



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

HACTUS SOUTO CAVALCANTI

**SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR ADITIVADAS COM TORTA DE ALGODÃO E
INOCULANTE MICROBIANO EM DIETAS DE CORDEIROS CONFINADOS**

AREIA

2023

HACTUS SOUTO CAVALCANTI

**SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR ADITIVADAS COM TORTA DE ALGODÃO E
INOCULANTE MICROBIANO EM DIETAS DE CORDEIROS CONFINADOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Edson Mauro Santos

Coorientadora: Prof.^a. Dr.^a Juliana Silva de Oliveira

AREIA

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C376s Cavalcanti, Hactus Souto.

Silagens de cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano em dietas de cordeiros confinados / Hactus Souto Cavalcanti. - Areia, 2023.

69 f.

Orientação: Edson Mauro Santos.

Coorientação: Juliana Silva de Oliveira.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCA.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636(043.2)



PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE TESE

TÍTULO: “SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR ADITIVADAS COM TORTA DE ALGODÃO E INOCULANTE MICROBIANO EM DIETAS DE CORDEIROS CONFINADOS”

AUTOR: HACTUS SOUTO CAVALCANTI

ORIENTADOR: Prof. Dr. Edson Mauro Santos

J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Juliana Silva de Oliveira
Presidente
Universidade Federal da Paraíba - UFPB

Profa. Dra. Aline Mendes Ribeiro Rufino
Examinadora
Universidade Federal da Paraíba - UFPB

Prof. Dr. Fleming Sena Campos
Examinador
Embrapa Semiárido PDI/CNPq

Prof. Dr. Henrique Nunes Parente
Examinador
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Profa. Dra. Michelle de Oliveira Maia Parente
Examinadora
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Areia, 26 de setembro de 2022

AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo que fez, faz e fará, dando forças, saúde e coragem para avançar e concluir mais uma etapa da minha vida profissional.

Ao meu pai (José Carlos), minha mãe (Miriam) e meus irmãos (Carolina e Filipe), por todo o amor, apoio e compreensão incondicionais e que persiste por toda a trajetória acadêmica traçada até aqui, sendo sempre grandes motivadores e incentivadores. Amo todos vocês!

À minha esposa (Samira) por me amar, ser minha confidente e companheira todos os dias, que se alegra e sofre junto a mim, auxiliando e incentivando sempre e, mais uma vez, por estarmos colhendo frutos e finalizando um ciclo para que muitos outros se iniciem. Te amo!

À minha avó Almerintina, em especial, por todo amor e sempre se preocupar, as minhas tias que sempre deram apoio e incentivo para continuidade da preparação profissional e a todos os meus primos pela excelente relação que temos, com conversas, brincadeiras, lembrando momentos de infância e pelos bons momentos que aliviam as preocupações do cotidiano.

Aos meus avós maternos (*in memoriam*), embora fisicamente ausentes, estariam muito felizes por mais uma vitória.

Aos irmãos da igreja Verbo da Vida em Petrolina, por todos os bons momentos de comunhão, brincadeiras, aprendizados e alegrias que levo comigo por onde vou.

Ao meu orientador, Edson Mauro, por todos os ensinamentos, compreensão, atenção, conselhos, disposição e a exigência, nos tornando pessoas cada vez mais capacitadas para entrar no mercado de trabalho, além de ser um grande exemplo de pessoa e profissional. Muito obrigado!

Aos meus amigos de longa data, Mateus Siqueira, Lucas Henrique, Luiz Henrique e Vandemberg Luís (*in memoriam*) pelos momentos de conversas, conselhos, aprendizado e muita música. Não os citei pelos apelidos clássicos, mas sem eles não teria conseguido chegar até aqui e sei que estão muito felizes por mais essa conquista!

Aos muitos amigos que fiz por onde passei, sendo essenciais nos momentos de lazer, de trabalho e por todas as conversas, que deixaram os dias mais leves. Cito aqui Wellington Cordeiro, Evandra Justino, Rafael Lopes, Liliane Santana, Kika Cavalcante, Adiel, Cláudio Albino e Gilberto Sobral.

A todos os colegas do Grupo de Estudos em Forragicultura por sempre estarem à disposição para ajudar nas atividades de campo e laboratório, de dia e de noite, em qualquer ocasião. Meu muito obrigado a todos vocês.

Aos colegas da EMBRAPA Semiárido por todo apoio durante as análises laboratoriais, em especial à Fleming, Clayton, Judicael, Crislaine, Janiele e Aicanã, pois aprendi muito e sem dúvidas contribuíram para a elaboração desse manuscrito.

À Zé Marcos e família por todo o apoio nos experimentos conduzidos na fazenda e, também, à Patrício por toda a amizade, brincadeiras, conversas e suporte nos dias de experimento.

Aos amigos Saullo Laet e Paulinha Tavares, que abriram as portas de suas casas para nos acolher no início de nossa jornada em Petrolina- PE, onde passamos por bons momentos e seguimos com nossa amizade até hoje. Muito obrigado!

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Zootecnia da UFPB, por repassarem com maestria seus conhecimentos em cada área de especialidade, permitindo que muitos profissionais concluam o curso com excelência.

Ao coordenador do curso, prof. Edilson Saraiva, por seu empenho, dedicação e vontade de ajudar sempre que necessário.

Aos funcionários da UFPB pela presteza e atendimento quando nos foi necessário, em especial a Jaldir, secretário do PPGZ, por sua atenção e disponibilidade para ajudar.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos, sem a qual seria extremamente difícil conciliar as demandas da pós graduação com os expedientes de trabalho.

Aos que colaboraram direta e indiretamente na construção desse trabalho, fica aqui meu muito obrigado.

Muito obrigado a todos!

Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos.

Provérbios 16:3 NVI

RESUMO

Objetivou-se avaliar o perfil fermentativo e nutricional em silagens de cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão (20% na matéria natural), inoculante heterofermentativo (*Weissella cibaria*) e a combinação de ambos, onde essas silagens compuseram parte da dieta de cordeiros confinados para realizar avaliações de consumo, desempenho produtivo, digestibilidade e parâmetros ruminais. Para tanto, foram realizados dois experimentos. O primeiro experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 (quatro aditivos e dois tempos de abertura), com 4 repetições, totalizando 32 unidades experimentais. No segundo experimento foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com duas dietas sendo compostas por (1) silagem de cana-de-açúcar (controle) e (2) silagem de cana-de-açúcar aditivada com 20% de torta de algodão. Utilizou-se 26 cordeiros SPRD, 13 para cada tratamento, os quais foram confinados por 60 dias em uma fazenda em São José dos Cordeiros – PB. Observou-se interação entre aditivo x abertura para pH, onde as silagens aditivadas com torta de algodão apresentaram maiores valores (3,6 a 3,8) em relação às demais (<3,6). Houve efeito isolado de aditivo e abertura para os ácidos orgânicos, com maior produção de ácido acético das silagens na última abertura (240d). A recuperação de matéria seca foi superior nas silagens aditivadas com torta de algodão (≈92%), seguida da silagem inoculada com *Weissella cibaria* (85%) e do controle (63%). As silagens aditivadas com torta de algodão apresentaram maiores valores de matéria seca (≈38%), proteína bruta (≈12%), extrato etéreo (≈5%) e menor teor de fibras, se comparadas às demais. Recomenda-se a inclusão da torta de algodão nas silagens pelas melhorias fermentativas e maior recuperação de matéria seca, além de fornecer um aporte proteico, entretanto, a aplicação exclusiva do inoculante é uma possibilidade viável por elevar a recuperação de matéria seca em comparação à silagem controle. No segundo experimento, observou-se que o consumo de matéria seca não diferiu entre os tratamentos (≈1620 g/kg), porém, a digestibilidade da matéria seca (64,75%) e o ganho médio diário (202,88 g/dia) foi superior nas dietas contendo a silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão ($P<0,05$), resultando em maior ganho de peso total (8,11 kg) ($P<0,05$). Os animais alimentados com a dieta contendo silagem de cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão apresentaram menor relação acetato: propionato ruminal (4,2 vs. 2,0 mmol/L) e maior teor de glicose sanguínea (44 vs. 35 mg/dL). As dietas contendo cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão promoveram melhorias fermentativas e nutricionais, com melhor preservação do valor nutritivo, resultando em melhor desempenho produtivo dos ovinos confinados.

Palavras-chave: aditivo; fermentação; ganho de peso; *Weissella cibaria*.

SUGARCANE SILAGES ADDED WITH COTTONSEED CAKE AND MICROBIAL INOCULANT FOR FEEDLOT OF LAMBS

ABSTRACT

The objective was to evaluate the fermentative and nutritional profile of sugarcane silages added with cottonseed cake (20% fresh matter), heterofermentative inoculant (*Weissella cibaria*) and a combination of both, which were used in the diet of feedlot lambs to evaluate performance, intake, digestibility and ruminal parameters. Two experiments were carried out. The first experiment was carried out in a completely randomized design in a 4 x 2 factorial scheme (four additives and two opening times), with 4 replications, totaling 32 experimental units. In the second experiment, a completely randomized design was used with two diets consisting of (1) sugarcane silage (control) and (2) sugarcane silage with 20% cottonseed cake. A total of 26 lambs were used, 13 for each treatment, which were confined for 60 days at a private farm in São José dos Cordeiros - Paraíba. An interaction between additive x opening time was observed for pH, where the silages added with cottonseed cake showed higher values (3.6 to 3.8) in relation to the others (<3.6). There were isolated effects for additive and opening time for organic acids, with higher production of acetic acid from silages in the last opening time (240d). Dry matter recovery was higher in silages with cottonseed cake (≈92%), followed by silage inoculated with *Weissella cibaria* (85%) and control (63%). The silages added with cottonseed cake showed higher values of dry matter (≈38%), crude protein (≈12%), ether extract (≈5%) and lower fiber content, if compared to the others. The inclusion of cottonseed cake in silages is recommended for fermentation improvements and greater dry matter recovery, with a plus of protein supply, however, the exclusive application of the inoculant is a viable possibility because it increases dry matter recovery compared to control silage. In the second experiment, it was observed that dry matter intake did not differ between treatments (≈1620 g/kg), however, dry matter digestibility (64.75%) and average daily gain (202.88 g/day) was higher in diets containing sugarcane silage added with cottonseed cake ($P<0.05$), resulting in greater total weight gain (8.11 kg) ($P<0.05$). The animals fed diets containing sugarcane silage added with cottonseed cake showed a lower acetate: propionate ratio (4.2 vs. 2.0 mmol/L) and higher blood glucose content (44 vs. 35 mg/dL). Diets containing sugarcane added with cottonseed cake promoted fermentative and nutritional improvements, with better preservation of nutritive value, resulting in better productive performance of confined sheep.

Keywords: additive; fermentation; weight gain; *Weissella cibaria*.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Composição química, perfil fermentativo, recuperação de matéria seca e estabilidade aeróbia em silagens contendo inoculantes heterofermentativos	17
--	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Análise físico-química do solo da área experimental cultivada com cana-de-açúcar	34
Tabela 2 - Composição química (g kg^{-1}) e pH da cana-de-açúcar com diferentes aditivos no momento da ensilagem	36
Tabela 3 - Valores médios de pH, carboidratos solúveis residuais (CHOs) e nitrogênio amoniacal (N-NH_3) em silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos em dois tempos de abertura	38
Tabela 4 - Ácidos orgânicos produzidos em silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos em dois tempos de abertura	39
Tabela 5 - Contagens de bactérias ácido lácticas, mofo e leveduras em silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos na ensilagem e após 240 dias de fermentação	40
Tabela 6 - Recuperação de matéria seca (RMS), perdas por efluentes (PE) e perdas por gases (PG) em silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos abertas aos 240 dias	41
Tabela 7 - Composição química de silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos em dois tempos de abertura (valores expressos em g kg^{-1} MS)	42
Tabela 8 - Estabilidade aeróbia (EA), temperatura máxima (T Máx) e pH pós-estabilidade em silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos em dois tempos de abertura	43

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Composição química dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais (g kg^{-1} MS)	57
Tabela 2 - Proporção dos ingredientes (%) e composição química das dietas experimentais (g kg^{-1} MS)	57
Tabela 3 - Perfil fermentativo das silagens utilizadas nas dietas após 60 dias de fermentação	61
Tabela 4 - Desempenho de ovinos alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar aditivadas ou não com torta de algodão	62

Tabela 5 - Consumo e digestibilidade de nutrientes em ovinos alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar aditivadas ou não com torta de algodão	62
---	----

Tabela 6 - Parâmetros ruminais, concentração de ácidos graxos voláteis e parâmetros sanguíneos de ovinos alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar aditivadas ou não com torta de algodão	63
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	11
CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Cana-de-açúcar para ensilagem	14
2.2 Aditivos na silagem de cana-de-açúcar.....	15
2.2.1 Inoculantes microbianos.....	15
2.2.2 Aditivos nutricionais.....	19
2.3 Desempenho animal em ovinos alimentados com silagem de cana-de-açúcar.....	21
REFERÊNCIAS.....	24
CAPÍTULO 2 - SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR COM INCLUSÃO DE TORTA DE ALGODÃO E INOCULANTE MICROBIANO	29
RESUMO	30
ABSTRACT.....	30
1 INTRODUÇÃO.....	31
2 MATERIAL E MÉTODOS	33
3 RESULTADOS	37
4 DISCUSSÃO.....	43
5 CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS.....	48
CAPÍTULO 3.....	52
DESEMPENHO DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR COM E SEM TORTA DE ALGODÃO.....	52
RESUMO	53
ABSTRACT.....	53
1 INTRODUÇÃO.....	53
2 MATERIAL E MÉTODOS	55
3 RESULTADOS	61
4 DISCUSSÃO.....	63
5 CONCLUSÃO.....	66
REFERÊNCIAS.....	66

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar é uma das culturas mais difundidas e produtivas do Brasil, possuindo 8,24 milhões de hectares de área cultivada com produção média de 71,82 t/ha, sendo usada principalmente para a produção de açúcar e etanol (CONAB, 2021). Uma das grandes vantagens da cana-de-açúcar é seu elevado teor de carboidratos solúveis, sendo fonte de energia prontamente disponível para os ruminantes, porém, uma vez fermentados para produção de silagens exclusivas gera-se grande quantidade de etanol, resultando em elevadas perdas de matéria seca (DANIEL et al., 2013, 2019).

Isso acontece pelas altas populações de leveduras na planta *in natura*, originando tais problemas fermentativos e, ainda, ocasionam a baixa estabilidade aeróbia, pois esses microrganismos iniciam o processo de deterioração da silagem (ÁVILA; BRAVO MARTINS; SCHWAN, 2010; WILKINSON; DAVIES, 2013). Uma das formas de controlar a proliferação de leveduras é através de aditivos químicos (DE CARVALHO et al., 2010; SCHMIDT et al., 2007), inoculantes microbianos (RABELO et al., 2019; SANTOS et al., 2017) e aditivos nutricionais (OLIVEIRA et al., 2015; REYES-GUTIÉRREZ et al., 2020; ZANINE et al., 2020).

Os aditivos químicos são mais caros e exigem maiores cuidados durante sua aplicação, pois podem causar danos à saúde e alguns diminuem o consumo dos animais (DE CARVALHO et al., 2010). Os inoculantes microbianos heterofermentativos tem se difundido devido a sua facilidade de aplicação e efetividade de atuação, devido à redução nas contagens de leveduras e melhoria da estabilidade aeróbia em decorrência da maior produção de ácido acético que, reconhecidamente, é um potente agente antifúngico (MOON, 1983; MUCK et al., 2018). Os aditivos nutricionais, por sua vez, tem se destacado por atuarem de várias maneiras no silo, tanto absorvendo umidade como proporcionando um aporte de nutrientes e modulando os parâmetros fermentativos (GÓMEZ-VÁZQUEZ et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2015), sendo bem utilizados os concentrados (OLIVEIRA et al., 2015; VIANA et al., 2013; ZANINE et al., 2020), como a torta de algodão.

Como as silagens de cana-de-açúcar tem uma produção elevada de etanol quando produzidas de forma exclusiva, este pode ser aproveitado pelos ruminantes como fonte de energia, porém, uma parte dele é volatilizado na abertura do silo e parte é convertido no rúmen em acetato e metano, porém, com baixa eficiência energética se comparados aos carboidratos e ácido láctico da silagem (DANIEL et al., 2019). Nesse sentido, quanto

menos etanol for produzido melhor será o valor nutricional da cana ensilada assim como seu aproveitamento pelos animais.

Dessa maneira, o Capítulo 1 tem por objetivo fazer um levantamento de informações da literatura sobre as características químicas e microbiológicas da cana-de-açúcar, como ocorre a fermentação quando ensilada de forma exclusiva e quando aditivada, além de apresentar dados de desempenho produtivo de animais alimentados com dietas à base de cana-de-açúcar.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cana-de-açúcar para ensilagem

A cana-de-açúcar é uma planta que tem sido utilizada na produção de silagens pelo fato de apresentar adaptabilidade às condições tropicais, com alta produção de matéria seca por área (40-50 t MS/ha) e alto valor energético, devido às elevadas concentrações de carboidratos (DANIEL *et al.*, 2019), os quais são rapidamente fermentados pelos microrganismos ruminais quando fornecida aos animais. No Brasil, a cana-de-açúcar é a terceira cultura mais cultivada atrás apenas da soja e do milho (BORDONAL *et al.*, 2021). Por ser passível de cultivo em diversas regiões do país, a cana-de-açúcar pode ser utilizada na alimentação animal na forma *in natura*, onde é realizado o corte, picagem, transporte e fornecimento do material diariamente. Alternativamente, pode-se fazer a ensilagem desse material de forma que demandaria menos mão-de-obra diária com essas atividades, pelo fato de a ensilagem concentrar todas essas atividades em poucos dias (NUSSIO; SCHMIDT, 2003).

Adicionalmente, além dos benefícios logísticos, a ensilagem consiste na preservação do valor nutritivo da cana-de-açúcar quando colhida no ponto ideal, porém, seu uso como capineira sofre alterações naturais do valor nutritivo devido às mudanças morfológicas que ocorrem com o avançar da idade, tais como o aumento na proporção de fibra, diminuição do teor de proteína e aumento do número de folhas mortas (HODGSON, 1990). Com isso, o uso de silagens de cana-de-açúcar torna-se imprescindível em sistemas de produção que adotam essa planta como base volumosa.

Para produção de uma boa silagem, existem alguns atributos importantes que devem ser atendidos de forma a proporcionam uma fermentação adequada. De acordo McDonald; Henderson; Heron (1991), a planta deve possuir teor de matéria seca de 300 a 350 g/kg, teor de carboidratos de 60 a 120 g/kg e baixa capacidade tamponante, para que se obtenha boa acidificação do meio. A cana-de-açúcar atende todos esses requisitos, porém, apresenta alto teor de carboidratos solúveis (350 g/kg MS), mais que o dobro das recomendações, resultando em elevada produção de etanol (DANIEL *et al.*, 2013; DANIEL *et al.*, 2019). Os monossacarídeos presentes no meio, como a glicose, são fermentados pelas leveduras gerando etanol, gás carbônico (CO₂) e água e, como os monossacarídeos são parte da matéria seca do vegetal, pode-se dizer que existem perdas de matéria seca que podem chegar a 49% (MUCK, 2010).

Essa via de fermentação é indesejável quando se pensa na produção de silagens pelo fato de promover altas perdas de matéria seca, seja pela volatilização do etanol como pela produção de CO₂, como também diminui o aproveitamento da silagem pelos animais, como será discutido posteriormente. A cana-de-açúcar possui naturalmente uma alta população epifítica de leveduras, ou seja, independentemente da região de cultivo essas condições serão similares o que traz outros problemas, como a baixa estabilidade aeróbia, pois algumas espécies de leveduras atuam também em condições aeróbias e iniciam a deterioração da silagem, isto é, após o processo fermentativo, quando se abre o silo para iniciar o fornecimento aos animais (ÁVILA; MARTINS; SCHWAN, 2010; WILKINSON; DAVIES, 2013).

Daniel *et al.* (2013) em trabalho de meta-análise avaliando o perfil de compostos voláteis produzidos em silagens de cana-de-açúcar relataram que o etanol, o ácido láctico e acético são os principais componentes dessas silagens, salientando ainda que o ácido acético e etanol são negativamente correlacionados enquanto o ácido láctico e etanol são positivamente correlacionados. Os autores relataram ainda valores médios referentes ao teor de matéria seca (283 g/kg), ácido láctico (26 g/kg MS), ácido acético (32,8 g/kg MS) e etanol (54,2 g/kg MS) em silagens de cana-de-açúcar sem uso de aditivos.

Devido aos elevados teores de etanol nas silagens de cana-de-açúcar, é importante que sejam utilizados aditivos para produzir silagens de maior valor nutritivo, com menores perdas de matéria seca e, conseqüentemente, melhorias da estabilidade aeróbia.

2.2 Aditivos na silagem de cana-de-açúcar

2.2.1 Inoculantes microbianos

Existem diversas categorias de aditivos que podem ser usados na ensilagem sendo muito populares os aditivos microbianos, que consistem na inoculação do material a ser ensilado com uma bactéria específica para melhorar alguns atributos da silagem. No caso da cana-de-açúcar existem estudos que retratam os efeitos positivos do *Lactobacillus buchneri* sobre as características da silagem (GOMES *et al.*, 2021; RABELO *et al.*, 2019a). Esse microrganismo é uma bactéria ácido láctica (BAL) heterofermentativa obrigatória que produz ácido láctico, ácido acético ou etanol e CO₂ a partir da glicose, podendo fermentar também pentoses através da via da fosfocetolase (MUCK, 2010; PAHLOW *et al.*, 2003). Ainda, o *L. Buchneri* é capaz de converter o ácido láctico em ácido

acético e 1,2-propanodiol, em condições anaeróbias, com taxas mais elevadas quando há maior acidificação do meio (pH <5) (OUDE ELFERINK *et al.*, 2001).

Devido a produção de ácido acético, o *L. buchneri* é um dos inoculantes microbianos mais estudados nas últimas décadas, sendo aplicado na ensilagem de diversas plantas forrageiras (FERRERO *et al.*, 2021; SCHMIDT *et al.*, 2014), silagens de ração total (WANG, F.; NISHINO, 2009) e silagens mistas (COSTA *et al.*, 2022). Mesmo com a relevância dessa BAL no cenário da produção de silagens, novos estudos têm sido propostos na busca pela otimização dos métodos de conservação de forragens, avaliando-se novos inoculantes para silagens como o *Lactobacillus amylovorus* (TAO *et al.*, 2020), *Lactobacillus silagei* (TOHNO *et al.*, 2013) e até mesmo novas cepas de *Lactobacillus plantarum* envolvidos na degradação de taninos (JIMÉNEZ *et al.*, 2013) e amido (FITZSIMONS *et al.*, 1994).

Nesse contexto, surge como potencial inoculante a *Weissella cibaria* pois é uma bactéria heterofermentativa com rápido crescimento inicial e capaz de desenvolver-se numa ampla faixa de pH e temperatura (RICCIARDI; PARENTE; ZOTTA, 2009), causa baixa proteólise (TEIXEIRA *et al.*, 2021; XIANG *et al.*, 2020) e produz compostos antimicrobianos que inibem *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. (TEIXEIRA *et al.*, 2021; YU *et al.*, 2018). A *Weissella cibaria* é uma BAL heterofermentativa obrigatória que produz ácido lático, ácido acético e etanol a partir de hexoses, enquanto as pentoses são fermentadas à ácido lático e acético, produzindo ainda ácido acético em condições aeróbias (MÄNBERGER *et al.*, 2020; NAGARAJAN *et al.*, 2022; QUATTRINI *et al.*, 2020). Mesmo com essas vantagens, o gênero *Weissella* é pouco estudado como aditivo em silagens, tendo sido enfatizado apenas recentemente tais características.

Dentre as vantagens dos inoculantes heterofermentativos, observa-se a capacidade de produção do ácido acético, que é um agente antifúngico e impacta diretamente o desenvolvimento de várias espécies tanto na fase fermentativa como na fase de abertura do silo (PAHLOW *et al.*, 2003). Alguns trabalhos clássicos avaliando diversas espécies de BAL mostraram resultados inconsistentes, onde algumas delas não atuaram satisfatoriamente, tendo em vista a grande competição por substrato no início da fase fermentativa, além de não terem se mostrado eficientes também ao longo do processo (PEDROSO *et al.*, 2005; KUNG; RANJIT, 2001; NUSSIO; SCHMIDT, 2003).

Algumas culturas com alto teor de carboidratos solúveis, como o sorgo e milheto, apresentam similaridades à cana-de-açúcar quanto ao padrão fermentativo da silagem

(alta produção de etanol e acidificação do meio) (JUSTINO, 2021; SANTANA, 2021). Trabalhos recentes têm demonstrado os efeitos positivos da inoculação de silagens com BAL heterofermentativas, observando-se melhorias no perfil fermentativo, na composição química, na recuperação de matéria seca e na estabilidade aeróbia dessas silagens, como pode ser visto na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química, perfil fermentativo, recuperação de matéria seca e estabilidade aeróbia em silagens inoculadas com inoculante heterofermentativo

Item	SC	SC-LB	S	S-LB	S-WC	M	M-WC
Autor	Rabelo et al. (2019)	Rabelo et al. (2019)	Filya (2003)	Filya (2003)	Justino (2021)	Santana (2021)	Santana (2021)
Composição química (g/kg MS)							
MS	256	256	203,0	204,0	244,0	198,2	207,7
PB	30,8	32,9	66,0	76,0	46,7	54,7	54,1
FDN	656	660	644,0	644,0	645,3	701,6	707,2
DIVMS	482	466	495,2	499,1	-	-	-
Perfil fermentativo (g/kg MS)							
AL	24,5	25,3	4,86	2,54	-	4,19	3,93
AA	33,1	43,3	0,96	4,30	-	0,37	0,78
ET	52,7	21,7	0,50	0,53	-	0,50	0,23
pH	3,51	3,47	3,87	4,26	3,45	3,90	3,91
Perdas (%) e estabilidade aeróbia (h)							
RMS	73,0	77,6	84,5 *	-	92,9	90,16	90,66
PG	23,0	18,4	0,98*	-	0,99	0,69	0,53
EA	47,1	52,0	58,25*	-	60,00	25,62	20,62

SC: silagem de cana-de-açúcar; SC-LB: silagem de cana-de-açúcar inoculada com *L. buchneri*; S: silagem de sorgo; S-LB: silagem de sorgo inoculada com *L. buchneri*; S-WC: silagem de sorgo inoculada com *W. cibaria*; M: silagem de milho; M-WC: silagem de milho inoculada com *W. cibaria*; MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDN: fibra insolúvel em detergente neutro; DIVMS: digestibilidade *in vitro* da MS; AL: ácido lático; AA: ácido acético; ET: etanol; RMS: recuperação de matéria seca; PG: perdas por gases; EA: estabilidade aeróbia; *Justino (2021).

A eficiência dos inoculantes é bastante variável e há relatos de não eficácia dos mesmos (BLAJMAN *et al.*, 2018; KLEINSCHMIT; KUNG, 2006), o que inviabiliza as melhorias esperadas e acaba por aumentar os custos de produção de silagem. Uma das principais razões desse inconveniente é oriundo de características climáticas e do tipo de forragem, pois o *L. buchneri*, que é um dos inoculantes mais aplicados na produção de silagens, foi isolado e desenvolvido em zonas de clima temperado (América do Norte e Europa) e demonstra seu potencial com espécies cultivadas nessas regiões, tais como o milho e várias espécies hibernais (KUNG; RANJIT, 2001; TAYLOR; KUNG, 2002), podendo ter seus efeitos limitados em condições tropicais devido às temperaturas mais altas e composição química diferente das forragens.

Alguns autores tem relatado mudanças na comunidade microbiana de silagens, inoculadas ou não, em função da temperatura do ambiente, observando-se que a fermentação se torna mais heterolática (BERNARDES *et al.*, 2018; GUAN *et al.*, 2018),

abrindo espaço para o desenvolvimento de outros grupos microbianos que aumentam a proteólise e, consequentemente, diminuem a recuperação de matéria seca (GUAN *et al.*, 2018; XU *et al.*, 2019a). Guan *et al.* (2020) relataram que em temperaturas de 30°C as silagens inoculadas apresentaram maior população de BAL em todos os períodos de fermentação (3, 7, 14 e 60 dias), enquanto as silagens submetidas à temperaturas mais elevadas (45°C) sofreram reduções significativas na população de BAL, onde a partir do 7º dia esse grupo contabilizava menos da metade de toda a comunidade microbiana, significando dizer que a inoculação foi efetiva apenas nos primeiros dias e, com o avançar do tempo, a população de BAL foi eliminada do meio na última abertura. Adicionalmente, a recuperação de matéria foi superior nas silagens inoculadas submetidas à temperatura de 30°C (96-97%) em relação às mesmas silagens submetidas à temperatura de 45°C (82-84).

Vale salientar, ainda, que a aplicação de bactérias exógenas (inoculantes) nas silagens causa alterações na comunidade microbiana, o que muitas vezes não se traduz nos efeitos esperados também por conta da alta população epifítica nativa das plantas ensiladas. Avaliando a inoculação de silagens de sorgo com inoculantes comerciais comparando com silagens inoculadas com isolados regionais, Dong *et al.* (2020) relataram que as silagens controle (sem inoculante) apresentaram maior diversidade de espécies de BAL em que os gêneros *Lactobacillus* e *Weissella* representavam $\approx 70\%$ da comunidade. As silagens inoculadas com os inoculantes comerciais apresentaram maior dominância ($\approx 80\%$) dos *Lactobacillus* enquanto as silagens contendo o isolado regional apresentou dominância quase total ($\approx 95\%$), indicando assim que a inoculação com determinadas cepas pode impactar a dinâmica da comunidade microbiana e, com isso, afetar o perfil fermentativo das silagens. Resultados indicando a sucessão microbiana nas silagens em função dos inoculantes tem sido demonstrado por outros autores em estudos com outras culturas usadas na produção de silagens, como o milho (GUAN *et al.*, 2020; XU *et al.*, 2019b, 2021).

Devido à oscilação da eficácia dos inoculantes comerciais, muitos trabalhos tem sido conduzidos de forma a prospectar e isolar novas cepas de bactérias produtoras de ácido lático e/ou acético voltadas às condições locais, garantindo assim que os microrganismos isolados sejam seguros, metabolicamente efetivos de forma a expressar as características desejadas ao longo do processo fermentativo e na estabilidade aeróbia, resultando em melhorias no desempenho animal (CARVALHO *et al.*, 2021). Assim, é possível obter inoculantes adaptados às condições locais, ou seja, com temperaturas mais

elevadas e com as características intrínsecas das plantas forrageiras nacionais (ÁVILA *et al.*, 2009; JUSTINO, 2021; PEREIRA *et al.*, 2019; SANTANA, 2021).

Pereira *et al.* (2019) em estudo de isolamento e identificação de bactérias ácido lácticas em plantas frescas e silagens de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill. e *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck), a qual é altamente adaptada às condições semiáridas do Brasil, reportaram inúmeras espécies com potencial de uso como inoculantes, como *Lactobacillus plantarum*, *Weissella cibaria*, *Weissella confusa* e *Weissella paramesenteroides*. Destes, verificou-se que a *W. cibaria* foi a única espécie heterofermentativa isolada das silagens, indicando assim persistência ao longo do processo fermentativo com importante produção de ácido acético nas silagens.

Nesse contexto, ainda, Ávila *et al.* (2009) isolaram cepas de *L. buchneri* a partir da cana-de-açúcar *in natura* e as utilizaram como inoculante comparando com inoculantes comerciais e em silagens não inoculadas. Os autores observaram que as silagens de cana-de-açúcar inoculadas com os isolados apresentaram maior teor de ácido propiônico e menor teor de etanol se comparados às demais silagens e, com relação ao ácido acético, a produção foi bem maior que as silagens controle. Esses resultados demonstram claramente a efetividade dos inoculantes isolados a partir de recursos forrageiros locais, onde se obtêm resultados satisfatórios do ponto de vista fermentativo, com manutenção do valor nutritivo devido à redução de perdas de matéria seca.

2.2.2 Aditivos nutricionais

Os aditivos nutricionais são considerados um dos principais moduladores da fermentação por direcionarem o processo fermentativo conforme sua característica, ou seja, um aditivo com alto teor de proteína, por exemplo, pode causar uma desaceleração na velocidade da fermentação permitindo ainda agregar em valor nutricional (GÓMEZ-VÁZQUEZ *et al.*, 2011; OLIVEIRA, A. C. *et al.*, 2015; ZANINE, A. DE M. *et al.*, 2020). Considera-se aditivo nutricional plantas forrageiras ou concentrados que poderiam ser fornecidos *in natura*, porém, são ensilados em mistura com uma cultura principal. Para executar essa técnica, deve-se primeiramente conhecer as características dos ingredientes utilizados de forma que se obtenha uma complementariedade das características fermentativas. Plantas com excesso de carboidratos, como a cana-de-açúcar, necessitam de aditivos capazes de atenuar a fermentação, principalmente pelo fato de conter menor proporção da cana-de-açúcar se comparado à uma silagem exclusiva, resultado da menor quantidade de carboidratos a serem fermentados.

Em trabalho avaliando a proporção ideal na mistura de cana-de-açúcar e amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*) para produção de silagem, Costa *et al.* (2022) relataram aumentos no teor de proteína bruta das silagens mistas com maior inclusão do amendoim forrageiro, com diminuição do teor de fibra. Observou-se ainda que o pH aumentou linearmente conforme se incluiu mais amendoim forrageiro variando de 3,41 (apenas cana-de-açúcar) para 4,23 (75% inclusão), apresentando maior recuperação de matéria seca nessas silagens (95,82%). Resultados similares de melhoria no padrão fermentativo foram relatados por Zanine *et al.* (2020) quando ensilaram a cana-de-açúcar em mistura com diferentes genótipos da planta de soja, observando-se aumento da recuperação de matéria seca (90 a 95%) nos genótipos C60 e C70 nos níveis de inclusão de 25 a 75%. Isso evidencia a efetividade da mistura de ingredientes sobre o perfil fermentativo e incremento nutricional das silagens aditivadas.

Uma das principais fontes de proteína na alimentação animal são os concentrados, os quais são normalmente fornecidos diariamente *in natura*, misturados manualmente no cocho dos animais. Pensando no quesito operacional da fazenda, a ensilagem do concentrado junto com a forragem é uma alternativa viável pois seria despendido menos tempo fazendo tal mistura, além do que o produtor poderia optar por comprar o concentrado nos períodos de menor custo e armazená-lo de maneira segura no interior do silo, diminuindo os riscos com disseminação de insetos e roedores comumente encontrados em galpões de armazenamento. Realizando esse procedimento, pode-se aliar um melhor custo-benefício, como também otimizar o processo fermentativo como um todo.

Alguns estudos tem demonstrado que a ensilagem de concentrados proteicos em mistura com plantas ricas em carboidratos solúveis tem sido uma medida eficaz para que o pH não diminua demais (<3,8). Isso faz com que haja diminuição significativa da fermentação alcoólica, o que aumenta a recuperação de matéria seca além de proporcionar melhorias nutricionais (OLIVEIRA, A. C. *et al.*, 2015; VIANA *et al.*, 2013; ZANINE, A. DE M. *et al.*, 2020). Oliveira *et al.* (2015) avaliando a inclusão de farelo de mamona detoxificado na ensilagem da cana-de-açúcar relataram aumento linear no teor de matéria seca, proteína bruta e diminuição linear da fração fibrosa (FDN e FDA, principalmente). Além disso, os autores relataram diminuição das perdas por gases, efluentes e, conseqüentemente, aumento linear da recuperação de matéria seca à medida que se incluiu maior proporção do concentrado (21% com base na matéria natural).

Além do incremento nutricional, quando o concentrado é submetido à fermentação, ocorre melhoria na digestibilidade dos nutrientes quando se compara com o mesmo concentrado fornecido *in natura* (BUENO *et al.*, 2020; WANG, C.; NISHINO, 2013). Do ponto de vista da forragem, a fermentação é otimizada primeiramente pelo aumento no teor de matéria seca que diminui a atividade de água e afeta o desenvolvimento de diversos microrganismos deteriorantes da silagem (PAHLOW *et al.*, 2003). Com isso, a alta produção de etanol observada nas silagens exclusivas de cana-de-açúcar (RABELO *et al.*, 2019) acabam tendo diminuição significativa quando ensiladas em mistura com concentrados, levando à maior recuperação de matéria seca (ZANINE *et al.*, 2022).

Dentre os concentrados de maior utilização na alimentação animal, a torta de algodão é muito usada por ser um subproduto produzido em larga escala e é facilmente obtida no mercado. A utilização desse concentrado contribui nutricionalmente na produção de silagens mistas com a cana-de-açúcar, podendo aumentar o teor proteico da silagem e, ainda, melhorar a fermentação através dos lipídeos residuais existentes (≈ 85 g/kg MS). Isso é vantajoso pelo fato de os ácidos graxos insaturados provocarem efeitos negativos sobre as leveduras, havendo desregulações na permeabilidade de membrana, alterações no turgor celular, levando à desorganização citoplasmática (CLITHEROW *et al.*, 2020; POHL; KOCK; THIBANE, 2011).

Alguns trabalhos avaliando a produção de silagens mistas de cana-de-açúcar com concentrados proteicos contendo resíduos de ácidos graxos tem demonstrado as melhorias fermentativas (OLIVEIRA, *et al.*, 2015; ZANINE, A. *et al.*, 2022), apesar que os lipídeos não atuam de maneira isolada, onde se deve considerar o efeito combinado de vários fatores que causam a inibição dos microrganismos indesejáveis como a produção de ácido láctico; ácido acético; anaerobiose e temperatura do meio; o perfil de carboidratos disponíveis que servem de substrato para a produção dos ácidos orgânicos; atividade de água; e até mesmo compostos antimicrobianos que podem ser secretados pelas bactérias ácido lácticas (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991; PAHLOW *et al.*, 2003; ROOKE; HATFIELD, 2003; TEIXEIRA *et al.*, 2021). A compreensão desses mecanismos torna-se fundamental para desenvolver técnicas que possibilitem conversar adequadamente os nutrientes, com mínimas perdas, de forma que essas silagens contribuam positivamente quando fornecidas nas dietas para os animais.

2.3 Desempenho animal em ovinos alimentados com silagem de cana-de-açúcar

A utilização das silagens de cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes é um tema de interesse frequente da comunidade científica, pelo fato de esta ser uma cultura muito bem adaptada às condições tropicais e ter elevada produtividade, conforme descrito em tópicos anteriores. Nesse sentido, a busca por métodos e técnicas que permita melhorar a conservação e o aproveitamento dessa planta forrageira está sempre em pauta e com o passar dos anos, o desenvolvimento de implementos agrícolas, aumentos da malha rodoviária, investimentos em nutrição e genética e maior acessibilidade dos produtores ao mercado tem contribuído para os aumentos na produção de carne. Com a possibilidade de colheita em áreas cada vez maiores, o uso de tecnologias como as silagens mistas contendo concentrados permitem melhorar significativamente o desempenho dos animais, principalmente quando se compara com as silagens de cana-de-açúcar exclusivas, pois os animais apresentam maior consumo voluntário, ganho de peso e CA (OLIVEIRA et al., 2020).

Quando se utiliza a técnica da ensilagem de concentrados juntamente com forragens, observa-se que o consumo de matéria seca normalmente é menor quando comparado as dietas não ensiladas, justificando-se pela maior produção de ácidos graxos de cadeia curta no rúmen o que melhora o desempenho dos animais (CHAO *et al.*, 2016; REYES-GUTIÉRREZ *et al.*, 2020). Mesmo em situações que o consumo de matéria seca é similar entre dietas, observa-se que a digestibilidade nas silagens mistas proporciona melhoria do desempenho produtivo (BUENO *et al.*, 2020).

Pate *et al.* (2002) relata que a silagem de cana-de-açúcar apresenta conteúdo médio de NDT de, aproximadamente, 45,5% e, com o avançar da idade de corte, esse valor tende a diminuir ainda mais. Isso se dá pelas altas perdas de MS durante o processo fermentativo da silagem, onde a fração solúvel é parcialmente utilizada e a fração fibrosa, não degradada pelos microrganismos, torna-se mais concentrada (RABELO et al., 2019), resultando em limitações no consumo de matéria seca pelo enchimento ruminal (VAN SOEST, 1994) e baixa digestibilidade dessa fração (DANIEL et al., 2014).

Avaliando a produção de silagens de ração completa à base de cana-de-açúcar, Zanine *et al.* (2022a) relataram aumentos na degradabilidade da matéria seca e da proteína as silagens de cana-de-açúcar aditivadas com concentrados se comparada à silagem exclusiva de cana-de-açúcar. Resultados semelhantes foram publicados por Reyes-Gutiérrez et al. (2020) onde os autores ensilaram a cana-de-açúcar em mistura com farelo de canola, farelo de soja, farinha de peixe e farelo de coco, reportando que dentre os

concentrados avaliados a silagem mista de cana-de-açúcar com farelo de soja e com farelo de coco apresentaram maior degradabilidade ruminal (86,57 e 83,10%, respectivamente).

Avaliando o desempenho produtivo de bovinos em terminação, Schmidt et al. (2014) relataram que as dietas contendo silagens de cana-de-açúcar inoculadas com *L. buchneri* (5×10^4 log UFC/g) proporcionaram maior consumo de matéria seca e ganho de peso diário em relação à silagem não inoculada, sendo explicado principalmente pela maior digestibilidade dessas silagens e maior preservação do conteúdo solúvel, além da menor produção de etanol nas silagens.

A menor produção de etanol é um fator chave para a melhoria do desempenho animal, pois mesmo sendo passível de aproveitamento pelos ruminantes como fonte de energia, o etanol é convertido no rúmen à acetato e metano. Desse modo, constata-se uma baixa eficiência energética do etanol quando comparada aos carboidratos e ao ácido láctico, sendo esse último convertido à propionato na via gliconeogênica (DANIEL et al., 2019; KRISTENSEN et al., 2007). Por essa razão, o desempenho dos animais tende a ser melhor quando há diminuição do teor de etanol nas silagens, com o efeito adicional da maior preservação do valor nutritivo da cana-de-açúcar aditivada.

REFERÊNCIAS

ÁVILA, C. L. S. *et al.* Effects of an indigenous and a commercial *Lactobacillus buchneri* strain on quality of sugar cane silage. *Grass and Forage Science*, v. 64, n. 4, p. 384–394, 2009.

ÁVILA, C. L. S.; BRAVO MARTINS, C. E. C.; SCHWAN, R. F. Identification and characterization of yeasts in sugarcane silages. *Journal of Applied Microbiology*, v. 109, n. 5, p. 1677–1686, 2010.

BERNARDES, T. F. *et al.* Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 5, p. 4001–4019, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13703>>.

BLAJMAN, J. E. *et al.* A meta-analysis on the effectiveness of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria for corn silage. *Journal of Applied Microbiology*, v. 125, n. 6, p. 1655–1669, 2018.

BORDONAL, R. D. O. *et al.* Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. n. 2018, 2021.

BUENO, A. V. I. *et al.* Ensiling total mixed ration for ruminants: A review. *Agronomy*, v. 10, n. 6, 2020.

CARVALHO, B. F. *et al.* Criteria for lactic acid bacteria screening to enhance silage quality. *Journal of Applied Microbiology*, v. 130, n. 2, p. 341–355, 2021.

CHAO, W. *et al.* Changes in in vitro Rumen Fermentation Characteristics of Different Compositions of Total Mixed Rations (TMR) and the Ensiled TMRs. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, v. 4, n. 4, p. 178–182, 8 abr. 2016.

CLITHEROW, K. H. *et al.* Medium-Chain Fatty Acids Released from Polymeric Electrospun Patches Inhibit *Candida albicans* Growth and Reduce the Biofilm Viability. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, v. 6, n. 7, p. 4087–4095, 2020.

COSTA, D. R. DA *et al.* Mixed silages of sugarcane and forage peanut treated with *Lactobacillus buchneri*. *Ciência Animal Brasileira*, v. 23, 2022.

DANIEL, J L P *et al.* Fibre digestion potential in sugarcane across the harvesting window. *Grass and Forage Science*, v. 69, n. 1, p. 176–181, 2014.

DANIEL, J. L.P. *et al.* Occurrence of volatile organic compounds in sugarcane silages. *Animal Feed Science and Technology*, v. 185, n. 1–2, p. 101–105, 2013.

DANIEL, JOÃO LUIZ PRATTI *et al.* Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. *Grass and Forage Science*, n. February, p. 1–13, 2019.

DE FARIA PEDROSO, A. *et al.* Fermentation and microflora dynamics in silage Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. *Scientia Agricola*, 2005.

DONG, M. *et al.* Effects of microbial inoculants on the fermentation characteristics and microbial communities of sweet sorghum bagasse silage. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–9, 2020.

FERRERO, F. *et al.* Temperature during conservation in laboratory silos affects fermentation profile and aerobic stability of corn silage treated with *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus hilgardii*, and their combination. *Journal of Dairy Science*, v. 104, n. 2, p. 1696–1713, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2020-18733>>.

FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Dairy Science*, v. 86, n. 11, p. 3575–3581, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73963-0](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73963-0)>.

FITZSIMONS, A. *et al.* Development of an Amylolytic *Lactobacillus plantarum* Silage Strain Expressing the *Lactobacillus amylovorus* α -Amylase Gene. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. [S.l.: s.n.], 1994.

GOMES, A. L. M. *et al.* Effects of Obligate Heterofermentative Lactic Acid Bacteria Alone or in Combination on the Conservation of Sugarcane Silage. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, n. May, p. 1–9, 2021.

GÓMEZ-VÁZQUEZ, A. *et al.* Nutritional value of sugarcane silage enriched with corn grain, urea, and minerals as feed supplement on growth performance of beef steers grazing stargrass. *Tropical Animal Health and Production*, v. 43, n. 1, p. 215–220, 2011.

GUAN, H. *et al.* Microbial communities and natural fermentation of corn silages prepared with farm bunker-silo in Southwest China. *Bioresource Technology*, v. 265, p. 282–290, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.018>>.

GUAN, H. *et al.* Microbial community and fermentation dynamics of corn silage prepared with heat-resistant lactic acid bacteria in a hot environment. *Microorganisms*, v. 8, n. 5, 2020.

HODGSON, J. Grazing management. Science into practice. [S.l.]: Longman Group UK Ltd., 1990.

JIMÉNEZ, N. *et al.* Uncovering the *Lactobacillus plantarum* WCFS1 gallate decarboxylase involved in tannin degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 79, n. 14, p. 4253–4263, 2013.

JUSTINO, E. S. Silagens de sorgo aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos. 2021. 95 f. Dissertação – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021.

KLEINSCHMIT, D. H.; KUNG, L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of Dairy Science*, v. 89, n. 10, p. 4005–4013, 2006. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72444-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72444-4)>.

- KRISTENSEN, N. B. *et al.* Metabolism of silage alcohols in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 3, p. 1364–1377, 2007.
- KUNG, L.; RANJIT, N. K. The Effect of *Lactobacillus buchneri* and Other Additives on the Fermentation and Aerobic Stability of Barley Silage. *Journal of Dairy Science*, v. 84, n. 5, p. 1149–1155, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74575-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74575-4)>.
- MÅNBERGER, A. *et al.* Taxogenomic assessment and genomic characterisation of *Weissella cibaria* strain 92 able to metabolise oligosaccharides derived from dietary fibres. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2020.
- MCDONALD, P. J.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. *The Biochemistry of Silage*. 2nd. ed. Marlow, Bucks, UK: Cambridge University Press, 1991.
- MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, n. suppl spe, p. 183–191, 2010.
- NAGARAJAN, D. *et al.* Fermentative lactic acid production from seaweed hydrolysate using *Lactobacillus* sp. And *Weissella* sp. *Bioresource technology*, v. 344, n. Pt A, p. 126166, 1 jan. 2022.
- NUSSIO, L. G.; SCHMIDT, P. Silagem de cana-de-açúcar. 2003, [S.l: s.n.], 2003. p. 187–205.
- OLIVEIRA, A. C. *et al.* Chemical composition and fermentation characteristics of sugar cane silage enriched with detoxified castor bean meal. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, v. 67, n. 1, p. 181–188, 2015.
- OLIVEIRA, H. C. *et al.* Performance and meat quality of lambs fed detoxified castor meal. *Animal Bioscience*, v. 00, n. 00, p. 1–9, 2020.
- OUDE ELFERINK, S. J. W. H. *et al.* Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 67, n. 1, p. 125–132, 2001.
- PAHLOW, GÜNTHER. *et al.* Microbiology of Ensiling. *Silage Science and Technology*. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003. p. 63. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/books/abstracts/agronomymonogra/silagesciencean/31>>.
- PATE, F. M. *et al.* Sugarcane as a Cattle Feed: Production and Utilization. *Florida Sugarcane Handbook*, p. 1–21, 2002.
- PEREIRA, G. A. *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria in fresh plants and in silage from *Opuntia* and their effects on the fermentation and aerobic stability of silage. *Journal of Agricultural Science*, v. 157, n. 9–10, p. 684–692, 2019.
- POHL, C. H.; KOCK, J. L. F.; THIBANE, V. S. Antifungal free fatty acids: a review. *Science against microbial pathogens: current research and technological advances*, v. 1, n. January 2011, p. 61–71, 2011.

- QUATTRINI, M. *et al.* A polyphasic approach to characterize *Weissella cibaria* and *Weissella confusa* strains. *Journal of Applied Microbiology*, v. 128, n. 2, p. 500–512, 2020.
- RABELO, C. H. S. *et al.* Meta-analysis of the effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, chemical composition and aerobic stability of sugarcane silage. *Grassland Science*, v. 65, n. 1, p. 3–12, 2019.
- REYES-GUTIÉRREZ, J. A. *et al.* Effect of protein source on in situ digestibility of sugarcane silage-based diets. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, v. 52, n. 1, p. 344–352, 2020.
- RICCIARDI, A.; PARENTE, E.; ZOTTA, T. Modelling the growth of *Weissella cibaria* as a function of fermentation conditions. *Journal of Applied Microbiology*, v. 107, n. 5, p. 1528–1535, nov. 2009.
- ROOKE, J. A.; HATFIELD, R. D. Biochemistry of Ensiling. *Agronomy*, v. 42, p. 95–139, 2003.
- SANTANA, L. P. Inoculante microbiano e torta de algodão na ensilagem de milho em diferentes períodos de fermentação. 2021. 69 f. Dissertação – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021.
- SCHMIDT, P. *et al.* Effects of *Lactobacillus buchneri* on the nutritive value of sugarcane silage for finishing beef bulls. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 43, n. 1, p. 8–13, 2014.
- TAO, Y. *et al.* Effects of ensiling *Oxytropis glabra* with whole-plant corn at different proportions on fermentation quality, alkaloid swainsonine content, and lactic acid bacteria populations. *Animals*, v. 10, n. 10, p. 1–13, 1 out. 2020.
- TAYLOR, C. C.; KUNG, L. The Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the Fermentation and Aerobic Stability of High Moisture Corn in Laboratory Silos. *Journal of Dairy Science*, v. 85, n. 6, p. 1526–1532, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74222-7](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74222-7)>.
- TEIXEIRA, C. G. *et al.* Biodiversity and technological features of *Weissella* isolates obtained from Brazilian artisanal cheese-producing regions. *LWT*, v. 147, 1 jul. 2021.
- TOHNO, M. *et al.* *Lactobacillus silagei* sp. nov., isolated from orchardgrass silage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 63, n. PART 12, p. 4613–4618, 2013.
- VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. [S.l.]: Cornell university press, 1994.
- VIANA, P. T. *et al.* Losses and nutritional value of elephant grass silage with inclusion levels of cottonseed meal. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 35, n. 2, p. 139–144, 2013.

WANG, C.; NISHINO, N. Effects of storage temperature and ensiling period on fermentation products, aerobic stability and microbial communities of total mixed ration silage. *Journal of Applied Microbiology*, v. 114, n. 6, p. 1687–1695, 2013.

WANG, F.; NISHINO, N. Association of *Lactobacillus buchneri* with aerobic stability of total mixed ration containing wet brewers' grains preserved as a silage. *Animal Feed Science and Technology*, v. 149, n. 3–4, p. 265–274, 16 mar. 2009.

WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*, v. 68, n. 1, p. 1–19, 2013.

XIANG, W. L. *et al.* Effect of *Weissella cibaria* co-inoculation on the quality of Sichuan Pickle fermented by *Lactobacillus plantarum*. *LWT*, v. 121, 1 mar. 2020.

XU, D. *et al.* Modulation of metabolome and bacterial community in whole crop corn silage by inoculating homofermentative *Lactobacillus plantarum* and heterofermentative *Lactobacillus buchneri*. *Frontiers in Microbiology*, v. 10, n. JAN, 2019.

XU, D. *et al.* The bacterial community and metabolome dynamics and their interactions modulate fermentation process of whole crop corn silage prepared with or without inoculants. *Microbial Biotechnology*, v. 14, n. 2, p. 561–576, 2021.

YU, Y. J. *et al.* Production, characterization and antibacterial activity of exopolysaccharide from a newly isolated *Weissella cibaria* under sucrose effect. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 126, n. 6, p. 769–777, 1 dez. 2018.

ZANINE, A. *et al.* Babassu Byproducts in Total Mixed Ration Silage Based on Sugarcane for Small Ruminants Diets. *Agronomy*, v. 12, n. 7, p. 1641, 8 jul. 2022.

ZANINE, A. DE M. *et al.* Fermentative profile, losses and chemical composition of silage soybean genotypes amended with sugarcane levels. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-020-78217-1>>.

CAPÍTULO 2

SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR COM INCLUSÃO DE TORTA DE ALGODÃO E INOCULANTE MICROBIANO

SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR COM INCLUSÃO DE TORTA DE ALGODÃO E INOCULANTE MICROBIANO

Hactus Souto Cavalcanti, Edson Mauro Santos

RESUMO: Objetivou-se avaliar o perfil fermentativo, microbiano, a composição química, a estabilidade aeróbia e as perdas em silagens de cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão (20% na matéria natural), inoculante heterofermentativo (*Weissella cibaria*) e a combinação de ambos. O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 (quatro aditivos e dois tempos de abertura), com 4 repetições, totalizando 32 unidades experimentais. Houve interação entre aditivo x abertura para pH, onde as silagens aditivadas com torta de algodão apresentaram maiores valores. Os carboidratos solúveis e nitrogênio amoniacal apresentaram efeitos isolados de aditivo e abertura, com menores valores nas silagens inoculadas, ao passo que o nitrogênio amoniacal foi menor nas silagens aditivadas com torta de algodão. Houve efeito isolado de aditivo e da abertura do silo para os ácidos orgânicos, com maior produção de ácido acético das silagens na última abertura (240d). Observou-se menor contagem de bactérias ácido lácticas nas silagens aditivadas com a combinação de torta de algodão e *Weissella cibaria*, enquanto as leveduras apresentaram aumento nas silagens de cana-de-açúcar inoculadas com *Weissella cibaria*. A recuperação de matéria seca foi superior nas silagens aditivadas com torta de algodão (≈92%), seguida da silagem inoculada com *Weissella cibaria* (85%) e do controle (63%). As silagens aditivadas com torta de algodão apresentaram maiores valores de matéria seca (≈38%), proteína bruta (≈12%), extrato etéreo (≈5%) e menor teor de fibras, se comparadas às demais. Recomenda-se a inclusão da torta de algodão nas silagens pelas melhorias fermentativas e maior recuperação de matéria seca, além de fornecer um aporte proteico, entretanto, a aplicação exclusiva do inoculante é uma possibilidade por elevar a recuperação de matéria seca em comparação à silagem controle.

Palavras-chave: aditivo, deterioração, leveduras, *Weissella cibaria*

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the fermentative, microbial profile, chemical composition, aerobic stability and losses in sugarcane silages added with cottonseed cake (20% in natural matter), heterofermentative inoculant (*Weissella cibaria*) and its combination. The experiment was carried out in a completely randomized design in a 4 x 2 factorial scheme (four additives and two opening times), with 4 replications, totaling 32 experimental units. There was an interaction between additive x opening time for pH, where the mixed silages with cottonseed cake showed higher values. Water-soluble carbohydrates and ammoniacal nitrogen showed isolated effects of additive and opening time, with lower values in inoculated silages, while ammoniacal nitrogen was lower in silages added with cottonseed cake. There were isolated effects of additive and opening time for organic acids, with higher production of acetic acid from silages in the last opening (240 d). Lower counts of lactic acid bacteria were observed in silages which contained both cottonseed cake and *Weissella cibaria*, while yeasts showed an increase in sugarcane silages inoculated with *Weissella cibaria*. Dry matter recovery was higher in silages with cottonseed cake (≈92%), followed by silage inoculated with *Weissella cibaria* (85%) and control (63%). The silages added with cottonseed cake showed higher values of dry matter (≈38%), crude protein (≈12%), ether extract (≈5%) and lower fiber content, if compared to the others. The inclusion of cottonseed cake in silages is recommended due to fermentation improvements and greater dry matter recovery, also

providing a protein supply; however, the exclusive application of the inoculant is a possibility for increasing the dry matter recovery when compared to control silage.

Keywords: additive, deterioration, *Weissella cibaria*, yeasts

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma das culturas mais produtivas do mundo, sendo cultivada em vários países de clima tropical (DANIEL et al. 2019; FAO, 2022). Por ter altas produtividades (40-50 t MS/ha) e concentrações de carboidratos (350 g/kg MS), é utilizada industrialmente para produção de etanol e açúcar, sendo também usada na alimentação animal tanto na forma fresca (*in natura*) como ensilada. No primeiro caso, há uma demanda diária por mão-de-obra diária para realizar o corte, picagem e transporte do material, enquanto a ensilagem torna-se uma alternativa mais prática por possibilitar fazer todas essas atividades em poucos dias, bastando abrir o silo e retirar a quantidade desejada. Adicionalmente, através da ensilagem, é possível preservar o valor nutritivo da cana-de-açúcar, porém, o uso como capineira tem mais alterações do valor nutritivo devido às mudanças morfológicas que ocorrem com o avançar da idade (HODGSON, 1990), como o aumento na proporção de fibra e diminuição do teor de proteína.

Um dos principais pontos de destaque da cana-de-açúcar é o elevado teor de carboidratos solúveis, os quais são rapidamente aproveitados pelos microrganismos ruminais quando é fornecida aos animais, entretanto, quando se faz a ensilagem, a fermentação dos carboidratos resulta em grande produção de etanol e eleva as perdas de matéria seca (DANIEL et al., 2013, 2019). A conversão anaeróbia dos carboidratos em etanol se dá pela alta população epifítica de leveduras que, além dos problemas fermentativos, ainda ocasionam a baixa estabilidade aeróbia, pois algumas espécies atuam também sob condições aeróbias e iniciam a deterioração da silagem (ÁVILA; BRAVO MARTINS; SCHWAN, 2010; WILKINSON; DAVIES, 2013a). Uma das formas de controlar a atuação das leveduras na fase fermentativa é através de aditivos químicos (DE CARVALHO et al., 2010; SCHMIDT et al., 2007), de inoculantes microbianos (RABELO et al., 2019; SANTOS et al., 2017) e aditivos nutricionais (OLIVEIRA et al., 2015; REYES-GUTIÉRREZ et al., 2020; ZANINE et al., 2020).

Os aditivos químicos são mais caros e exigem maiores cuidados durante sua aplicação, pois podem causar danos à saúde e além de diminuir o consumo dos animais (DE CARVALHO et al., 2010). Os inoculantes microbianos heterofermentativos tem se difundido devido a sua facilidade de aplicação e efetividade de atuação, devido à redução

nas contagens de leveduras e melhoria da estabilidade aeróbia em decorrência da maior produção de ácido acético que, reconhecidamente, é um potente agente antifúngico (MOON, 1983; MUCK et al., 2018).

A *Weissella cibaria* é uma bactéria heterofermentativa com rápido crescimento inicial em ampla faixa de pH e temperatura (RICCIARDI; PARENTE; ZOTTA, 2009), além de ter baixa proteólise (TEIXEIRA et al., 2021; XIANG et al., 2020) e produzir compostos antimicrobianos capazes de inibir o crescimento de bactérias patogênicas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. (TEIXEIRA et al., 2021; YU et al., 2018). Produzem ácido lático, ácido acético e etanol a partir de hexoses, enquanto as pentoses são fermentadas à ácido lático e acético, além de produzir ácido acético em condições aeróbias (MÅNBERGER et al., 2020; NAGARAJAN et al., 2022; QUATTRINI et al., 2020). Diferentemente dos *Lactobacillus*, o gênero *Weissella* é pouco estudado quando usado como inoculante em silagens, mesmo apresentando tais vantagens.

Os aditivos nutricionais, por sua vez, têm se destacado por atuarem de várias maneiras ao longo do processo fermentativo, seja absorvendo umidade e/ou proporcionando um aporte de nutrientes, ocasionando em mudanças no perfil microbiano das silagens (GÓMEZ-VÁZQUEZ et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2015; ZANINE et al., 2020). Ao realizar uma ensilagem com mistura de forragens/ingredientes, observa-se uma complementariedade das características fermentativas, pois plantas com excesso de carboidratos como a cana-de-açúcar tem a fermentação melhorada pelo fato de haver uma menor contribuição dessa planta na mistura, diminuindo a quantidade de carboidratos a serem fermentados. Já a ensilagem de um material com mais proteína teria mais dificuldades de ser fermentada, o que seria resolvido com a adição de substratos fermentáveis, como os da cana-de-açúcar. Por isso, alguns estudos tem demonstrado que a ensilagem de alimentos proteicos em mistura com plantas ricas em carboidratos solúveis tem sido efetiva no controle do pH, da fermentação alcoólica e proporcionaram melhorias nutricionais aumentando o teor proteico das silagens e a recuperação de matéria seca (OLIVEIRA et al., 2015; VIANA et al., 2013; ZANINE et al., 2020).

A torta de algodão é um concentrado proteico com grande potencial para produção de silagens mistas que, por ser um subproduto produzido em grande escala, é facilmente encontrado no mercado. A utilização desse concentrado pode corrigir o déficit proteico da cana-de-açúcar e, ainda, melhorar qualitativamente as silagens devido aos lipídeos residuais existentes (≈ 85 g/kg MS). Isso é vantajoso do ponto de vista fermentativo pelo

fato dos ácidos graxos insaturados provocarem efeitos negativos sobre as leveduras, havendo desregulações na permeabilidade de membrana, alterações no turgor e levar à desorganização citoplasmática (CLITHEROW et al., 2020; POHL; KOCK; THIBANE, 2011). Pensando na composição da dieta, esses ácidos graxos podem ser facilmente utilizados pelos ruminantes, o que aumentaria a densidade energética da dieta (CÂMARA et al., 2015; ROGERS; POORE; PASCHAL, 2002).

Nesse contexto, a hipótese é que a torta de algodão atue de maneira similar aos inoculantes heterofermentativos ao inibir as leveduras e proporcionar melhorias na estabilidade aeróbia, permitindo ainda agregar valor nutritivo à cana-de-açúcar. Objetivou-se, portanto, avaliar o perfil fermentativo, perfil microbiano, composição química, estabilidade aeróbia e as perdas em silagens de cana-de-açúcar com inclusão de torta de algodão e inoculante microbiano.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e período experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório de Forragicultura, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – Campus II, Areia, Paraíba (06°57'48" S, 35°41'30" O, 618 m). A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) cultivar RB92579 utilizada foi obtida em uma propriedade privada na cidade de São José dos Cordeiros – PB (7°39'07" S, 36°80'84" O, altitude 545 m), sendo adubada apenas com esterco oriundo dos currais dos animais. O clima da região onde a cana-de-açúcar foi cultivada é definido como BSh, com chuvas de verão, precipitação média anual de 764,4 mm (ALVARES et al., 2013) e temperatura média anual de 27,6 °C (INMET, 2021).

O solo da área experimental foi coletado e analisado quanto às características físico-químicas, conforme apresentado na Tabela 1 e, com base na análise de solo, não foi necessário realizar correção e adubação da cultura. Inserir laboratório onde foi feita a análise.

Tabela 1. Análise físico-química do solo da área experimental cultivada com cana-de-açúcar

Análise química											
pH	P	S	K+	Na+	H ⁺ +Al ³⁺	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC	MO
	H ₂ O (1:2,5)	-----	mg/dm ³ -----				cmol _c /dm ³ -----				g/kg
8,2	60,16	-	99,37	0,90	1,17	0,00	13,34	3,33	17,82	18,99	18,39
Análise física											
Areia			Silte		Argila		Classe textural				
-----			g/kg-----				Franco arenosa				
591			286		123						

2.2 Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 (quatro tratamentos e dois tempos de abertura), com 4 repetições, totalizando 32 unidades experimentais. Assim, os tratamentos consistiram da ensilagem exclusivamente da cana-de-açúcar (controle); cana-de-açúcar ensilada com 20% de torta de algodão (base na matéria natural); cana-de-açúcar inoculada com *Weissella cibaria* e cana-de-açúcar ensilada com 20% torta de algodão e inoculada com *Weissella cibaria*. Os silos foram abertos aos 60 e 240 dias após a ensilagem.

O inoculante utilizado (*Weissella cibaria*) foi aplicado na dose de 1×10^5 log UFC/g de forragem e foi obtido a partir da palma forrageira miúda em trabalhos prévios (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck cv. Miúda) (PEREIRA et al., 2019). Foram realizadas três ativações sucessivas em caldo MRS, a 37°C por 24 h e, após quantificada a população do inoculante em meio ágar MRS, foram feitas novamente três ativações sucessivas e a dose padronizada para 1×10^5 log UFC/g de forragem. Os dados das perdas de gases, perdas de efluentes, recuperação de matéria seca e microbiologia foram submetidos à análise de variância e teste de médias, pois o fator tempo não pôde ser avaliado (avaliada apenas aos 240 dias).

2.3 Ensilagem

Os silos experimentais foram confeccionados com tubos de policloreto de vinila (PVC) possuindo 20 cm de diâmetro e 30 cm de altura, vedando-se as duas extremidades com tampas de PVC. Na parte superior de cada silo, foi adaptada uma válvula tipo Bunsen, visando a eliminação dos gases produzidos durante a fermentação. Foram adicionados 1 kg de areia nos silos, utilizando-se tecido de algodão para separar a areia da silagem, permitindo assim a drenagem dos efluentes.

A cana-de-açúcar foi colhida manualmente e picada em ensiladeira estacionária com partículas de aproximadamente 2 cm no dia 7 de dezembro de 2019. O material foi

ensilado em minisilos ainda na fazenda e, após isso, foi transportado até o Laboratório de Forragicultura em Areia – PB para as avaliações. O peso dos silos foi contabilizado no momento da ensilagem para determinar as perdas na ensilagem.

2.4 Avaliações

Na abertura dos silos o material da superfície foi descartado (≈ 5 cm) e o restante foi homogeneizado manualmente, realizando-se a amostragem de 300 g para as análises de perfil fermentativo, perfil microbiano e composição bromatológica. As mensurações de pH foram realizadas em duplicata para cada repetição experimental, conforme metodologia de Jobim et al. (2007). A determinação do nitrogênio amoniacal (N-NH₃) seguiu a metodologia descrita por Chaney e Marbach (1962). A capacidade tampão foi realizada conforme descrito por Playne e McDonald, 1966). O teor de carboidratos solúveis foi determinado conforme metodologia de (DUBOIS et al., 1956) com método de extração descrito por Corsato; Scarpore Filho; Sales (2008). Para análise de etanol e ácidos orgânicos, foi realizado o processamento das amostras de acordo com metodologia de Siegfried; Ruckemann; Stumpf (1984), sendo analisados por cromatografia gasosa.

Foi utilizado um cromatógrafo da marca Ciola Gregory®, modelo CG Master. A temperatura inicial do forno foi programada para iniciar à 60°C, permanecendo por 1 minuto seguindo um aquecimento de 14°C/min até atingir 200°C. Essa temperatura foi mantida por 4 minutos. Utilizou-se uma vazão de 2 µL no modo split 1:20, com Coluna Carbowax J&W, 30m, 0,25mm x 25µm. A temperatura do injetor foi de 220°C e do detector de 230°C. Utilizou-se hidrogênio como gás de carreamento com taxa de fluxo de 1 mL/min. Os padrões dos ácidos orgânicos e do etanol foram obtidos em kits comerciais da marca Sigma-Aldrich®.

Para a análise microbiológica foi utilizado o meio de cultura ágar MRS (KASVI®) adicionado de 0,1% de ácido acético para contagem das bactérias ácido lácticas (BAL). Para a contagem de mofos e leveduras (ML) foi utilizado o meio BDA (batata dextrose ágar, KASVI®) acidificado com 1% de ácido tartárico. As BAL e os ML foram incubados em BOD à 35°C por 48 e 72 h, respectivamente. Foram feitas diluições em série em duplicata, variando de 10⁻² a 10⁻⁶ no plaqueamento. As placas contendo entre 30 a 300 unidades formadoras de colônia (UFC) foram contabilizadas.

Aproximadamente 300 g do material coletado na ensilagem e nas aberturas foram secos em estufa de ventilação forçada de ar à 65°C por 72 h, sendo posteriormente moídos em moinho de facas à 1 mm para a determinação da composição química. As amostras

secas foram levadas ao Laboratório de Análises em Nutrição Animal da EMBRAPA Semiárido, localizada em Petrolina – PE, para proceder as análises. Foram realizadas as determinações de acordo com as metodologias propostas por Detmann et al. (2012) para os teores de MS (método G-003/1), MM (método M-001/1), PB - *Kjeldahl* (método N-001/1), EE pelo método *Randall* (aparelho ANKOM® XT10, segundo manual do fabricante), FDN (método F-002/1), FDA (método F-004/1), PIDN (método N-004/1), PIDA (método N-005/1), CIDN (método M-002/1), CIDA (método M-003/1) e lignina pela hidrólise ácida (método F-005/1). A composição química da cana-de-açúcar com os diferentes aditivos no momento da ensilagem pode ser visualizada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química (g kg⁻¹) e pH da cana-de-açúcar com diferentes aditivos no momento da ensilagem

Aditivo	MS	MO	PB	EE	FDNcp	FDAcp	LIG	CHOs	pH
Controle ¹	301,5	943,4	33,9	9,8	446,2	285,3	60,4	288,5	4,73
20% T.A. ²	429,1	949,5	132,0	43,7	494,7	319,4	105,1	167,3	5,91
<i>Weissella cibaria</i> ^{3*}	300,0	949,2	28,3	2,8	488,0	234,6	64,6	322,5	5,22
20% T.A. + <i>W. cibaria</i> ^{4*}	439,4	955,1	128,2	40,2	513,2	351,2	90,0	160,2	5,48

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDNcp: fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDAcp: fibra insolúvel em detergente ácido corrigido para cinzas e proteína; LIG: lignina em detergente ácido; CHOs: carboidratos solúveis; pH: potencial hidrogeniônico. ¹Silagem de cana; ²Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão; ³Silagem de cana com *Weissella cibaria*; ⁴Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão + *Weissella cibaria*. *Inoculante aplicado na dose de 10⁵ log UFC/g de forragem.

As perdas por gases (PG), perdas por efluentes (PE) e a recuperação de matéria seca (RMS) foram quantificadas por diferenças de peso conforme as equações descritas por Jobim et al. (2007). A estabilidade aeróbia foi realizada por meio da coleta de amostras de aproximadamente 2 kg de silagem no momento da abertura dos silos e realocadas em silos limpos, sem necessidade de compactação, onde foram mensuradas as temperaturas das silagens a cada 30 minutos mantendo-se a temperatura ambiente constante (25 °C) durante 144 horas. A estabilidade aeróbia foi calculada como sendo o tempo que a silagem permaneceu até 2 °C acima da temperatura ambiente (TAYLOR; KUNG, 2002).

2.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento de modelos mistos (PROC MIXED) do pacote estatístico SAS® v. 9.0, considerando-se como efeito fixo os tratamentos e efeito aleatório as repetições experimentais. O modelo matemático é descrito a seguir:

$$Y_{ijk} = m + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} = valor observado para variável em estudo; m = média geral da variável resposta; α_i = efeito do fator aditivo; β_j = efeito do fator tempo; $(\alpha\beta)_{ij}$ = efeito de interação dos fatores aditivo e tempo e; e_{ijk} = erro experimental associado aos fatores.

As médias foram estimadas pelo LSMEANS e comparadas pelo teste de Tukey. Quando detectado efeito significativo, foram realizados os desdobramentos das interações. Desse modo, os dados relacionados às perdas e a microbiologia foram analisados com o procedimento de modelos lineares gerais (PROC GLM), DIC com 4 tratamentos, com as médias comparadas pelo teste de Tukey. Para todos os testes em questão foi utilizado o nível de probabilidade de 5%.

3 RESULTADOS

Houve efeito de interação aditivo x tempo de abertura para o pH das silagens ($P < 0,05$), enquanto os CHOs e N-NH₃ apresentaram apenas efeitos isolados ($P < 0,05$) (Tabela 3). Aos 60 dias, verificou-se que o pH das silagens contendo torta de algodão foi maior que as silagens que não a tinham (controle e aditivada com *W. cibaria*), porém, aos 240 dias a silagem de cana-de-açúcar aditivada com *W. cibaria* apresentou pH similar às demais e apenas a silagem de cana-de-açúcar permaneceu com pH mais baixo (Tabela 3). Com relação ao efeito do aditivo sobre os CHOs, observou-se que apenas os tratamentos inoculados apresentaram os menores valores, mas com relação ao efeito de tempo observou-se que o teor de CHOs foi menor aos 240 dias se comparada aos 60 dias (Tabela 3). O teor de N-NH₃ foi menor nas silagens contendo torta de algodão se comparadas às demais, porém, houve um efeito significativo do tempo de abertura dos silos, com maiores valores sendo verificados aos 240 dias (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios de pH, carboidratos solúveis residuais (CHOs) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) em silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos em dois tempos de abertura

Aditivo	pH	CHOs (g kg ⁻¹)	N-NH ₃ (% N total)
Dia 60			
Controle ¹	3,20 ^d	48,80	2,74
20% T.A. ²	3,67 ^b	46,00	1,02
<i>Weissella cibaria</i> ³	3,30 ^{cd}	45,40	2,58
20% T.A. + <i>W. cibaria</i> ⁴	3,67 ^b	35,80	0,77
Dia 240			
Controle	3,41 ^c	34,20	3,46
20% T.A.	3,82 ^a	43,90	1,62
<i>Weissella cibaria</i>	3,70 ^{ab}	33,60	2,96
20% T.A. + <i>W. cibaria</i>	3,69 ^{ab}	30,70	1,28
EPM	0,03	3,90	0,11
Efeito principal de aditivo			
Controle	3,30 ^c	41,50 ^{ab}	3,10 ^a
20% T.A.	3,74 ^a	44,90 ^a	1,32 ^c
<i>Weissella cibaria</i>	3,50 ^b	39,50 ^{ab}	2,77 ^b
20% T.A. + <i>W. cibaria</i>	3,68 ^a	33,30 ^b	1,02 ^c
EPM	0,02	2,70	0,07
Efeito principal de abertura			
60 dias	3,46 ^b	44,00 ^a	1,78 ^b
240 dias	3,65 ^a	35,60 ^b	2,33 ^a
EPM	0,01	1,90	0,05
P-valor			
Aditivo	<0,0001	0,0425	<0,0001
Abertura	<0,0001	0,0054	<0,0001
Aditivo x abertura	<0,0001	0,3619	0,4850

¹Silagem de cana; ²Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão; ³Silagem de cana com inoculante heterofermentativo; ⁴Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão + inoculante heterofermentativo. EPM: erro-padrão da média.

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($P < 0,05$) de acordo com teste de Tukey.

Com relação aos ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação, observou-se interação aditivo x tempo de abertura apenas para o ácido butírico ($P < 0,05$) (Tabela 4), enquanto as demais variáveis apresentaram apenas efeitos isolados de aditivo e tempo de abertura (Tabela 4). A produção de ácido butírico foi maior nas silagens aditivadas apenas com torta de algodão, onde na abertura de 60 dias houve maior produção, porém, aos 240 dias os valores reduziram significativamente (Tabela 4). Os desdobramentos do efeito do tempo de abertura mostraram que houve uma produção mais intensa de ácido lático e etanol até a primeira abertura (60 dias), reduzindo significativamente aos 240 dias.

Comportamento contrário a esse foi observado para os ácidos acético e propiônico, os quais tinham teores mais baixos aos 60 dias e aumentaram aos 240 dias (Tabela 4).

Tabela 4. Ácidos orgânicos produzidos em silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos em dois tempos de abertura

Aditivo	AL	AA	AP	AB	ET
	----- g kg ⁻¹ MS -----				
Dia 60					
Controle ¹	4,14	1,37	0,12	0,16 ^{cd}	3,63
20% T.A. ²	4,30	2,00	0,08	1,70 ^a	2,38
<i>Weissella cibaria</i> ³	1,12	0,67	0,02	0,11 ^d	4,33
20% T.A. + <i>W. cibaria</i> ⁴	2,71	1,51	0,08	0,35 ^{cd}	4,34
Dia 240					
Controle	2,13	3,10	0,19	0,32 ^{cd}	0,18
20% T.A.	1,82	2,92	0,17	0,72 ^b	0,32
<i>Weissella cibaria</i>	0,81	1,12	0,07	0,44 ^{bc}	4,41
20% T.A. + <i>W. cibaria</i>	2,17	2,45	0,09	0,38 ^{cd}	2,56
EPM	0,62	0,27	0,02	0,06	0,75
Efeito principal de aditivo					
Controle	3,14 ^a	2,23 ^a	0,15 ^a	0,24 ^a	1,90 ^b
20% T.A.	3,06 ^a	2,46 ^a	0,13 ^{ab}	1,21 ^b	1,35 ^b
<i>Weissella cibaria</i>	0,97 ^b	0,89 ^b	0,04 ^c	0,27 ^a	4,37 ^a
20% T.A. + <i>W. cibaria</i>	2,44 ^{ab}	1,98 ^a	0,08 ^{bc}	0,36 ^a	3,45 ^{ab}
EPM	0,44	0,19	0,01	0,04	0,53
Efeito principal de abertura					
60 dias	3,07 ^a	1,39 ^b	0,08 ^b	0,58 ^a	3,67 ^a
240 dias	1,73 ^b	2,40 ^a	0,13 ^a	0,47 ^b	1,87 ^b
EPM	0,32	0,13	0,008	0,03	0,38
P-valor					
Aditivo	0,0070	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0022
Abertura	0,0071	<0,0001	0,0003	0,0309	0,0031
Aditivo x abertura	0,2598	0,1521	0,1349	<0,0001	0,1655

AL: ácido láctico; AA: ácido acético; AP: ácido propiônico; AB: ácido butírico; ET: etanol.

¹Silagem de cana; ²Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão; ³Silagem de cana com inoculante heterofermentativo; ⁴Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão + inoculante heterofermentativo. EPM: erro-padrão da média.

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($P < 0,05$) de acordo com teste de Tukey.

Com relação aos efeitos de aditivo, observou-se maior quantidade de ácido láctico (AL) no tratamento controle e na silagem aditivada com torta de algodão, enquanto os tratamentos inoculados com *W. cibaria* apresentaram os menores valores, no entanto, a combinação da torta de algodão com *W. cibaria* apresentou valores similares aos demais (Tabela 4). Com relação ao ácido acético (AA), observou-se menor produção na silagem aditivada apenas com *W. cibaria* onde os demais aditivos apresentaram valores similares entre si (Tabela 4). A produção de ácido propiônico (AP) foi menor e a de etanol (ET) foi maior nas silagens inoculadas com *W. cibaria* (Tabela 4). De todas as variáveis analisadas percebe-se que a inoculação com *W. cibaria* não apresentou produção satisfatória de

ácidos orgânicos e ainda proporcionou maior produção de ET, enquanto a torta de algodão assegurou melhorias fermentativas ao aumentar a produção de AL, AA e AP, com a concomitante redução do ET (Tabela 4). Observando o efeito do tempo de abertura ($P<0,005$) (Tabela 4), percebe-se que aos 60 dias a produção de AL e ET são maiores, invertendo-se significativamente aos 240 dias, onde foram observados maiores teores de AA com consequente diminuição do AL e ET (Tabela 4).

A microbiota das silagens apresentou diferenças expressivas quando se compara os valores da ensilagem com as contagens após 240 dias, observando-se aumento da população de BAL e diminuição de mofos e leveduras (Tabela 5). Dentre as silagens avaliadas, observaram-se maiores valores de BAL nas silagens inoculadas com *W. cibaria*, e os menores na silagem contendo torta de algodão com *W. cibaria*, com os demais tratamentos apresentando valores intermediários (Tabela 5). A maior contagem de mofos e leveduras foi registrada nas silagens inoculadas com *W. cibaria*, onde os demais valores não diferiram entre si (Tabela 5).

Tabela 5. Contagens de bactérias ácido lácticas, mofos e leveduras em silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos na ensilagem e após 240 dias de fermentação

Aditivo	Log UFC/g de forragem		
	BAL	Mofos	Leveduras
	Ensilagem		
Controle ¹	3,60	4,75	5,06
20% T.A. ²	3,12	4,64	5,11
<i>Weissella cibaria</i> ³	3,87	4,63	4,95
20% T.A. + <i>W. cibaria</i> ⁴	4,44	6,51	4,77
	240 dias		
Controle ¹	6,70 ^{ab}	2,47 ^b	3,03 ^b
20% T.A. ²	6,81 ^{ab}	2,10 ^b	2,94 ^b
<i>Weissella cibaria</i> ³	6,88 ^a	4,36 ^a	5,34 ^a
20% T.A. + <i>W. cibaria</i> ⁴	5,62 ^b	2,59 ^b	3,00 ^b
EPM	0,18	0,28	0,34
P-valor	0,0313	0,0046	0,0024

¹Silagem de cana; ²Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão; ³Silagem de cana com inoculante heterofermentativo; ⁴Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão + inoculante heterofermentativo. BAL = bactérias ácido lácticas.

A recuperação de matéria seca das silagens contendo torta de algodão (com e sem inoculante) foram as maiores, com menores valores sendo registrados nas silagens do grupo controle ($P<0,05$) (Tabela 6). As perdas por efluentes foi menor nas silagens contendo torta de algodão (com e sem inoculante), enquanto as perdas

por gases foram maiores nas silagens que não continham torta de algodão, ou seja, controle e inoculada com *W. cibaria* (Tabela 6).

Tabela 6. Recuperação de matéria seca (RMS), perdas por efluentes (PE) e perdas por gases (PG) em silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos abertas aos 240 dias

Aditivo	RMS (%)	PE (kg t ⁻¹)	PG (% MS)
Controle ¹	63,60 ^c	39,15 ^a	18,45 ^a
20% T.A. ²	91,46 ^a	21,15 ^b	1,64 ^c
<i>Weissella cibaria</i> ^{3*}	85,04 ^b	37,85 ^a	14,01 ^b
20% T.A. + <i>W. cibaria</i> ^{4*}	92,25 ^a	23,04 ^b	1,52 ^c
EPM	3,00	2,90	1,94
P-valor	<0,0001	0,0221	<0,0001

¹Silagem de cana; ²Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão; ³Silagem de cana com inoculante heterofermentativo; ⁴Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão + inoculante heterofermentativo. EPM: erro-padrão da média.

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($P < 0,05$) de acordo com teste de Tukey.

A composição química das silagens apresentou interação entre aditivo x tempo de abertura apenas para o teor de FDN e FDA ($P < 0,05$) (Tabela 7). Para as variáveis MS e MO observou-se efeito isolado tanto de aditivo como de abertura. Para as variáveis PB, EE e LIG verificou-se apenas efeito de aditivo. De maneira geral, os teores de FDN e FDA foram maiores nas silagens controle e na inoculada com *W. cibaria* em ambas as aberturas, porém, os valores foram maiores aos 240 dias se comparados à abertura dos 60 dias (Tabela 7). Relacionado aos efeitos de aditivo, observou-se que os valores de MS e MO foram maiores nas silagens aditivadas com torta de algodão (com e sem inoculante) (Tabela 7). A PB e o EE aumentaram de forma significativa nas silagens contendo torta de algodão (com e sem inoculante), apresentando aumentos de $\approx 400\%$ e $\approx 340\%$, respectivamente. A LIG apresentou diminuição de $\approx 25\%$ nas silagens aditivadas com torta de algodão, independentemente de ser inoculada ou não (Tabela 7).

Tabela 7. Composição química de silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos em dois tempos de abertura (valores expressos em g kg⁻¹ MS)

Aditivo	MS	MO	PB	EE	FDN _{cp}	FDA _{cp}	LIG
Dia 60							
Controle ¹	245,0	919,0	30,0	14,3	666,4 ^c	345,4 ^c	78,4
20% T.A. ²	415,8	950,4	122,7	55,5	580,9 ^e	323,1 ^d	101,3
<i>Weissella cibaria</i> ³	223,4	925,6	24,6	18,2	686,4 ^{bc}	375,1 ^b	86,1
20% T.A. + <i>W. cibaria</i> ⁴	398,0	944,0	139,1	44,6	570,9 ^e	309,8 ^d	102,3
Dia 240							
Controle	225,3	912,2	29,8	18,6	703,2 ^b	362,4 ^{bc}	81,7
20% T.A.	361,9	939,1	115,1	55,8	635,9 ^d	377,3 ^b	102,4
<i>Weissella cibaria</i>	206,1	922,8	31,5	20,5	736,6 ^a	419,2 ^a	93,4
20% T.A. + <i>W. cibaria</i>	346,9	936,9	138,0	48,1	589,9 ^e	346,4 ^c	96,6
EPM	8,3	1,8	3,3	2,6	6,3	4,8	4,0
Efeito principal de aditivo							
Controle	23,51 ^b	915,6 ^c	29,9 ^c	16,5 ^c	684,8 ^b	353,9 ^b	80,1 ^b
20% T.A.	38,88 ^a	944,8 ^a	118,9 ^b	55,6 ^a	608,4 ^c	350,2 ^b	101,8 ^a
<i>Weissella cibaria</i>	21,47 ^b	924,2 ^b	28,0 ^c	19,3 ^c	711,5 ^a	397,1 ^a	89,7 ^a
20% T.A. + <i>W. cibaria</i>	37,24 ^a	940,4 ^a	138,6 ^a	46,4 ^b	580,4 ^d	328,1 ^c	99,5 ^{ab}
EPM	0,58	1,3	2,2	1,8	5,3	3,3	2,8
Efeito principal de abertura							
60 dias	32,05 ^a	934,7 ^a	79,1	33,1	626,1 ^b	338,4 ^b	92,0
240 dias	28,50 ^b	927,7 ^b	78,6	35,7	666,4 ^a	376,3 ^a	93,5
EPM	0,41	0,9	0,16	1,3	4,7	2,3	1,9
P-valor							
Aditivo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0034
Abertura	<0,0001	<0,0001	0,8371	0,1996	<0,0001	<0,0001	0,6082
Aditivo x abertura	0,0618	0,1735	0,2033	0,8730	0,0018	0,0029	0,4743

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN_{cp}: fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDA_{cp}: fibra insolúvel em detergente ácido corrigido para cinzas e proteína. LIG: lignina. ¹Silagem de cana; ²Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão; ³Silagem de cana com inoculante heterofermentativo; ⁴Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão + inoculante heterofermentativo. EPM: erro-padrão da média.

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($P < 0,05$) de acordo com teste de Tukey.

Foram observadas interações entre aditivo x tempo de abertura para as variáveis estabilidade aeróbia, temperatura máxima e pH-pós estabilidade das silagens avaliadas ($P < 0,05$) (Tabela 8). De maneira geral, foi observado que aos 240 dias as silagens apresentaram melhoria significativa da estabilidade aeróbia se comparados à primeira abertura (60 dias). Com isso, pode-se observar que aos 240 dias a silagem aditivada com torta de algodão e *W. cibaria* não apresentou deterioração aeróbia, seguida da silagem inoculada com *W. cibaria*, torta de algodão e controle (Tabela 8).

A temperatura máxima das silagens foi maior na abertura dos 60 dias quando comparada a dos 240 dias. Assim, as maiores temperaturas registradas na primeira

abertura foi de 43°C na silagem aditivada com torta de algodão e *W. cibaria*. A estabilidade aeróbia de maior duração foi justamente a que apresentou menor temperatura, ou seja, ≈31°C (Tabela 8). Aos 240 dias as temperaturas foram mais baixas se comparadas à primeira abertura, associando-se com melhorias na estabilidade aeróbia. Com relação ao pH, observou-se um aumento significativo apenas na abertura dos 60 dias na silagem aditivada com torta de algodão e *W. cibaria*, enquanto as demais silagens não diferiram entre si (Tabela 8).

Tabela 8. Estabilidade aeróbia (EA), temperatura máxima (T Máx) e pH pós-estabilidade em silagens de cana-de-açúcar com diferentes aditivos em dois tempos de abertura

Aditivo	EA (h)	T Máx (°C)	pH
60 dias			
Controle	61,75 ^e	37,06 ^b	3,76 ^b
20% T.A.	80,50 ^d	31,75 ^c	3,72 ^b
<i>Weissella cibaria</i>	58,87 ^e	35,97 ^b	3,75 ^b
20% T.A. + <i>W. cibaria</i>	41,25 ^f	43,00 ^a	7,12 ^a
240 dias			
Controle	98,75 ^c	31,00 ^c	3,59 ^b
20% T.A.	124,13 ^b	28,35 ^d	3,99 ^b
<i>Weissella cibaria</i>	127,75 ^b	27,80 ^d	3,60 ^b
20% T.A. + <i>W. cibaria</i>	144,00 ^a	26,55 ^d	3,73 ^b
EPM	2,15	0,47	0,09
Efeito principal de tratamento			
Controle	80,25 ^c	34,03 ^a	3,68 ^b
20% T.A.	102,31 ^a	29,69 ^c	3,85 ^b
<i>Weissella cibaria</i>	93,31 ^b	31,88 ^b	3,68 ^b
20% T.A. + <i>W. cibaria</i>	92,62 ^b	34,77 ^a	5,42 ^a
EPM	1,52	0,36	0,06
Efeito principal de abertura			
60 dias	60,59 ^b	36,76 ^a	4,59 ^a
240 dias	123,66 ^a	28,42 ^b	3,72 ^b
EPM	1,16	0,25	0,04
P-valor			
Aditivo	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Abertura	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Aditivo x Abertura	<0,0001	<0,0001	<0,0001

¹Silagem de cana; ²Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão; ³Silagem de cana com inoculante heterofermentativo; ⁴Silagem de cana aditivada com 20% de torta de algodão + inoculante heterofermentativo.

*Inoculante aplicado na dose de 10⁵ log UFC/g de forragem. EPM: erro-padrão da média.

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($P < 0,05$) de acordo com teste de Tukey.

4 DISCUSSÃO

Pode-se observar que os valores de pH e CHOs avaliados diminuíram de forma expressiva do momento da ensilagem até a abertura dos silos (Tabela 2 e Tabela 3). Esse efeito é comum em silagens, pois é através da fermentação dos carboidratos solúveis da planta que há a produção de ácidos orgânicos, resultando assim na diminuição do pH

(ROOKE; HATFIELD, 2003). Considerando que o teor ideal de CHOs deve ser de 60 a 120 g kg⁻¹ (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991), notam-se valores acima dessa faixa em todos os tratamentos, apesar da redução de $\approx 50\%$ no teor de CHOs ao aditivar a cana-de-açúcar com torta de algodão independentemente do uso de inoculante (Tabela 2). Os valores de N-NH₃ encontraram-se abaixo dos 10% em todas as silagens, porém, comparando a silagem de cana-de-açúcar com a mesma silagem inoculada com *Weissella cibaria*, nota-se que houve redução na proteólise (Tabela 3) fato característico desse microrganismo (TEIXEIRA et al., 2021) e bastante desejável na produção de silagens.

A menor disponibilidade de CHOs a partir da ensilagem fez com que os valores de pH das silagens aditivadas com torta de algodão, em ambas as aberturas, fossem mais altos em relação às silagens controle e as aditivadas com *W. cibaria* (Tabela 3). Apesar disso, observa-se que o pH está abaixo da faixa preconizada como ideal que é de 3,8 a 4,2 (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991), porém, aos 240 dias as silagens apresentaram valores mais elevados se comparados aos 60 dias (Tabela 3). Isso está associado à atividade mais intensa de diversos microrganismos, em que as BAL vão dominando o meio nas primeiras semanas de fermentação, com consequente redução da atividade com o passar do tempo (PAHLOW et al., 2003).

Concomitantemente, observa-se que a produção de ácido lático (AL) foi maior que a dos demais ácidos em todas as silagens, fato já esperado, enquanto o teor de etanol teve os maiores valores nas silagens inoculadas com *W. cibaria* (Tabela 4). Isso se deu, possivelmente, por se tratar de uma bactéria heterofermentativa obrigatória, produzindo AL, ET e CO₂ a partir de hexoses e AL e AA a partir de pentoses (ROOKE; HATFIELD, 2003). Dessa forma, como o perfil de carboidratos da cana-de-açúcar é majoritariamente composto por hexoses (ZHAO et al., 2020), explica-se então como houve maior produção de etanol nas silagens inoculadas com esse microrganismo. Além disso, estudos metagenômicos recentes tem demonstrado que essa espécie é capaz de produzir outros compostos como o 2,3-butanodiol e diacetil (LYNCH et al., 2015), compostos que até então não tem efeitos conhecidos sobre outros microrganismos da silagem. O etanol produzido nas demais silagens é resultado da fermentação de leveduras presentes naturalmente nas silagens de cana-de-açúcar (ÁVILA; BRAVO MARTINS; SCHWAN, 2010), apesar de terem sua atividade reduzida significativamente no presente trabalho.

A produção de AA nas silagens aditivadas com torta de algodão pode ser derivada das características da própria torta, onde a mesma possui de 400 a 450 g kg⁻¹ de xilana

em sua composição (MATSUO et al., 2011) e quando é hidrolisada libera xilose no meio (pentose). Recentemente, (QUATTRINI et al., 2020) relataram que várias cepas de *W. cibaria* apresentaram produção de enzimas envolvidas no metabolismo de pentoses, tais como a β -xilanase. Com a disponibilidade de pentoses no meio, ocorre a produção de AL e AA (ROOKE; HATFIELD, 2003), fato que ajuda a explicar a maior produção de AA nas silagens de cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão e *W. cibaria* se comparadas às silagens apenas inoculadas com esse microrganismo (Tabela 4).

A alta produção de AA nas silagens não inoculadas pode ter apresentado um padrão heterolático em função do maior tempo de fermentação (240 dias) devido às maiores temperaturas do ambiente durante a fase de fermentação (BERNARDES et al., 2018), como também pelas modulações na população microbiana que naturalmente ocorrem (XU et al., 2019; ZHANG et al., 2019). Aos 240 dias a maior proporção de AA evidenciou que houve utilização do AL ao longo do processo fermentativo, pois aos 60 dias as proporções eram invertidas (Tabela 4). O AP e AB apresentaram-se abaixo das faixas recomendadas por McDonald; Henderson; Heron (1991) (Tabela 4), apresentando-se em valores baixos independentemente dos períodos de abertura e aditivos, caracterizando assim um bom padrão fermentativo.

As altas contagens de BAL após 240 dias da ensilagem demonstram que houve atuação de diferentes grupos ao longo do processo (Tabela 5), pois a produção de AL nos primeiros 60 dias foi maior. O presente estudo não realizou investigações de cunho metagenômico, no entanto, infere-se de trabalhos disponíveis na literatura que as modulações na população microbiana são uma realidade, seja em silagens inoculadas ou não, apresentando uma predominância de espécies heterofermentadoras nos períodos mais longos de abertura dos silos (XU et al., 2019, 2021; ZHANG et al., 2019). A utilização de AL e o aumento do AA aos 240 dias pode ter sido ocasionada justamente pela ação das BAL heterofermentativas, que catabolizaram o AL para produção de AA (Tabela 4).

Os fungos, representados pelos mofos e leveduras, apresentaram contagens similares aos 240 dias (Tabela 5), indicando atividade em todo o processo fermentativo. Zhang et al. (2019) relatam que a população de leveduras do gênero *Pichia* aumentou durante o processo fermentativo, sendo esse um dos grupos mais abundantes nas silagens de cana-de-açúcar. Outras espécies como *Torulaspora delbrueckii*, *Pichia anomala* e *Saccharomyces cerevisiae* foram as mais abundantes durante o processo fermentativo de silagens de cana-de-açúcar, evidenciando tolerância à acidez e capacidade de metabolizar

tanto CHOs como AL do meio (ÁVILA; BRAVO MARTINS; SCHWAN, 2010). Apesar da detecção de AA nas silagens, percebe-se que o mesmo foi produzido em baixa concentração (<50 mmol/L), proporcionando assim um efeito fungistático com redução nas taxas de crescimento (MOON, 1983), explicando as baixas contagens no presente trabalho, principalmente ao comparar as contagens em torno de 5 log UFC/g na ensilagem sendo reduzidas para ≈ 3 log UFC/g silagem (Tabela 5). Como a silagem de cana-de-açúcar inoculada com *W. cibaria* apresentou baixa produção de AA (Tabela 4), observam-se maiores contagens de mofos e leveduras (Tabela 5), corroborando com a ideia do efeito fungistático do AA no presente trabalho.

Com relação as perdas, observa-se que as silagens contendo torta de algodão apresentaram menos perdas de gases e efluentes e, conseqüentemente, apresentaram maior RMS (Tabela 6). A silagem controle apresentou menor recuperação de MS pelo fato de ter mais PG e PE, por não ter nenhum aditivo, apesar de que as perdas por efluentes são consideradas baixas (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Em comparação às silagens aditivadas com torta de algodão, há diferença na PE pelo fato de a torta promover um aumento no teor de MS das silagens (Tabela 7). Já a PG foi substancialmente elevada, resultado da fermentação alcoólica intensa, fato que se repetiu inclusive nas silagens inoculadas com *W. cibaria*, apesar de ter apresentado valores um pouco menores (Tabela 6). Com isso, a torta de algodão mostrou-se um aditivo promissor pelo fato de aumentar a RMS e diminuir as PG e PE, independentemente da utilização de inoculantes microbianos (Tabela 6).

Adicionalmente, ao usar a torta de algodão como aditivo nas silagens, observou-se melhoria no valor nutritivo de forma significativa, expresso pelos teores de MS, PB, EE com diminuição de componentes fibrosos como a FDN, FDA e LIG. Esse efeito já era esperado, no entanto, ao comparar a composição química no momento na ensilagem (Tabela 2) com as silagens nas aberturas (Tabela 7), percebe-se um aumento da fração fibrosa com concomitante redução do teor de MS e das frações mais digestíveis, principalmente nas silagens de cana-de-açúcar (com e sem aditivo). Esse fato pode ser explicado justamente pelo aumento nas perdas de MS (Tabela 6), onde a fração solúvel é parcialmente utilizada durante a fermentação e a fração fibrosa, inutilizável pelos microrganismos, torna-se mais concentrada (RABELO et al., 2019).

A baixa estabilidade aeróbia na abertura dos 60 dias (Tabela 8) pode ser explicada pela baixa produção de AA nessa abertura (Tabela 4), observando-se que tal produção depende da ação de BAL heterofermentativas, sejam elas nativas da população epifítica

tanto como as inoculadas (KUNG et al., 2018). Apesar disso, nota-se que apenas a silagem aditivada exclusivamente com torta de algodão apresentou maior a estabilidade aeróbia (80h) nessa abertura, possivelmente, devido a inibição de algumas espécies de leveduras em função da população epifítica ser mais diversa (ZHANG et al., 2019). Em contrapartida, ao aditivar as silagens com torta de algodão combinada à *W. cibaria* observaram-se os piores efeitos levando à menor estabilidade aeróbia (Tabela 8), provavelmente pelo fato de o inoculante proporcionar modulações na população de leveduras, tornando a silagem mais instável (DROUIN et al., 2021).

Em estudo avaliando a correlação entre BAL e fungos em silagens de cana-de-açúcar, Zhang et al. (2019) relataram que a população de leveduras do gênero *Pichia* aumentou durante o processo fermentativo, proliferando-se mais rapidamente quando as silagens foram expostas ao ar, sendo esse um dos grupos mais abundantes. O aumento de pH e temperaturas observadas no presente estudo, principalmente nos 60 dias, se dão pela proliferação de leveduras assimiladoras de lactato que oxidam os ácidos produzidos na fermentação e, como isso ocorre em aerobiose, há maior rendimento energético, explicando a rápida proliferação dos microrganismos aeróbios, levando ao maior aquecimento da massa ensilada e consequente elevação do pH (ÁVILA; BRAVO MARTINS; SCHWAN, 2010; BORREANI et al., 2018; WILKINSON; DAVIES, 2013b).

Já aos 240 dias, onde houve mais tempo de ação das BAL heterofermentativas, observou-se maior produção de AA com as devidas melhorias na estabilidade aeróbia, em que a silagem controle apresentou ≈ 100 h de estabilidade, ao passo que as demais silagens praticamente dobraram o tempo de estabilidade em comparação à primeira abertura, notando-se um aumento significativo na estabilidade das silagens aditivadas com torta de algodão combinada à *W. cibaria* (Tabela 8). As silagens inoculadas com *Weissella cibaria* não apresentaram um efeito rápido com relação à estabilidade aeróbia se comparado a outros inoculantes heterofermentativos como o *Lactobacillus buchneri*, que dentro de 60 a 90 dias já tem produzido AA suficiente para melhorar a estabilidade aeróbia (GOMES et al., 2021; KLEINSCHMIT; KUNG, 2006; MUCK et al., 2018), porém, demonstrou-se eficaz quando se pretende estocar a silagens por longos períodos no silo (Tabela 8).

5 CONCLUSÃO

A inclusão da torta de algodão nas silagens melhora o perfil fermentativo e proporciona maior recuperação de matéria seca, além de fornecer um aporte proteico que diminui a proporção de concentrados *in natura* na dieta. A utilização da *Weissella cibaria* pode ser mais viável pela facilidade de aplicação, sendo uma alternativa útil para períodos de armazenamento mais prolongados.

REFERÊNCIAS

- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- ÁVILA, C. L. S.; BRAVO MARTINS, C. E. C.; SCHWAN, R. F. Identification and characterization of yeasts in sugarcane silages. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, n. 5, p. 1677–1686, 2010.
- BERNARDES, T. F. et al. Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4001–4019, 2018.
- BORREANI, G. et al. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3952–3979, 2018.
- CÂMARA, A. C. L. et al. Toxicity of gossypol from cottonseed cake to sheep ovarian follicles. **PLoS ONE**, v. 10, n. 11, p. 1–11, 2015.
- CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical chemistry**, v. 8, p. 130–132, 1962.
- CLITHEROW, K. H. et al. Medium-Chain Fatty Acids Released from Polymeric Electrospun Patches Inhibit *Candida albicans* Growth and Reduce the Biofilm Viability. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 6, n. 7, p. 4087–4095, 2020.
- CORSATO, C. E.; SCARPARE FILHO, J. A.; SALES, E. C. J. Teores De Carboidratos Em Órgãos Lenhosos Do Caquiizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 414–418, 2008.
- DANIEL, J. L. P. et al. Occurrence of volatile organic compounds in sugarcane silages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 185, n. 1–2, p. 101–105, 2013.
- DANIEL, J. L. P. et al. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. **Grass and Forage Science**, n. February, p. 1–13, 2019.
- DE CARVALHO, G. G. P. et al. Consumo e digestibilidade aparente em novilhas alimentadas com dietas contendo cana-de-açúcar tratada com óxido de cálcio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2703–2713, 2010.
- DETMANN, E. et al. **Métodos para análise de alimentos - INCT - Ciência Animal**. [s.l.: s.n.].

- DROUIN, P. et al. Microbiota succession during aerobic stability of maize silage inoculated with *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788 and *Lentilactobacillus hilgardii* CNCM-I-4785. **MicrobiologyOpen**, v. 10, n. 1, p. 1–21, 2021.
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/sugarcane/en/. Acesso em: 12 de junho de 2022.
- GOMES, A. L. M. et al. Effects of Obligate Heterofermentative Lactic Acid Bacteria Alone or in Combination on the Conservation of Sugarcane Silage. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, n. May, p. 1–9, 2021.
- GÓMEZ-VÁZQUEZ, A. et al. Nutritional value of sugarcane silage enriched with corn grain, urea, and minerals as feed supplement on growth performance of beef steers grazing stargrass. **Tropical Animal Health and Production**, v. 43, n. 1, p. 215–220, 2011.
- HODGSON, J. **Grazing management. Science into practice**. [s.l.] Longman Group UK Ltd., 1990.
- JOBIM, C. C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada Methodological advances in evaluation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 101–119, 2007.
- KLEINSCHMIT, D. H.; KUNG, L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 4005–4013, 2006.
- KUNG, L. et al. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4020–4033, 2018.
- LYNCH, K. M. et al. Genomics of *Weissella cibaria* with an examination of its metabolic traits. **Microbiology (United Kingdom)**, v. 161, n. 4, p. 914–930, 2015.
- MÂNBERGER, A. et al. Taxogenomic assessment and genomic characterisation of *Weissella cibaria* strain 92 able to metabolise oligosaccharides derived from dietary fibres. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2020.
- MATSUO, N. et al. Chemical Structure of Xylan in Cotton-seed Cake. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 55, n. 11, p. 2905–2907, 2011.
- MCDONALD, P. J.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The Biochemistry of Silage**. 2nd. ed. Marlow, Bucks, UK: Cambridge University Press, 1991.
- MOON, N. J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 55, n. 3, p. 453–460, 1983.

- MUCK, R. E. et al. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3980–4000, 2018.
- NAGARAJAN, D. et al. Fermentative lactic acid production from seaweed hydrolysate using *Lactobacillus* sp. And *Weissella* sp. **Bioresource technology**, v. 344, n. Pt A, p. 126166, 1 jan. 2022.
- OLIVEIRA, A. C. et al. Chemical composition and fermentation characteristics of sugar cane silage enriched with detoxified castor bean meal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 67, n. 1, p. 181–188, 2015.
- PAHLOW, GÜNTHER. et al. Microbiology of Ensiling. Em: **Silage Science and Technology**. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003. p. 63.
- PEREIRA, G. A. et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria in fresh plants and in silage from *Opuntia* and their effects on the fermentation and aerobic stability of silage. **Journal of Agricultural Science**, v. 157, n. 9–10, p. 684–692, 2019.
- PLAYNE, M. J.; MCDONALD, P. The buffering constituents of herbage and of silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 17, n. 6, p. 264–268, 1966.
- POHL, C. H.; KOCK, J. L. F.; THIBANE, V. S. Antifungal free fatty acids: a review. **Science against microbial pathogens: current research and technological advances**, v. 1, n. January 2011, p. 61–71, 2011.
- QUATTRINI, M. et al. A polyphasic approach to characterize *Weissella cibaria* and *Weissella confusa* strains. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, n. 2, p. 500–512, 2020.
- RABELO, C. H. S. et al. Meta-analysis of the effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, chemical composition and aerobic stability of sugarcane silage. **Grassland Science**, v. 65, n. 1, p. 3–12, 2019.
- REYES-GUTIÉRREZ, J. A. et al. Effect of protein source on in situ digestibility of sugarcane silage-based diets. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, v. 52, n. 1, p. 344–352, 2020.
- RICCIARDI, A.; PARENTE, E.; ZOTTA, T. Modelling the growth of *Weissella cibaria* as a function of fermentation conditions. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 5, p. 1528–1535, nov. 2009.
- ROGERS, G. M.; POORE, M. H.; PASCHAL, J. C. Feeding cotton products to cattle. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 267–294, 2002.
- ROOKE, J. A.; HATFIELD, R. D. Biochemistry of Ensiling. **Agronomy**, v. 42, p. 95–139, 2003.
- SANTOS, W. P. et al. Effect of the inoculation of sugarcane silage with *Lactobacillus hilgardii* and *Lactobacillus buchneri* on feeding behavior and milk yield of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 10, p. 4613–4622, 2017.

SCHMIDT, P. et al. Aditivos químicos e biológicos na ensilagem de cana-de-açúcar: 1. composição química das silagens, ingestão, digestibilidade e comportamento ingestivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 5 suppl, p. 1666–1675, 2007.

SIEGFRIED, R.; RUCKEMANN, H.; STUMPF, G. Method for the determination of organic-acids in silage by high-performance liquid-chromatography. **Landwirtschaftliche Forschung**, v. 37, n. 3–4, p. 298–304, 1984.

TAYLOR, C. C.; KUNG, L. The Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the Fermentation and Aerobic Stability of High Moisture Corn in Laboratory Silos. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 6, p. 1526–1532, 2002.

TEIXEIRA, C. G. et al. Biodiversity and technological features of *Weissella* isolates obtained from Brazilian artisanal cheese-producing regions. **LWT**, v. 147, 1 jul. 2021.

VIANA, P. T. et al. Losses and nutritional value of elephant grass silage with inclusion levels of cottonseed meal. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 35, n. 2, p. 139–144, 2013.

WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v. 68, n. 1, p. 1–19, 2013a.

WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v. 68, n. 1, p. 1–19, 2013b.

XIANG, W. L. et al. Effect of *Weissella cibaria* co-inoculation on the quality of Sichuan Pickle fermented by *Lactobacillus plantarum*. **LWT**, v. 121, 1 mar. 2020.

XU, D. et al. Modulation of metabolome and bacterial community in whole crop corn silage by inoculating homofermentative *Lactobacillus plantarum* and heterofermentative *Lactobacillus buchneri*. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. JAN, p. 1–14, 2019.

XU, D. et al. The bacterial community and metabolome dynamics and their interactions modulate fermentation process of whole crop corn silage prepared with or without inoculants. **Microbial Biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 561–576, 2021.

YU, Y. J. et al. Production, characterization and antibacterial activity of exopolysaccharide from a newly isolated *Weissella cibaria* under sucrose effect. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 126, n. 6, p. 769–777, 1 dez. 2018.

ZANINE, A. DE M. et al. Fermentative profile, losses and chemical composition of silage soybean genotypes amended with sugarcane levels. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2020.

ZHANG, L. et al. Analysis of the correlation between bacteria and fungi in sugarcane tops silage prior to and after aerobic exposure. **Bioresource Technology**, v. 291, n. May, p. 121835, 2019.

ZHAO, D. et al. Biomass Yield and Carbohydrate Composition in Sugarcane and Energy Cane Grown on Mineral Soils. **Sugar Tech**, v. 22, n. 4, p. 630–640, 2020.

CAPÍTULO 3

DESEMPENHO DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR COM E SEM TORTA DE ALGODÃO

DESEMPENHO DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR COM E SEM TORTA DE ALGODÃO

Hactus Souto Cavalcanti, Edson Mauro Santos

RESUMO: O uso de aditivos na ensilagem da cana-de-açúcar pode diminuir as perdas de matéria seca possibilitando melhorias no desempenho animal pela manutenção do valor nutritivo. Objetivou-se avaliar o desempenho produtivo, a digestibilidade dos nutrientes, os parâmetros ruminais e sanguíneos de ovinos alimentados com dietas contendo silagens de cana-de-açúcar aditivadas ou não com torta de algodão. O experimento foi conduzido numa fazenda em São José dos Cordeiros – PB, onde os animais foram confinados por 60 dias. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com duas dietas, sendo compostas por (1) silagem de cana-de-açúcar (controle) e (2) silagem de cana-de-açúcar aditivada com 20% de torta de algodão. O consumo de matéria seca (≈ 1620 g/kg) não diferiu entre os tratamentos, porém, a digestibilidade da matéria seca (64,75%) e o ganho médio diário (202,88 g/dia) foi superior nas dietas contendo a silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão ($P < 0,05$), resultando em maior ganho de peso total (8,11 kg) ($P < 0,05$). Os animais alimentados com a dieta contendo silagem de cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão apresentaram menor relação acetato: propionato (4,2 vs. 2,0 mmol/L) e maior teor de glicose sanguínea (44 vs. 35 mg/dL). As dietas contendo cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão promoveram melhorias fermentativas e nutricionais, com melhor preservação do valor nutritivo, resultando em melhor desempenho produtivo dos ovinos confinados.

PALAVRAS-CHAVE: confinamento, eficiência alimentar, ganho de peso, perdas, valor nutritivo

ABSTRACT: The use of additives in sugarcane silage may reduce dry matter losses and improve animal performance through the maintenance of the nutritional value. The objective was to evaluate the productive performance, nutrient digestibility, rumen and blood parameters of sheep fed diets containing sugarcane silages with or without cottonseed cake. The experiment was conducted on a farm in São José dos Cordeiros - PB, where the animals were confined for 60 days. A completely randomized design was used with two diets, consisting of (1) sugarcane silage (control) and (2) sugarcane silage with 20% cottonseed cake. Dry matter intake (≈ 1620 g/kg) did not differ between treatments; however, dry matter digestibility (64.75%) and average daily gain (202.88 g/day) were higher in diets containing sugarcane silage added with cottonseed cake ($P < 0.05$), resulting in greater total weight gain (8.11 kg) ($P < 0.05$). The animals fed the diet containing sugarcane silage added with cottonseed cake had a lower acetate:propionate ratio (4.2 vs. 2.0 mmol/L) and higher blood glucose content (44 vs. 35 mg /dL). Diets containing sugarcane added with cottonseed cake promoted fermentative and nutritional improvements, with better preservation of nutritive value, resulting in better productive performance of confined sheep.

KEYWORDS: feedlot, feeding efficiency, losses, nutritive value, weight gain

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma das culturas mais difundidas e produtivas do Brasil (CONAB, 2021) com grande potencial de utilização na alimentação de ruminantes, no

entanto, o baixo teor de proteína e digestibilidade da fibra resultam em diminuição no desempenho dos animais (ROTH et al., 2018). Além disso, o uso dessa planta na forma *in natura* demanda mão-de-obra diária para a colheita, transporte e picagem para, finalmente, ser fornecida aos animais. Por essa combinação de fatores, muitos produtores tem uma certa resistência quanto à sua utilização.

Alternativamente, há a possibilidade de ensilar a cana-de-açúcar, porém, o alto teor de carboidratos solúveis, quando ensilada de forma exclusiva, resulta em fermentação alcoólica, por meio das leveduras, aumentando assim as perdas de matéria seca e ocasionando baixa estabilidade aeróbia (OLIVEIRA et al., 2017; RABELO et al., 2019). Apesar do etanol ser um metabólito aproveitado pelos ruminantes como fonte de energia, tem-se uma perda no momento de abertura do silo por volatilização e o que é consumido pelos animais via silagem é convertido no rúmen em acetato e metano. Mesmo com esse aproveitamento, existe baixa eficiência energética do etanol quando comparada aos carboidratos e ao ácido láctico, sendo esse último convertido à propionato (DANIEL et al., 2019; KRISTENSEN et al., 2007). Nesse sentido, quanto menos etanol for produzido melhor será o valor nutricional da cana-de-açúcar ensilada, assim como seu aproveitamento pelos animais.

Para diminuir a produção de etanol, é primordial o uso de aditivos a fim de melhorar os aspectos fermentativos e diminuir as perdas. Uma das categorias mais estudadas ultimamente são os aditivos nutricionais, pois permitem aliar melhorias fermentativas e nutricionais quando se ensilam concentrados em mistura com a forragem. Há relatos na literatura de maior recuperação de matéria seca, diminuição dos teores de etanol, melhora da estabilidade aeróbia e aumento do teor proteico nas silagens aditivadas (OLIVEIRA et al., 2015; ZANINE et al., 2020).

Dentre os concentrados proteicos utilizados na produção animal, destaca-se a torta de algodão que, por ser um subproduto do processamento do algodão, é facilmente encontrada no mercado, tendo o potencial de corrigir o déficit proteico da cana-de-açúcar, possibilitar a diminuição do teor de carboidratos solúveis por reduzir a proporção de cana-de-açúcar na mistura e, ainda, inibir as leveduras devido à ação dos ácidos graxos insaturados residuais presentes na torta de algodão, que causam desregulações na permeabilidade de membrana (CLITHEROW et al., 2020). Adicionalmente, pensando nos aspectos nutricionais, esses ácidos graxos insaturados aumentam a densidade energética da dieta, tornando-se um ponto positivo.

Deve-se atentar, contudo, que a ensilagem de concentrados juntamente com forragens, também chamadas de *partial mixed rations* (PMR), requer o fornecimento de concentrado complementar a fim de atender as exigências dos animais integralmente. Uma das principais vantagens dessa técnica é que se pode armazenar o concentrado em um local onde não haverá riscos de deterioração (silo), permitindo ainda que a compra do mesmo seja realizada nos períodos de menor preço.

Nutricionalmente, os efeitos da fermentação sobre a PMR ensilada levam à melhoria da digestibilidade dos concentrados, o que têm sido relatado em trabalhos prévios como aumentos na digestibilidade da proteína, do amido e também da fibra, devido à hidrólise ácida dessa fração (BUENO et al., 2020; HOSODA et al., 2019; KONDO et al., 2015). Dessa maneira, observa-se que o consumo de matéria seca normalmente é menor quando comparado as dietas não ensiladas, justificando-se pela maior produção de ácidos graxos de cadeia curta no rúmen o que melhora o desempenho dos animais (CHAO et al., 2016; REYES-GUTIÉRREZ et al., 2020).

Além disso, o efeito aditivo do concentrado proteico resulta em preservação do valor energético da forragem, pelo controle da fermentação alcoólica, o que assegura maior valor energético. Assim, a hipótese é que o desempenho dos animais é melhor quando os mesmos são alimentados com dietas contendo PMR ensiladas se comparadas às dietas contendo a silagem exclusiva com o concentrado sendo fornecido totalmente *in natura*. Dessa forma, objetivou-se avaliar o desempenho produtivo, a digestibilidade dos nutrientes, os parâmetros ruminais e sanguíneos de ovinos alimentados com dietas contendo silagens de silagem de ração parcial à base cana-de-açúcar com torta de algodão em comparação à silagem exclusiva de cana-de-açúcar.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e período experimental

O experimento foi conduzido numa propriedade privada na cidade de São José dos Cordeiros – PB (7°39'07" S, 36°80'84" O, 545 m de altitude), onde os animais ficaram confinados por 60 dias, sendo sete dias destinados à adaptação e 53 dias destinados à coleta dos dados. O clima da região é definido como BSh, com chuvas de verão, precipitação média anual de 764,4 mm (ALVARES et al., 2013) e temperatura média anual de 27,6 °C (INMET, 2021).

2.2 Delineamento experimental, animais e dietas

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e 13 repetições cada, totalizando 26 unidades experimentais. Os tratamentos consistiam em duas dietas experimentais compostas por diferentes silagens, onde o tratamento um (controle) tinha como volumoso apenas a silagem de cana-de-açúcar (SC), enquanto o tratamento dois tinha uma silagem de ração parcial (80% de cana-de-açúcar e 20% de torta de algodão, com base na matéria natural) (SC+TA).

Foram utilizados 26 ovinos machos SPRD, não castrados, com aproximadamente seis meses de idade e peso médio inicial de $26 \pm 0,3$ kg. Nos primeiros sete dias os animais foram adaptando-se às dietas e também foram aplicadas as vacinas para clostridiose (Biovet® Resguard Multi) e antiparasitário de amplo espectro - via oral (Diantel® – Closantel sódico). Os animais ficaram alojados em baias coletivas (4 x 8 m) por todo o período experimental, que contavam com comedouros de cimento, bebedouros com água limpa *ad libitum* e piso de chão batido.

Ao iniciar o experimento, realizava-se o sorteio semanal de um animal de cada tratamento para ser retirado da baia coletiva e ser alocado na baia individual (1 x 1,5 m). Dessa forma, a cada sete dias era feito um rodízio dos animais nas baias individuais de forma que os animais já sorteados uma vez eram eliminados dos sorteios posteriores. Esse procedimento visou respeitar o comportamento coletivo dos animais, representando o que ocorre nos confinamentos comerciais, possibilitando assim realizar as avaliações e coletas individualmente, para fins de análise estatística dos resultados.

A ensilagem foi realizada na propriedade, em que a cana-de-açúcar foi picada em ensiladeira estacionária com partículas de ≈ 2 cm e a mistura da torta de algodão foi feita manualmente. Feito isso, ambos os tratamentos foram compactados manualmente em sacos laminados dupla-face com capacidade de ≈ 90 kg, permitindo-se a fermentação por 60 dias. As dietas foram compostas das silagens, milho moído, torta de algodão, farelo de soja, ureia, premix mineral e cloreto de amônio, podendo-se observar a composição dos ingredientes na tabela 1.

Tabela 1. Composição química dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais (g kg⁻¹ MS)

Item	SC	SC+TA	MM	FS	TA
Matéria seca	245,0	415,8	900,2	912,8	945,0
Matéria orgânica	919,0	950,4	984,3	909,0	960,7
Cinzas	19,8	21,9	14,1	82,2	37,1
Proteína bruta	30	122,7	98,0	424,0	228,1
Extrato etéreo	14,3	55,5	50,7	22,0	88,7
CNF	269,5	219,0	705,5	295,8	207,5
FDN _{cp}	666,4	580,9	131,7	176,0	438,6
FDA _{cp}	345,4	323,1	25,0	82,1	324,3
HEM	321,0	257,8	106,7	93,9	114,3
LIG	78,4	101,3	3,8	7,9	71,2

SC: silagem de cana (controle); SC + TA: silagem de cana + 20% de torta de algodão (MN); MM: milho moído; FS: farelo de soja; TA: torta de algodão. CNF: carboidratos não-fibrosos; FDN_{cp}: fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDA_{cp}: fibra insolúvel em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína; HEM: hemicelulose; LIG: lignina.

Os ovinos foram alimentados com ração total fornecida diretamente no cocho diariamente às 8 e 16h. As dietas possuíam relação volumoso: concentrado de 50:50 para permitir ganho médio diário de 200 gramas conforme equações do NRC (2007). Permitiu-se 10% de sobras com ajustes realizados todos os dias de forma a garantir o consumo à vontade. A principal diferença entre as dietas era o tipo fornecimento da torta de algodão, pois no tratamento controle a mesma foi fornecida *in natura* enquanto no tratamento dois a mesma foi ensilada junto à cana-de-açúcar, salientando que ambos os tratamentos possuíam a mesma proporção de torta de algodão (Tabela 2).

Tabela 2. Proporção dos ingredientes (%) e composição química das dietas experimentais (g kg⁻¹ MS)

Item	Tratamentos	
	SC	SC+TA
Proporção dos ingredientes		
Silagem	47,03	70,59
Milho moído	26,06	23,99
Farelo de soja	2,72	3,16
Torta de algodão	21,56	0,00
Ureia	0,51	0,19
Minerais	1,15	1,13
Cloreto de amônio	0,97	0,94
Composição química		
Matéria seca	604,6	560,9
Matéria orgânica	920,6	935,8
Cinzas	23,3	21,4
Proteína bruta	135,8	145,4
Extrato etéreo	39,7	52,0
Carboidratos não-fibrosos	363,4	333,2
Nutrientes digestíveis totais	674,69	715,89
Energia metabolizável (Mcal/ kg MS)	3,63	3,85
FDN _{cp}	447,1	447,2
FDA _{cp}	241,1	236,7
HEM	206,0	210,6
LIG	53,4	72,7

SC: silagem de cana-de-açúcar (controle); SC + TA: silagem de cana-de-açúcar + 20% de torta de algodão (MN); FDN_{cp}: fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDA_{cp}: fibra insolúvel em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína; LIG: lignina.

2.3 Coletas

Eram coletadas semanalmente amostras dos alimentos fornecidos, das sobras, fezes e urina dos animais alocados nas baias individuais. Assim, após o sorteio e alocação dos mesmos, permitia-se que os animais se adaptassem por quatro dias e, após isso, seguiam-se três dias de coletas. Esse cronograma foi seguido ao longo do período experimental, coletando, ao todo, amostras de 5 animais de cada tratamento.

As sobras e os alimentos eram coletados sempre pela manhã antes e após o fornecimento, respectivamente. As fezes eram coletadas duas vezes por dia (*spot*), em horários distintos a cada dia (Dia 1: 6 e 14 h; Dia 2: 8 e 16 h e Dia 3: 10 e 18 h). As fezes eram identificadas e congeladas imediatamente após a coleta, juntando-se as fezes de todos os horários de cada animal ao fim do período para posteriores análises.

As coletas de sangue e de urina foram feitas semanalmente nos animais das baias individuais 4 h após a alimentação da manhã. As amostras de sangue foram coletadas com tubos à vácuo (Vacutainer®), sendo refrigeradas até o momento da centrifugação (1,200 g por 15 min) para coleta do plasma, o qual foi transferido para eppendorfs sendo congelado até o momento das análises. As amostras de urina foram filtradas, identificadas e acidificadas em que alíquotas de 10 mL foram diluídas em 40 mL de ácido sulfúrico 0,036N.

As coletas de líquido ruminal foram feitas no último dia de confinamento em seis animais de cada tratamento, aleatoriamente. Devido ao estresse causado nos animais por ser uma coleta invasiva, era possível que houvesse interferência no consumo e no ganho de peso dos mesmos se tal coleta fosse feita semanalmente. A coleta foi feita com sonda esofágica, acoplada de bomba de sucção para retirada do líquido 4 h após a alimentação. No momento da coleta, o material foi filtrado com gaze para extrair apenas a fração líquida, adicionando-se 2 mL de ácido metafosfórico à 25% nas amostras para interromper qualquer continuidade de fermentação a fim de evitar que os compostos fossem volatilizados, seguindo do congelamento das amostras.

2.4 Análises laboratoriais

Amostras de silagem com ≈ 300 g foram analisadas quanto ao perfil fermentativo e composição química. As mensurações de pH das silagens foram realizadas em duplicata para cada repetição experimental, conforme metodologia de Jobim et al. (2007).

A determinação do nitrogênio amoniacal das silagens e do líquido ruminal (N-NH_3) seguiu a metodologia descrita por Chaney; Marbach (1962). O teor de carboidratos solúveis foi determinado conforme metodologia de Dubois et al. (1956) com método de extração descrito por Corsato; Scarpore Filho; Sales (2008). Para análise de etanol e ácidos orgânicos das silagens e do líquido ruminal foi realizado o processamento das amostras de acordo com metodologia de Siegfried; Ruckemann; Stumpf (1984), sendo analisados por cromatografia gasosa com diferentes rampas de temperatura.

Foi utilizado um cromatógrafo da marca Ciola Gregory[®], modelo CG Master. As amostras de líquido ruminal foram analisadas com temperatura inicial do forno programada para iniciar à 50°C, permanecendo por 1 minuto, seguindo de um aquecimento de 10°C/min até atingir 110°C encerrando o processo. Já as amostras de silagem foram analisadas com temperatura inicial do forno programada para iniciar à 60°C, permanecendo por 1 minuto seguindo um aquecimento de 14°C/min até atingir 200°C. Essa temperatura foi mantida por 4 minutos. Em ambos os casos, utilizou-se uma vazão de 2 μL no modo split 1:20, com Coluna Carbowax J&W, 30m, 0,25mm x 25 μm . A temperatura do injetor foi de 220°C e do detector de 230°C. Utilizou-se hidrogênio como gás de carreamento com taxa de fluxo de 1 mL/min. Os padrões dos ácidos orgânicos foram obtidos em kits comerciais da marca Sigma-Aldrich[®].

As silagens, ingredientes, sobras e fezes foram secos em estufa de ventilação forçada de ar à 65°C por 72 h, sendo posteriormente moídos em moinho de facas à 1 mm para a determinação da composição química. As amostras secas foram levadas ao Laboratório de Análises em Nutrição Animal da EMBRAPA Semiárido, localizada em Petrolina – PE, para proceder as análises.

Foram realizadas as determinações de acordo com as metodologias propostas por Detmann et al. (2012) para os teores de MS (método G-003/1), MM (método M-001/1), PB - *Kjeldahl* (método N-001/1), EE pelo método *Randall* (aparelho ANKOM[®] XT10, segundo manual do fabricante), FDN (método F-002/1), FDA (método F-004/1), PIDN (método N-004/1), PIDA (método N-005/1), CIDN (método M-002/1), CIDA (método M-003/1) e lignina pela hidrólise ácida (método F-005/1).

Para estimativa dos carboidratos totais (CHOT), utilizou-se a equação proposta por Sniffen et al. (1992): $\text{CT} = 100 - (\% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{Cinzas})$. Para o cálculo dos carboidratos não-fibrosos (CNF), foi utilizada a equação preconizada por Hall (2000) para alimentos que contêm uréia, em razão da sua presença na dieta oferecida: $\text{CNF} = 100 - [(\% \text{PB} - (\% \text{PB uréia} + \% \text{uréia})) + \% \text{FDNcp} + \% \text{EE} + \% \text{cinzas}]$, em que PB uréia e

FDNcp significam, respectivamente, proteína bruta advinda da uréia e fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína.

As amostras sangue foram analisadas quanto às concentrações de glicose e ureia em laboratório especializado. O pH das amostras de líquido ruminal foram analisadas imediatamente após a coleta com auxílio de potenciômetro digital portátil (KASVI®, modelo K39-0014). Para proceder as análises de ácidos graxos voláteis (AGVs) das amostras de líquido ruminal, as mesmas centrifugadas à $17.000 \times g$ durante 10 min, tendo o sobrenadante pipetado e analisado conforme descrito anteriormente.

2.5 Avaliações

No início e fim do período experimental os animais foram pesados em jejum de sólidos de 16 h. Através das diferenças de peso entre o peso inicial (PI) e o peso final (PF), foi possível calcular o ganho de peso total (GPT), ganho de peso médio diário (GMD) e a eficiência alimentar (CA). Através das diferenças de peso entre o ofertado e as sobras foi possível calcular o consumo de matéria seca (CMS) dos animais. A eficiência alimentar foi obtida pela relação entre o ganho médio diário (g/dia) dividido pelo consumo de matéria seca (g/dia).

A estimativa do consumo de nutrientes foi feita através das diferenças médias entre a quantidade total dos nutrientes contidos na dieta ofertada e a quantidade total de nutrientes contidas nas sobras de cada animal.

A digestibilidade dos nutrientes foi calculada com base nas coletas de alimentos, sobras e fezes dos animais das baias individuais. A estimativa da produção de MS fecal (PMSF) foi feita utilizando-se a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador interno. Para determinação das concentrações de FDNi, amostras 0,5 g dos alimentos, fezes e sobras foram incubadas em saco de TNT (tecido não tecido), por 288 horas, no rúmen de um bovino fistulado. O material remanescente da incubação foi submetido aos mesmos procedimentos da análise de FDN, cujo resíduo foi considerado sendo a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), de acordo com o método INCT-CA F/011/1 (DETMANN et al., 2012). A produção de matéria seca fecal foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\text{PMSF} = \text{consumo do indicador (kg)} / \text{concentração do indicador nas fezes (\%)}$$

Os coeficientes de digestibilidade (CD) de MS, MO, PB e FDN foram calculados utilizando-se a seguinte fórmula: $\text{CD} = [(\text{g de nutriente consumido} - \text{g de nutriente nas fezes}) / (\text{g de nutriente consumido})] \times 100$.

2.6 Análise estatística

Os dados foram analisados com auxílio do pacote estatístico SAS[®] v. 9.0 (SAS, 2004). Os dados relacionados ao perfil fermentativo das silagens foram submetidos à análise de variância através do procedimento de modelos lineares gerais (PROC GLM). Os dados de desempenho, consumo, parâmetros ruminais e sanguíneos dos animais foram analisados pelo procedimento de modelos mistos (PROC MIXED), considerando as dietas como efeitos fixos e os animais como efeito aleatório, conforme o modelo matemático:

$$Y_{ij} = m + \alpha_i + \beta_j + e_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} = valor observado para variável i em estudo no animal j ; m = média geral; α_i = efeito fixo da dieta i ; β_j = efeito aleatório do animal j ; e_{ij} = erro experimental aleatório associado aos fatores i e j . Todas as médias foram estimadas pelo LSMEANS e comparadas pelo teste de Tukey, com nível de probabilidade de 5%.

3 RESULTADOS

A inclusão da torta de algodão na silagem de cana-de-açúcar melhorou o processo fermentativo da silagem se comparada à silagem controle, onde se observa maior valor de pH, menor teor de N-NH₃, maior teor de ácido acético e diminuição do teor de etanol (Tabela 3).

Tabela 3. Perfil fermentativo das silagens utilizadas nas dietas após 60 dias de fermentação

Item	Tratamentos		EPM	P-valor
	SC	SC+TA		
pH	3,20 ^c	3,67 ^a	0,06	<0,0001
CHOs	4,88	4,60	0,15	0,6518
N-NH ₃	2,74 ^a	1,02 ^b	0,25	<0,0001
Ácido lático	3,07	3,77	0,61	0,3096
Ácido acético	1,37 ^b	2,00 ^a	0,22	0,0213
Etanol	5,55 ^a	2,63 ^b	0,52	0,0024

SC: silagem de cana-de-açúcar (controle); SC + TA: silagem de cana-de-açúcar + 20% de torta de algodão (MN); EPM: erro-padrão da média. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem de acordo com teste de Tukey ($P < 0,05$).

A dieta contendo silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão proporcionou melhoria no desempenho dos animais, havendo maior GPT, GMD, EA e maior peso final (PF) dos animais, se comparada à dieta contendo a silagem controle ($P < 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Desempenho de ovinos alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar aditivadas ou não com torta de algodão

Item	Tratamentos		EPM	P-valor
	SC	SC+TA		
GPT (kg)	6,41 ^b	8,11 ^a	0,51	0,0076
GMD (g dia ⁻¹)	160,23 ^b	202,88 ^a	12,61	0,0076
PI	26,10	26,33	3,44	0,5650
PF	32,51 ^b	34,40 ^a	1,20	0,0054
EA	0,10 ^b	0,17 ^a	0,007	<0,0001
Consumo %PV	4,99	4,67	0,17	0,0566

SC: silagem de cana-de-açúcar (controle); SC + TA: silagem de cana-de-açúcar + 20% de torta de algodão (MN); EPM: erro-padrão da média. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem de acordo com teste de Tukey ($P<0,05$).

Com relação ao consumo de nutrientes, observa-se que apenas a PB, EE e NDT apresentaram diferenças significativas ($P<0,05$), apresentando maiores valores nas dietas contendo silagens de cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão (Tabela 5). A digestibilidade dos nutrientes, de maneira geral, foi maior na dieta que continha a silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão ($P<0,05$) com exceção do EE (Tabela 5), observando-se maior digestibilidade da MS, MO, PB, FDN e CHOT (Tabela 5).

Tabela 5. Consumo e digestibilidade de nutrientes em ovinos alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar aditivadas ou não com torta de algodão

Item	Tratamentos		EPM	P-valor
	SC	SC+TA		
Consumo de nutrientes (g/dia)				
MS	1623,06	1621,75	71,14	0,4959
MO	1592,42	1597,29	68,34	0,8447
PB	243,32 ^b	265,50 ^a	10,59	0,0154
EE	71,92 ^b	90,71 ^a	3,08	<0,0001
FDN _{cp}	693,15	693,53	31,61	0,9886
CHOT	1313,65	1305,41	60,58	0,8695
CNF	609,25	609,30	26,49	0,9981
NDT	1092,41 ^b	1207,60 ^a	39,52	0,0044
Digestibilidade de nutrientes (%)				
MS	61,04 ^b	64,75 ^a	0,45	<0,0001
MO	63,71 ^b	67,19 ^a	0,45	<0,0001
PB	74,97 ^b	80,06 ^a	0,57	<0,0001
EE	77,97	78,00	1,25	0,9885
FDN _{cp}	37,51 ^b	47,97 ^a	0,72	<0,0001
CNF	87,40 ^a	82,23 ^b	0,77	<0,0001
CHOT	59,77 ^b	62,52 ^a	0,68	0,0004

SC: silagem de cana-de-açúcar (controle); SC + TA: silagem de cana-de-açúcar + 20% de torta de algodão (MN); EPM: erro-padrão da média. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem de acordo com teste de Tukey ($P<0,05$).

O pH do líquido ruminal dos animais não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$), porém, a concentração de N-NH₃ foi maior nos animais alimentados com as dietas que continham a silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão (Tabela 6). Com relação aos ácidos graxos voláteis produzidos, nota-se diferença entre os tratamentos ($P<0,05$), onde a concentração de acetato nos animais alimentados com a dieta contendo

a silagem aditivada com torta de algodão foi significativamente menor que a dieta controle, não se observando diferença para a concentração de propionato e butirato (Tabela 6). A relação acetato/propionato foi menor nos animais alimentados com a dieta contendo a silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão (Tabela 6).

Tabela 6. Parâmetros ruminais, concentração de ácidos graxos voláteis e parâmetros sanguíneos de ovinos alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar aditivadas ou não com torta de algodão

Item	Tratamentos		EPM	P-valor
	SC	SC+TA		
Parâmetros ruminais				
pH	6,42	6,48	0,07	0,6865
N-NH ₃ (mg dL ⁻¹)	7,34 ^b	7,77 ^a	0,30	0,0150
Concentração AGVs (mmol L ⁻¹)				
Acetato	24,94 ^a	11,29 ^b	0,95	<0,0001
Propionato	6,52	5,78	0,53	0,3517
Butirato	2,90	2,59	0,31	0,5548
Acetato:Propionato	4,23 ^a	2,02 ^b	0,16	<0,0001
Parâmetros sanguíneos (mg dL ⁻¹)				
Glicose	35,80 ^b	44,00 ^a	2,52	0,0554
Ureia	19,50	22,80	1,63	0,2553

SC: silagem de cana-de-açúcar (controle); SC + TA: silagem de cana-de-açúcar + 20% de torta de algodão (MN); EPM: erro-padrão da média. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem de acordo com teste de Tukey ($P<0,05$).

As concentrações de glicose sanguínea dos animais apresentaram diferença entre si (Tabela 6), em que os valores de glicose dos animais alimentados com a silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão foram superiores à controle. Como a significância observada foi limítrofe ($P=0,0554$), considerou-se então assumir que houve diferença entre as médias. As concentrações sanguíneas de ureia não diferiram entre os tratamentos (Tabela 6).

4 DISCUSSÃO

As silagens apresentaram uma fermentação dentro do esperado, uma vez que o pH, o teor de CHOs e N-NH₃ estão baixos, indicando a atuação de bactérias ácido lácticas (BAL) no processo fermentativo. (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991) relataram que a faixa de pH ideal deve ser de 3,8 a 4,2 em espécies forrageiras que possuem teor de MS de aproximadamente 300 g/kg e teor de CHOs de 60 a 120 g/kg. A cana-de-açúcar tem um teor de MS que atende esse requisito, porém, devido à alta proporção de CHOs (300 g/kg) observa-se maior acidificação do meio, evidenciado pelo menor valor de pH (Tabela 3). O pH mais alto da silagem aditivada com torta de algodão indica que houve acidificação menos intensa, pelo fato de a torta de algodão promover um efeito de diluição dos CHOs, levando em consideração que há menor proporção de cana-de-açúcar devido a inclusão da torta de algodão ($\approx 50\%$ na MS) se comparada à

controle. Como ambas as silagens acidificaram bem, a produção de N-NH₃ foi bem menor que os 10% preconizados por McDonald; Henderson; Heron (1991).

Com relação aos ácidos orgânicos produzidos percebe-se que o AL foi o mais produzido no processo fermentativo, seguido do AA (Tabela 3). A atuação das BAL durante a fermentação promove a conversão dos CHOs em ácidos, principalmente em AL e AA (PAHLOW et al., 2003; ROOKE; HATFIELD, 2003). As leveduras são indesejáveis durante a fase fermentativa por elevarem significativamente as perdas de MS das silagens, resultado da fermentação de carboidratos solúveis à etanol e CO₂ (PAHLOW et al., 2003; ROOKE; HATFIELD, 2003), observando-se a redução no teor de MS das silagens controle (Tabela 1). Em contrapartida, a redução no teor de etanol na silagem aditivada com torta de algodão pode ter ocorrido devido aos ácidos graxos insaturados residuais presentes na torta de algodão meio associado com a já citada diluição do teor de carboidratos solúveis, os quais podem ter interferido sobre as leveduras, havendo relatos de instabilidades na permeabilidade de membrana e desregulação metabólica em leveduras submetidas a tal estresse (CLITHEROW et al., 2020; POHL; KOCK; THIBANE, 2011).

O desempenho dos animais (GPT, GMD e EA) alimentados com a dieta contendo silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão foi significativamente superior (Tabela 4) devido à maior digestibilidade dos nutrientes (Tabela 5), pois de acordo com o NRC (2007), esse efeito é mais importante que o CMS no sentido de melhorar o desempenho dos animais. Assim, mesmo com a não diferença no CMS entre os tratamentos, houveram diferenças significativas quanto à digestibilidade e, consequentemente, no desempenho. Nesse sentido, vale salientar que apenas esse tratamento atingiu o GMD esperado (Tabela 4) (NRC, 2007). Adicionalmente, o maior NDT das dietas contendo silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão (Tabela 2) justifica-se pelo fato de ter ocorrido maior preservação do valor nutritivo dessas silagens (Tabela 1).

Um fator importante para o melhor desempenho das dietas contendo silagens de cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão, foi a maior digestibilidade da fração fibrosa (FDN), que foi $\approx 10\%$ maior em relação à dieta controle (Tabela 5). Isso é resultado da implementação de tecnologias que otimizam a alimentação de ruminantes, como as silagens de PMR (*Partial Mixed Ration*) e TMR (*Total Mixed Ration*), onde se observam efeitos positivos como a preservação do valor nutritivo dos ingredientes e também à maior digestibilidade (BUENO et al., 2020).

Não foram observadas diferenças no consumo de nutrientes entre as dietas, com exceção da PB, EE e NDT (Tabela 5). Isso pode ser explicado pelo fato de as dietas terem sido formuladas para serem isoenergéticas e isoproteicas (Tabela 2), no entanto, devido às perdas de matéria seca da silagem de cana-de-açúcar que constituía a base volumosa da dieta controle, nota-se que houveram prejuízos nutricionais nessa dieta por conta das perdas das frações mais solúveis da silagem (Tabela 1). Desse modo, apenas a dieta contendo silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão atendeu o teor calculado (140 g/kg) ao passo que a dieta controle foi 10 g/kg menor (Tabela 2) (NRC (2007). Portanto, percebe-se que a aditivação da cana-de-açúcar com torta de algodão melhora não apenas a fase fermentativa, mas influencia diretamente o desempenho dos animais devido à preservação do valor nutritivo.

Por conta disso, o NDT da dieta controle foi menor que o da dieta contendo silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão (Tabela 2), o que resultou em menor aporte nutricional aos animais. Apesar disso, o NRC (2007) relata que o CNDT de ovinos nessa fase de crescimento deve ser de 0,91 kg/dia, valor esse que foi ultrapassado em ambas as dietas, porém, mesmo assim, a dieta controle apresentou menor CNDT (Tabela 5) e, portanto, deve-se considerar que o CNDT foi um limitante, fato que explica a diferença no desempenho dos animais.

O CMS dos ovinos, conforme calculado, deveria atender 1,14 kg/dia, porém, observou-se que o CMS foi superior ao valor calculado ($\approx 1,62$ kg/dia) (Tabela 5), fato similar relatado por Oliveira et al. (2019). Isso se deu, certamente, pelo elevado ganho de peso dos animais nas fases finais do confinamento, além do que as condições climáticas, raciais e características dos alimentos são diferentes em países tropicais (Brasil), salientando que o NRC utiliza um banco de dados para gerar as equações voltado às condições de clima temperado, com alimentos e raças diferentes, mesmo assim, é possível obter uma boa aproximação ao embasar-se nas tabelas de exigências publicadas pelo NRC (2007).

No presente trabalho, utilizou-se uma silagem de PMR, a qual possui similaridades à silagem de TMR quanto ao perfil fermentativo e aproveitamento de nutrientes pelos animais (BUENO et al., 2020). Desse modo, os ácidos produzidos na fermentação da silagem causam a hidrólise da proteína e elevam as concentrações de peptídeos e aminoácidos livres, aumentando a digestibilidade ruminal, ao passo que a fibra é hidrolisada liberando pectina e hemicelulose (CAO et al., 2010; CHAO et al., 2016; YAHAYA et al., 2002).

Ao analisar as variáveis relacionadas aos parâmetros ruminais, nota-se que maior concentração de N-NH₃ ruminal nos animais alimentados com as dietas contendo silagem de cana-de-açúcar aditivada com torta de algodão (Tabela 6). Isso pode ser explicado pela maior digestibilidade da dieta, relacionando-se diretamente com o aumento da proteína degradável no rúmen (KONDO et al., 2015; UYENO et al., 2016), mesmo não sendo possível determinar o balanço de nitrogênio no presente estudo.

A produção de AGVs ruminais diferiu entre as dietas (Tabela 6), salientando-se inicialmente que o teor de fibra da dieta está diretamente ligado à produção de acetato no rúmen (VAN SOEST, 1994). Com isso, os altos teores de acetato ruminal nos animais alimentados com as dietas controle (Tabela 6) indicam que, não apenas o maior teor de fibra, mas também o etanol produzido na silagem (Tabela 3) exerceu influência direta sobre os AGVs, pois quando ingerido pelos animais, o etanol é metabolizado no rúmen à acetato e metano, com a redução concomitante do propionato (DURIX et al., 1991; KRISTENSEN et al., 2007).

Em contrapartida, a dieta contendo silagem de cana -de-açúcar aditivada com torta de algodão, por ter menor teor de etanol e de fibra apresentou efeito oposto, com base na menor relação acetato: propionato (Tabela 6). Associado a isso, tem-se ainda a maior concentração sanguínea de glicose nos animais desse tratamento (Tabela 6), indicando maior eficiência no aproveitamento do propionato devido, ainda, ao maior CNDT e digestibilidade dos nutrientes. O propionato é um precursor direto da glicose na via gliconeogênica (DIJKSTRA, 1994) e proporciona aporte energético mais eficiente para deposição de tecido muscular, principalmente nos animais alimentados com as dietas contendo silagens de cana-de-açúcar aditivadas com torta de algodão (Tabela 4).

5 CONCLUSÃO

A ensilagem da torta de algodão junto à cana-de-açúcar promoveu melhorias fermentativas e nutricionais, com melhor preservação do valor nutritivo, resultando em melhor desempenho produtivo dos ovinos alimentados com dietas contendo essas silagens.

REFERÊNCIAS

AKINBODE, R. M. et al. Nutrient digestibility and blood parameters of West African dwarf sheep fed sugarcane top silage. **Nigerian Journal of Animal Production**, v. 45, n. 2, p. 304–315, 2018.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

BUENO, A. V. I. et al. Ensiling total mixed ration for ruminants: A review. **Agronomy**, v. 10, n. 6, 2020.

CAO, Y. et al. Methane emissions from sheep fed fermented or non-fermented total mixed ration containing whole-crop rice and rice bran. **Animal Feed Science and Technology**, v. 157, n. 1–2, p. 72–78, 2010.

CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical chemistry**, v. 8, p. 130–132, 1962.

CHAO, W. et al. Changes in in vitro Rumen Fermentation Characteristics of Different Compositions of Total Mixed Rations (TMR) and the Ensiled TMRs. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 4, n. 4, p. 178–182, 8 abr. 2016.

CLITHEROW, K. H. et al. Medium-Chain Fatty Acids Released from Polymeric Electrospun Patches Inhibit *Candida albicans* Growth and Reduce the Biofilm Viability. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 6, n. 7, p. 4087–4095, 2020.

CORSATO, C. E.; SCARPARE FILHO, J. A.; SALES, E. C. J. Teores De Carboidratos Em Órgãos Lenhosos Do Caquiizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 414–418, 2008.

DANIEL, J. L. P. et al. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. **Grass and Forage Science**, n. February, p. 1–13, 2019.

DETMANN, E. et al. **Métodos para análise de alimentos - INCT - Ciência Animal**. [s.l.: s.n.].

DIJKSTRA, J. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. **Livestock Production Science**, v. 39, n. 1, p. 61–69, 1994.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

DURIX, A. et al. Use of a semicontinuous culture system (RUSITEC) to study the metabolism of ethanol in the rumen and its effects on ruminal digestion. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 71, n. 1, p. 115–123, 1991.

HOSODA, K. et al. Effect of inclusion rate of corn silage in ensiled total mixed ration on dry matter intake, nutrient digestibility, and ruminal fermentation in Japanese Wagyu steer. **Livestock Science**, v. 229, n. September, p. 126–130, 2019.

JOBIM, C. C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada Methodological advances in evaluation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 101–119, 2007.

KONDO, M. et al. Changes in nutrient composition and in vitro ruminal fermentation of total mixed ration silage stored at different temperatures and periods. n. October 2014, 2015.

- KRISTENSEN, N. B. et al. Metabolism of silage alcohols in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 3, p. 1364–1377, 2007.
- MCDONALD, P. J.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **The Biochemistry of Silage**. 2nd. ed. Marlow, Bucks, UK: Cambridge University Press, 1991.
- NRC. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. [s.l.] National Academy Press, 2007.
- OLIVEIRA, A. C. et al. Chemical composition and fermentation characteristics of sugar cane silage enriched with detoxified castor bean meal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 67, n. 1, p. 181–188, 2015.
- OLIVEIRA, A. C. et al. Feeding behavior of sheep fed sugarcane silage enriched with detoxified castor bean meal. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 41, n. 1, p. 1–7, 2019.
- OLIVEIRA, A. S. et al. Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 4587–4603, 2017.
- PAHLOW, GÜNTHER. et al. Microbiology of Ensiling. Em: **Silage Science and Technology**. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003. p. 63.
- POHL, C. H.; KOCK, J. L. F.; THIBANE, V. S. Antifungal free fatty acids: a review. **Science against microbial pathogens: current research and technological advances**, v. 1, n. January 2011, p. 61–71, 2011.
- RABELO, C. H. S. et al. Meta-analysis of the effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, chemical composition and aerobic stability of sugarcane silage. **Grassland Science**, v. 65, n. 1, p. 3–12, 2019.
- REYES-GUTIÉRREZ, J. A. et al. Effect of protein source on in situ digestibility of sugarcane silage-based diets. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, v. 52, n. 1, p. 344–352, 2020.
- REYES-GUTIÉRREZ, J. A.; GUERRA-MEDINA, C. E.; MONTAÑEZ-VALDEZ, O. D. Chemical composition and in situ evaluation of fresh and ensiled sugarcane (*saccharum officinarum*). **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 18, n. 3, p. 273–277, 2015.
- ROOKE, J. A.; HATFIELD, R. D. Biochemistry of Ensiling. **Agronomy**, v. 42, p. 95–139, 2003.
- ROTH, A. P. T. P. et al. Effect of days postburning and calcium oxide on the fermentation, aerobic stability and nutritional characteristics of sugarcane silage for finishing Nellore steers. **Grass and Forage Science**, v. 73, n. 3, p. 671–684, 2018.
- SAS. **SAS 9.0 user's guide**. [s.l.] Sas Institute, 2004.

SCHMIDT, P. et al. Effects of *Lactobacillus buchneri* on the nutritive value of sugarcane silage for finishing beef bulls. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 43, n. 1, p. 8–13, 2014.

SIEGFRIED, R.; RUCKEMANN, H.; STUMPF, G. Method for the determination of organic-acids in silage by high-performance liquid-chromatography. **Landwirtschaftliche Forschung**, v. 37, n. 3–4, p. 298–304, 1984.

SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of animal science**, v. 70, n. 11, p. 3562–3577, 1992.

UYENO, Y. et al. Increase in rumen fibrolytic bacteria and the improvement of fiber degradability of ensiled total mixed ration assessed by in vitro rumen culture. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 4, n. 4, p. 183–186, 2016.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. [s.l.] Cornell university press, 1994.

YAHAYA, M. S. et al. The effects of different moisture content and ensiling time on silo degradation of structural carbohydrate of orchardgrass. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 15, n. 2, p. 213–217, 2002.

ZANINE, A. DE M. et al. Fermentative profile, losses and chemical composition of silage soybean genotypes amended with sugarcane levels. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2020.