



Queima e aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar¹

Gustavo Rezende Siqueira^{2,3}, Ricardo Andrade Reis^{3,4}, Ruben Pablo Schocken-Iturrino^{3,4}, Aureliano José Vieira Pires^{4,5}, Thiago Fernandes Bernardes⁶, Marcella de Toledo Piza Roth³

¹ Trabalho financiado pela FAPESP – Processo: 2004/14352-7.

² Apta – Pólo Regional da Alta Mogiana. Av. Rui Barbosa, s/nº, Caixa Postal 35, CEP: 14.770-000, Colina, SP.

³ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp – Campus de Jaboticabal, SP.

⁴ Bolsista de produtividade em pesquisa do CNPq.

⁵ Departamento de Tecnologia Rural e Animal/UESB, Campus de Itapetinga, BA.

⁶ Departamento de Zootecnia – UFRA.

RESUMO - Objetivou-se avaliar o efeito da queima e do uso de aditivos (ureia, benzoato de sódio, hidróxido de sódio (NaOH), *Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus buchneri*) na ensilagem de cana-de-açúcar. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 (cana-de-açúcar crua e queimada) × 6 (cinco aditivos mais o grupo controle) com três repetições. Determinaram-se as perdas durante o processo fermentativo nas formas de gases e de efluentes e a recuperação de matéria seca (MS). Maior recuperação de MS foi observada nas silagens de cana-de-açúcar queimada (77,3%) em relação às silagens de cana crua (73,1%). As recuperações de MS observadas nas silagens tratadas com NaOH ou *L. buchneri* foram de 84%, enquanto das silagens controle, 69%. No período após abertura, uma variável importante é a inibição da elevação do pH, nesse caso, medida pela variação do pH. Destacam-se como inibidores da variação do pH o benzoato de sódio e o *L. buchneri*, que promoveram variação do pH de 0,05 e 0,18 unidade de pH, respectivamente. A ensilagem da cana-de-açúcar sem aditivos, crua ou queimada, é uma estratégia que resulta em grandes perdas quantitativas, que podem ser evitadas pelo uso de aditivos. Entre os aditivos avaliados, o *L. buchneri* é o que atua de forma mais satisfatória nas fases de fermentação e pós-abertura de silagens de cana-de-açúcar crua ou queimada.

Palavras-chave: estabilidade aeróbia, fermentação, inoculantes, perdas, silagem

Burning and chemical and bacterial additives in sugar cane silage

ABSTRACT - This research was conducted to evaluate the effects of burning and additiveness (urea, sodium benzoate, sodium hydroxide (NaOH), *Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*) on sugar cane silage. A randomized complete design was used, in a 2 × 6 factorial scheme with two sugar cane forages (natural or burned) and six treatments (five additive sources plus a control) with three replications. The gas and effluent losses during the fermentation process and dry matter recovery (DMR) were determined. Greater DMR was observed in the burned sugar cane silage (77.3%) compared to the crude silage (73.1%). Among the additives, greater DM recovery was observed in the silages treated with the NaOH or *L. buchneri* silage, that showed 84.0% DMR, and the control silage with 69.0%. After opening, an important aspect is the inhibition of pH elevation, in this case, measured by the variation in the pH values (VpH). Sodium benzoate and *L. buchneri* were efficient inhibitors of the VpH, showing values of 0.05 and 0.18 per pH unit, respectively. Ensiled sugar cane without additives, raw or burned, is a strategy that presents high quantitative losses. *L. buchneri* effectively reduces losses during the fermentation and post-opening phases of raw or burned sugar cane silage.

Key Words: aerobic stability, fermentation, inoculants, losses, silage

Introdução

Um dos entraves à utilização de cana-de-açúcar na forma de capineira é o risco de fogo acidental. Após a queima, o canavial não pode ser mantido no campo, pois sofrerá deterioração e tornar-se-á impróprio para a alimentação animal. Além do risco de fogo, há várias justificativas para se ensilar a cana-de-açúcar: dificuldade logística de se estabelecer o corte diário, utilização na época

das águas; facilidade operacional da propriedade; prevenção de sobra de um ano para outro, entre outras.

Nesse sentido, Bernardes et al. (2007) avaliaram a ensilagem da cana-de-açúcar crua e queimada e observaram elevação no teor de etanol e na população de leveduras nas silagens que passaram pelo processo de queima. Atribui-se a elevação desses parâmetros a possível recontaminação por leveduras decorrente da exudação do colmo após o processo de queima.

Segundo Rooke & Hatfield (2003), a rota metabólica predominante das leveduras é a piruvato descarboxilase acetaldeído e a subsequente redução do acetaldeído a etanol. De acordo com McDonald et al. (1991), essa rota fermentativa ocasiona perdas de 48,9% de matéria seca e 0,2% de energia. A pequena perda energética resulta da contabilização do etanol como fonte de energia. No entanto, nem todo etanol produzido estará presente na silagem no momento da alimentação dos animais. Pedroso et al. (2005) observaram redução da concentração do etanol com o aumento do tempo de armazenamento da silagem de 45 para 180 dias, possivelmente por a taxa de volatilização ter sido maior que a síntese nesse período.

De acordo com Nussio & Schmidt (2004), o principal foco dos estudos com ensilagem de cana-de-açúcar e a busca de aditivos que, associados à ensilagem, inibam a fermentação alcoólica dessa forragem com vistas à redução dessas perdas. Com este intuito, vários aditivos têm sido estudados na ensilagem de forrageiras em geral, entre eles, aureia (Hill & Leaver, 2002); o NaOH (Castrillón et al., 1978); o benzoato de sódio (Warth, 1988); o *Propionibacterium* (Flores-Galarza et al., 1985) e o *L. buchneri* (Driehuis et al., 2001). O *L. plantarum* é o microrganismo mais utilizado na ensilagem de forrageiras tropicais e, segundo Pedroso et al. (2007), pode promover elevação das perdas, em razão do aumento da produção de ácido láctico. Bravo-Martins et al. (2006) demonstraram que o ácido láctico é substrato da maioria das leveduras presentes na cana-de-açúcar.

Neste trabalho objetivou-se avaliar o efeito da queima e do tratamento com aditivos químicos (ureia, benzoato de sódio e NaOH) e com inoculantes microbiológicos (*Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus buchneri*) sobre as perdas na ensilagem da cana-de-açúcar nas fases de fermentação e no pós-abertura.

Material e Métodos

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) utilizada foi o cultivar SP70-1143, proveniente da Usina Andrade Açúcar e Álcool, localizada no município de Pitangueiras, distrito de Ibitiúva, São Paulo. A colheita manual foi realizada no mês de outubro, quando a cana-de-açúcar estava apta para o quarto corte, com produção estimada de 80 t de matéria verde (MV)/ha aos 15 meses de crescimento vegetativo, com 16% de pol (% sacarose da cana-de-açúcar) e 35,3% de matéria seca (MS).

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial de 2 × 6, com os fatores:

queima (com e sem) e aditivos (controle, ureia, benzoato de sódio, NaOH, *P. acidipropionici* + *L. plantarum* e *L. buchneri*), com três repetições.

A forragem foi cortada e transportada até as dependências da Unesp-Jaboticabal. No dia posterior ao corte, parte da cana-de-açúcar foi colocada em forma de pilhas e queimada. A cana-de-açúcar, crua e queimada, foi processada em picadora estacionária em partículas de 1 a 3 cm, sem sofrer despalhamento.

Foram avaliadas 12 silagens: seis de cana-de-açúcar crua e seis de cana-de-açúcar queimada, uma sem aditivo e cinco com 0,1% de benzoato de sódio, 1,5% de ureia, 1% de NaOH, *P. acidipropionici* + *L. plantarum* e *L. buchneri* em cada tipo de cana-de-açúcar.

Os microrganismos *Propionibacterium acidipropionici* (Cepa MS 01) e *Lactobacillus plantarum* (Cepa MA 18/50) utilizados são encontrados no inoculante comercial Propiolact® (PROP). O microrganismo *Lactobacillus buchneri* (Cepa NCIMB 40788) é encontrado no inoculante comercial LalsilCana® (BUCH). O *P. acidipropionici* e o *L. plantarum* foram aplicados na dose de $1,5 \times 10^5$ ufc/g de forragem e o *L. buchneri* na dose de 5×10^4 ufc/g de forragem. A ureia foi diluída em água e aplicada em solução de 35 L/t de forragem, o benzoato de sódio foi aplicado por meio de solução de 15 L/t e o NaOH foi utilizado em solução de 33,3%. Todos os inoculantes e aditivos químicos foram aplicados com base na matéria natural.

Como silos experimentais, foram utilizados tubos de PVC de 50 cm de altura e 10 cm de diâmetro, com tampas com válvulas de *Bunsen* para permitir o escape dos gases. No fundo dos silos, foi colocado 1,2 kg de areia seca, separada da forragem por uma tela e um tecido de náilon, para quantificação do efluente produzido.

A compactação da forragem picada foi realizada com auxílio de bastões de ferro, objetivando alcançar densidade de 650 kg de forragem verde/m³. Determinou-se o volume de cada silo experimental descontando-se o espaço ocupado pela areia e pesou-se a quantidade de forragem necessária para obter a densidade desejada. Após a compactação da forragem, os silos foram vedados com fita adesiva, pesados e armazenados. Decorridos 60 dias de fermentação, foram novamente pesados para determinação das perdas por gases e abertos.

Após a retirada da silagem, o conjunto silo, areia, tela e tecido de náilon foi pesado para quantificação do efluente produzido. A determinação da perda gasosa foi calculada pela seguinte fórmula:

$$PG = (PSI - PSF) / MSI \times 100,$$

em que: PG = perda por gases (% MS); PSI = peso do silo

no momento da ensilagem (kg); PSF = peso do silo no momento da abertura (kg); e MSI: matéria seca ensilada (quantidade de forragem em kg \times % MS).

A determinação da produção de efluente foi calculada pela equação:

$$PE = (PSAF - PSAI) / MNI \times 1000,$$

em que: PE: produção de efluente (kg de efluente/t de matéria verde ensilada), PSAF: peso do conjunto silo, areia, tela e náilon após a abertura (kg), PSAI: peso do conjunto silo, areia, tela e náilon antes da ensilagem (kg) e MNI: quantidade de forragem ensilada (kg).

A variação dos teores de matéria seca (VMS) foi calculada como a diferença em módulo da porcentagem de MS no momento da ensilagem e da porcentagem de MS na abertura.

Antes da ensilagem, após a aplicação dos inoculantes ou aditivos, a forragem foi amostrada três vezes em cada tratamento e cada amostra foi fragmentada ainda em duas subamostras. Uma subamostra foi destinada à quantificação da capacidade-tampão, segundo metodologia descrita por Playne & McDonald (1966), enquanto a outra foi pesada e levada para estufa de ventilação forçada a 55 °C durante 72 horas.

Na abertura dos silos, após homogeneização da silagem, retiraram-se duas subamostras de cada silo. Uma das amostras coletadas foi preparada, segundo metodologia descrita por Kung Jr. et al. (1984), para determinação do pH, em potenciômetro (Silva & Queiroz, 2002) e nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total (N-NH₃), conforme descrito por Chaney & Marbach (1962). A outra subamostra foi levada para estufa de ventilação forçada seguindo os mesmos procedimentos das subamostras colhidas antes da ensilagem. As amostras que foram levadas para estufa, colhidas antes da ensilagem e após a abertura dos silos, foram novamente pesadas, moídas em moinho de faca até as partículas atingirem menos de 1 mm e armazenadas em potes de plástico, para

determinação da matéria seca segundo o método descrito por Silva & Queiroz (2002).

Após a abertura dos silos, amostras foram colocadas em baldes plásticos, que foram pesados e armazenados em câmara climática à temperatura de 25 \pm 1 °C, para avaliação da estabilidade aeróbia. As temperaturas das silagens após abertura foram obtidas a cada 12 horas durante cinco dias por meio de um termômetro inserido na massa de silagem contida nos baldes. A estabilidade aeróbia foi calculada como o tempo gasto em horas para a massa de forragem elevar em 1 °C a temperatura acima da temperatura ambiente (Driehuis et al., 2001). Decorridos cinco dias de exposição aeróbia, os baldes com as amostras foram novamente pesados para determinação da recuperação de MS e as silagens foram amostradas para determinação dos teores de MS e uma amostra foi coletada para determinação dos valores de pH.

Os dados foram analisados estatisticamente pelos procedimentos da análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância, utilizando-se o programa de SAS (1999), versão 8.

Resultados e Discussão

A capacidade-tampão das forragens antes da ensilagem foi alterada (P<0,05) pelo efeito da queima, à exceção daquelas tratadas com ureia. Os maiores valores foram observados na cana-de-açúcar tratada com NaOH (Tabela 1). Bernardes et al. (2007) observaram redução na capacidade-tampão da cana-de-açúcar sem aditivo após a queima de 9,2 para 3,8 e mg HCl/100g de MS.

O nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total (N-NH₃) é associado à qualidade fermentativa da silagem, pois esse composto é proveniente da degradação da fração proteica pelos clostrídeos (McDonald et al., 1991). Na ensilagem da cana-de-açúcar, essa degradação é inibida pela rápida queda do pH, devido à baixa capacidade tampão

Tabela 1 - Capacidade-tampão e teores de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) de silagens de cana-de-açúcar submetida à queima e ao tratamento com aditivos químicos e bacterianos

Tratamento	Capacidade tampão (e. mg de HCl/100 g de MS)			N-NH ₃ (% do N total)		
	Crua	Queimada	Média	Crua	Queimada	Média
Controle	7,0Ab	4,5Bb	5,7b	2,9Ab	4,0Ab	3,4b
Benzoato (0,1%)	7,4Ab	4,7Bb	6,0b	4,6Ab	4,0Ab	4,3b
Ureia (1,5%)	6,2Ab	4,9Ab	5,5b	14,7Aa	7,0Ba	10,8a
NaOH (1,0%)	35,5Aa	24,4Ba	30,0a	3,3Ab	3,9Ab	3,6b
PROP ¹	5,6Ab	3,4Bb	4,5b	4,0Ab	2,4Ab	3,2b
BUCH ²	6,2Ab	3,1Bb	4,6b	4,26Ab	3,0Ab	3,6b
Média	11,3A	7,5B	9,4	5,6A	4,1B	4,8
CV (%)			13,38			21,20

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem (P<0,05) pelo teste Tukey.

¹ *Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum*.

² *Lactobacillus buchneri*.

e elevada presença de carboidratos solúveis. As silagens tratadas com ureia apresentaram N-NH₃ superior às demais silagens (Tabela 1). Segundo Sundstol & Coxworth (1984), a ureia, na presença da enzima urease, é transformada em amônia, que, em contato com a água, transforma-se em hidróxido de amônio. Essa substância apresenta em sua constituição 29 a 30% de amônia (NH₃), conseqüentemente, silagens tratadas com ureia têm N-NH₃ superior ao das não-tratadas com esse aditivo. No entanto, ao se proceder à queima, possivelmente parte da enzima urease foi inativada, por isso, a cana-de-açúcar queimada e tratada com ureia resultou em silagens com menores valores de N-NH₃.

A queima antes da ensilagem propiciou valores de pH inferiores (P<0,05), no entanto, a diferença de 0,1 unidade de pH é de pequena magnitude (Tabela 2). Diferenças estatísticas em relação à queima dentro de cada aditivo também foram observadas após a abertura, porém todas inferiores a 0,2 unidade de pH, o que não representa grandes variações.

Os maiores valores de pH foram observados nas silagens tratadas com NaOH, seguidas das aditivadas com ureia, tanto nas silagens de cana-de-açúcar crua quanto na cana queimada. Silagens tratadas com ureia apresentam transformação dessa fração em hidróxido de amônio, um composto alcalino que inibe a queda do pH. Hill & Leaver (2002), estudando a ensilagem da planta de trigo tratada com ureia (0, 2 e 4%), observaram elevação do pH de 3,87 para 4,07 e 4,28 com o aumento das doses.

O NaOH tem grande capacidade de elevar o pH, como observado para a cana-de-açúcar antes de ensilar. Além disso, a elevação da capacidade-tampão, propicia os maiores valores de pH após a abertura. No entanto, comparando-se a redução do pH das silagens controle (2,1 unidades de pH) com a redução das silagens tratadas com NaOH (7 unidades de pH), nas silagens tratadas com NaOH, ocorreu maior extensão de fermentação, pois o pH após a abertura é

resultante do pH antes da ensilagem, associado à capacidade-tampão e modificado pelos ácidos orgânicos produzidos. Nessa condição, as silagens tratadas com NaOH tiveram maiores teores de ácido orgânicos, principalmente o láctico, que tem a maior capacidade de redução do pH. Castrillón et al. (1978) trataram a cana-de-açúcar com 4% de NaOH na matéria seca e observaram que as silagens controle e tratadas apresentaram, respectivamente, 1,6 e 12,2% de ácido láctico. Mesmo com essa alta produção de ácido láctico, as silagens tratadas apresentaram pH de 4,41 e as não-tratadas, 4,12.

As perdas por gases foram menores (P<0,05) nas silagens de cana-de-açúcar queimada e tratadas com NaOH ou *L. buchneri* (Tabela 3) e, entre as silagens de cana-de-açúcar crua, foram menores naquelas tratadas com NaOH, seguidas das silagens tratadas com benzoato, ureia e *L. buchneri* e não diferiram (P>0,05) entre si. O NaOH tem como objetivo tradicional de uso a hidrólise alcalina das frações fibrosas, no entanto foi um eficiente redutor de perdas por gases. Nos estudos de Castrillón et al. (1978) e Nieblas et al. (1982), a ensilagem da cana-de-açúcar tratada com NaOH reduziu o teor de etanol de aproximadamente 5% para menos que 1%. A produção de etanol está intimamente correlacionada às perdas por gases. Pedroso et al. (2005) observaram correlação de 0,89 entre etanol e perdas por gases. Segundo McDonald et al. (1991), a fermentação de carboidratos solúveis por leveduras durante a estocagem das silagens tem como produto o etanol e pode ser descrita pela seguinte equação:



A inclusão de NaOH, como mencionado, possivelmente propiciou aumento no teor de ácido láctico, em decorrência do estímulo de desenvolvimento de bactérias homofermentativas. Essas bactérias são inibidas em pH abaixo de 3,8 (McDonald et al., 1991). Na ensilagem da cana-de-açúcar, segundo Evangelista et al. (2009), os valores de pH reduzem a valores inferiores a 3,8 em menos de três dias.

Tabela 2 - Valores de pH antes da ensilagem e após a abertura dos silos

Tratamento	Antes da ensilagem			Após a ensilagem		
	Crua	Queimada	Média	Crua	Queimada	Média
Controle	5,9	5,7	5,8b	3,75Ac	3,72Ac	3,73c
Benzoato (0,1%)	6,0	5,7	5,8b	3,65Acd	3,72Ac	3,69cd
Ureia (1,5%)	5,8	5,7	5,8b	4,24Ab	4,05Bb	4,1b
NaOH (1,0%)	11,7	11,7	11,7a	4,64Ba	4,86Aa	4,75a
PROP ¹	5,6	5,7	5,7b	3,55Bde	3,66Acd	3,60d
BUCH ²	5,7	5,6	5,7b	3,43Ae	3,52Ad	3,48e
Média	6,8A	6,7B	6,7	3,88 B	3,92A	3,9
CV (%)			1,88			1,47

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem (P<0,05) pelo teste Tukey.

¹ *Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum*.

² *Lactobacillus buchneri*.

Quando se acrescenta um aditivo, como o NaOH, que eleva os valores do pH e da capacidade-tampão iniciais, aumenta-se o tempo de atuação das bactérias homofermentativas, permitindo maior produção de ácido láctico. No metabolismo de bactérias homofermentativas, a fermentação de glicose com síntese de ácido láctico não gera produção de CO₂. Pode-se inferir que a redução das perdas por gases foi resultado do aumento da população de bactérias homofermentativas, que consumiram com maior eficiência os carboidratos solúveis, reduzindo a atuação das leveduras.

O *Lactobacillus buchneri*, principalmente nas silagens de cana-de-açúcar queimada, mostrou-se eficiente em reduzir as perdas por gases. Esse microrganismo tem capacidade de converter ácido láctico em ácido acético e 1,2 propanodiol em condições de anaerobiose, eficiência que é maior em pH baixo, próximo a 3,8 (Oude Elferink et al., 2001). Segundo Moon (1983), o ácido acético em pH inferior ao seu pKa, é um potente inibidor do desenvolvimento de leveduras.

Segundo McDonald et al. (1991), a fermentação de carboidratos solúveis por bactérias heterofermentativas produz 1 mol de CO₂ para cada mol de glicose fermentada ou para cada 3 moles de frutose. Assim, a redução das perdas por gases pelo *L. buchneri*, mesmo sendo produtor de CO₂, na sua fermentação deu-se principalmente pela inibição do desenvolvimento de leveduras que produzem o dobro ou seis vezes mais gases por mol de substrato.

P. acidipropionici possui o mesmo princípio teórico de atuação que *L. buchneri* e produz mais ácido propiônico. No entanto, esses microrganismos não foram eficientes na redução das perdas por gases. Pahlow et al. (2003), em extensa revisão sobre microbiologia de silagem, sugeriram que as bactérias do gênero *Propionibacterium* são eficientes no controle de leveduras desde que o pH da silagem seja superior a 4,5. Neste estudo, o pH final, aos 60 dias, das silagens tratadas com *P. acidipropionici* foi 3,55 e 3,66 nas silagens de cana-de-açúcar crua e queimada,

respectivamente. Além do pH final, é interessante avaliar a taxa de redução do pH. No estudo realizado por Evangelista et al. (2009), observou-se queda do pH de silagens de cana-de-açúcar de 5,2 para 3,5 nos cinco primeiros dias de fermentação. Consequentemente, as bactérias *P. acidipropionici* provavelmente foram inibidas pela rápida queda do pH.

O fator queima elevou a produção de efluente de forma geral (Tabela 3) provavelmente ocorreu em virtude da redução ou até mesmo da eliminação da palhada pela queima, pois a presença da palha eleva o teor de matéria seca promove a absorção de líquidos. O NaOH destacou-se com inibidor da produção de efluente, tanto nas silagens de cana-de-açúcar crua quanto na cana queimada. Vale ressaltar ainda os altos valores observados neste estudo, 58,4 e 85,0 kg/tMV nas silagens de cana-de-açúcar crua e queimada, respectivamente, em comparação a outros trabalhos (Pedroso et al., 2005; Siqueira et al., 2007), como o de Pedroso et al. (2005), que observaram produção de efluente de 13,3 kg/tMV em silagens de cana-de-açúcar aos 90 dias de armazenagem. No entanto, esse fato pode ser explicado pelo processo de ensilagem realizado em silos experimentais de PVC. Neste estudo, foram utilizados bastões de ferro (material e métodos) na compactação da forragem e esses bastões apresentavam diâmetro próximo ao dos silos utilizados, consequentemente, esse fato propiciava compactação sobre toda a superfície do silo, não permitindo refluxo da forragem. Essa forma de compactação pode ter provocado maior dilaceramento das partículas ensiladas e aumentado a produção de efluente.

As silagens submetidas à queima apresentaram recuperação de MS média superior (P<0,05) à das silagens de cana-de-açúcar crua (Tabela 4). A utilização dos aditivos NaOH e *L. buchneri* elevou as recuperações de MS das silagens de cana-de-açúcar queimada em relação às produzidas com cana-de-açúcar crua e com os demais aditivos, que não apresentaram diferenças significativas.

Tabela 3 - Perdas por gases e por efluente em silagens de cana-de-açúcar submetidas à queima e ao tratamento com aditivos químicos e bacterianos

Tratamento	Perdas por gases (%MS)			Efluente (kg/t MV)		
	Crua	Queimada	Média	Crua	Queimada	Média
Controle	15,9Aa	18,1Aa	17,0a	76,2Bab	115,6Aa	95,9a
Benzoato (0,1%)	11,2Bbc	20,3Aa	15,8ab	63,0Bab	105,5Aab	84,2ab
Ureia (1,5%)	13,2Bbc	18,3Aa	15,7ab	56,5Bb	116,1Aab	86,3a
NaOH (1,0%)	9,6Ac	5,7Ab	7,7c	3,2Ac	11,9Ad	7,5c
PROP ¹	19,9Aa	18,1Aa	19,0a	84,9Aa	90,4Abc	87,6a
BUCH ²	13,2Abc	11,2Ab	12,2b	66,5Aab	70,4Ac	68,4b
Média	13,8A	15,3A	14,6	58,4B	85,0A	71,7
CV (%)			16,63			12,99

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem (P<0,05) pelo teste Tukey.

¹ *Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum*.

² *Lactobacillus buchneri*.

Tabela 4 - Recuperação de matéria seca e variação dos teores de matéria seca em silagens de cana-de-açúcar submetida à queima e ao tratamento com aditivos químicos e bacterianos

Tratamento	Recuperação da matéria seca (% MS)			Variação dos teores de matéria seca		
	Crua	Queimada	Média	Crua	Queimada	Média
Controle	67,5Ac	70,6Ab	69,0cd	7,8Aa	4,9Ba	6,3ab
Benzoato (0,1%)	74,8Aab	73,6Ab	74,2b	5,9Aa	3,7Bab	4,8b
Ureia (1,5%)	72,8Abc	72,3Ab	72,6bc	6,7Aa	4,1Bab	5,4ab
NaOH (1,0%)	76,1Bab	91,9Aa	84,0a	7,7Aa	1,8Bbc	4,7b
PROP ¹	66,4Ac	69,0Ab	67,7d	7,6Aa	6,4Aa	7,0a
BUCH ²	80,8Ba	86,7Aa	84,0a	3,1Ab	0,9Bc	2,0c
Média	73,1B	77,3A	75,2	6,5A	3,6B	5,0
CV (%)			3,41			21,33

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem (P<0,05) pelo teste Tukey.

¹ *Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum*.

² *Lactobacillus buchneri*.

No processo de queima, pode ocorrer transformação de sacarose em glicose e frutose, conseqüentemente, poderia ter ocorrido alteração no substrato disponível. Segundo McDonald et al. (1991), *L. buchneri* fermenta tanto sacarose quanto glicose e frutose. No entanto, a eficiência na fermentação de monossacarídeos (glicose e frutose) por esse microrganismo é maior que na de dissacarídeos (sacarose). Neste caso, a possível elevação da disponibilidade de monossacarídeos (glicose e frutose) estimulou o desenvolvimento do *L. buchneri* com conseqüente incremento na produção de ácido acético, que segundo Moon (1983), é considerado inibidor de leveduras.

Em relação ao NaOH, dois fatores podem ter contribuído para elevação da recuperação de MS. O primeiro é a elevação do pH, que possibilita maior tempo de atuação de bactérias homofermentativas, já citado na anteriormente, o segundo, é a maior disponibilidade de substratos (glicose e frutose), visto que várias bactérias homofermentativas fermentam com baixa eficiência ou não fermentam sacarose (McDonald et al., 1991).

As perdas por gases (Tabela 3) nas silagens de cana-de-açúcar queimada foram numericamente maiores que nas silagens de cana-de-açúcar crua e a produção de efluente foi significativamente maior nas silagens de cana-

de-açúcar queimada. No entanto, houve inversão de perdas, e as silagens de cana-de-açúcar queimada apresentaram maiores recuperação de MS (P<0,05). Esse fato pode ser correlacionado à variação da matéria seca (Tabela 4), que foram menores nas silagens de cana-de-açúcar queimada apresentaram menores VMS, entretanto, as silagens confeccionadas com cana-de-açúcar queimada já haviam sofrido redução nos teores de MS, devido às perdas inerentes ao processo de queima.

Houve diferença (P<0,05) entre a cana-de-açúcar crua e queimada antes da ensilagem. O processo de queima elimina a palha da cana-de-açúcar, material com alto teor de MS, reduzindo o teor de MS na cana-de-açúcar queimada (Tabela 5).

Entre os aditivos, não houve diferença estatística no teor MS (P>0,05) e, após a abertura dos silos, observou-se redução em todos os teores de MS (P<0,05). Excetuando as silagens tratadas com *P. acidipropionici* + *L. plantarum* ou ureia, todas as demais apresentaram maiores teores de MS quando a cana-de-açúcar foi queimada. Destacam-se os teores de MS das silagens tratadas com *L. buchneri* (crua e queimada) e das silagens de cana-de-açúcar queimada tratadas com NaOH. A redução nos teores de MS pode ser associada às perdas por gases e por efluente e à recuperação de MS.

Tabela 5 - Teores de matéria seca (MS) antes da ensilagem e após a abertura dos silos

Item	Antes da ensilagem (%MS)			Após a abertura (%MS)		
	Crua	Queimada	Média	Crua	Queimada	Média
Controle	35,2	34,1	34,6a	27,4Bc	29,2Abc	28,3d
Benzoato (0,1%)	35,2	34,4	34,8a	29,4Bb	30,7Ab	30,0bc
Ureia (1,5%)	35,8	33,1	34,5a	29,1Ab	29,1Abc	29,1cd
NaOH (1,0%)	36,8	34,5	35,6a	29,1Bb	32,7Aa	30,9b
PROP ¹	35,6	34,4	35,0a	28,0Abc	28,0Ac	28,0d
BUCH ²	35,1	34,2	34,7a	31,9Ba	33,4Aa	32,7a
Média	35,6A	34,1B	34,9	29,1B	30,5A	29,8
CV (%)			2,69			2,21

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem (P<0,05) pelo teste Tukey.

¹ *Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum*.

² *Lactobacillus buchneri*.

Um fato interessante foi relatado por Driehuis et al. (2001) em estudo com silagens de gramíneas de boa qualidade como azevém-perene. Esses autores observaram maiores perdas de MS nas silagens inoculadas com *L. buchneri* em comparação à silagem controle, como constatado em silagens de trigo, milho e sorgo (Filya, 2003). Essa perda é associada à fermentação heterolática desse microrganismo, que, nestes estudos, foi comparada à de microrganismos homoláticos, como o *Lactobacillus plantarum*. No entanto, menores reduções dos teores de MS e maiores recuperações de MS na ensilagem da cana-de-açúcar foram observadas com a inoculação do *L. buchneri*, pois nesse caso as perdas estão associadas à fermentação por leveduras que provocam perdas de MS superiores às bactérias heterofermentativas. Em suma, na ensilagem de plantas em que a fermentação é controlada por bactérias homoláticas, a inclusão do *L. buchneri* promove redução da recuperação de MS, em silagens onde a fermentação é controlada por leveduras, ele pode atuar elevando a recuperação de MS.

Destaca-se como inibidor da elevação do pH a queima em relação às silagens de cana-de-açúcar crua (Tabela 6). Já em relação aos aditivos químicos, a menor variação no pH foi observada nas silagens tratadas com benzoato (0,05), seguidas daquelas tratadas com *L. buchneri* (0,18) e *P. acidipropionici* + *L. plantarum* (0,21). Segundo McDonald et al. (1991), o metabolismo do ácido lático pelos microrganismos aeróbios eleva o pH. Nesse sentido, as silagens que tiveram menores variações do pH foram mais estáveis, preservando com maior eficiência os substratos produzidos durante a fermentação.

O *L. buchneri*, propiciando elevação de ácido acético, o *P. acidipropionici*, de ácido propiônico, e o benzoato de sódio, têm como semelhança o aumento da produção de ácidos orgânicos na silagem. Esses ácidos orgânicos, em solução com pH inferior ao pKa, encontram-se não-dissociados, permitindo sua entrada por difusão passiva

nas células das leveduras. No interior do microrganismo, o pH é por volta de 7,0, fazendo com que haja dissociação desses ácidos e liberação do íon H⁺, que é tóxico às leveduras. Então, é necessário às leveduras gastarem energia (ATP) para expulsar o H⁺, promovendo decréscimo no crescimento desses microrganismos e até mesmo a morte (Walker, 1998).

Ainda em relação a variação do pH, às silagens contendo *L. buchneri* ou benzoato de sódio, baseando-se em resultados encontrados na literatura (Driehuis et al., 1999 e Wooford et al., 2001) e com base nas perdas ocorridas durante a fermentação, acredita-se que houve efeito dos aditivos da forma citada anteriormente. Na silagem *P. acidipropionici* + *L. plantarum*, se fosse avaliado apenas a fase pós-abertura, a explicação seria com base no aumento do ácido propiônico. Entretanto, provavelmente acontecido é que as silagens tratadas com esse aditivo já se encontravam com baixo conteúdo de substratos, principalmente carboidratos solúveis, para permitir o desenvolvimento dos microrganismos aeróbios, pois sofreram elevadas perdas de matéria seca durante a fermentação.

Nas silagens de cana-de-açúcar queimada, os teores de MS após cinco dias de exposição (35,3%) foram mais próximos ao da abertura (34,1%) que nas silagens de cana-de-açúcar crua, 35,6 (abertura) e 40,5 (cinco dias de exposição). Para os aditivos, não foi encontrada diferença estatística (P>0,05) e a média geral foi de 37,9% (Tabela 7).

A recuperação de matéria seca no pós-abertura é definida pela intensidade metabólica de microrganismos aeróbios (Muck et al., 1991). Foram observadas, de maneira geral, maiores recuperações de MS nas silagens produzidas com cana-de-açúcar queimada. Não houve diferença estatística (P>0,05) entre silagens com aditivos e controle, contudo as silagens inoculadas com *P. acidipropionici* + *L. plantarum* apresentaram maior recuperação de MS, em razão da limitação de substratos pós-abertura, uma vez que essas silagens apresentaram extensas perdas de MS durante a fermentação.

Tabela 6 - Valores de pH após cinco dias de exposição aeróbia e variação do pH em silagens de cana-de-açúcar submetida à queima e ao tratamento com aditivos químicos e bacterianos

Tratamento	pH			Variação do pH		
	Crua	Queimada	Média	Crua	Queimada	Média
Controle	6,1Ab	3,8Bc	4,9c	2,35Ab	0,04Bbc	1,20b
Benzoato (0,1%)	3,7Ac	3,6Ac	3,6d	0,01Ae	0,11Ac	0,05d
Ureia (1,5%)	8,4Aa	4,3Bb	6,4a	4,19Aa	0,23Bb	2,21a
NaOH (1,0%)	6,0Ab	5,8Aa	5,9b	1,32Ac	0,94Ba	1,13b
PROP ¹	3,9Ac	3,7Bc	3,8d	0,39Ad	0,03Bbc	0,21c
BUCH ²	3,7Ac	3,6Ac	3,7d	0,24Ade	0,11Abc	0,18cd
Média	5,3A	4,1B	4,7	1,42A	0,21B	0,81
CV (%)			2,86			16,54

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferiram (P<0,05) pelo teste Tukey.

¹ *Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum*.

² *Lactobacillus buchneri*.

Tabela 7 - Teores de matéria seca (MS%) e recuperação da matéria seca após cinco dias de exposição aeróbia, em função do efeito da queima e do tratamento com aditivos químicos e bacterianos na ensilagem da cana-de-açúcar

Tratamento	MS (%)			Recuperação de MS (%)		
	Crua	Queimada	Média	Crua	Queimada	Média
Controle	39,3	33,8	36,5a	96,2Aa	93,9Ab	95,1ab
Benzoato (0,1%)	40,4	36,8	38,6a	95,0Aab	96,7Aab	95,8ab
Ureia (1,5%)	44,4	34,6	39,5a	90,8Bb	97,6Aab	94,2b
NaOH (1,0%)	44,4	36,2	40,3a	93,9Aab	93,0Ab	93,5b
PROP ¹	37,6	33,0	35,3a	97,4Aa	98,8Aa	98,1a
BUCH ²	37,1	37,1	37,1a	92,7Bab	97,4Aab	95,0ab
Média	40,5A	35,3B	37,9	94,3B	96,2A	95,3
CV (%)			2,24			2,02

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferiram ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

¹ *Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum*.

² *Lactobacillus buchneri*.

As silagens tratadas com *L. buchneri* apresentaram recuperação de MS de 92,7 e 97,4% nas silagens de cana-de-açúcar crua e queimada, respectivamente. Acredita-se que, nas silagens produzidas com cana-de-açúcar queimada, o efeito do *L. buchneri* foi mais pronunciado, como discutido nas interpretações das perdas de gases e recuperação de matéria seca durante a fermentação. Possivelmente nessas silagens ocorreu maior produção de ácido acético, com consequente inibição de leveduras durante a exposição aeróbia. Driehuis et al. (1999) avaliaram a recuperação de MS no pós-abertura de silagens de milho tratadas ou não com *L. buchneri* e constataram elevação da recuperação de MS nas silagens inoculadas com *L. buchneri*. Além do efeito sobre a recuperação de MS, foram observadas neste estudo reduções da população de leveduras e maior manutenção do pH durante a exposição aeróbia nas silagens com *L. buchneri*.

A estabilidade aeróbia, medida como tempo para elevação da temperatura, foi maior nas silagens de cana-de-açúcar queimada (Tabela 8). Segundo Pahlow et al. (2003), ocorre sucessão de espécies de leveduras na transposição da fase anaeróbia (fermentação) para a fase aeróbia (pós-abertura). Mesmo durante a exposição aeróbia, ocorre sucessão de espécies, de modo que primeiro ocorre desenvolvimento de leveduras mesofílicas e, posteriormente, das termofílicas (Pitt et al., 1991) e a maioria das leveduras atuantes no pós-abertura coincide com as leveduras epifíticas, que existiam na planta antes da fase de anaerobiose, representadas pelos gêneros *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Hansenula* (Pahlow et al., 2003). Possivelmente o fogo reduziu a população desses microrganismos, consequentemente o tempo necessário para a população de leveduras das silagens de cana-de-açúcar queimada equiparar-se à das silagens de cana-de-açúcar crua foi maior, resultando em maior tempo de estabilidade aeróbia.

A interpretação dos resultados de estabilidade aeróbia (h) considerando os aditivos utilizados deve ser realizada com cautela. Segundo o modelo de deterioração aeróbia de Muck et al. (1991), vários fatores afetam a estabilidade da silagem, entre eles, o pH, os teores de etanol, ácido acético, láctico, carboidratos solúveis residuais e a população inicial de leveduras e de fungos filamentosos.

Os valores observados neste trabalho foram de 66, 72 e 78 horas nas silagens controle, tratadas com ureia e inoculadas com *P. acidipropionici* + *L. plantarum*, respectivamente. Pedroso et al. (2008) alertaram sobre a hipótese de que o etanol acima de certa concentração tem efeito fungicida e pode elevar a estabilidade das silagens.

O tratamento com benzoato propiciou média de 48 horas, valor inferior ao observado por Pedroso et al. (2008) de 72 horas na dose de 0,1%. A análise dos demais parâmetros avaliados no pós-abertura, como variação do pH e recuperação de MS indicam, que essas silagens deveriam ter estabilidade aeróbia (h) superior à observada. É possível que nessas silagens a temperatura não tenha sido o

Tabela 8 - Estabilidade aeróbia (h) em silagens de cana-de-açúcar submetida a queima e ao tratamento com aditivos químicos e bacterianos

Tratamento	Estabilidade aeróbia (h)		
	Crua	Queimada	Média
Controle	32	100	66ab
Benzoato (0,1%)	40	56	48ab
Ureia (1,5%)	40	104	72a
NaOH (1,0%)	24	48	36b
PROP ¹	60	96	78a
BUCH ²	60	92	76a
Média	43B	83A	63
CV (%)			24,94

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferiram ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

¹ *Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum*.

² *Lactobacillus buchneri*.

parâmetro mais indicado para caracterização da estabilidade aeróbia, visto que, nos trabalhos de Woolford et al. (2001) e Lättemand & Lingvall (1996), foi observado efeito do benzoato na redução da população de leveduras no pós-abertura.

Observou-se média de 76 horas nas silagens inoculadas com *L. buchneri*, resultado semelhante ao obtido por Pedroso et al. (2008), que relataram média de 78 horas nas silagens de cana-de-açúcar tratadas com *L. buchneri*, um microrganismo que aumenta a estabilidade aeróbia em silagens de milho (Ranjit & Kung Jr. 2000), sorgo (Filya, 2003), cana-de-açúcar (Pedroso et al., 2008), entre outras. Como anteriormente relatado, seu principal efeito é a elevação da produção de ácido acético, com consequente controle da população de leveduras.

Conclusões

A ensilagem da cana-de-açúcar sem aditivos crua ou queimada é uma estratégia que ocasiona elevadas perdas, que podem ser evitadas com o uso de aditivos. Entre os aditivos testados, o *L. buchneri* é o que atua de forma mais satisfatória nas fases de fermentação e pós-abertura de silagens de cana-de-açúcar crua ou queimada.

Referências

- BERNARDES, T.F.; R.A. REIS; G.R. SIQUEIRA et al. Avaliação da queima e da adição de milho desintegrado com palha e sabugo na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.269-275, 2007.
- BRAVO-MARTINS, C.E.C.; CARNEIRO, H.; CASTRO-GÓMEZ, R.J. et al. Chemical and microbiological evaluation of ensiled sugarcane with different additives. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.499-504, 2006.
- CASTRILLÓN, M.V.; SHIMADA, A.S.; CALDERÓN, F.M. Manipulación de la fermentación en ensilajes de caña de azúcar y su valor alimenticio para borregos. **Técnica Pecuaria en México**, v.35, p.48-55, 1978.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p.130-137, 1962.
- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; Van WIKSELAAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v.56, p.330-343, 2001.
- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; SPOELSTRA, S.F. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. **Journal of Applied Microbiology**, v.87, p.583-594, 1999.
- EVANGELISTA, A.R.; SIQUEIRA, G.R.; LIMA, J.A. et al. Perfil fermentativo de silagens de cana-de-açúcar com e sem inclusão de milho desintegrado com palha e sabugo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.1, p.20-26, 2009.
- FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. **Journal of Applied Microbiology**, v.95, p.1080-1086, 2003.
- FLORES-GALARZA, R.O.; GLATZ, B.A.; BERN, C.J. et al. Preservation of high-moisture corn by microbial fermentation. **Journal Food Protection**, v.48, p.407411, 1985.
- HILL, J.; LEAVER, J.D. Changes in chemical composition and nutritive value of urea treated whole crop wheat during exposure to air. **Animal Feed Science Technology**, v.102, p.181-195, 2002.
- KUNG JR., L.; GRIEVE, D.B.; THOMAS, J.W. Added ammonia or microbial inoculant for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.299-306, 1984.
- LÄTTEMÄE, P.; LINGVALL, P. Effect of hexamine and sodium nitrite in combination with sodium benzoate and sodium propionate on fermentation and storage stability of wilted and long cut grass silage. **Swedish Journal of Agricultural Research**, v.26, p.135-146, 1996.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcomb Publications, 1991. 340 p.
- MOON, N.J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal Applied Bacteriology**, v.55, p.453-460, 1983.
- MUCK, R.E.; PITT, R.E.; LEIBENSPERGER, R.Y. A model of aerobic fungal growth in silage. 1. Microbial characteristics. **Grass and Forage Science**, v.46, p.283-296, 1991.
- NIEBLAS, T.D.; SHIMADA, A.S.; PALACIOS, J.T. Manipulación de la fermentación en ensilaje de caña de azúcar y valor alimenticio para borregos. 3. Digestibilidad aparente. **Veterinaria México**, v.13, p.23-26, 1982.
- NUSSIO, L.G.; SCHIMDT, P. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de cana-de-açúcar. In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W. (Eds.) SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2., 2004, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM/CCA/DZO, 2004. p.01-33.
- OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; KROONEMAN, J.; GOTTSCHAL, J.C. et al. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, p.125-132, 2001.
- PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. et al. Microbiology of ensiling In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003. p.31-94.
- PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F. et al. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. **Scientia Agricola**, v.62, p.427-432, 2005.
- PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; LOURES, D.R.S. et al. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.558-564, 2007.
- PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; LOURES, D.R.S. et al. Fermentation, losses, and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical or bacterial additives. **Scientia Agricola**, v.65, p.589-594, 2008.
- PITT, R.E.; MUCK, R.E.; PICKERING, N.B. A model of aerobic fungal growth in silage. 2. Aerobic stability. **Grass and Forage Science**, v.46, p.301-312, 1991.
- PLAYNE, M.J.; McDONALD, P. The buffering constituents of herbage and of silage. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, v.17, p.264-268, 1966.
- RANJIT, N.K.; KUNG Jr., L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservation on fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.526-535, 2000.
- ROOKE, J.A.; HATFIELD, R.D. Biochemistry of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage**

- science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003, p.251-304.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. 235p.
- SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. et al. Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.2000-2009, 2007.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS. **User's guide**: statistics, version 8. Cary: SAS Institute, 1999. (CD-ROM).
- SUNDSTOL, F.; COXWORTH, E.M. Ammonia treatment. In: SUNDSTOL, F.; OWEN, E. (Eds.) **Straw and other fibrous products as feed**. Amsterdam: Elsevier, 1984, p.196-247.
- WALKER, G.M. **Yeast physiology and biotechnology**. London: Wiley Editorial Offices, 1998. 350p.
- WARTH, A.D. Effect of benzoic acid on growth yield of yeast differing in their resistance to preservatives. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.2091-2095, 1988.
- WOOLFORD, M.K.; WHITE, J.; BOLSEN, K. et al. Benzoic, sorbic acids improve silage stability. **Feedstuffs**, v.1, p.11-13, 2001.