

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PRANÁ  
CAMPUS DOIS VIZINHOS  
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

FABIANE HOFFMANN

**AVALIAÇÃO DA CEPA DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM*  
LPB-R01 COMO INOCULANTE NA SILAGEM DE CANA-DE-  
AÇÚCAR.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

DOIS VIZINHOS  
2017

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARÁ  
CAMPUS DOIS VIZINHOS

FABIANE HOFFMANN

**AVALIAÇÃO DA CEPA DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* LPB-R01  
COMO INOCULANTE NA SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR.**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao Curso de Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como requisito parcial á aprovação na disciplina de TCC II.

Orientador: Prof. Lilian Regina Rothe Mayer.

Co-orientadora: Prof. Dra. Maria Giovana Binder Pagnoncelli.

DOIS VIZINHOS

2017



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Dois Vizinhos  
Gerência de Ensino e Pesquisa  
**Curso de Zootecnia**



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

### **TCC II**

#### **AVALIAÇÃO DA CEPA DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* LBP R-01 COMO INOCULANTE NA SILAGEM DE CANA-DE-AÇUCAR.**

Autora: Fabiane Hoffmann

Orientador: Prof. Dra Lilian Regina Rother Mayer

Co-orientadora: Prof. Dra. Maria Giovana Binder Pagnoncelli.

TITULAÇÃO: Bacharel em Zootecnia

APROVADA em 20 de novembro de 2017.

---

Prof. Dra. Emilyn Midori Maeda

---

Prof. Dr. Cleverson Busso

---

Prof. Lilian Regina Rother Mayer  
(orientadora)

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso”

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me guiado e me cuidado em toda a caminhada que fiz. Pelas oportunidades destinadas, por me demonstrar que o medo não pode ser um fator determinante em suas escolhas e em todos os momentos de aflição ter acalmado minha alma.

Aos meus pais, que mesmo com as dificuldades nunca mediram esforços para que eu estivesse em uma universidade e me dedicar inteiramente aos estudos, por todo o apoio e compreensão, em especial a minha mãe que se dispôs a me auxiliar em todo este trabalho, eu amo muito vocês!!

As minhas orientadoras Lilian e Giovana, meu muito obrigado por toda paciência, por não medirem esforços para que este trabalho fosse realizado, por todo o ensinamento, serei eternamente grata por terem se doado tanto quanto eu.

Agradeço ao grupo de processos biotecnológicas da UFPR-Curitiba e também ao produtor rural que nos cedeu às amostras de silagem de cana-de-açúcar, sem a colaboração de vocês este trabalho não seria possível.

Também agradeço ao meu namorado Yago pelos cinco anos de compreensão, cuidado e amizade, por ter me auxiliado desde o primeiro dia em que entrei na UTFPR, e por todas as ideias dadas.

Aos meus tios Rudinei e Beatriz, que nunca me negaram nenhum tipo de ajuda, vocês são muito especiais para mim!

As minhas amigas Marianne, Jaqueline, Mariana e Janine com certeza vocês fazem parte desta caminhada, obrigada por todos os momentos, de estudo, risadas e parcerias, espero que seja qual for suas escolhas tenham muito sucesso nelas, pois vocês são merecedoras.

Como ninguém faz nada sozinho, agradeço as pessoas que me auxiliaram nas análises: Joel, Rodrigo, Nubia, Andréia, Juliano, Izamara, Paloma, assim como os bolsistas do laboratório bromatologia.

A minha família PET, por toda a compreensão, aos petianos por compreenderem os momentos de ausência, e aos tutores Vicente e Emilyn, pela oportunidade de fazer parte deste grupo e por todo o crescimento pessoal adquirido pelo convívio com vocês!!!

## RESUMO

HOFFMANN, Fabiane. Avaliação da cepa de *Lactobacillus plantarum* LPB-R01 como inoculante na silagem de cana-de-açúcar. 2017. 21 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia), programa de graduação em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos 2017.

A silagem de cana-de-açúcar é uma alternativa de volumoso que vem ganhando espaço no cenário brasileiro, justamente pela sua alta produtividade por área. Porém, esta é uma forrageira que tem grandes perdas de matéria seca e energia no seu processo fermentativo, perdas essas que podem ser minimizadas com uso de inoculantes. Conhecendo este quadro, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o potencial da cepa de *Lactobacillus plantarum* LPB R-01 como inoculante no processo fermentativo da silagem de cana-de-açúcar. O experimento foi desenvolvido na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, no Câmpus Dois Vizinhos, sendo a silagem fornecida por um produtor rural de Boa esperança do Iguaçu, com a colheita e a moagem totalmente mecanizada com um tamanho de partícula em torno de 3 cm. A cepa foi fornecida pelo grupo de processos biotecnológicos da UFPR- Curitiba. Houve a realização de 72 amostras, dispostas em dois tratamentos, um com a inoculação da bactéria na concentração  $10^6$  UFC/g de silagem e outro é o controle, sendo três repetições. Para confecção dos silos foram utilizados sacos plásticos transparentes de 12 micras, que colocados em um bequer de quatro litros e com um bastão de madeira compactadas as amostras, para o estabelecimento de um ambiente anaeróbico. Cada amostra teve o peso em torno de um quilo e quarenta gramas. Ao fim do tempo fermentativo de cada amostra em questão, elas foram congeladas até a realização das análises. Para as análises de pH, acidez titulável, nitrogênio amoniacal e açúcares redutores, utilizou-se as amostras congeladas em processo fermentativo de 0, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas e para as análises bromatológicas amostras de 0, 7, 15, 30 e 45 dias. Os resultados obtidos não demonstraram efeitos significativos na inoculação da cepa na silagem de cana-de-açúcar sendo que apenas os teores de FDA demonstraram interação entre tratamento e dia, as outras análises apenas diferenças entre os dias. Os resultados de MS, PB, FDN, FDA, HEM, MM, LIG e N-amoniacal, variam de 27,26% a 21,72, 3,11% a 4,2%, 76,03% a 54,89 %, 10,9% a 29,47%, 3,91% a 5,54%, 7,06% a 9,63% e de 1,8% a 1,32% respectivamente. Já os valores de pH apresentarem um decréscimo constante e o valor final com o inoculante foi de 4,41 e sem o mesmo de 4,54; os teores de acidez consequentemente aumentaram constantemente e os açúcares houve uma grande variação. Este trabalho conclui que a cepa LPB R-01 de *Lactobacillus plantarum* apresentou resultados significativos da interação tratamento e dia para a análise de FDA, porém somente com esse resultado significativo entre o tratamento com a inoculação da bactéria e o controle não podemos concluir que a cepa é eficiente no processo fermentativo da silagem de cana-de-açúcar.

**Palavras chaves:** aditivos microbiológicos. *Lactobacillus plantarum*. perfil fermentativo

## ABSTRAT

HOFFMANN, Fabiane. Evaluation of the *Lactobacillus plantarum* strain LPB-R01 as inoculant in sugarcane silage. 2017. 21 sheets. Course Completion Work (Bachelor of Animal Science), graduation program at Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos 2017.

Sugarcane silage is a bulky alternative that has been gaining ground without a Brazilian scenario, due to its high productivity per area. However, this is a forage that has great losses of dry matter and energy in its fermentation process, losses that can be minimized with the use of inoculants. The objective of this study was to evaluate the potential of the *Lactobacillus plantarum* strain LPB R-01 as inoculant in the fermentation process of sugarcane silage. The experiment was developed at the Universidade Tecnológica Federal do Paraná, not Câmpus Dois Vizinhos, being a silage company by a rural producer of Boa Esperança do Iguaçu, with a harvest and a fully mechanized machinery with a piece size of around 3 cm. The strain was created by the group of biotechnological processes of UFPR-Curitiba. There were 72 samples, arranged in two treatments, one with the inoculation of the bacteria in the concentration 10<sup>6</sup> CFU / g of silage and another one was the control, being three repetitions. For the preparation of the silos were used transparent plastic bags of 12 microns, which were placed in a four liter beaker and with a wooden stick compacted the samples, to establish an anaerobic environment. Each sample had a weight around one pound and forty grams. At the end of the fermentation time of each sample, they were frozen until the analyzes were carried out. For the analyzes of pH, titratable acidity, ammoniacal nitrogen and reducing sugars, the frozen samples were used in the fermentation process of 0, 12, 24, 36, 48, 60 and 72 hours and for the bromatological analyzes samples of 0, 7, 15, 30 and 45 days. The results obtained did not show significant effects on the inoculation of the strain in sugarcane silage. Only the levels of FDA showed interaction between treatment and day, the other analyzes only differences between days. The results of MS, PB, NDF, FDA, HEM, MM, LIG and N-ammoniacal, range from 27.26% to 21.72, 3.11% to 4.2%, 76.03% to 54.89 %, 10.9% to 29.47%, 3.91% to 5.54%, 7.06% to 9.63% and 1.8% to 1.32% respectively. However, the pH values presented a constant decrease and the final value with the inoculant was 4.41 and without the same of 4.54; the acidity levels consequently increased constantly and the sugars there was a great variation. This work concludes that the LPB R-01 strain of *Lactobacillus plantarum* showed significant results of the interaction treatment and day for the analysis of FDA, but only with this significant result between the treatment with the inoculation of the bacterium and the control we can not conclude that the strain is efficient in the fermentation process of sugarcane silage.

**Keywords:** Microbiological additives. *lactobacillus plantarum*. fermentative profile

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>7</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>8</b>
2.1 OBJETIVO GERAL:.....	8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	8
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>9</b>
<b>3.1 UTILIZAÇÕES DA CANA-DE-AÇÚCAR NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. ....</b>	<b>9</b>
3.2 PROCESSO DE ENSILAGEM.....	10
3.2.1 ADIÇÃO DE INOCULANTES MICROBIANOS NO PROCESSO DE ENSILAGEM. .....	11
3.3 <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> .....	12
3.4 INOCULAÇÃO DE <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> EM SILAGEM DE CANA- DE-AÇUCAR.....	13
<b>4.0 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
4.1 REALIZAÇÃO DOS MICRO SILOS E INOCULAÇÃO DA BACTÉRIA.....	16
4.2 REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES .....	16
4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTÁTISTICA .....	17
5.1 COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA.....	21
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>7 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>27</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O cultivo da cana-de-açúcar no Brasil nos últimos anos vem sendo ampliado, principalmente por conta do alto rendimento por área. A produção pode variar de acordo com a adubação, mas pode chegar a 140 toneladas por hectare (AMBROSANO, et al., 2011). Sabendo desta alta produtividade, ela se tornou uma alternativa no uso para alimentação animal, sendo que sempre a cana *in natura* possuirá maior qualidade do que o material ensilado que sofre constantes perdas, porém este é uma alternativa para diminuir a mão-de-obra diária, além de se poder colher e conservar a cana na época que atinge a maturação fisiológica, sendo a ocasião de maior concentração no teor de sacarose (BERNARDES et al., 2007 apud SANTOS, et al., 2015).

Conhecendo as perdas sofridas no processo da ensilagem, principalmente por conta da liberação do etanol, que causará perda na matéria seca assim como de energia é importante se utilizar aditivos que consigam controlar essas perdas. Justamente para reduzir a intensidade da fermentação alcoólica, típica desse material (Schmidt, 2009). Nesse contexto os inoculantes microbianos são muito indicados, por não serem corrosíveis aos próprios silos e não poluírem o meio ambiente.

Segundo Kung (2001 apud REIS, et al., 2005), é esperado que na forragem destinada à confecção de silagem, se tenha bactérias desejáveis e indesejáveis. Sabendo da existência de ambas, é importante a inoculação de uma bactéria que seja competitiva e consiga dominar o meio. Por este motivo a bactéria *Lactobacillus plantarum* se destacam, pois consegue dominar o meio rapidamente.

Atualmente existem diversos inoculantes microbianos no mercado, entretanto cada microrganismo ou cepa tem potencialidades distintas. Isso torna de extrema importância estudar isoladamente toda cepa que pode vir a se tornar um produto comercial.

O presente trabalho buscou identificar o potencial da cepa LPB R-01 de *Lactobacillus plantarum* quando inoculados na silagem de cana-de-açúcar. Esta mesma cepa quando inoculada na casca de café demonstrou ser aceleradora do processo inicial de fermentação, entretanto não foi avaliada na cana que é uma das culturas que mais tem perdas de matéria seca no processo da ensilagem e por este motivo necessitam de inoculantes para melhorar sua qualidade.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial da cepa de *Lactobacillus plantarum* LPB R-01, no processo de ensilagem da cana-de-açúcar.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Avaliar o pH, acidez titulável, nitrogênio amoniacal e açúcares redutores nos diferentes períodos de abertura das amostras, com a inoculação dos *Lactobacillus plantarum*.

Avaliar matéria seca (MS), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), hemicelulose (HEM), matéria mineral (MM) e proteína bruta (PB) das amostras com a inoculação dos *Lactobacillus plantarum*, em diferentes períodos de aberturas dos micro silos.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 UTILIZAÇÕES DA CANA-DE-AÇÚCAR NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL.

A cana-de-açúcar é da família das Poaceae e pode ser de várias espécies, como *Saccharum officinarum*, *S. spontaneum*, *S. barberi*, *S. sinense*, entre outras. Devido à capacidade fotossintética desta planta ela consegue estocar altas concentrações de sacarose no seu colmo. Isso ocorre por converter boa parte da radiação solar em biomassa (SATO, 2012).

As plantações de cana-de-açúcar já são conhecidas dos brasileiros há quase cinco séculos. No início era destinada a produção de rapadura, cachaça e açúcar mascavo. Outros setores que também impulsionaram a produção mais tardiamente foram o etanol e a utilização da mesma como alternativa de suplemento volumoso para os animais (SANTOS & BORÉM, 2013).

Segundo Bernardes et al. (2007 apud Santos, et al., 2015), durante a estação seca, a cultura atinge a maturidade e possui maior valor nutricional como resultado do acúmulo de açúcares em seus tecidos. Além disso, a estação seca coincide com pastagens de menor produtividade nas regiões Central e Nordeste do Brasil.

Porém sua utilização é muito trabalhosa, possuindo dificuldades operacionais, sendo que a ensilagem do material seria uma das opções que diminuiria essa dificuldade e também os deslocamentos diários na propriedade (NETO et al., 2008).

Além disso, existem situações em que a silagem é a melhor opção para manter a qualidade da planta, como queimadas e geadas. Ainda maximiza o uso da planta no estágio em que a mesma possui maior concentração de sacarose.

O processo da ensilagem, além dos benefícios citados acima, ainda quando se estabelece um ambiente anaeróbico, juntamente com a fermentação de açúcares, pode-se controlar a atividade de microrganismos na forragem. Uma vez que neste ambiente a população de bactérias ácidas lácticas multiplica-se rapidamente e na maioria dos casos se torna microrganismo dominante (NETO, 2012).

Mesmo sabendo que há perda nutricional da silagem em relação à cana-de-açúcar fresca, a mesma apresenta condições físicas e químicas ideais para o processo, com o teor de matéria seca em torno de 25 a 30%, alto teor de carboidratos solúveis e baixo poder tampão, o que permite a queda rápida no pH (ÁVILA, 2008).

Apesar das características ideais para fermentação, também existem limitações no processo de ensilagem da cana-de-açúcar, sendo a maior delas a elevada produção de etanol (PEDROSO et al., 2005). Isto ocorre devido ao alto teor de carboidratos solúveis, que ocasionará ao material ensilado rápida proliferação de leveduras, uma vez que esses microrganismos em anaerobiose fermentam os carboidratos e produzem o etanol (MENDES et al., 2008). De acordo com McDonald, (1991 apud AMARAL, 2009), “a produção destes álcoois representa perda de aproximadamente 49% de matéria seca e 0,2% de energia”.

Segundo Kung et al. (2007 apud SANTOS, 2015), quanto maior os teores de açúcares nas culturas, as mesmas tendem a possuir maior número de leveduras. No entanto, uma forragem com baixo teor de açúcar na ensilagem os inoculantes microbianos podem não ter efeito sobre seus padrões fermentativos.

Com base nisto, Reis (et al., 2006) descreve que o consumo dos animais com relação a silagem é um importante indicador da qualidade da forragem, a qual é definida como o resultado do produto do valor nutritivo e consumo voluntário potencial. A digestibilidade é o que define o valor alimentício das silagens e sofre influência direta do padrão de fermentação, bem como pelos processos de deterioração observados durante a fase aeróbia (REIS; SILVA, 2006).

Neste contexto a adição de inoculantes surge para melhorar o padrão fermentativo e a qualidade final da silagem. Segundo Ávila (2009 apud CHECOLI, 2014), o mercado oferece várias opções de inoculantes, porém dentre eles, os inoculantes microbianos possuem algumas vantagens, pois são de fácil manuseio, seguros, não corrosivos, não poluem o ambiente e são atóxicos para os animais e o homem, e por esse motivo é um dos mais utilizados no mundo todo.

### 3.2 PROCESSO DE ENSILAGEM.

A alimentação dos animais com a cana-de-açúcar *in natura* fora da época de colheita acaba se tornando restrita, pois a forrageira tem um declive acentuado no seu teor de sacarose e conseqüentemente do valor nutritivo (MATSUOCA; HOFFMANN,1993).

Sendo assim, o processo de ensilagem ganha espaço, pois consegue conservar durante todo o ano, a forrageira com suas características de colheita no período de safra. No caso da cana-de-açúcar, a colheita para ensilagem depende da região do Brasil, sendo que no Sudeste, Centro-Oeste e Sul a colheita inicia em abril e prolongando-se até novembro. Neste período

temos altas temperaturas e uma redução na precipitação, o que concentra os teores de sacarose na planta ficando desta forma menos diluídos (SILVA; SILVA, 2012).

A escolha da variedade é um dos componentes de grande importância dentro deste processo. Sendo que uma boa cana forrageira é aquela que apresenta alto potencial de produção, bom perfilhamento, resistência a pragas e doenças, alto teor de sacarose e que não apresenta florescimento e chochamento. As variedades são inúmeras e devem ser escolhidas de acordo com a região (EVANGELISTA; LIMA, 2002).

Após a escolha da variedade mais coerente com sua região e garantir seu desenvolvimento com os cuidados da condução da cultura, a colheita pode ser realizada após um ano do plantio ou de rebrota. Sendo que a colheita pode ser ainda manual ou mecânica (EVANGELISTA; LIMA, 2002).

No momento da colheita, inicia-se uma nova etapa do processo da ensilagem que é uma técnica que consiste em preservar forragens, normalmente produzidas no verão, através de uma fermentação anaeróbia obtida pela picagem, compactação e vedação da planta forrageira em silos (diversos formatos e tamanhos). O produto final dessa fermentação, denominado silagem, é obtido pela ação de bactérias lácticas sobre açúcares presentes nas plantas, abaixando-se o pH até valores próximos de 4,0 (DEMARCHINI, 2001).

O que se espera de uma silagem é que o pH tenha rápida queda, o que irá dificultar a ação de leveduras, que o ambiente seja anaeróbico, com uma menor quantidade de perdas de nitrogênio amoniacal possível e no caso da silagem de cana, no momento da colheita preconizasse épocas em que se tenha alta concentração de sacarose, porém sempre irá necessitar de suplementação proteica para os animais, pois a cana possui em torno de 4% de proteína na matéria seca (EVANGELISTA; LIMA, 2002).

### 3.2.1 ADIÇÃO DE INOCULANTES MICROBIANOS NO PROCESSO DE ENSILAGEM.

Nas condições práticas são poucos fazendeiros que utilizam inoculantes, cerca de 29% das fazendas com assistência técnica e 54% dos técnicos entrevistados disseram que recomendam a utilização dos mesmos (BERNARDES, 2012).

As fazendas que utilizam inoculantes, geralmente não possuem a possibilidade de realizar experimentos para quantificar a real ação dos inoculantes visto a inviabilidade de se ter um tratamento controle, sendo assim apenas utilizam os inoculantes acreditando no que lhes é prometido, muitas vezes sem informações, chegando a acreditar que este dispensa o bom manejo do silo (WOOLFORD, 1984).

Neste contexto, segundo Kung (2001 apud RIBEIRO; QUEIROZ; NUSSIO, 2005), a adição de inoculantes microbianos tem a intenção de proporcionar o rápido crescimento das bactérias de interesse, que são ácidos lácticos homofermentativa, as quais poderão dominar a fermentação e, como consequência, propiciar silagem de alta qualidade, com menores perdas de matéria seca e reduzir a intensidade de fermentação dos álcoois. Ainda Woolford (1894 apud RIBEIRO; QUEIROZ; NUSSIO, 2005), ressalta que para que esses microrganismos atuem favorecendo o decréscimo do pH, vários fatores deverão ser atendidos, como condições anaeróbicas e a obtenção de altos teores de matéria seca, premissas básicas desejáveis. A queda rápida do pH, impede a degradação proteica que é realizada por enzimas da própria planta e também por algumas bactérias que possuem atividade em ambiente básicos, sendo que estas reduzem a proteína a amônia e aminas (TOSI; JOBIM, 2001).

### 3.3 *LACTOBACILLUS PLANTARUM*.

De acordo com Stefanie et al. (2000 apud FILHO, 2010), as bactérias encontradas em maior número nas silagens são dos gêneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Streptococcus*. Segundo McDonald (1991), estas no geral suportam temperaturas entre 5°C e 50°C, porém a faixa de temperatura ideal varia entre 25°C e 40°C, denominadas de mesófilas.

Conforme o descrito por Lima (1975 apud FILHO, 2010), as mesmas também são gram positivas, catalase negativas, anaeróbias aerotolerantes e incapazes de sintetizar ATP pela via respiratória.

O *Lactobacillus plantarum* é uma espécie de bactéria heterofermentativas facultativa, que produzem ácido láctico a partir da fermentação das hexoses (2 moles de ácido láctico a partir de 1 mol de glicose) e também fermenta pentoses por possuírem enzima aldolase como a fosfoquetolase (NETO, 2012). A cepa utilizada neste experimento foi classificada como homofermentativa, pois produziu ácido láctico em maior quantidade do que os outros metabólitos, quando inoculada na casca de café (PAGNONCELLI et al., 2003). Como utilizamos a mesma cepa na silagem de cana-de-açúcar, podemos sugerir que elas irão manter o mesmo metabolismo homofermentativo, apesar de possuírem uma maior dificuldade nesse material para ter acesso aos açúcares presente.

No caso das heterofermentativas pertencem ao gênero das bactérias ácido lácticas com capacidade genética para formar outros produtos a partir do piruvato, como o acetato, o etanol

e o CO<sub>2</sub> (PINHEIRO, 2008). Já as homofermentativa, como produto da sua fermentação têm em quantidades significativas somente o ácido láctico.

### 3.4 INOCULAÇÃO DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* EM SILAGEM DE CANA-DE-AÇUCAR E CASCA DE CAFÉ.

Segundo McDonald (1991 apud NETO, 2012), os *Lactobacillus plantarum* são espécies ideais para serem utilizadas como aditivos em silagens, pois são isolados constantemente e, além disso, possuem algumas características desejadas. A mesma possuem crescimento vigoroso, habilidade de competir e dominar outros microrganismos, rota homofermentativa, no caso da fermentação das hexoses (principal açúcar das forragens), para produzir quantidades elevadas de ácido láctico a partir de açúcares prontamente disponíveis, ser ácido tolerante, capaz de produzir em pH de pelo menos 4,0, de preferência o mais rápido possível para inibir a atividade dos outros microrganismos, ser capaz de fermentar glicose, frutanas, sucrose, e preferencialmente açúcares de 6 carbonos, não apresentar ação sobre os ácidos orgânicos, possuir faixa de temperatura de crescimento até 50°C e ser hábil de crescer em substratos com baixo teor de umidade.

Apesar de serem ideais para inoculação na cana, estudos relatam que os *Lactobacillus plantarum* causam maior perda de MS e energia do que a inoculação com os *Lactobacillus buchneri*, pois o ácido láctico produzido pelos *L. plantarum* são substrato para desenvolvimento de leveduras (FREITAS et al., 2006). Porém Schmidt et al., (2007) realizou um estudo comparativo inoculando essas duas bactérias na silagem de cana, e não obteve resultados estatisticamente significativos sobre a diferença nos teores de matéria seca, proteína, pH final, fibra detergente neutra e ácido e produção de etanol.

A cepa de *Lactobacillus plantarum* LPB R-01, foi utilizada por Pagnoncelli, et al., (2003) na inoculação com café, e ficou evidenciado que a mesma apresenta alta capacidade de acidificação e têm um maior potencial de ser iniciadoras no processo de fermentação da amostra.

Com os resultados obtidos no estudo a autora acima citada concluiu que as bactérias homofermentativas tinham uma maior capacidade para acidificar no processo fermentativo, principalmente nas primeiras horas. Quando inoculada na silagem de casca de café o ácido láctico foi o principal metabólito. A produção dos outros ácidos orgânicos foi bastante reduzida, devido ao metabolismo homofermentativo. No entanto, o etanol foi produzido,

provavelmente pela presença de outros microorganismos naturalmente presentes neste substrato, tais como leveduras (PAGNONCELLI, et al., 2003).

Sabendo do potencial da mesma cepa para a utilização na silagem de casca de café, procura-se saber se terá benefícios também na silagem de cana-de-açúcar, sendo que este não é um produto comercial, porém com estudos que comprovem sua eficácia pode se tornar.

#### 4.0 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado e analisado nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, sendo a silagem de cana-de-açúcar fornecida por um produtor rural da cidade de Boa Esperança do Iguaçu-PR, que fica a uma altitude de 521 metros e o clima é classificado como subtropical úmido, mesotérmico sem estação de seca definida, de acordo com a classificação de Köppen, com médias de temperatura mais quente de 22°C (IPARDS, 2017 e ALVARES et al., 2013).

Já a cepa de *Lactobacillus plantarum* LPB R-01, foi fornecida liofilizada pelo grupo de Processos Biotecnológicos da UFPR- Curitiba. A mesma recebeu ativação em um meio de cultivo a base de melaço e extrato de leveduras.

Após a ativação da bactéria, houve a diluição para concentração final de  $10^6$  UFC/ g de silagem, sendo realizada a pulverização de 25 mL do inoculo em recipiente com 10 m<sup>3</sup> de silagem, após houve a homogeneização da amostra que foi colada nos silos, sendo esses analisados nos seus diferentes tempos fermentativos.

Foram realizadas 72 amostras, dispostas em dois tratamentos, um com a inoculação da bactéria e outro o controle, com três repetições. O tempo de abertura após o fechamento dos silos foi de doze em doze horas, sendo que após a amostra de tempo zero, analisou-se pH, acidez titulável e açúcares redutores nas amostras de doze, vinte e quatro, trinta e seis, quarenta e oito, sessenta e setenta e duas horas. Para as análises bromatológicas e de nitrogênio amoniacal, foram utilizadas as amostras abertas no tempo zero, assim como sete, quinze, trinta e quarenta dias.

A colheita da cana assim como a trituração foram totalmente mecanizadas, com um tamanho de partícula de aproximadamente 3 cm utilizando uma colheitadeira. Após o corte do material, o mesmo foi transportado em bolsas plásticas até UTFPR-DV, onde receberam imediatamente a inoculação com a cepa de *Lactobacillus plantarum* e houve a confecção dos microsilos, os quais permaneceram dentro de bolsas plásticas escuras para que não houvesse interferência da luminosidade, e quando atingiram o tempo fermentativo proposto, foram congeladas para interromper o desenvolvimento e crescimento bacteriano. No momento das análises as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente.

No ano de 2016, foram realizados os microsilos que apresentaram tempo fermentativo entre 0 a 72 horas. Estes foram feitos com uma cana que foi colhida na primavera de 2016. Os silos que foram dispostos nos diferentes períodos de dias, foram realizados com uma amostra

de cana colhida no outono de 2017. Estima-se que ao total foi utilizado 100 kg da silagem para realização do processo de ensilagem nos microsilos.

#### 4.1 REALIZAÇÃO DOS MICRO SILOS E INOCULAÇÃO DA BACTÉRIA.

Realizou-se e armazenaram-se os microsilos no laboratório de Parasitologia da UTFPR-DV, sendo que para confecção dos mesmos utilizou-se sacos plásticos transparentes de 12 micras, para garantir que não houvesse nenhum vazamento de ar e assim o estabelecimento de um ambiente anaeróbico.

A silagem de cana-de-açúcar foi inoculada com concentração final de  $10^6$  UFC/ g, utilizando método de aspersão e foi devidamente homogeneizada, e colocada nestes sacos. Os sacos foram colocados dentro de um béquer de quatro litros e o plástico disposto com a borda para fora. Com a utilização de um bastão de madeira com base plana, houve a compactação 1,4 kg da amostra, correspondendo a  $550 \text{ kg/ m}^3$  em cada silo para que diminuísse a concentração de oxigênio no interior da amostra, responsável pelo processo de respiração celular e degradação do material.

Esses microsilos estiveram em uma bolsa plástica escura e ao atingirem seu tempo fermentativo foram congelados, para impedir a atividade bacteriana.

No momento de abertura dos microsilos, eles foram descongelados em temperatura ambiente e desprezados cerca de 5 cm da borda, sendo que o interior da amostra foi homogeneizado e coletadas amostras para análises.

#### 4.2 REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES

Para realização de pH e acidez titulável, 25g da amostra foi processada com cerca de 150 mL de água destilada em um liquidificador industrial por um minuto. Após, esse volume foi completado até alcançar 250 mL. Esta amostra foi filtrada, e desse extrato aquoso foi analisado pH com a utilização de um potenciômetro de bancada (VAN SOEST et al., 1991). Para a determinação de acidez titulável, foram colocadas três gotas de fenolftaleína em uma alíquota de 10 mL do extrato, e após realizou-se a titulação com hidróxido de sódio (NAOH) a 0,01% (MERCK, 1993).

Nas análises de açúcares redutores utilizou-se o método de DNS (ácido 3,5 dinitrosalicílico) (MILLER, 1959).

Para a determinação de nitrogênio amoniacal, colocou-se 200 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, em 25g de silagem, material este que permaneceu 48 horas na geladeira e em seguida foi filtrado e congelado para determinação (ZANINE et al., 2006).

As análises de pH, acidez titulável, nitrogênio amoniacal, açúcares redutores e ácidos orgânicos, foram realizadas nos silos abertos em diferentes horas, variando de 0 a 72 horas.

Já as análises bromatológicas realizaram-se nas amostras advindas da abertura dos silos nos diferentes dias variando de 0 a 45 dias. Para essas análises foram coletados cerca de 500g de material, pré-secos em estufa ventilada a 55° C, para a determinação do teor de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), hemicelulose (HEM), matéria mineral (MM) e lignina (LIG). As análises de FDN e FDA foram realizadas seguindo as recomendações propostas por Van Soest (1967) e descritas por Silva e Queiroz (2006).

#### 4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTÁTISTICA

O experimento foi realizado de acordo com o delineamento experimental fatorial 2x5 (tratamento x tempo), sendo três repetições, sete horários e cinco dias fixo dispostos em dois tratamentos. Os dados seguiram o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + TB_{ij} + e_{ij}$$

i= tratamento;

j= dias;

e= erro de covariância ;

As medias foram analisadas pelo programa SAS versão 9.4 (2013), e comparadas segundo o teste de Tukey ao nível de 5% de significância e por análise de regressão.

O crescimento bacteriano foi estimado de acordo com a seguinte equação: KOZLOSKI, G. V., ( 2002)

$$\mu = \ln 2 / td$$

$\mu$ : taxa específica de crescimento ( proporção/h);

ln 2: logaritmo neperiano de 2;

td: tempo de duplicação (h);

## 5. RESULTADOS E DISCUSÕES

As análises de pH, acidez titulável e açúcares não tiveram diferença estatística significativa quando comparadas utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Não houve diferença significativa entre os dois tratamentos, porém houve efeito entre os horários, sendo o mesmo descrito pela equação de regressão  $y=5.3219-0.1363x$ .

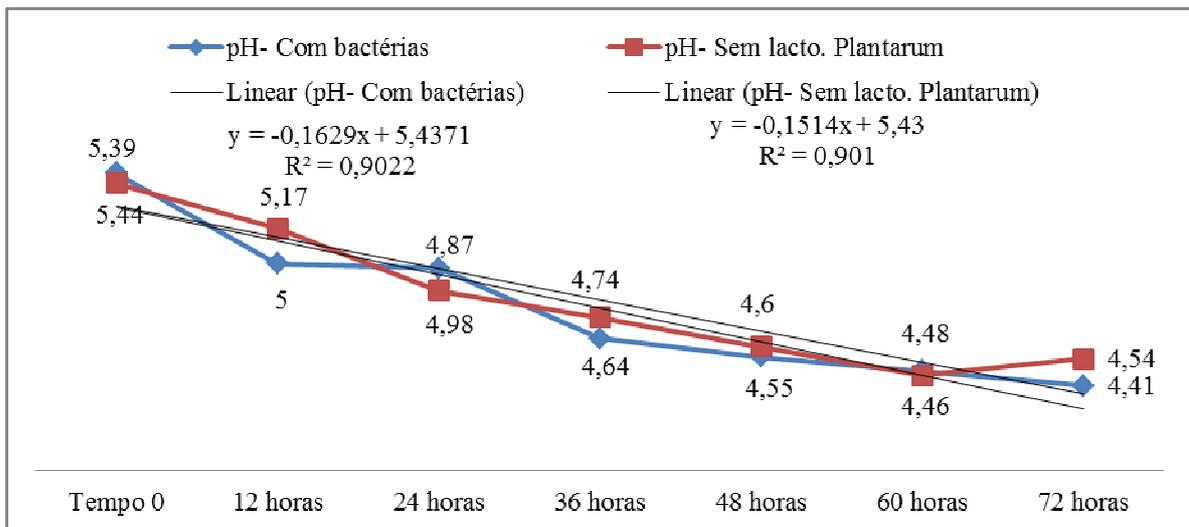


Gráfico 1: resultados de pH em silagem de cana-de-açúcar, inoculadas ou não com a bactéria *Lactobacillus plantarum*.

Segundo Evangelista et al., (2004), para que seja garantida a menor atividade de leveduras, enterobactérias e clostrídeos, é preciso que o pH caia o mais rápido possível. Ao final das 72 horas de tempo fermentativo os dois tratamentos tiveram um pH final bem similar, sendo no tratamento controle de 4,54 e no com a inoculação da bactéria 4,41. Pedroso (2003), em um estudo com a silagem de cana-de-açúcar, no terceiro dia de ensilagem verificou que o pH das amostras já se encontravam abaixo de 4,0. Como explicação para isso, Mc Donald et al., (1991), relata que quando se trabalha com uma forrageira com alto teor de açúcares e baixos de proteína, como a cana, a estabilidade do pH ocorre antes do décimo dia da ensilagem. Apesar de não apresentar diferença significativa entre os dois tratamentos, ambos ficaram dentro do indicado para os valores ideais citados por Mc Donald (1991).

Já a variável ácido láctico, foi submetida à análise de regressão, podendo ser descrita pela equação  $y = 0.0025 + 0.001751x$ , que demonstrou aumento da acidez em função do tempo, bem como já era esperado (gráfico 2).

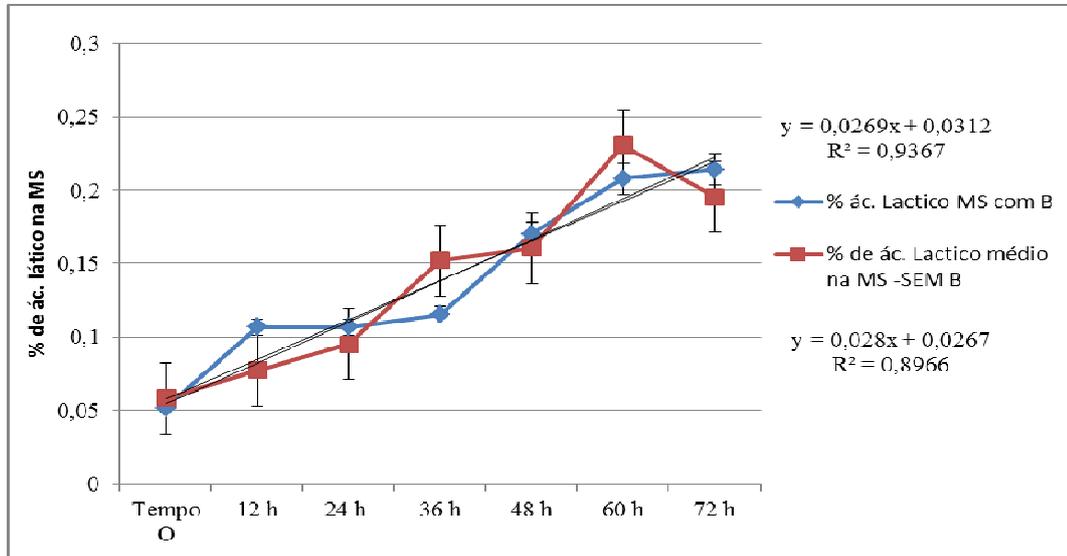


Gráfico 2: Resultados de acidez titulável em silagens de cana-de-açúcar inoculadas ou não com a bactéria *Lactobacillus plantarum*.

Ambos os tratamentos não apresentaram diferença estatística significativa, sendo que houve poucas variações dos ácidos lácticos produzidos. Os *Lactobacillus plantarum* são heterofermentativos facultativos, então no caso da inoculação na cana-de-açúcar, não podemos definir se seu metabolismo foi heterofermentativo ou homofermentativo somente com as análises de acidez titulável. Já no tratamento controle, a variação também foi pequena, possivelmente pelas amostras de silagens não serem estéreis e dessa maneira conter uma carga bacteriana natural, que possui bactérias de vários gêneros e metabolismos.

Os valores encontrados foram muito inferiores aos relatados por Muñoz-Maldonado (2007) de 5,02% da MS, e por Freitas et al. (2006), de 5,30% da MS. Porém estes valores encontrados não correspondem à produção total de ácido láctico durante o tempo fermentativo já que parte deste mesmo ácido embora mais frequente em condições de aerobiose é utilizado pelas bactérias e leveduras para produção de etanol.

No que diz respeito aos açúcares, eles são utilizados para fermentação tanto pelas bactérias quanto por leveduras para produção de etanol, o que acaba diminuindo a disponibilidade do mesmo, como demonstrado no gráfico 3.

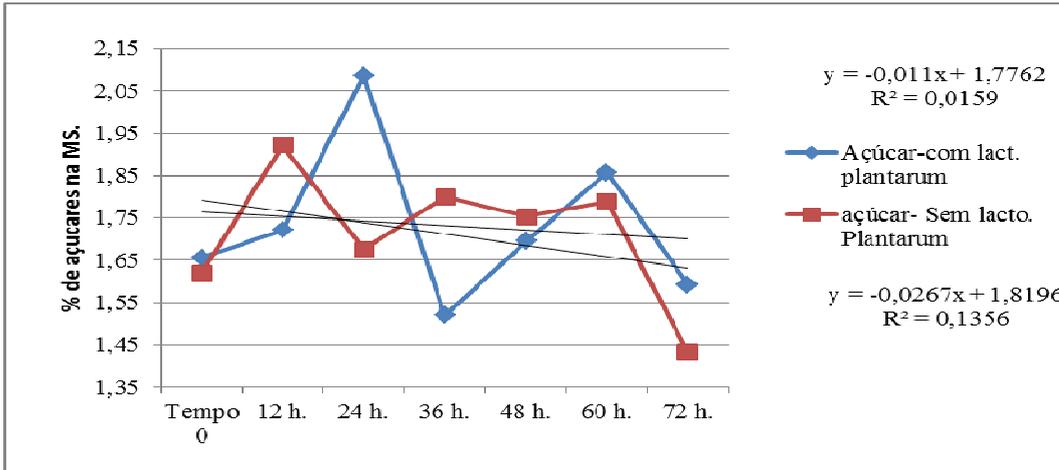


Gráfico 3: Resultados de açúcares redutores presentes na silage de cana-de-açúcar inoculada ou não com *Lactobacillus plantarum*.

Os açúcares redutores são formados por glicose e frutose, sendo o que realmente está disponível para a utilização pelos microrganismos (FERNANDES, 2003). Os valores encontrados neste trabalho não foram diferentes significativamente entre os dois tratamentos. Os açúcares redutores no caldo podem variar de acordo com o ponto de maturação da cana-de-açúcar e também com sua variedade. Os encontrados neste trabalho foram superiores aos encontrados por Oliveira (1999), que variou de 0,90 à 1,25%, o mesmo autor ainda concluiu que as que apresentaram maior quantidade de açúcares, possuíam qualidade inferior para o corte.

O crescimento bacteriano também é uma variável interessante, sendo que está pode ser estimado com relação ao tempo. O mesmo está representado no gráfico 4 abaixo.

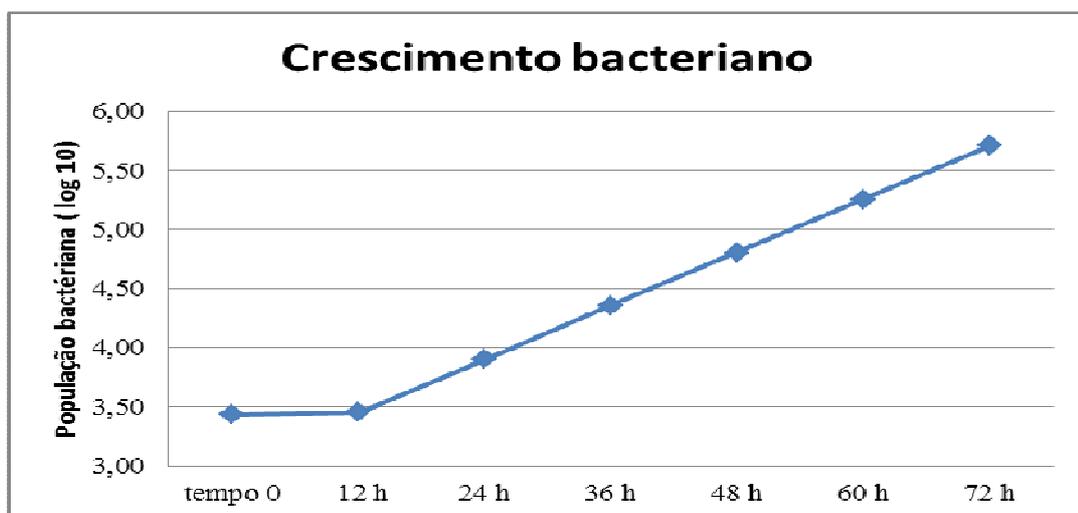


Gráfico 4: Estimativa de crescimento bacteriano do *Lactobacillus plantarum* em todas as condições ideais com base na fórmula  $\mu = \ln 2 / t_d$ .

O crescimento bacteriano foi estimado com base na fórmula descrita por Kozloski (2002), sendo que os valores utilizados na fórmula foram encontrados na literatura como sendo valores específicos para o *Lactobacillus plantarum*, desde que todas suas premissas de exigências estejam sendo atendidas.

O crescimento bacteriano pode ser afetado por alguns fatores, dentre eles cita-se a disponibilidade de nutrientes essenciais. No crescimento exponencial são caracterizadas algumas fases, dentre elas a primeira é descrita como um crescimento lento das células, basicamente por uma questão de adaptação das bactérias ao novo meio de cultivo, a segunda fase seria a de crescimento exponencial, sendo que os maiores números de células estão em divisão. No gráfico 4 a estimativa de crescimento leva em consideração o volume inicialmente inoculado e a variável tempo de duplicação, não sendo levado em consideração a disponibilidade de nutrientes (HORNES et al, 2010).

Como demonstrado no gráfico 4, as bactérias presentes neste meio estariam na fase em que há crescimento acelerado exponencial. Isso pode ser explicado pela alta concentração de açúcares na silagem de cana-de-açúcar, sendo que após a adaptação ao ambiente, essas bactérias teriam grande quantidade de carboidratos para fermentação.

Outro ponto para ressaltar é que os resultados de açúcares tiveram uma grande variação entre os tempos fermentativos, sendo que devido à alta taxa de atividade das bactérias elas utilizam esses açúcares, mas também durante essa quebra acabam liberando moléculas de carboidratos e esse pode ser o motivo para a variação dos teores de açúcares.

## 5.1 COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA.

As análises dos componentes bromatológicos apresentam a qualidade em termos nutricionais deste alimento, sendo que os componentes bromatológicos analisados foram: Fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácido (FDA), hemicelulose (HEM), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), lignina (LIG) e nitrogênio amoniacal (N-Amoniacal). Não houve significância entre os tratamentos de silagem de cana-de-açúcar com a inoculação da bactéria e o tratamento controle, sendo assim as médias submetidas ao teste de comparação de média por Tukey a 5% de probabilidade, como demonstrado na tabela 1. Somente os valores de FDA que apresentaram interação entre o tratamento e o dia, com nível de significância de 1%.

Tabela 1: Componentes bromatológicos das variáveis MS, PB, MM, FDN, HEM, LIG, N-amoniacal da silagem de cana-de-açúcar inoculada ou não com *Lactobacillus plantarum*.

COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DOS DIAS							
Dias	MS	PB	MM	FDN	HEM	LIG	N-amoniacal
Tempo 0	27,26 a	3,11 a	3,91 b	54,89 b	10,97 b	7,06 b	1,82 a
7 dias	23,97 b	3,88 a	4,92 ab	73,91 a	29,47 a	9,43 a	1,65 ab
15 dias	23,46 b	3,98 a	5,29 a	76,03 a	20,34 ab	9,32 a	1,44 bc
30 dias	21,05 ab	3,82 a	5,54 a	72,47 a	21,05 ab	9,22 ab	1,43 bc
45 dias	22,64 b	4,20 a	4,45 ab	74,67 a	18,44 ab	9,63 a	1,32 c

MS (%) = Matéria seca; PB (%) = Proteína Bruta; MM (%) = Matéria Mineral; FDN (%) = Fibra em Detergente Neutro; LIG (%) = Lignina; HEM (%) = Hemicelulose; N-amoniacal (% N total) = Nitrogênio amoniacal.

Valores seguidos pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

Os teores de matéria seca, como podem ser observados na tabela 1, tiveram perdas gradativas, sendo que variou de 27,26 à 21,72%, ficando bem próximos aos encontrados por Queiroz (2006) de 23,1%, porém foram inferiores aos encontrados por Valeriano et al. (2009) que encontrou 32% quando houve inoculação com *Lactobacillus plantarum*.

A perda de matéria seca desse estudo, pode estar associada ao metabolismo heterofermentativo facultativo da bactéria, quanto a presença de leveduras no meio, sendo que a sacarose pode ter sido utilizada por ambos e como resultado desse fermentação houve perda de matéria seca e de valor nutritivo, pois os açúcares podem ter sido convertidos em etanol, CO<sub>2</sub>, e água (MIRANDA, 2006).

Já os teores de PB não apresentaram significancia em nenhum dos tratamentos, assim como não tiveram diferença estatísticas nas médias encontradas nos dias de fermentação. Entretanto, os mesmos variaram de 3,11% na MS e 4,2% na MS, resultados estes semelhantes ao encontrados por Neto et al. (2013), que quando comparou a silagem de cana-de-açúcar inoculada com uma cepa de *Lactobacillus buchneri* em relação a silagem de cana-de-açúcar sem inoculantes percebeu que ambas não tinham diferença estatística significativa e encontrou valores de 3,55 % na silagem sem inoculante e de 3,47 % quando adicionado o *Lactobacillus buchneri*.

Valeriano et al. (2009), quando trabalhou com diferentes inoculantes, conclui que a inoculação com *Lactobacillus plantarum* na silagem de cana-de-açúcar, não interferiu nos teores de PB, sendo que também não houve diferença siginificativo quando comparado com o tratamento controle e os valores ficaram entre 3,6 e 4,2%.

Durante o período de fermentação houve aumentos nos teores de proteína, sendo que Valeriano et al. (2009), atribui esses aumentos devido à utilização dos carboidratos solúveis pelos microrganismos em ambos tratamentos. Ainda Rotz & Muck (1994), dizem que este valor pode aumentar de 1 a 2 unidades percentuais na MS durante este processo.

No caso da análise dos teores de cinzas, são normalmente muito baixas na cana-de-açúcar, segundo Valeriano et al. (2009). Os valores encontrados neste trabalho foram inferiores aos encontrados por Schmidt et al. (2007), porém foram superiores aos encontrados por Santos et al. (2008). Segundo Valeriano et al. (2009), essas diferenças dos valores de cinzas encontrados na literatura, são decorrentes das diferentes cultivares utilizadas, assim como a idade da planta e à adubação. Já Pedroso et al. (2005), observaram que os teores de cinzas na silagem de cana aumentam com a fermentação, o que também ocorreu neste estudo, esse mesmo autor justifica esse acontecimento devido a perda de nutrientes na forma de gases e pelo efluente durante a ensilagem.

Já os teores de hemicelulose foram calculados pela diferença entre os teores de FDN e FDA. Os mesmos variou de 10,70 % na MS no tempo 0 à 29,47 % no sétimo dia, e depois houve decréscimos em seus valores. Ribeiro et al. (2010), encontrou valores bem semelhantes em silagens de duas variedades de cana-de-açúcar à CB 45-3 e RB 72-454, sendo 15,9% e 20,5% respectivamente. Schmidt et al. (2007) encontrou valores de 23,70 % na MS de hemicelulose, em silagens quando receberam inoculação com uma cepa de *Lactobacillus plantarum*, sendo que houve um aumento de 0,6 pontos percentuais em relação ao tratamento controle.

Porém Woolford (1984), concluiu que durante a fermentação os teores de hemicelulose podem diminuir, bem como encontrado nesse estudo, isso pode estar ligado à degradação por ação de próprias enzimas da planta e hidrólise ácida.

Como observado na tabela 1, os teores de lignina foram aumentando de acordo com os dias de fermentação. Ribeiro et al. (2010), encontrou valores bem próximos aos observados neste trabalho. A lignina pode formar complexos com a celulose e a hemicelulose, dificultando o aproveitamento dos nutrientes para animal. Esse aumento provavelmente pode ter ocorrido, pois as bactérias utilizam os carboidratos solúveis para sua multiplicação, e para isso consomem os carboidratos não fibrosos primeiramente e após os carboidratos fibrosos que estão complexados com a lignina.

Outra análise que comprova a qualidade do método de ensilagem, são os valores encontrados de perda de nitrogênio amoniacal, sendo que neste trabalho variou de 1,8 % e 1,3 % na MS. Considerando que o nitrogênio amoniacal é produto da fermentação de clostrídicas,

Brito et al. (1998), descreve que valores acima de 10% são indicativos de uma silagem de má qualidade que está em intensa proteólise. Entretanto para Itavo et al. (1998), valores de 8% já indicam está elevada proteólise do material ensilado. Os valores encontrados neste trabalho ficaram bem baixos, e são indicativos que não houve uma intensa taxa de proteólise do material, além de que como o verificado na análise de pH, no método utilizado os valores caíram rapidamente devido ao baixo teor de proteína da cana-de-açúcar, o que inibe a atividade do clostrídio.

Teixeira et al. (2005), quando trabalharam com silagem de capim elefante com aplicação de diferentes níveis de farelo de cacau, também encontraram valores bem próximos ao deste presente trabalho, sendo que variou de 0,59% e 1,65% em relação ao nitrogênio total.

A tabela 2, apresenta os valores encontrados para as médias de FDA, sendo que a mesma demonstrou interação entre tratamento e dia, quando comparadas com Tukey a 1% de probabilidade.

Tabela 2: % de FDA presente na MS de silagem de cana-de-açúcar inoculadas ou não com *Lactobacillus plantarum*.

Dias	FDA	
	Tratamento Com bactéria	Tratamento Sem bactéria
Tempo 0	49.60 b A	38.24 c B
7 dias	54.44 a A	52.17 b A
15 dias	57.48 a A	54.67 a A
30 dias	55.41 a A	53.17 b A
45 dias	50.06 b B	62.86 a A

Valores seguidos pela mesma letra maiúscula não se diferem entre as colunas e valores seguidos pela mesma letra minúscula não se diferem entre os valores presentes nas linhas.

Schmidt et al. (2011), ao inocular *Lactobacillus buchneri* na silagem de cana-de-açúcar, obteve resultados semelhantes ao deste trabalho para os teores de FDN (tabela 1) e FDA (tabela 2), entretanto eles não foram influenciados pela adição do inoculante.

Neto et al. (2013), encontraram valores de FDN e FDA, em torno de 10% menor do que os encontrados neste presente trabalho. Porém Schmidt et al (2011), atribuiu os valores superiores aos encontrados na maioria das literaturas devido as altas perdas fermentativas e a produção de etanol verificadas em seu trabalho.

Além disso, Pedroso et al. (2007) observaram que os teores de FDN e FDA vão se tornando mais concentrado na matéria seca, isso ocorre devido a perda de carboidratos solúveis na forma de gases e efluentes durante a ensilagem.

Valeriano et al. (2009), quando testaram alguns aditivos microbianos na silagem de cana-de-açúcar, dentre eles o *Lactobacillus plantarum*, não observaram nenhuma influência do mesmo nos teores de FDN e FDA, porém também encontraram valores bem menores do que os observados neste estudo.

Os valores de FDN encontrados neste estudo ficaram próximos aos encontrados por Schmidt et al (2011) que encontraram em média 70% na MS, utilizando diferentes inoculantes, assim como os valores de FDA, sendo este encontrado próximo a 55% na MS.

Os valores de aumentos de FDN, FDA e lignina nesse trabalho, demonstram que a inoculação do *Lactobacillus plantarum* em nível de animal, não conseguiu controlar esses aumentos. O FDN contempla as frações celulose, hemicelulose e lignina, e é um limitante de consumo do alimento pelo animal. No caso do FDA, o mesmo envolve as frações celulose e lignina, estando relacionado com a digestibilidade do alimento. A lignina é uma fração indigestível para o animal, então o seu aumento causará apenas a sensação de enchimento.

Esses aumentos possivelmente irão causar reflexos negativos no animal, sendo que o mesmo terá seu consumo limitado, porém esse consumo não conseguirá suprir suas necessidades, pois a digestibilidade da silagem será baixa, então o mesmo ficará em déficit negativo.

## 6 CONCLUSÃO

Com este trabalho conclui-se que somente os resultados significativos encontrados em relação às análises de FDA, não são o suficiente para ser indicada a utilização do *Lactobacillus plantarum* como inoculante na silagem de cana-de-açúcar.

## 7 REFERÊNCIAS

- AMBROSANO, E. J. et al. Produtividade da cana-de-açúcar após o cultivo de leguminosas. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 4, p.810-818, 2011.
- AMARAL, R. C. et al. Cana-de-açúcar ensilada com ou sem aditivos químicos: fermentação e composição química. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 8, p.1413-1421, 2009.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial – Biotecnologia na Produção de Alimentos**, Vol. 4. Ed. Edgard Blücher, São Paulo, 2002.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- ÁVILA, C. L. S. et al. Qualidade da silagem de cana-de-açúcar inoculada com uma cepa de *Lactobacillus buchneri*. **Revista Acta Scientiarum**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 255-261, 2008.
- BERNARDES, T.F. **Levantamento das práticas de produção e uso de silagens em fazendas produtoras de leite no Brasil**. 2012. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/pdf/EBOOK-SILAGEM.pdf>>. Acesso em 11/03/2017.
- BRITO, A. F. et al. Qualidade das silagens de sete genótipos de sorgo e seus padrões de fermentação. In: In: Reunião anual da sociedade Brasileira de Zootecnia, 35., 1998, Botucatu. **Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 1998. p. 690-692.
- CHECOLI, M. B. **Silagem de cana-de-açúcar tratadas com *Lactobacillus kefir* e *L. brevis*: Efeito no perfil fermentativo e na estabilidade aeróbica**. 2014. 19 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.
- DEMARCHINI, J. J. A. A. **Silagem de cana-de-açúcar**. São Paulo: MilkPoint, 2001. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/conservacao-de-forragens/silagem-de-canadeacucar-8169n.aspx>. Acesso em: 20 mar. 2017.
- EVANGELISTA, R. A.; LIMA, J. A. **Silagens do cultivo ao silo**. 2. ed. Lavras: UFLA, p. 49-60, 2002.
- EVANGELISTA, A.R.; PERON, A.J.; AMARAL, P.N.C. Forrageiras não convencionais para silagem – mitos e realidades. In: **SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM**, 2., 2004, Viçosa, MG. Anais... Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2004. p.463-507.
- FERNANDES, A.C. Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar. 2.ed. Piracicaba, SP: Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil (STAB), 2003. 240p.

FREITAS, A.W.P. et al. Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo da colheita de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.38-47, 2006.

FILHO, S. G. T. **Avaliação dinâmica na população de microrganismos em plantas de cana-de-açúcar IAC (93-3046)**. 2010. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

HORNES, M. et al, Influência dos compostos nitrogenados na concentração de proteína da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** 2010, 30 (Abril-Junio). Disponível em:

:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940100012>>, acesso em 06/ 11/2017.

ITAVO, L. C. V. et al. Efeito dos aditivos nos parâmetros fermentativos da silagem de bagaço de laranja. In: Reunião anual da sociedade Brasileira de Zootecnia, 35., 1998, Viçosa, MG. **Anais**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p. 385-387.

KUNG JUNIOR, 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.33, p.1149-1155, 2001.

IPARDS. **Caderno estatístico município de Boa Esperança do Iguaçu**. Instituto Paranaense de desenvolvimento sustentável- IPARDS, 2017. Disponível em:

<http://www.ipardes.gov.br/cadernos/MontaCadPdf1.php?Municipio=85595>. Acesso em: 22 mar. 2017.

MARSÃO, D. J. M.; GONÇALVES A. C. **Cana-de-açúcar e produção animal**.

PROJETEC- Projetos e consultoria agropecuária. Piracicaba-SP. Disponível em:

<http://www.academico.uema.br/DOWNLOAD/Cana-de-acucareproducaoanimal.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2017.

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

MATHEW, S.; SAGATHEVAN, S.; THOMAS, J. An HPLC method for estimation of volatile fatty acids in ruminal fluid. **Indian Journal of Animal Science**, v.67, n.9, p.805-807, 1997.

MATSUOKA, S.; HOFFMAN, H. P. Variedades de cana-de-açúcar para bovinos. In: SIMPOSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 5., 1993, Piracicaba. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, p. 17-35, 1993.

MENDES, Q. C. et al., Efeito do *Lactobacillus buchneri* na fermentação, estabilidade aeróbica e no valor nutritivo de silagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n.12, p. 2191-2198, 2008.

MERCK. **Reactivos, diagnóstica, productos químicos** 1992/93. Darmstad, p.1584, 1993.

MILLER, G. L; **Use of dinitrosalicylle acid for determination of reducing sugar**, *Anal. Chem.* 11,p. 426-428, 1959

MUÑOZ-MALDONADO, J.G. **Associação de aditivos químicos e microbianos no controle da fermentação e estabilidade aeróbia em silagens de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. 2007. 100f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba

NEGRÃO. et al. Perdas, perfil fermentativo e composição química de silagens de capim brachiaria decumbens com a inclusão de farelo de arroz. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 37, n.1, p. 13-25, 2016.

NETO. C. G. A; MOLINA. R. L; GONÇALVES C. L; JAYME. G. C. Parâmetros de fermentação de silagens de cana-de-açúcar submetidas a diferentes tratamentos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária**, v. 60, n. 5, p. 1150-1156, 2008.

NETO. A. S. **Caracterização microbiológica, parâmetros fermentativos e estabilidade aeróbia em silagens de forragens tropicais com aditivos microbianos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

NETO, A. S. et al. **Silagem de milho ou de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* exclusivamente ou em associação com *L. plantarum***. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.48, n.5, p.528-535, maio 2013.

OLIVEIRA, M.D.S.; TOSI, H.; SAMPAIO, A.A.M.; VIEIRA, P.F.; SANTIAGO, G. Avaliação de duas variedades de cana-de-açúcar submetidas a diferentes tempos de armazenamento. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.34, n.8, p.1435- 1442, 1999.

PAGNONCELLI. et al. **Isolation and identification of lactic bacteria from mature coffee cherries: potencial application in coffee husk ensiling**. 1 ed. IRD- Édition, p. 321-333, 2003.

PEDROSO et al., Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 5, p. 427-432, 2005.

PEDROSO, A.F. Aditivos químicos e microbianos no controle de perdas e na qualidade de silagem de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2003. 120p. **Dissertação** (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2003.

PEDROSO, A.F. et al. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.558-564, 2007.

PINHEIRO. G. E. V. **Efeito do uso de diferentes inoculantes microbianos á fresco e liofilizados sobre silagem de sorgo**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

QUEIROZ, O.C.M. et al. Estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar confeccionadas com inoculantes bacterianos e aditivos químicos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, 2006.

REIS, R. A.; Da SILVA, S. C. **Consumo de forragens In: Nutrição de Ruminantes**.

Berchielli, T.T., Vaz Pires, A., Oliveira, S.G. 1ª ed. Jaboticabal : FUNEP, v.1, p. 79-109, 2006.

RIBEIRO. J. L.; QUEIROZ. O. C. M.; NUSSIO. L. G. **Desenvolvimento de aditivos microbianos para ensilagem: Realidade e perspectivas**. Jaboticabal: FUNEP, p. 1- 25, 2005.

ROTZ, C.A.; MUCK, R.E. **Changes in forage quality during harvest and storage**. In: FAHEY JR., G.C.; COLLINS, M.; MERTENS, D.R. et al. (Eds.) Forage quality, evaluation and utilization. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 1994. p.828-868.

SATO. P. M. **Regulação do acúmulo de sacarose em cana-de-açúcar e análise funcional de uma proteína quinase relacionada com o conteúdo de sacarose**. 2012. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SANTOS, M. C. et al. Influência da utilização de aditivos químicos no perfil da fermentação, no valor nutritivo e nas perdas de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.37, n.9, p.1555-1563, 2008.

SANTOS, F.; BORÉN A. **Cana-de-açúcar: do plantio á colheita**. Viçosa, MG, p. 1-3, 2013.

SANTOS. W. C. C. Nutritive value, total losses of dry matter and aerobic stability of the silage from three varieties of sugarcane treated with commercial microbial additives. **Animal feed science and technology**, v. 204, p. 1-8 2015.

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, p.1666-1675, 2007.

SCHMIDT, P. **Improved efficiency of sugarcane ensiling for ruminant supplementation**. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, Piracicaba. Proceedings... Piracicaba: FEALQ, 2009. p.47-72

SCHMIDT, P. et al. Novos aditivos microbianos na ensilagem de cana-de-açúcar: composição bromatológicas, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.3, p.543-549, 2011.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos** 3. ed. Viçosa, MG: UFV, p. 235, 2006.

SILVA, J. P. N.; SILVA, R. N. **Noções da cultura da cana-de-açúcar**. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, p. 105, 2012.

TEIXEIRA, et al. Perdas por nitrogênio amoniacal em Silagem de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) acrescida de farelo de cacau (*Theobroma cacao*). **Revista eletrônica de veterinária**, V. VI, n. 11, novembro, 2005. Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111105/110511.pdf>, acesso em: 08/11/2017.

VALERIANO, A.R.; PINTO, J.C.; ÁVILA, C.L.S. et al. Efeito da adição de *Lactobacillus* sp. na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.6, p.1009-1017, 2009.

WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York: Microbiology series. p. 350, 1984.

VAN SOEST, P.J. 1967. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forage. *J. Anim. Sci.*, 26(1):119-120.

Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

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

ZANINE. et al. Características fermentativas e composição química-bromatológica de silagem de capim-elefante com e sem *Lactobacillus plantarum* e farelo de trigo isoladamente ou em combinação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 4, p. 621-628, 2007.