F. Effects of propionic acid and *Lactobacillus buchneri* (UFLA SIL 72) addition on fermentative and microbiological characteristics of sugar cane silage treated with and without calcium oxide. **Journal of Grass and Forage Science**, Oxford, v. 10, p. 1365-2494, 2012.

CAVALI, J.; PEREIRA, O.G.; SOUSA, L.O.; PENTEADO, D.C.S.; CARVALHO, I.P.C.; SANTOS, E.M.; CEZÁRIO, A. Silagem de cana-de-açúcar tratada com óxido de cálcio: composição bromatológica e perdas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, 2006. 1 CD-ROM.

DANIEL, J.L.D.; NUSSIO, L.G. Contribution of silage volatile compounds for the animal nutrition. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2., 2011, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2011. p. 279-306.

DANIEL, J.L.D.; SANTOS, M.C.; ZOPOLLATTO, M.; HUHTANEN, P.; NUSSIO, L.G. A data-analysis of lime addition on the nutritive value of sugarcane in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 184, p. 17-23, Aug. 2013.

DITCHFIELD, C. **Estudos dos métodos para a medida da atividade de água**. 2000. 195 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

HALL, M.B. **Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis**. Gainesville: University of Florida, 2000. 42 p. (Bulletin, 339).

IGARASI, M.S. **Controle de perdas na ensilagem de capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia) sob os efeitos do teor de matéria seca, do tamanho de partícula, da estação do ano e da presença de inoculante microbiano**. 2002. 152 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2002.

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

JONES, D.I.H.; JONES, R. The effect of crop characteristics and ensiling methodology on grass silage effluent production. **Journal of Agricultural Engineering Research**, Easton, v. 60, p. 73-81, 1995.

JONSSON, A. Enumeration and confirmation of clostridium tyrobutyricum in silages using neutral red, d-cycloserine, and lactate dehydrogenase activity. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 13, p. 719-725, 1990.

KAISER, E.; WEIß, K.; POLIP, L.V. A new concept for the estimation of the ensiling potential of forages. In: THE INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 13., 2002, Auchincruive. **Proceedings...** Auchincruive: SAC, 2002. p. 344-358.

KAISER, E.; WEIß, K.; POLIP, L.V. New results on inhibition of clostridia development in silages. In: THE INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 14., 2005, Belfast. **Proceedings...** Belfast: SAC, 2005. p. 213.

KLOPFENSTEIN, T. Chemical treatment of crop residues. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 46 p. 841-848, 1978.

KRAUS, T.J.; KOEGER, R.G.; STRAUB, R.J. Leachate conductivity as an index for quantifying level of forage conditioning. In: ASAE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING, 1997, Minneapolis Minneapolis: ASAE, 1997. 12 p

KUNG JR., L.; STANLEY, R.W. Effect of stage of maturity on the nutritive value of whole-plant sugarcane preserved as silage. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 54, p. 689-696, 1982.

LÄTTEMÄE, P.; LINGVALL, P. Effect of hexamine and sodium nitrite in combination with sodium benzoate and sodium propionate on fermentation and storage stability of wilted and long cut grass silage. **Swedish Journal of Agricultural Research**, Oslo, v. 26, p. 135-146, 1996.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2nd ed. Marlow: Chalcomb Publ., 1991. 340 p.

MENDES, C.Q.; SUSIN, I.; NUSSIO, L.G.; PIRES, A.V.; RODRIGUES, G.H.; URANO, F.S. Efeito do *Lactobacillus buchneri* na fermentação, estabilidade aeróbia e no valor nutritivo de silagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 12, p. 2191-2198, 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**, Oxford, v. 55, p. 453-460, 1983.

NOCEK, J.E.; HART, S.P.; POLAN, L.E. Rumen ammonia concentrations as influence by storage time, freezing and thawing acid preservative and method of ammonia determination. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.70, p. 601-607, 1987.

NUSSIO, L.G.; SANTOS, M.C.; QUEIROZ, O.C.M. Produção de ruminantes em pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 24., 2007, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, FEALQ, 2007. p. 243-271.

O'KIELY, P. Chemical additives and the aerobic stability of silages. In INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 1., 2009, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2009. p. 155-174.

O'KIELY, P.O.; CLANCY, M.; DOYLE, E.M. Aerobic stability of grass silage mixed with a range of concentrate feedstuffs at feed-out. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 1., 2001, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 794-795.

OLIVEIRA, M.D.S.; BARBOSA, J.C.; MOTA, D.A.; ANDRADE, A.T. Efeito da hidrólise com cal virgem sobre a composição bromatológica da cana-de-açúcar. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 14, p. 19-27, 2008.

OWENS, F.N.; MEISKE, J.C.; GOODRICH, R.D. Effects of calcium sources and urea on corn silage fermentation. **Journal of Dairy Science**, Urbana, v. 52, n. 11, p. 1817-1822, 1969.

PAHLOW, G. Verbesserung der aeroben Stabilität von Silage durch Impfpräparate. **Das Wirtschaftseigene Futter**, Frankfurt, v. 28, n. 2, p. 107-122, 1986.

PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; SPOELSTRA, S.F. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 2003. chap. 2, p. 31-93.

PALMIQUIST, D.; CONRAD, H. Origin of plasma fatty acid in lactating dairy cows fed high fat diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 54, p. 1025, 1971.

PEDROSO, A.F. **Aditivos químicos e microbianos no controle de perdas e na qualidade de silagem de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. 2003. 120 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 427-432, 2005.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; LOURES, D.R.S.; PAZIANI, S.F.; IGARASI, M.S.; COELHO, R.M.; HORIIS, J.; RODRIGUES, A.A. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 3, p. 558-564, 2007.

PRYCE, J.D. A modification of Barker-Summerson method for determination of lactic acid. **Analyst**, Cambridge, v. 94, p. 1151-1152, 1969.

QUEIROZ, O.C.M.; ARRIOLA, K.G.; DANIEL, J.L.P.; ADESOGAN, A.T. Effects of 8 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 96, p. 5836–5843, 2013.

RANJIT, N.K.; KUNG, L. JR. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservation on fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, p. 526-535, 2000.

REZENDE, A.V.; RABELO, C.H.S.; RABELO, F.H.S. NOGUEIRA, D.A.; FARIA JUNIOR, D.C.N.A.; BARBOSA, L.A.B. Perdas fermentativas e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar tratadas com cal virgem e cloreto de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 4, p. 739-746, 2011.

SANTOS, M.C.; NUSSIO, L.G.; MOURÃO, G.B.; SCHMIDT, P.; MARI, L.J.; RIBEIRO, J.L. 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**, Viçosa, v. 37, n. 9, p. 1555-1563, 2008.

SCHMIDT, P.; MARI, L.J.; NUSSIO, L.G.; PEDROSO, A.F.; SOLIDETE, F.P.; 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**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 1666-1675, 2007.

SILVA, E.J.A.; BORGATTI, L.M.O.; MEYER, P.M.; MARINO, C.T.M.; RODRIGUES, P.H.M. Efeitos do teor de carboidratos solúveis sobre as características da silagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 8, p. 1375-1382, 2008.

THIAGO, R.D.R.T. **Avaliação nutricional da cana-de-açúcar submetida a métodos de colheita para produção animal**. 2008. 100 p. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

WEIßBACH, F. Die Bestimmung der Pufferkapazität der Futterpflanzen und ihre Bedeutung für die Beurteilung der Vergärbarkeit. **Academy Agricultural Sciences**, Berlin, v. 92, p. 211-220, 1967.

_____. The future of forage conservation. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2., 2011, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2011. p. 319-363.

WEIßBACH, F.; SCHIMIDT, L.; HEIN, E. Method of anticipation of the run of fermentation in silage making based on the chemical composition of the green fodder. In: GRASSLAND CONGRESS, 12., 1974, Moscow. **Proceedings...** Moscow: Library Australia, 1974. v. 3, pt. 2, p. 663-673.

WEINBERG, Z.G.; CHEN, Y.; SOLOMON, R. The quality of commercial wheat silages in Israel. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 92, p. 638-644, 2008.

WILKINSON, J.M.; DAVIES, D.R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 68, p. 1-19, 2012.

WOOLFORD, M.K. Microbial screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. **Journal of Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 26, p. 229-237, 1975.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J.L.P.; NUSSIO, L.G.R. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, p. 170-189, 2009.

4 IMPACTO DO FILME DE VEDAÇÃO NO VALOR NUTRITIVO DE SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA VACAS LEITEIRAS

Resumo

O objetivo deste estudo foi comparar filmes plásticos na vedação de silagens de cana-de-açúcar. Os tratamentos impostos foram: 1) filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos (PA45+M); 2) filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face, 125µm (PA125); 3) filme de polietileno, dupla face, 200µm (DF). Três silos tipo trincheira foram preenchidos simultaneamente e durante o abastecimento a cana-de-açúcar picada foi tratada com benzoato de sódio na dose 0,15% da matéria natural. Decorridos 90 dias de armazenamento, os silos foram abertos e as silagens utilizadas como ingredientes para alimentação de vacas em lactação. Quinze vacas Holandesas (615 kg PV) foram alocadas aleatoriamente em três Quadrados Latinos 3x3, com períodos de 18 dias. O consumo de matéria seca (CMS), a digestibilidade aparente no trato total e a produção de leite foram registrados entre o 14º e o 18º dia de cada período. Amostras de leite foram coletadas para análises de proteína, gordura, lactose, caseína, ácidos graxos livres, sólidos totais, N-uréico e contagem de células somáticas. O óxido de cromo foi utilizado como marcador externo para estimar a produção fecal. As diferentes estratégias de vedação não influenciaram a qualidade das silagens e, conseqüentemente, não afetaram o CMS 19,9 kg/dia, a produção 25,1 kg/dia e a composição do leite (gordura 3,5%, proteína 3,3%, lactose 4,4%), das vacas. As diferentes estratégias de vedação utilizadas nesse experimento não influenciam a qualidade das silagens de cana-de-açúcar e o desempenho de vacas leiteiras e se mostraram efetivas para vedação de silos horizontais.

Palavras-chave: Filme plástico; Perdas visuais de silagem; Bovinos leiteiros, Produção de leite

Abstract

The aim of this study was to compare plastic films for sealing sugarcane silages. Treatments were: 1) polyamide film 45µm plus a protection against physical damage and ultraviolet light (PA45 + P), 2) polyethylene film coextruded with polyamide, black-on-white, 125µm (PA125), 3) polyethylene film, black-on-white 200µm (BW). Three trench silos were filled out simultaneously with chopped sugarcane treated with 0.15% of sodium benzoate (as fed basis). After 90 days of storage, the silos were opened and silages fed to lactating cows as total mixed rations. Fifteen Holstein cows (615 kg BW) were randomly allocated into 3x3 Latin square with periods of 18 days. Dry matter intake, diet apparent digestibility, milk yield and milk composition were evaluated on days 14 to 18 in each period. Chromium oxide was used as external marker to estimate fecal excretion. Sealing strategies had no influence on silage quality and cows performance. Dry matter intake (19.9 kg /day), milk yield (25.1 kg/day), and milk composition (fat 3.5%, 3.3% protein, and 4.4% lactose) were quite similar across treatments. The different sealing strategies used in this experiment do not affect sugarcane silage quality and dairy cows performance and proven effective for sealing horizontal silos.

Keywords: Plastic film; Visual silage losses; Dairy cattle, Milk production

4.1 Introdução

Conservar forragens é estratégia comumente adotada em sistemas de produção animal, especialmente em épocas de escassez de pastagens ou para animais em confinamentos. Porém a prática da ensilagem exige cuidados para garantir sucesso no sistema, iniciando com a colheita, picagem e compactação, culminando na vedação dos silos. A prática da vedação, em especial, não é motivo de grandes investimentos por parte dos produtores e essa ação, quando executada de forma inapropriada, pode levar a perdas significativas de nutrientes, inflacionando os custos da forragem conservada.

O uso de filmes plásticos convencionais para vedação de silos pode não garantir a devida proteção contra os efeitos negativos do oxigênio, que permite a proliferação de microrganismos indesejáveis e acarreta perdas de valor nutritivo e qualidade higiênico-sanitária das silagens.

A deterioração aeróbia de silagens ocorrida durante a estocagem e após a abertura dos silos é evidenciada por picos de aquecimento do material, resultantes do crescimento inicial de leveduras, seguidas pelo desenvolvimento de fungos filamentosos (WILKINSON; DAVIES, 2012). Como consequência da perda de nutrientes, do aquecimento da massa e da presença de microrganismos indesejáveis e suas toxinas, pode haver redução do consumo de alimentos, com reflexos negativos no desempenho dos animais (LINDGREN et al., 1985).

Borreani, Tabacco e Cavallarin (2007) avaliaram filmes plásticos com diferentes propriedades físico-químicas e observaram que os materiais confeccionados com polietileno coextrusado com poliamida foram mais efetivos em reduzir a entrada de oxigênio no silo. As silagens vedadas com filmes contendo poliamida apresentaram maior estabilidade aeróbia e menores perdas de MS comparada às silagens vedadas com filmes convencionais de polietileno. Até o momento não foram encontradas publicações de estudos avaliando filmes contendo poliamida como estratégia de vedação em silagens de cana-de-açúcar. Então, o objetivo deste trabalho foi avaliar estratégias de vedações em silagens de cana-de-açúcar e seus efeitos no controle de perdas e no desempenho de vacas leiteiras alimentadas com rações contendo essas silagens.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Ensilagem e tratamentos

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP. A cana-de-açúcar da variedade SP80-1842 foi colhida aos 12 meses de rebrotação, com auxílio de colhedora (Mentamit®) acoplada ao trator regulada para corte com tamanho médio de partículas entre 5 a 10 mm. No momento da colheita, a determinação do teor de sólidos solúveis no caldo, por meio de refratômetro de campo, revelou 23° brix, com valor estimado de 63% de NDT (THIAGO, 2008).

Três silos trincheira foram preenchidos simultaneamente e durante o abastecimento foi aplicado benzoato de sódio na dose 0,15% da matéria natural, com auxílio de pulverizador costal movido a bateria. O aditivo químico foi aplicado com o intuito de reduzir as perdas fermentativas ocasionadas principalmente pela ação de leveduras. O tempo de compactação da forragem foi 1,2 vezes maior que o de colheita, utilizando um trator com peso superior a 40% da massa de forragem recebida por hora. Ao final do abastecimento, as seguintes estratégias de vedação foram adotadas:

- 1) filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos (PA45+M);
- 2) filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face, 125µm (PA125);
- 3) filme de polietileno, dupla face, 200µm (DF).

Sacos com pedras foram posicionados sobre o filme plástico ao redor dos silos e, transversalmente ao sentido longitudinal do silo a cada 5 metros, para garantir a vedação da massa de forragem compactada. Foram coletadas amostras da forragem fresca no momento da ensilagem para determinação da composição bromatológica.

4.2.2 Avaliações nos silos

Decorridos 90 dias de armazenamento, os silos foram abertos e as silagens foram utilizadas para alimentação de vacas em lactação. Diariamente cortes transversais (fatias) de aproximadamente 15 cm foram removidas ao longo do painel do silo, sendo as retiradas realizadas no período da manhã e a tarde. Assim, 50% do painel foi retirado no período da manhã (05:30) e outros 50% no período da tarde (16:00). Antes do descarregamento do silo, a porção visualmente deteriorada foi retirada e armazenada em sacos para quantificação e amostragem. Após essa etapa, a silagem considerada visualmente normal foi retirada

manualmente, ensacada, quantificada e usada para compor as rações fornecidas aos animais. Nos períodos de avaliação as silagens preservadas foram amostradas para posteriores análises laboratoriais. Com a quantificação diária de silagem preservada e deteriorada, foi realizada a proporcionalidade de silagem deteriorada em relação à silagem preservada, expressas com base na matéria natural e matéria seca.

A composição bromatológica das amostras de forragem fresca e silagens não deterioradas foram determinadas a partir de amostras desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas para determinação do teor de MS. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey em peneira com orifício de 1,0 mm. As concentrações de matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) foram determinadas conforme a AOAC (1990) e a concentração de proteína bruta (PB) segundo os métodos descritos por Wiles, Gray e Kissling (1998), por meio da combustão das amostras segundo o método de Dumas, utilizando auto-analisador de nitrogênio, marca LECO modelo FP-528. As concentrações de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina ácida (LDA) foram realizadas com base no método sequencial proposto pela ANKOM® Fiber Analyser (ANKOM Technology Corporation, Fairport, NY). Para determinação de FDN foi utilizado amilase e sulfito de sódio e a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi determinado por meio do espectrômetro modelo NIRS 5000 (NIRSystems®, FOSS NIRSystems Inc., Silver Spring, MD, USA) acoplado a microcomputador equipado com *software* WinISI II versão 6.2 (Infrasoft International, PA).

O teor de carboidratos solúveis (CS) foi determinado em extrato alcoólico, pelo método Fenol-Sulfúrico (HALL, 2000). Para a obtenção do extrato foi pesado 0,5 g de amostra seca e moída em peneira com orifício de 1,0 mm em balões do tipo *erlenmeyer* e adicionou-se 100 mL de solução alcoólica (solução etanol 80%). As bocas dos balões foram vedadas e em seguida os mesmos foram submetidos à agitação durante 4h. Após o período de agitação os extratos foram filtrados em papel Whatman N° 541 e armazenados em tubos do tipo *Eppendorf*® de 2,0 mL a -20°C. As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro MARCONI® Janway 6305, com $\lambda=490$ nm e o açúcar utilizado como padrão foi a sacarose.

Para análises de produtos de fermentação da silagem não deteriorada foram pesados 50 g do material em recipiente de vidro. Sob exaustor, 200 mL de água destilada e 1 mL de tolueno foi adicionado e misturado com auxílio de bastão de vidro. Imediatamente, os recipientes foram selados com parafilme e mantidas refrigerados (4 ° C) durante a noite. No dia seguinte, as soluções foram misturadas cuidadosamente e filtradas com a utilização de

papel filtro (Whatman Nº. 54). Sequencialmente os extratos foram filtrados em microfiltro (Minisart RC25 0,45µm, Sartorius ®) e analisados por cromatografia, HPLC (WEIß; KAISER, 1995) e GC (WEIß; SOMMER, 2012) no laboratório Common Laboratory for Analytics, na Alemanha.

Além das análises nas silagens ofertadas aos animais, foram realizadas 3 avaliações nos painéis dos silos ao longo do experimento, imediatamente após a retirada da silagens para alimentação dos animais no período da manhã. Duas regiões da face do silo foram amostradas: a) topo do painel (T), com distância de 0,2 m do filme plástico e b) centro do painel (C). No momento da avaliação, as amostras foram divididas em três alíquotas.

A primeira amostra foi usada para obtenção de extratos diluídos em água destilada que foram utilizados para determinação do pH, com esse mesmo extrato foram analisados ácidos graxos voláteis, ácido lático e etanol. Para análise de ácidos graxos voláteis, 800 µL do extrato aquoso da silagem, juntamente com 200 µL de ácido fórmico e 100 µL de padrão interno foram transferidos para um frasco de vidro. A leitura foi realizada em cromatógrafo líquido gasoso, CLG (Hewlett Packard® 5890, series II). A determinação da concentração de ácido lático foi realizada por método colorimétrico (PRYCE, 1969), onde as leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro MARCONI® Janway 6305, com $\lambda=565$ nm.

O etanol foi determinado pelo Ultrasensitive Colorimetric Determination of Ethanol com $\lambda=565$ nm, utilizando o EnzyChrom™ Ethanol Assay Kit (ECET-100) da empresa GENESE.

A segunda amostra foi usada para contagem de microrganismos, sendo os extratos diluídos e filtrados em solução Ringer (decimal seriada, 10^{-2} a 10^{-6}). Para determinação de fungos filamentosos e leveduras, placas com meio seletivo (Petrifilm 3M® YM) foram mantidas em BOD com temperatura de 25°C por 72 horas. Para contagens de bactérias ácido lácticas, as placas (Petrifilm 3M® AC) foram incubadas em jarras de anaerobiose e mantidas em BOD com temperatura de 33°C por 48 horas. Após os plaqueamentos para determinações de fungos, leveduras e bactérias lácticas, os tubos com as amostras diluídas (10^{-2} a 10^{-4}) foram imersos em banho Maria a 80°C para choque térmico (13 minutos). Em seguida, foi realizado plaqueamento em placas de Petri contendo meio reforçado para clostrídios adicionado de cicloserina e vermelho neutro (JONSSON, 1990), e as placas alocadas em jarras de anaerobiose e levadas a BOD por sete dias com temperatura de 37°C. Após as incubações, os números de microrganismos, em placas contendo mais de 20 e menos de 300 colônias, foram contados como unidades formadoras de colônia (UFC) e expressos como logaritmo na base 10.

A terceira subamostra foi desidratada em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas para determinação do teor de MS. Após a secagem, a amostra foi moída em moinho tipo Willey em peneira com diâmetro de 1,0 mm e armazenada em recipientes de plástico. A composição bromatológica dos pontos do painel foi determinada utilizando-se o método de espectroscopia de reflectância de infravermelho proximal (NIRS). O equipamento utilizado foi o espectrômetro modelo NIRS 5000 (NIRSystems®, FOSS NIRSystems Inc., Silver Spring, MD, USA) acoplado a microcomputador equipado com *software* WinISI II versão 6.2 (Intrasoft International, PA). Após a coleta de espectros, os teores de PB, FDN, FDA e FDNi foram estimados com equações específicas para cana-de-açúcar. O teor de CS foi determinado segundo o método do Fenol-Sulfúrico (HALL, 2000).

4.2.3 Animais e instalações experimentais

Quinze vacas leiteiras da raça Holandesa (615 kg PV) foram alocadas aleatoriamente em três Quadrados Latinos 3x3, com períodos de 18 dias. Sete dias antes do início do experimento, os animais foram adaptados ao volumoso oferecido. No início do período experimental a produção de leite foi 29,7 kg/d e o número médio de dias em lactação era 254. Os animais foram alojados em confinamento do tipo tie-stall, com bebedouro e cocho individuais, o qual permitiu o controle do consumo alimentar individual, e sistema de arrefecimento, com micros pulverizadores e ventiladores. A ordenha era realizada duas vezes por dia (6:00h e 17:00h). Após cada ordenha, permitiu-se que os animais se exercitassem em área pavimentada por 1 hora.

O CMS e a produção de leite foram registrados entre os dias 14 e 18 de cada período. As amostras de leite foram coletadas em quatro ordenhas para análise de proteína, gordura, lactose e sólidos totais (Clínica do Leite, Piracicaba/SP). A excreção de energia líquida no leite (EL_L leite, Mcal/d) foi obtida multiplicando-se a produção de leite (kg) pelo teor de energia líquida, calculado pela seguinte fórmula (NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC, 2001): $EL_L \text{ leite (Mcal/kg)} = 0,0929 * \% \text{gordura} + 0,0547 * \% \text{proteína} + 0,0395 * \% \text{lactose}$. Além disso, foram calculadas a exigência de energia para manutenção [EL_L manutenção (Mcal/d) = $0,08 \times PV^{0,75}$] segundo (NRC, 2001) e a exigência de energia líquida para reservas [EL_L reservas (Mcal/d) = Variação de PV $\times 5,12$] segundo NRC (1989). O uso total de energia líquida foi obtido pela soma das exigências para manutenção, reservas e lactação.

4.2.4 Rações experimentais e manejo alimentar

Os tratamentos foram constituídos de rações contendo as respectivas silagens de cana-de-açúcar resultantes das estratégias de vedação. Os ingredientes concentrados utilizados na ração foram: milho moído fino, polpa cítrica, farelo de soja e núcleo mineral. Os volumosos e os concentrados de cada tratamento foram misturados em vagão auto propelido (Super Callan, American Callan, USA) por período de 5 minutos. As rações foram fornecidas *ad libitum*, durante os períodos de ordenha (6:00 h e 17:00 h), sendo permitidas sobras de 10% do fornecido

Amostras de volumosos, concentrados e sobras realizadas pelos animais foram analisadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP. As análises foram realizadas em amostras desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas para determinação do teor de MS. Após a moagem em moinho tipo Willey em peneira com orifício de 1,0 mm, as concentrações de MS, MM e EE foram determinadas conforme a Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1990) e a concentração de PB segundo os métodos descritos por Wiles, Gray e Kissling (1998), por meio da combustão das amostras segundo o método de Dumas, utilizando auto analisador de nitrogênio, marca LECO modelo FP-528.

As concentrações de FDN, FDA e lignina ácida (LDA) foram realizadas com base no método sequencial proposto pela ANKOM[®] Fiber Analyser (ANKOM Technology Corporation, Fairport, NY). Para determinação da FDN foi utilizado amilase e sulfito de sódio. A matéria orgânica (MO) foi calculada descontando o teor de MM da MS. O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculado como $100 - MM - PB - FDN - EE$.

Amostras de silagens, rações totais e sobras foram coletadas para determinação do tamanho de partículas, com auxílio do “Penn State Particle Size Separator” (LAMMERS; BUCKMASTER; HEINRICHS, 1996). O índice de seleção de partículas foi calculado como o consumo observado de cada fração retida em cada peneira, expresso como porcentagem do consumo predito daquela fração (% da matéria natural). A magnitude dos valores relativos indicou recusa (<100%), ingestão preferencial (>100%) ou ausência de seleção (=100%) (LEONARDI; ARMENTANO, 2003).

4.2.5 Digestibilidade *in vivo*

A digestibilidade aparente das rações ofertadas aos animais foi determinada utilizando-se o indicador externo óxido de cromo. Durante os últimos dez dias de cada período os animais receberam 10 g de óxido de cromo no período da manhã e 10 g no período da tarde, antes de cada refeição. Nas mesmas ocasiões, amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal, nos últimos 5 dias de dosagem.

As amostras de fezes foram compostas e analisadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, Piracicaba – SP. Depois de descongeladas, as amostras foram pesadas e levadas à estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas. Após a secagem, a amostra foi moída em moinho tipo Willey em peneira com orifícios de 1,0 mm. As concentrações de MS, MM, EE, FDN e PB.O teor de CNF foi obtido por complementariedade centesimal das frações anteriores. A concentração de energia líquida da dieta foi estimada a partir do NDT obtido pela digestibilidade dos nutrientes, segundo NRC (2001): $EL_L \text{ dieta (Mcal/kg)} = 0,0245 \times \% \text{NDT} - 0,12$.

4.2.6 Análises estatísticas

As variáveis relativas às silagens foram comparadas pelo procedimento Mixed do SAS usando o seguinte modelo: $y = \mu + P_i + T_j + \varepsilon_{ij}$; onde μ = média geral, P_i = efeito aleatório de período ($i = 1$ a 3), T_j = efeito fixo de tratamento (PA45+M, PA125 e DF), ε_{ij} = resíduo. Os dados do ensaio de lactação foram analisados pelo procedimento Mixed do SAS, incluindo efeito fixo de tratamento, efeito aleatório de quadrado latino, efeito aleatório de período e efeito aleatório de vaca dentro de quadrado latino.

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Caracterização da forragem fresca

Na Tabela 7 estão caracterizadas as variáveis referentes à forragem no momento da ensilagem. Os teores de MS foram superiores aos tipicamente encontrados na literatura. Nussio et al. (2006) realizaram um levantamento da composição química de cana-de-açúcar entre os anos 2000 e 2006 e os teores de MS variaram entre 20,4% e 33,9%. Segundo os mesmos autores, diferenças na composição da forragem são resultantes da diversidade de variedades, longevidade do talhão, maturidade fisiológica, variações ambientais e dos

tratamentos a que essa forragem foi submetida. Os valores encontrados nesse mesmo levantamento para MM variaram entre 0,8 a 6,4, que se enquadram nos valores apresentados nesse estudo (1,43%).

Os valores de PB se assemelham aos encontrados por Pedroso (2003) (3,6%), as frações fibrosas (FDN e FDA) estão de acordo com Santos et al. (2008) que avaliando a composição químico bromatológica de cana-de-açúcar antes de ensilar observou valores de 52,9 para FDN e 32,3, para FDA. Os valores de EE e LIG foram similares à média reportada por Nussio et al. (2006); 0,7% para EE e amplitude de 3,6% a 6,9% para lignina.

A fração CS e o grau brix foram em média 36,7% da MS e 23° respectivamente, indicando que a cana estava em estágio de maturidade. O tamanho médio de partículas da forragem durante a ensilagem foi de 1,54 cm e a densidade média foi 460 kg de MN/m³

Tabela 7 - Composição química da forragem no momento da ensilagem

Item	Tratamento		
	PA 45+M ¹²	PA 125 ¹³	DF ¹⁴
MS, % MN ¹	40,4	41,1	41,2
MM, % MS ²	1,31	1,43	1,46
PB, % MS ³	3,05	3,46	2,97
EE, % MS ⁴	0,713	0,771	0,752
FDN, % MS ⁵	55,8	55,2	56,9
FDA, % MS ⁶	32,4	31,9	32,7
FDNi, % MS ⁷	32,4	32,9	32,1
LIG, % MS ⁸	5,28	5,01	5,65
HEMI, % MS ⁹	23,5	20,4	24,2
CEL, % MS ¹⁰	27,1	26,8	27,1
CS, % MS ¹¹	36,1	37,3	36,7

¹Matéria seca; ²Matéria mineral; ³Proteína bruta; ⁴Extrato etéreo; ⁵Fibra em detergente neutro; ⁶Fibra em detergente ácido; ⁷Fibra em detergente neutro indigestível; ⁸Lignina; ⁹Hemicelulose; ¹⁰Celulose; ¹¹Carboidratos solúveis. ¹²Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ¹³Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ¹⁴Filme de polietileno, dupla face, 200µm.

4.3.2 Caracterização da silagem

As silagens caracterizadas nas tabelas 8, 10, 12 e 14 se constituem no volumoso utilizado como ingrediente nas rações dos animais e os valores descritos nas tabelas 9, 11 e 13 são referidos às silagens amostradas durante a avaliação do painel do silo.

As estratégias de vedação impostas neste estudo não alteraram a composição químico bromatológica das silagens e são semelhantes aos valores encontrados em amostras de silagens de cana-de-açúcar analisadas no Laboratório de Bromatologia da USP/ESALQ, entre

os anos de 2000 e 2006, com valor médio de 30,2% de MS, 3,4% de PB, 59,4% de FDN, média de 36,7% de FDA e 1,3% de EE (NUSSIO et al., 2006). Da mesma forma Amaral (2011), avaliando o valor nutritivo de silagens de milho com lona de polietileno dupla face (200 µm) ou lona coextruzada de polietileno e poliamida dupla face (125 µm) não observou diferenças entre as variáveis relacionadas à composição bromatológica (MS, MM, PB, FDN, FDA e DVIVMS).

Tabela 8 - Composição química das silagens submetidas a diferentes estratégias de vedação

Item	Tratamento			EPM	P
	PA 45+M ¹¹	PA 125 ¹²	DF ¹³		
MS, %MN ¹	31,2	29,3	31,0	0,61	0,11
MM, %MS ²	3,16	2,85	2,51	0,28	0,20
PB, %MS ³	3,37	3,20	3,10	0,16	0,15
EE, %MS ⁴	0,923	0,924	0,897	0,07	0,85
FDN, %MS ⁵	61,6	64,7	63,9	1,76	0,17
FDA, %MS ⁶	36,9	39,2	38,6	1,25	0,15
FDNi, % MS ⁷	38,5	36,9	36,5	1,55	0,54
LIG, %MS ⁸	7,10	7,52	7,24	0,47	0,59
HEMI, %MS ⁹	24,8	25,5	25,3	0,68	0,66
CEL, %MS ¹⁰	29,8	31,7	31,3	0,84	0,12
CS, % MS ¹¹	19,1	21,1	21,0	2,60	0,80

¹Matéria seca; ²Matéria mineral; ³Proteína bruta; ⁴Extrato etéreo; ⁵Fibra em detergente neutro; ⁶Fibra em detergente ácido; ⁷Fibra em detergente neutro indigestível; ⁸Lignina; ⁹Hemicelulose; ¹⁰Celulose; ¹¹Carboidratos solúveis. ¹²Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ¹³Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ¹⁴Filme de polietileno, dupla face, 200µm

A fração CS em cana-de-açúcar (sacarose) é alta e o coeficiente de digestibilidade verdadeira da fração solúvel é aproximadamente 0,98 (VAN SOEST, 1967). Entretanto, parte dos açúcares é convertida no processo de fermentação em produtos finais, tais como etanol e ácidos orgânicos, além da oxidação total à CO₂ e água ocasionada por respiração. Alli et al. (1983) estudando cana-de-açúcar ensilada sem aditivos em silos laboratoriais observaram redução do teor de CS de 47% para 1,02% durante o tempo de estocagem e Alcântara et al. (1989), avaliando a fermentação de silagem de cana sem aditivos, verificaram redução no teor de CS de 31,42% para 4,4% após 30 dias de fermentação. No presente estudo, a aplicação de benzoato de sódio em todas as silagens mitigou a produção de etanol e outros produtos de fermentação (Tabela 10), preservando grande parte dos CS.

De outro lado, a fibra é considerada de baixa digestibilidade e tem sido apontada como fator causal do menor consumo de MS das dietas formuladas com essa forragem (CORRÊA et al., 2003). As altas proporções de FDNi e de lignina nas silagens obtidas nesse estudo

comprovam que a fibra é realmente de baixa digestibilidade, pois quando compara-se valores de lignina em silagens de milho por exemplo pode-se observar que são menores em relação a silagem de cana. Valores de lignina em silagens de milho observados por Cabral et al. (2000) e Campos et al. (2001) foram 4,37% e 3,6% da MS, enquanto que no presente estudo os valores de lignina encontrados foram aproximadamente de 7,5% da MS e estão de acordo com dados observados por Mohallem, Mohallem e Visoná-Oliveira (2013) que relataram 7,4 para silagens de cana-de-açúcar sem aditivos ou inoculadas com aditivos microbianos.

A composição química das silagens oriundas de diferentes pontos do painel (topo e centro) está apresentada na Tabela 9. A composição foi notadamente diferente entre os locais de amostragem, a silagem do topo demonstrou qualidade inferior à silagem do centro, com maiores concentrações de FDN, FDA e FDNi, menores concentrações de CS. Os teores de PB e MM do topo foram maiores, esse fato pode ser devido ao maior consumo de açúcares solúveis no topo, onde se concentraram PB e MM. Segundo McDonald, Henderson e Heron (1991) normalmente ocorre a concentração desses nutrientes nas silagens, visto que o processo fermentativo é detentor de perdas, onde os componentes solúveis da planta são consumidos para geração de ácidos e nas rotas metabólicas ocorre perda de gases para o ambiente externo. Alcântara et al. (1989) verificaram que após 30 dias de fermentação houve aumento de mais de 17% no teor de FDN da cana-de-açúcar ensilada em relação à cana fresca. O teor de FDN da forragem era de 50,25% da MS e passou para 67,48% da MS na cana-de-açúcar ensilada. Então, além das perdas fermentativas, a região do topo fica prejudicada em relação ao centro, pois sofre mais perdas causadas por microrganismos aeróbicos indesejáveis que consomem açúcares solúveis e ácidos orgânicos.

Entretanto, não foram observadas diferenças entre as silagens de mesmos locais dos painéis que estavam submetidas à diferentes estratégias de vedações, ou seja, a lona não interferiu na qualidade bromatológica das silagens.

Tabela 9 - Composição química das silagens de diferentes locais do painel submetidas a diferentes estratégias de vedação

Item	Tratamento						EPM	P Local	P Lona	P L*L
	PA 45+M ⁸		PA 125 ⁹		DF ¹⁰					
	Topo	Centro	Topo	Centro	Topo	Centro				
MS,% ¹	35,3	35,3	30,3	40,5	30,9	32,1	2,98	0,19	0,42	0,28
MM, % MS ²	4,12	3,21	4,62	3,17	3,66	3,57	0,41	0,10	0,80	0,43
PB, % MS ³	4,23	3,69	4,42	3,65	4,20	3,95	0,14	<0,01	0,7	0,26
FDN, % MS ⁴	71,0	59,5	75,8	58,6	69,5	64,5	3,57	<0,01	0,84	0,33
FDA, % MS ⁵	46,9	39,4	48,4	38,4	45,8	42,6	2,61	<0,01	0,91	0,47
FDNi, % MS ⁶	37,2	31,4	41,6	29,4	37,9	34,2	2,22	<0,01	0,75	0,25
CS, % MS ⁷	17,4	31,6	16,9	30,8	17,2	26,6	3,63	<0,01	0,85	0,82

¹Matéria seca; ²Matéria mineral; ³Proteína bruta; ⁴Fibra em detergente neutro; ⁵Fibra em detergente ácido; ⁶Fibra em detergente neutro indigestível; ⁷Carboidratos solúveis. ⁸Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ⁹Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ¹⁰Filme de polietileno, dupla face, 200µm

Os produtos de fermentação encontrados nas silagens ofertadas aos animais foram ácido lático, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, etanol, acetona, 1,2 propanodiol, 2,3 butanodiol, acetato de etila e lactato de etila e não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Provavelmente a utilização de benzoato de sódio em todas as silagens controlou possíveis diferenças causadas pelas lonas. O ácido isobutírico, ácido isovalérico, ácido valérico, ácido capríco, metanol e 2-butanol estavam abaixo do limite de detecção.

Os valores de pH encontrados são considerados ótimos para silagens, o fato da cana-de-açúcar apresentar bons parâmetros fermentativos devido ao alto teor de MS no momento em que a planta está no ponto de ensilagem, altos teores de CS e baixo poder tampão, fazem com que a planta apresente coeficiente de fermentabilidade adequado para a conservação (WEIßBACH, 2011).

Apesar dos baixos valores de pH, os valores de ácido lático encontrados nesse estudo são considerados abaixo do normal para silagens de cana-de-açúcar, porém estão de acordo com os valores encontrados por Schmidt et al. (2007) que observaram o valor médio de 0,99% da MS e também consideraram os valores abaixo do normal. Os autores Kung Jr.; Stanley (1982) observaram teores de 5,6% de ácido lático em silagens de cana-de-açúcar. A explicação para a silagem apresentar baixos valores desse ácido e ainda assim um pH baixo, é o fato da MS estar alta, ou seja, o processo fermentativo ocorreu em menor extensão, concentrando os produtos de fermentação.

Além disso, a produção de ácido acético foi alta em relação aos valores encontrados na literatura. Schmidt et al. (2007) observaram valores médio de 2,31% da MS em silagens de cana-de-açúcar tratadas com diferentes aditivos, entre eles o benzoato de sódio. A alta

concentração de ácido acético nessas silagens é porque provavelmente ocorreu presença de bactérias heteroláticas que produzem ácido acético com base na utilização de ácido láctico.

O teor de etanol observado em todas as silagens pode ser considerado baixo, uma vez que os dados da literatura indicam valores de até 15,5% (DANIEL et al., 2013a) e 21,8% (ZOPOLLATTO; DANIEL; NUSSIO, 2009) de etanol em silagens de cana-de-açúcar. Fato esse que possivelmente se deve a adição de benzoato de sódio, que inibe leveduras e, conseqüentemente, diminui a produção de etanol.

Ainda o valor de etanol foi numericamente inferior para as silagens sob a lona dupla face de polietileno, uma explicação coerente para esse fato é que essa silagem também apresentou valores numericamente maiores de ácido butírico e ácido propiônico, ou seja, esses ácidos podem ter inibido a produção de etanol por interferirem na população de leveduras, pois têm ação antifúngica.

O ácido butírico é considerado um produto exclusivo de clostrídios, no entanto, outros microrganismos, tais como leveduras e bacilos também podem produzir pequenas quantidades desse ácido (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). No caso desse estudo o ácido butírico presente na silagem pode ser oriundo de leveduras e bacilos, levando em consideração que não foi detectado clostrídios na análise microbiológica (Tabelas 10 e 12).

O 2,3-butanodiol é produzido por bactérias (enterobactérias, bactérias lácticas, e bacilos) (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991), segundo Daniel et al. (2013a) esse composto poderia captar elétrons quando as produções de etanol e ácido láctico são baixas em silagens de cana e geralmente não são encontrados em silagens de cana sem aditivo, ou seja, silagens que apresentam elevados teores de etanol.

Tabela 10 - Produtos de fermentação das silagens submetidas a diferentes estratégias de vedação

Item	Tratamento			EPM	P
	PA 45+M ¹	PA 125 ²	DF ³		
pH	3,85	3,80	3,80	0,02	0,33
Ác. láctico, % MS	0,75	0,96	0,99	0,64	0,08
Ác. acético, % MS	4,07	3,66	3,31	0,33	0,36
Ác. propiônico, mg/kg	315	524	717	101,40	0,14
Ác. iso-butírico, mg/kg	<100	<100	<100	-	-
Ác. butírico, mg/kg	315	324	755	103,79	0,13
Ác. iso-valérico, mg/kg	<100	<100	<100	-	-
Ác. valérico, mg/kg	<100	<100	<100	-	-
Ác. capríco, mg/kg	<100	<100	<100	-	-
Etanol, % MS	3,31	3,56	1,35	0,52	0,06
Acetona, mg/kg	<100	665	605	374,84	0,36
Metanol, mg/kg	<100	<100	<100	-	-
Propanol, mg/kg	94,5	111	88,5	22,7	0,3
2-Butanol, mg/kg	<5	<5	<5	-	-
1,2-Propanodiol, mg/kg	574	596	844	175,74	0,44
2,3-Butanodiol, mg/kg	578	466	399	96,80	0,22
Acetato de etila, mg/kg	105	71,2	95,0	34,22	0,22
Lactato de etila, mg/kg	204	269	271	38,69	0,18

¹Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ²Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ³Filme de polietileno, dupla face, 200µm

Tipicamente, o ácido propiônico e o propanol são produtos de bactérias do ácido propiônico e leveduras, respectivamente (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). No entanto, esses produtos podem ser formados por meio do metabolismo de 1,2-propanodiol por *Lactobacillus diolovorans*, um microrganismo epífito (KROONEMAN et al., 2002). A acetona parece ser um metabolito das vias clostrídicas (ROOKE; HATFIELD, 2003).

Não foram observados efeitos de filme, o pH e a concentração de ácido láctico nas silagens foram alterados pelo local de amostragem. As amostras do topo tiveram valor de pH maior e de ácido láctico menor. A silagem do topo fica mais exposta ao ar em relação a silagem do centro, dessa forma ocorreu maior deterioração e consumo de ácidos orgânicos nesta zona do painel, o que fez com que o pH aumentasse. Os outros produtos de fermentação não apresentaram diferenças significativas e as silagens de mesmos locais, sob diferentes lonas, não foram influenciadas pelos tratamentos. Diferentemente de Borreani, Tabacco e Cavallarin (2007) que encontrou diferenças na concentração de ácido láctico em silagens de milho nas partes periféricas do painel utilizando diferentes lonas de cobertura, o filme coextrusado com poliamida proporcionou maiores concentrações de ácido láctico na silagem quando comparado ao filme padrão de polietileno. No mesmo sentido Amaral (2011) também

observou maiores concentrações de ácido láctico em silagens de milho cobertas com filmes coextrusado com poliamida em relação aos filmes padrões de polietileno. Ainda Borreani, Tabacco e Cavallarin (2007) observaram menores populações de leveduras e menores perdas de MS para as silagens de milho sob lonas coextrusadas com uma barreira de oxigênio. A aplicação de benzoato de sódio pode ter atenuado as possíveis diferenças entre os tratamentos.

Tabela 11 - Produtos de fermentação das silagens de diferentes locais do painel submetidas a diferentes estratégias de vedação

Item ¹	Tratamento						EPM	P Local	P Lona	P L*L
	PA 45+M		PA 125		DF					
	Topo	Centro	Topo	Centro	Topo	Centro				
pH	3,96	3,83	3,87	3,75	3,70	3,56	0,86	<0,01	0,71	0,97
Ác. láctico, % MS	1,17	1,82	1,28	2,25	1,10	2,31	0,26	<0,01	0,60	0,69
Ác. acético, % MS	3,08	3,19	3,76	3,20	3,10	4,20	0,41	0,21	0,72	0,93
Ác. propiônico, % MS	0,28	0,19	0,10	0,13	0,60	0,19	0,13	0,36	0,67	0,68
Ác. iso-butírico, %MS	0,13	0,07	0,04	0,03	0,10	0,04	0,02	0,76	0,82	0,24
Ác. butírico, %MS	0,17	0,18	0,08	0,08	0,10	0,07	0,03	0,42	0,07	0,98
Ác. iso-valérico, %MS	0,09	0,06	0,02	0,02	0,10	0,09	0,01	0,27	0,32	0,40
Ác. valérico, %MS	0,17	0,10	0,02	0,02	0,10	0,06	0,02	0,27	0,24	0,91
Etanol, %MS	1,01	1,57	1,23	1,31	1,11	1,90	0,57	0,35	0,90	0,83

¹Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ²Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ³Filme de polietileno, dupla face, 200µm

As populações de bactérias ácido lácticas e leveduras nas silagens ofertadas aos animais não foram influenciadas pelos tratamentos. Entretanto, pode-se observar que as contagens de BAL e levedura estavam de acordo com as contagens encontradas na literatura, pois segundo Pahlow et al. (2003), a população média desses microrganismos mantém-se entre 10^2 a 10^6 ufc/g de forragem para BAL e 10^3 a 10^5 ufc/g de forragem para leveduras. A contagem de fungos, contudo, foi menor, pois os mesmos autores definiram que as contagens desse microrganismo encontrada na forragem é entre 10^3 e 10^4 ufc/g de forragem e no caso do presente estudo a população encontrada desse microrganismo foi abaixo do limite de detecção. A contagem de clostrídios também ficou abaixo do limite de detecção, provavelmente esses microrganismos podem estar presentes na cana-de-açúcar, porém serão inibidos pelo rápido abaixamento do pH, condição que, frequentemente, ocorre na ensilagem desse tipo de cultura, devido a alta concentração de açúcar e baixo poder tampão.

Tabela 12 - Microbiologia das silagens submetidas a diferentes estratégias de vedação

Item	Tratamentos			EPM	P
	PA 45+M ²	PA 125 ³	DF ⁴		
BAL, log ufc/g ¹	6,18	4,68	4,64	0,43	0,14
Leveduras, log ufc/g	5,64	5,93	4,42	0,61	0,51
Fungos, log ufc/g	<2	<2	<2	-	-
Clostrídios, log ufc/g	<2	<2	<2	-	-

¹Bactérias ácido lácticas; ²Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ³Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ⁴Filme de polietileno, dupla face, 200µm

A Tabela 13 mostra as contagens de bactérias ácido lácticas e leveduras das silagens de diferentes locais do painel sob os diferentes tratamentos e as contagens de fungos e clostrídios também ficaram abaixo do limite de detecção, assim como na silagem oferecida aos animais. A ação germicida do benzoato (WOOLFORD, 1975), provavelmente inibiu o crescimento desses microrganismos até mesmo na região periférica da silagem. As contagens de BAL e leveduras das silagens não apresentaram diferenças significativas e a ausência de efeito dos filmes com poliamida é diverge dos encontrados na literatura. Utilizando esse tipo de filme em silagens de milho, Borreani e Tabacco (2008) observaram menores populações de leveduras, mofos e clostrídios e menores valores de pH em silagens cobertas com filmes coextrusado com poliamida quando comparados as silagens cobertas por filmes padrões de polietileno. No geral esses autores observaram que a silagem do topo sob a lona coextrusada com poliamida obteve a mesma qualidade da silagem do centro do painel, enquanto que a silagem do topo quando estava sob a lona padrão de polietileno apresentou qualidade inferior.

Tabela 13 - Microbiologia das silagens de diferentes locais do painel submetidas a diferentes estratégias de vedação

Item	Tratamentos						EPM	P Local	P Lona	P L*L
	PA 45+M ²		PA 125 ³		DF ⁴					
	Topo	Centro	Topo	Centro	Topo	Centro				
BAL, log ufc/g ¹	6,45	5,91	3,85	5,52	4,30	4,97	0,52	0,32	0,14	0,33
Leveduras, log ufc/g	5,92	5,64	6,02	5,84	3,60	5,21	0,84	0,59	0,51	0,52
Fungos, log ufc/g	<2	<2	<2	<2	<2	<2	-	-	-	-
Clostrídios, log ufc/g	<2	<2	<2	<2	<2	<2	-	-	-	-

¹Bactérias ácido lácticas; ²Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ³Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ⁴Filme de polietileno, dupla face, 200µm

Amaral et al. (2012) comparando a microbiologia de silagens de milho de diferentes locais do painel observou que as silagens do topo apresentaram contagens mais altas de

leveduras (3,56 log ufc/g), quando comparadas com as silagens do centro do painel (2,41 log ufc/g). O mesmo autor não observou diferenças para bactérias ácido lácticas e fungos.

As proporções de silagens descartadas após julgamento visual de deterioração foram similares entre os tratamentos. As perdas de matéria natural e de MS foram em média 3,96% e 3,37% (Figura 2). Os valores de perdas do presente estudo podem ser considerados baixos quando comparados àqueles publicados anteriormente. No caso de filmes plásticos com alta permeabilidade ao oxigênio (ex. polietileno preto), as perdas visuais de painel do material natural são próximas à 10% e dos filmes plásticos coextrusados com poliamida são de aproximadamente 5% (AMARAL et al., 2012). As estratégias de vedação empregadas no presente trabalho foram as mais efetivas em controlar a deterioração aeróbia durante o armazenamento, diminuindo a proporção diária de silagem descartada e promovendo ganhos no desempenho de vacas leiteiras nos trabalhos conduzidos por Bispo et al. (2013) e Amaral et al. (2012).

Figura 2 - Perdas da porção visualmente deteriorada do painel do silo no momento do descarregamento da silagem para fornecimento aos animais

A estabilidade aeróbia também não diferiu significativamente entre os tratamentos. Normalmente, esta variável é influenciada pela presença de microrganismos aeróbios deterioradores que consomem açúcares e ácidos orgânicos na presença de oxigênio, culminando no aumento da temperatura, do pH e das perdas por CO₂ (WILKINSON; DAVIES, 2012). No mesmo sentido, as temperaturas acumuladas em 5 dias e 10 dias de exposição aeróbia também não apresentaram diferenças significativas (Tabela 14).

Entretanto alguns trabalhos encontrados na literatura que estudaram o efeito de estratégias de vedação observaram diferenças na estabilidade aeróbia das silagens. Amaral (2011) estudando o efeito de lonas em silagens de milho observou que o filme de polietileno apresentou temperatura superior ao filme coextruzado de polietileno e poliamida em todos os momentos da exposição aeróbia. O primeiro pico termal para lona de polietileno foi observado na 76ª hora de exposição aeróbia (26,8°C), já para o filme coextruzado de polietileno e poliamida este pico ocorreu na 112ª hora com temperatura de 23,3°C.

Borreani, Tabacco e Cavallarin (2007) observaram que o tempo que a silagem de milho, sob a lona de polietileno coextrusada com poliamida, levou para elevar 2°C da temperatura ambiente foi de 355 horas enquanto que as silagens sob filme padrão de polietileno levou apenas 178 horas, nesse caso a impermeabilidade ao oxigênio causada pelo filme plástico de poliamida provavelmente foi capaz de controlar o crescimento de microrganismos espoliadores.

No entanto, a estabilidade aeróbia das silagens do presente trabalho (Tabela 14) podem ser consideradas adequadas, levando em consideração os dados observados por Pedroso et al. (2008) que observou a quebra da estabilidade na 72ª hora em silagens de cana-de-açúcar aditivadas com benzoato de sódio.

Tabela 14 - Estabilidade aeróbia das silagens submetidas a diferentes estratégias de vedação

Item	Tratamento			EPM	P
	PA 45+M ³	PA 125 ⁴	DF ⁵		
Estabilidade aeróbia, h	172	187	108	43,6	0,47
Temp. acum. 5d, °C ¹	3,65	0,00	0,00	3,42	0,43
Temp. acum. 10d, °C ²	19,4	5,71	23,0	11,9	0,60

¹Temperatura acumulada em 5 dias; ²Temperatura acumulada em 10 dias; ³Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ⁴Filme de polietileno coextruzado com poliamida, dupla face; ⁵Filme de polietileno, dupla face, 200µm

4.3.3 Desempenho dos animais

A composição química da dieta consumida pelos animais está apresentada na Tabela 15. A semelhança entre os tratamentos pode ser atribuída à similaridade na composição química das silagens utilizadas como ingrediente na ração.

Tabela 15 - Composição química das dietas experimentais consumida pelos animais

Item	Tratamento		
	PA45+M ⁷	PA125 ⁸	DF ⁹
MS, % ¹	52,7	49,9	52,3
MO, %MS ²	93,0	93,2	93,2
PB, %MS ³	17,1	16,9	17,0
FDN, %MS ⁴	31,8	33,0	32,7
CNF, %MS ⁵	42,4	41,6	41,9
EE, %MS ⁶	1,70	1,70	1,70

¹Matéria seca; ²Matéria orgânica; ³Proteína bruta; ⁴Fibra em detergente neutro; ⁵Carboidrato não fibroso; ⁶Extrato etéreo; ⁷Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ⁸Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ⁹Filme de polietileno, dupla face, 200µm

* As dietas foram compostas por 37% de silagem de cana-de-açúcar, 23% de farelo de soja, 20,5% de milho, 17% de polpa cítrica e 2,5% de minerais e vitaminas

*Premix mineral vitamínico: 15% Ca, 4% P, 6% Mg, 0% K, 2,2% S, 12% Na, 9,5% Cl, 2500 mg de Zn/kg, 1200 mg de Mn/kg, 1000 mg de Fe/kg, 580 mg de Cu/kg, 420 mg de F/kg, 30 mg de I/kg, 20 mg de Cr/kg, 18 mg de Se/kg, 14 mg de Co/kg, 150000 UI de Vitamina A, 40000 UI de Vitamina D3, 1300 UI de Vitamina E, 60 mg de Biotina/kg, 700 mg de Monensina/kg, 400 g de Bicarbonato/kg

Além disso, o consumo preferencial de partículas, indicado pelo índice de seleção não foi alterado pelos tratamentos impostos, o que também justifica a semelhança da composição química da dieta consumida. Como se pode observar na Figura 3 os animais apresentaram maior rejeição contra partículas maiores (19mm - 77,8%), dando preferência à partículas médias e pequenas (102,3% e 99,3% nas peneiras <8mm e de 8 a 19mm, respectivamente).

De acordo com Leonardi, Giannico e Armentano (2005) essa seleção é comum de se observar no comportamento ingestivo de bovinos, dessa forma quando a dieta apresenta partículas muito longas pode aumentar a seleção da dieta ofertada pelos animais, principalmente quando se trata de cana-de-açúcar devido a alta efetividade da fibra (GOULART, 2010). Segundo Daniel et al. (2013b) a utilização de colhedoras de forragens capaz de gerar partículas menores e de tamanho uniformizado pode ser uma estratégia para diminuir a seleção e os desvios de composição entre dieta formulada e dieta consumida.

Figura 3 - Índice de seleção de partículas. $P=0,28$ para efeito de tratamento, $P<0,01$ para efeito de peneira, $P=0,35$ para interação entre tratamento e peneira

Os valores referentes à digestibilidade da MS (Tabela 16) (73,0%), MO (74,7%), PB (76,6%), FDN (44,2%), CNF (95,1%) e EE (85,9%) não apresentaram diferença entre os tratamentos. A semelhança na composição química dos ingredientes da dieta e no consumo de matéria seca, que influencia o tempo de retenção do alimento no trato digestório, contribuíram diretamente para a similaridade entre as digestibilidades dos nutrientes das dietas.

Amaral (2011) avaliando diferentes estratégias de vedação em silagens de milho observou diferença de digestibilidade da MS da ração entre os tratamentos; a dieta que continha silagem proveniente do silo vedado com lona protegida com bagaço apresentou o maior valor de digestibilidade (67,48%). Os menores valores foram observados nos tratamentos que continha silagem dos silos vedados com a lona dupla face e lona preta, 58,94% e 59,24%, respectivamente; o tratamento com lona de poliamida sobreposta por lona dupla face apresentou valor intermediário, entre os demais tratamentos (64,98%). Pode-se observar que todos os valores de digestibilidade encontrados por esse autor foram menores do que os valores encontrados no presente estudo, esse fato ocorreu provavelmente porque a proporção de concentrados era menor naquele estudo.

Tabela 16 - Digestibilidade dos nutrientes das dietas consumida pelos animais

Item	Tratamentos			EPM	P
	PA 45+M ¹⁰	PA 125 ¹¹	DF ¹²		
CMS kg/dia ¹	21,1	20,9	21,2	1,94	0,59
MS,% ²	74,2	71,7	73,0	1,52	0,54
MO,% ³	75,9	73,4	74,9	1,47	0,50
PB,% ⁴	77,7	75,5	76,7	1,36	0,57
FDN,% ⁵	43,1	43,0	46,6	3,68	0,72
CNF,% ⁶	95,1	95,0	95,1	0,75	0,99
EE,% ⁷	86,2	85,9	85,7	1,27	0,94
NDT,% ⁸	72,2	70,2	71,6	1,39	0,56
EL _L dieta, Mcal/kg ⁹	1,65	1,59	1,63	0,03	0,54

¹Consumo de matéria seca referente aos dias da avaliação de digestibilidade; ²Matéria seca; ³Matéria orgânica; ⁴Proteína bruta; ⁵Fibra em detergente neutro; ⁶Carboidrato não fibroso; ⁷Extrato etéreo; ⁸Nutrientes digestíveis totais; ⁹Energia líquida da dieta estimada segundo NRC (2001) ($EL_L \text{ dieta (Mcal/kg)} = 0,0245 \cdot NDT - 0,12$);

¹⁰Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ¹¹Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ¹²Filme de polietileno, dupla face, 200µm

Nas Tabelas 17 e 18 estão apresentadas variáveis de desempenho dos animais e devido à similaridade de todas as variáveis avaliadas e discutidas anteriormente nesse experimento, às estratégias de vedação impostas nas silagens utilizadas como ingredientes da ração não influenciaram as respostas relacionadas ao desempenho. O CMS apresentou valores médios de 19,9 kg/dia e 3,1% do peso vivo dos animais, esses valores estão abaixo dos encontrados por Queiroz (2006) que testando diferentes volumosos para vacas em meio de lactação observou 23,5 kg/dia CMS para as vacas que consumiram silagem de cana como volumoso da ração. Da mesma forma Corrêa et al. (2003) avaliando diferentes volumosos para vacas em início de lactação verificou um CMS de 21,5 kg/dia para as vacas que consumiram cana-de-açúcar *in natura*. Entretanto a produção de leite observada por Queiroz (2006) foi 24,4 kg/dia semelhante a produção encontrada nesse trabalho que foi em média 25,1 kg/dia e quando comparada com a produção de vacas consumindo apenas cana-de-açúcar *in natura* como volumoso na dieta (CORRÊA et al., 2003) os valores observados nesse experimento foram menores (25,1 kg/dia vs 31,9 kg/dia).

O CMS realizados pelos animais e reportados pelos trabalhos encontrados na literatura foi maior, possivelmente devido a proporção de volumoso:concentrado nas dietas, levando em consideração que maior teor de concentrado pode causar uma limitação metabólica de consumo. No trabalho de Queiroz (2006) a razão volumoso:concentrado foi 60:40, ou seja a proporção de volumoso foi maior comparada com a ração utilizada no presente estudo (63:37), além disso, o autor incluiu caroço de algodão na dieta, o qual possui maior teor de fibra efetiva (ABEL-CAINES; GRANT; HADDAD, 1997) e influencia positivamente a saúde

ruminal, podendo aumentar o CMS. Já na dieta fornecida aos animais no trabalho de Corrêa et al. (2003) a proporção volumoso:concentrado foi 54,7:45,3.

Tabela 17 - Desempenho de vacas leiteiras alimentadas com silagens de cana-de-açúcar submetidas a diferentes estratégias de vedação

Item	Tratamento			EPM	P
	PA45+M ⁷	PA125 ⁸	DF ⁹		
CMS, kg/d ¹	19,8	19,7	20,1	1,07	0,92
Leite, kg/d	25,3	24,7	25,3	2,02	0,63
Leite 3,5%G, kg/d ²	24,8	24,3	25,5	1,59	0,31
Gordura, %	3,41	3,44	3,58	0,18	0,11
Gordura, kg	0,85	0,84	0,90	0,05	0,19
Proteína, %	3,30	3,33	3,39	0,15	0,12
Proteína, kg	0,83	0,81	0,84	0,05	0,46
Caseína, %	2,51	2,53	2,58	0,11	0,19
Lactose, %	4,43	4,42	4,41	0,12	0,84
Sólidos totais, %	12,1	12,1	12,2	0,24	0,12
AGL, mmol/10 L ³	1,04	1,16	1,02	0,28	0,63
N-uréico, mg/dL ⁴	14,1	14,4	13,9	1,42	0,69
CCS, x1000/mL ⁵	142	163	169	-	-
Log CCS ⁶	2,00	2,08	2,1	0,09	0,31

¹Consumo de matéria seca; ²Produção de leite corrigido para 3,5% de gordura; ³Ácidos graxos livres;

⁴Nitrogênio uréico; ⁵Contagem de células somáticas; ⁶Log de contagem de células somáticas; ⁷Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos;

⁸Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ⁹Filme de polietileno, dupla face, 200µm

Apesar das diferentes lonas não interferirem na produção de leite no estudo corrente, Amaral (2011) avaliando diferentes estratégias de vedação em silagens de milho, observou maior produção de leite nos animais que consumiram rações que continham silagens oriundas do tratamento com filme coberto com bagaço (34,42 kg/dia), enquanto o tratamento com filme preto apresentou a menor média de produção dos animais (30,43 kg/dia).

Os teores de gordura (3,5%), proteína, (3,3%), lactose (4,4%) e sólidos totais (12,1%) foram similares entre os tratamentos e os valores observados foram similares aos teores encontrados por Queiroz (2006) (3,4%, 3,2%, 4,5% e 11,6%, respectivamente).

As concentrações de caseína (2,5%), ácido graxos livres (1,07 mmol/10 L) e CCS (158 x1000/mL) do leite também não foram diferentes.

A concentração de nitrogênio uréico no leite foi em média 14,1 mg/dL e está de acordo com a amplitude de 8,5 a 16 mg/dL reportada como satisfatória (KOHN; KALSCHER; RUSSEK-COHEN, 2002). Quando esse composto é excretado em excesso representa eliminação do nitrogênio que se encontra em altas quantidades no organismo do animal, dessa forma, a sua concentração no leite é utilizada para o monitoramento da nutrição

proteica (JONKER; KOHN; ERDMEN, 1999; KOHN, 2000). Segundo Gustafsson e Palmquist (1993) a alta concentração de nitrogênio uréico no leite indica excesso ou uso inadequado da proteína da dieta.

Tabela 18 - Eficiência energética de vacas leiteiras alimentadas com silagens de cana-de-açúcar submetidas a diferentes estratégias de vedação

Item	Tratamento			EPM	P
	PA45+M ⁹	PA125 ¹⁰	DF ¹¹		
Peso corporal, kg	647	648	646	53,5	0,97
Variação de peso corporal, kg	0,59	0,68	0,50	0,12	0,49
EL _L manutenção Mcal/d ¹	10,2	9,97	10,3	0,54	0,44
EL _L reservas Mcal/d ²	2,37	2,44	2,62	0,39	0,86
EL _L leite, Mcal/d ³	16,9	16,6	17,1	1,10	0,49
EL _L produção, Mcal/d ⁴	19,3	18,9	19,7	1,25	0,27
EL _L total, Mcal/d ⁵	29,5	28,9	30,0	1,13	0,23
EL _L leite/ EL _L total, % ⁶	57,3	57,4	57,0	-	-
EL _L leite/CMS, Mcal/kg ⁷	0,90	0,87	0,84	0,08	0,59
EL _L total/CMS, Mcal/kg ⁸	1,54	1,50	1,45	0,10	0,66

¹Excreção de energia líquida para manutenção; ²Excreção de energia líquida para reserva; ³Excreção de energia líquida no leite; ⁴Excreção de energia líquida de produção; ⁵Excreção de energia líquida total; ⁶Energia excretada no leite da energia total; ⁷Eficiência energética para produção de leite; ⁸Eficiência energética total; ⁹Filme de poliamida 45µm, recoberta com manta de polietileno para proteção contra raios ultravioleta e danos físicos; ¹⁰Filme de polietileno coextrusado com poliamida, dupla face; ¹¹Filme de polietileno, dupla face, 200µm

O peso corporal (647 kg) e a variação de peso (0,59 kg) não foram alterados entre os tratamentos. Além disso, a exigência de energia líquida para manutenção (10,1 Mcal/d), reservas (2,47 Mcal/d) e lactação (16,8 Mcal/d) também foram similares. De acordo com (Van Es, 1961) vacas de raça e peso semelhante podem variar nos seus requerimentos de energia para manutenção entre 8% e 10%. A excreção de energia líquida para reserva depende da variação do peso dos animais e a excreção de energia líquida no leite é relacionada com a produção de leite e com os componentes do leite (NRC, 2001). A energia líquida excretada no leite foi em média de 57,2% da energia líquida total e a eficiência energética das dietas foi de 1,49 Mcal/kg, se assemelhando à estimativa obtida por meio dos cálculos de digestibilidade (1,62 Mcal/kg).

Alguns fatores podem explicar a falta de diferença de desempenho dos animais. Primeiramente, às silagens utilizadas como ingredientes foram semelhantes, ou seja, todos os tratamentos foram efetivos para a vedação das silagens e o uso de benzoato de sódio pode ter contribuído para esta observação. Além disso, a inclusão dietética da silagem foi baixa (37% MS), apesar de que a recomendação de inclusão reduzida de silagem de cana-de-açúcar tem

sido adotada atualmente em formulações de dietas para vacas de alto potencial produtivo, devido à alta efetividade física deste volumoso (SÁ NETO et al., 2012).

4.4 Conclusões

As diferentes estratégias de vedação utilizadas nesse experimento não influenciam a qualidade das silagens de cana-de-açúcar e o desempenho de vacas leiteiras e todas se mostraram efetivas para vedação de silos horizontais.

A utilização de benzoato de sódio como aditivo das silagens pode ter controlado possíveis alterações de fermentações causadas pelos filmes estudados, indicando haver interações entre uso de aditivos e estratégias de vedação.

Referências

ABEL-CAINES, S.F.; GRANT, R.J.; HADDAD, S.G. Whole cottonseeds or a combination of soybeans and soybean hulls in the diets of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, p. 1353-1357, 1997.

ALCÂNTARA, E.; AGUILERA, A.; ELLIOT, R.; SHIMADA, A. Fermentation and utilization by lambs of sugarcane harvested fresh and ensiled with and without NaOH. 4. Ruminal kinetics. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 23, p. 323-331, 1989.

ALLI, I.; FAIRBAIRN, R.; BAKER, B.E.; GARCIA, G. The effects of ammonia on the fermentation of chopped sugar cane. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 9, p. 291-299, 1983.

AMARAL, R.C. **Estratégias de controle da deterioração aeróbia em silagem de milho e seu valor alimentício para vacas em lactação**. 2011. 176 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

AMARAL, R.C.; DANIEL, J.L.P.; SÁ NETO, A.; BISPO, A.W.; LIMA, J.R.; GARCIA, E.H.; ZOPOLLATTO, M.; SANTOS, M.C.; BERNARDES, T.F.; NUSSIO, L.G. Performance of Holstein cows fed diets containing maize silage from silos with different covering methods. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Helsinki. **Proceedings...** Helsinki: MTT, 2012. p. 290-292.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Arlington, 1990. v. 1, 1117 p.

BISPO, A.W. ; JUNGES, D.; KLEINSHMITT, C. ; CUSTÓDIO, L.; LIMA, J.R.; FERNANDES, J. ; DANIEL, J.L.P.; NUSSIO, L.G. Performance of dairy cows fed diets containing corn silage from silos with different sealing strategies. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 3., 2013, Campinas. **Proceedings....** Piracicaba: FEALQ, 2013.

BORREANI, G.; TABACCO, E. Low permeability to oxygen of a new barrier film prevents butyric acid bacteria spore formation in farm corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 11, p. 4272-4281, 2008.

BORREANI, G.; TABACCO, E.; CAVALLARIN, L. A new oxygen barrier film reduces aerobic deterioration in farm-scale corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4701-4706, 2007.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; MALAFAIA, P.A.M.; LANA, R.P.; SILVA, J.F.C.; VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, E.S. Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 2087-2098, 2000. Suplemento 1.

CAMPOS, F.P.; SAMPAIO, A.A.M.; VIEIRA, P.F.; BOSE, M.L.V. Digestibilidade in vitro/gás de volumosos exclusivos ou combinados avaliados pelo resíduo remanescente da digestão da matéria seca e produção de gás. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 1579-1589, 2001.

CORRÊA, E.S.; PEREIRA, M.N.; OLIVEIRA, S.G. de; RAMOS, M.H. Performance of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. **Science Agricola**, Piracicaba, v. 60, p. 621–629, 2003.

DANIEL, J.L.P.; WEIß, K.; CUSTÓDIO, L.; SÁ NETO, A.; SANTOS, M.C.; ZOPOLLATTO, Z.; NUSSIO, L.G. Occurrence of volatile organic compounds in sugarcane silages. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 185 p. 101–105, 2013a.

DANIEL, J.L.P.; AMARAL, R.C.; GOULARD, R.S.; ZOPOLLATTO, M.; SANTOS, V.P.; TOLEDO FILHO, S.G.; CABEZAS-GARCIA, E.H.; LIMA, J.R.; SANTOS, M.C.; NUSSIO, L.G. Short-term effects of silage volatile compounds on feed intake and digestion in beef cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 91, p. 2321-2331, 2013b.

GOULART, R.S. **Avaliação da fibra fisicamente efetiva em rações para bovinos de corte**. 2010. 200 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

GUSTAFSSON, A.H.; PALMQUIST, D.L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea and milk urea in dairy cows at high and low yields. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 2, p. 475-484, 1993.

HALL, M.B. **Neutral detergent-soluble carbohydrates, Nutritional relevance and analysis**: a laboratory manual. Gainesville: University of Florida, 2000. 42 p. (Bulletin, 339).

JONKER, J.S.; KOHN, R.A.; ERDMAN, R.A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 82, p. 1261-1273, 1999.

JONSSON, A. Enumeration and confirmation of *Clostridium tyrobutyricum* in silages using neutral red, D-cycloserine, and lactate dehydrogenase activity. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, p. 719-725, 1990.

KOHN, R.A. Caution needed when interpreting MUN. **Hoard's Dairyman**, Fort Atkinson, v. 145, p. 58, 2000.

KOHN, R.A.; KALSCHER, K.F.; RUSSEK-COHEN, E. Evaluation of models to estimate urinary and expected milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 85, p. 227-233, 2002.

KROONEMAN, J.; FABER, F.; ALDERKAMP, A.C.; OUDE ELFERINK, S.J.H.W.; DRIEHUIS, F.; CLEENWERCK, I.; SWINGS, J.; GOTTSCHAL, J.C.; VANCANNEYT, M. *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1,2-propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 52, p. 639-646, 2002.

KUNG JR., L.; STANLEY, R.W. Effect of stage of maturity on the nutritive value of whole-plant sugarcane preserved as silage. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 54, p. 689-696, 1982.

LAMMERS, B.P.; BUCKMASTER, D.R.; HEINRICHS, E.J. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 5, p. 922-928, 1996.

LEONARDI, C.; ARMENTANO, L.E. Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 86, p. 557-564, 2003.

LEONARDI, C.; GIANNICO, F.; ARMENTANO, L.E. Effect of water addition on selective consumption (sorting) of dry diets by dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 88, p. 1043-1049, 2005.

LINDGREN, S.; PETTERSSON, K.; KASPERSON, A. JONSSON, A.; LINGVALL, P. Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 36, p. 765-774, 1985.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **Biochemistry of silage**. 2nd ed. Marlow: Chalcombe Publ., 1991. 340 p.

MOHALLEM, R. F. F.; MOHALLEM, D. F.; VISONÁ-OLIVEIRA, M. Hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂) e bactérias heterofermentativas como aditivos em silagens de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e seus efeitos sobre a composição bromatológica e dinâmica fermentativa. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 16, p. 1242-1258, 2013.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6th ed. Washington, 1989. 157 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington, 2001. 381 p.

NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P.; SCHOGOR, A.L.B.; MARI, L.J. Cana-de-açúcar como alimento para bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3., 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, DZO, 2006. p. 277-328.

PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; SPOELSTRA, S.F. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 2003. chap. 2, p. 31-93.

PEDROSO, A.F. **Aditivos químicos e microbianos como inibidores da produção de etanol em silagens de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. 2003. 140 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; LOURES, D.R.S.; PAZIANI, S.F.; RIBEIRO, J.L.; MARI, L.J.; ZOPOLLATTO, M.; SCHMIDT, P.; MATTOS, W.R.S.; HORII, J. Fermentation, losses, and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical or bacterial additives. **Science Agrícola**, Piracicaba, v. 65, p. 589-594, 2008.

PRYCE, J.D. A modification of Barker-Summerson method for determination of lactic acid. **Analyst**, Cambridge, v. 94, p. 1151-1152, 1969.

QUEIROZ, O.C.M. **Associação de aditivos microbianos na ensilagem e o desempenho de vacas em lactação recebendo silagem de cana-de-açúcar comparada a volumosos tradicionais**. 2006. 120 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

ROOKE, J.A.; HATFIELD, R.D. Biochemistry of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Ed.). **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 2003. p. 251-304.

SÁ NETO, A.; BISPO, A.W.; JUNGES, D.; ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J.L.P.; NUSSIO, L.G. Sugarcane silage replacing corn silage in lactating dairy cows rations. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 16., 2012, Helsinki. **Proceedings...** Helsinki: MTT, 2012. p. 486-488.

SANTOS, M.C.; NUSSIO, L.G.; MOURÃO, G.B.; SCHMIDT, P.; MARI, L.J.; RIBEIRO, J.L. 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**, Viçosa, v. 37, n. 9, p. 1555-1563, 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**, Viçosa, v. 36, p. 1666-1675, 2007.

THIAGO, R.D.R.T. **Avaliação nutricional da cana-de-açúcar submetida a métodos de colheita para produção animal**. 2008. 100 p. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

VAN ES, A.J.H. **Between animal variation in the amount of energy required for the maintenance of cows**. 1961. 124 p. Thesis (Ph.D) – Wageningen University, Wageningen, 1961.

VAN SOEST, P.J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forages. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 26, p. 119-128, 1967.

WEIß, K.; KAISER, E. Milchsäurebestimmung in silageextrakten mit hilfe der HPLC. **DasWirtschaftseigene Futter**, Berlin, v. 41, p. 69-80, 1995

WEIß, K.; SOMMER, G. Bestimmung von Estern und anderen flüchtigen organischen Substanzen (VOC) in Silageextrakten mit Hilfe der Gaschromatographie. In: VDLUFA-KONGRESS, 2012, Passau. **Proceedings...** Passau: VDLUFA-Schriftenreihe, 2012. v. 68, p. 561-569.

WEIßBACH, F. The future of forage conservation. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2., 2011, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2011. p. 319-363.

WILES, P.G.; GRAY, I.K.; KISSLING, R.C. Routine analysis of protein by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study using dairy products. **Journal of the AOAC International**, Gaithersburg, v. 81, p. 620-632, 1998.

WILKINSON, J.M.; DAVIES, D.R. The aerobic stability of silage: key findings and recente developments. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 68, p. 1-19, 2012.

WOOLFORD, M.K. Microbial screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. **Journal of Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 26, p. 229-237, 1975.

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, v. 38, p. 170-189, 2009.