

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE AGRONOMIA, MEDICINA VETERINÁRIA E
ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical

PADRÃO FERMENTATIVO, COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E
DIGESTIBILIDADE DE SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR
INOCULADAS COM ADITIVO MICROBIANO-ENZIMÁTICO

RAFAEL HENRIQUE PEREIRA DOS REIS

CUIABÁ – MT

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE AGRONOMIA, MEDICINA VETERINÁRIA E
ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical

PADRÃO FERMENTATIVO, COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E
DIGESTIBILIDADE DE SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR
INOCULADAS COM ADITIVO MICROBIANO-ENZIMÁTICO

RAFAEL HENRIQUE PEREIRA DOS REIS

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. JOADIL GONÇALVES DE ABREU

Tese apresentada à Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agricultura Tropical.

CUIABÁ – MT

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

R375p Reis, Rafael Henrique Pereira dos.
Padrão fermentativo, composição bromatológica e digestibilidade de silagens de cana-de-açúcar inoculadas com aditivo microbiano-enzimático / Rafael Henrique Pereira dos Reis. -- 2014
82 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Joadil Gonçalves de Abreu.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, Cuiabá, 2014.
Inclui bibliografia.

1. ensilagem. 2. enzima celulolítica. 3. inoculante

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE AGRONOMIA, MEDICINA VETERINÁRIA E
ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

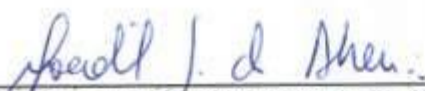
Título: PADRÃO FERMENTATIVO, COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E DIGESTIBILIDADE DE SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADAS COM ADITIVO MICROBIANO-ENZIMÁTICO

Autor: RAFAEL HENRIQUE PEREIRA DOS REIS

Orientador: Dr. JOADIL GONÇALVES DE ABREU

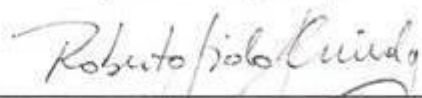
Aprovada em 25 de fevereiro de 2014.


Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Joadil Gonçalves de Abreu
(FAMEVZ/UFMT)
(Orientador)


Prof.^a. Dra. Rosemary Lais Galati
(FAMEVZ/UFMT)
(Membro Interno)


Prof. Dr. Daniel de Paula Sousa
(FAMEVZ/UFMT)
(Membro Interno)


Dr. Roberto Giolo de Almeida
(Embrapa/CNPQC)
(Membro Externo)


Prof. Dr. Emerson Alexandrino
(UFT/Araguaína)
(Membro Externo)

*A minha família, a em especial.
A todos que estiveram próximos, acompanharam-me
e contribuíram para que este sonho se tornasse
realidade.*

Dedico...

Ao professor **Joadil Gonçalves de Abreu** pela orientação, dedicação, ensinamentos, amizade e confiança nesses anos de estudo.

Ao professor **Daniel de Paula Sousa** pela orientação e disposição na execução deste trabalho.

A professora **Rosemary Lais Galati** e aos professores **Nelcino Francisco de Paula e Luciano da Silva Cabral** pelo incansável apoio e orientações para condução deste trabalho.

Ao amigo **Wagner Júnior** pelo apoio e dedicação na realização das análises laboratoriais e durante toda a execução dos experimentos.

Aos alunos e professores do **Grupo Integra – IFRO Câmpus Colorado do Oeste** e do **Grupo de Estudos em Bovinos de Leite – UFMT Câmpus Cuiabá** pela disponibilidade e ajuda em todas as fases deste trabalho.

A empresa **Alltech, Lexington, EUA**, pela disponibilização de recurso financeiro e do produto comercial utilizado neste trabalho.

A **Destilaria de Álcool CURTPAM**, pela disponibilização da cana-de-açúcar utilizada nos experimentos.

A **Universidade Federal de Mato Grosso** e ao **Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical** pela oportunidade a mim concedida e aos professores que me auxiliaram nesta jornada.

Ao **Instituto Federal de Rondônia – IFRO**, pelo apoio logístico e pela disponibilização para conclusão deste trabalho.

Aos amigos pelo companheirismo e ajuda durante todos os momentos necessários, em especial ao **Fábio, Pengo, Everton, Daniel, Carol, Fred, Cláudio, Tiago**, durante minha estada em Cuiabá.

Aos professores **Emerson Alexandrino** e **Roberto Giolo de Almeida** pela participação na banca de defesa e pelas sugestões e contribuições na elaboração deste trabalho.

Agradeço...

***"Libertemos devagar a terra onde
acontecem milagres como a água, a
pedra e a raiz.
Cada um de nós é por enquanto a vida.
Isso nos baste."
(José Saramago)***

***"Um dos gestos mais belos e
generosos do homem, andando
vagarosamente pelo campo lavrado, é
o de lançar na terra as sementes."
(Clarice Lispector)***

***"Pouco conhecimento faz com que as
pessoas se sintam orgulhosas. Muito
conhecimento, que se sintam
humildes. É assim que as espigas sem
grãos erguem desdenhosamente a
cabeça para o Céu, enquanto que as
cheias as baixam para a terra, sua
mãe."
(Leonardo Da Vinci)***

PADRÃO FERMENTATIVO, COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E DIGESTIBILIDADE DE SILAGENS DE CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADAS COM ADITIVO MICROBIANO-ENZIMÁTICO

RESUMO – A fermentação alcoólica ocasionada pelo desenvolvimento de leveduras apresenta-se como principal limitação na ensilagem de cana-de-açúcar. O uso de aditivos é empregado para amenizar este problema, no entanto, os resultados sobre a melhoria do padrão fermentativo e composição bromatológica são incipientes e pouco conclusivos. Neste sentido, objetivou-se avaliar a composição bromatológica, cinética da produção de gás *in vitro*, perdas de matéria seca e o padrão fermentativo na ensilagem de duas variedades de cana-de-açúcar aditivadas com inoculante microbiano-enzimático Sil All 4x4® Alltech, Lexington, EUA. O aditivo é uma associação de quatro bactérias (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* e *Lactobacillus* subs. *salivarius*) e quatro enzimas (amilase, enzima hemicelulolítica, xilanase e celulase). Foram realizados dois experimentos, o primeiro para avaliação da composição bromatológica, padrão fermentativo e cinética da produção de gás *in vitro* das silagens e o segundo para avaliação das perdas fermentativas na ensilagem. Em ambos os experimentos foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2x2x4 com quatro repetições, sendo duas variedades de cana-de-açúcar (precoce: RB835486 e média/tardia: SP79-1011), a presença ou ausência do inoculante e quatro tempos de abertura (0; 8; 16 e 64 dias de estocagem). Para avaliar a composição bromatológica e a cinética de produção de gás *in vitro* foram avaliadas na forragem e na silagem: a porcentagem de matéria seca (MS), os teores de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), FDN indigestível (FDNi), teores de matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), nutrientes digestíveis totais (NDT), digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), taxas de degradação dos carboidratos não-fibrosos (KdCNF) e fibrosos (KdCF). Para avaliar o padrão fermentativo na ensilagem, foram avaliados nas silagens: pH, teor de carboidratos solúveis (CS), teores de etanol, ácidos graxos voláteis (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico), perdas por efluentes (PE) e gases (PG) e recuperação de matéria seca (RecMS). Os efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,05$. Quando houve efeito do inoculante, este foi prejudicial à qualidade da silagem e do processo fermentativo. Aos 64 dias de estocagem na variedade precoce reduziu a MS e KdCNF e aumentou a FDN. Independente dos tempos de estocagem e das variedades, a presença do inoculante reduziu os teores de MM, PIDN e coeficiente KdCF. A MS, os teores de CS, NDT, coeficiente de DIVMO e Rec MS foram reduzidos ao longo dos tempos de estocagem, enquanto os teores de FDN, PG e PE foram incrementados. Observou-se efeito das variedades isoladamente e em interação com outros fatores para a maioria das variáveis analisadas, proporcionando maiores alterações nas silagens produzidas em relação à inoculação. A variedade precoce na presença do inoculante apresentou menores valores de FDNi, PG e PE, entretanto, menores valores também de NDT e DIVMO. Considerando que a RecMS não foi afetada pelo inoculante e pelas variedades isoladamente aos 64 dias de estocagem, na presença do inoculante, a variedade

média/tardia, mesmo apresentando maiores valores de FDNi, PG e PE, proporcionou silagens com maiores valores de NDT e DIVMO, além de maiores teores de ácido acético e propiônico. A produção de etanol foi influenciada pela inoculação e variedades apenas aos 8 dias de estocagem, não diferindo aos 64 dias de estocagem, acarretando em elevados valores de RecMS.

Palavras-chave: ensilagem, enzima celulolítica, inoculante bacteriano, *Saccharum* spp.

FERMENTATION PROFILE, BROMATOLOGICAL COMPOSITION AND DIGESTIBILITY OF SUGARCANE SILAGES TREATED WITH MICROBIAL-ENZYMATIC ADDITIVE

ABSTRACT - Alcoholic fermentation caused by yeast development is presented as the main limitation of sugar cane silage. The use of additives is employed to alleviate this problem, however, the results on improving the fermentation pattern and bromatological composition are incipient or inconclusive. In this sense, the objective in these study was to evaluate the bromatological composition, *in vitro* kinetics of gas production, dry matter losses and silage fermentation profile of two varieties of sugar cane treated with microbial-enzymatic inoculant Sil All 4x4® Alltech, Lexington, USA. The additive is an association four bacteria (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus salivarius* subs. *salivarius*) and four enzymes (cellulase, hemicellulase, amylase and pentosanase). Two experiments were executed, the first to evaluate the bromatological composition, fermentation profile and *in vitro* kinetics of gas production of silages and the second for the evaluate the fermentative losses in ensilage. In both experiments we used a completely randomized design in factorial arrangement 2x2x4 with four replications, being two varieties of sugar cane (early: RB835486 and middle/late: SP79-1011), the presence or absence of the inoculant and four storage times (0, 8, 16 and 64 days of storage). To evaluate the bromatological composition and the *in vitro* kinetics of gas production were evaluated in the forage and in the silage: the percentage of dry matter (DM), the content of insoluble neutral detergent fiber (NDF), NDF indigestible (NDFi) , contents of mineral matter (MM), crude protein (CP), neutral detergent insoluble protein (NDIP), total digestible nutrients (TDN), *in vitro* digestibility of organic matter (IVOMD), degradation rates non-fibrous (KdNFC) and fibrous carbohydrates (KdFC). To evaluate the fermentation profile in silage, were evaluated in the silage: pH, contents of soluble carbohydrates (SC), ethanol, volatile fatty acids (acetic acid, propionic acid and butyric acid), losses by effluent (LE) and gas (LG) and dry matter recovery (DMRec). The effects were declared significant at $P < 0.05$. When there was the inoculation effect, was detrimental to the quality of the silage fermentation process and. After 64 days of storage in early variety was reduced DM, KdNFC and increased NDF. Independent of storage time and varieties, the presence of the inoculant reduced the contents of MM, NDIP and coefficient KdFC. The DM, contents of SC, TDN, coefficient of IVOMD and DMRec were reduced over the time of storage, whereas the NDF, GL and EL were increased. It has been observed isolated effect of varieties and your interaction with other factors for most of the variables analyzed, providing greater changes in silages in relation to inoculation. The early variety in the presence of the inoculant showed lower values NDFi, GL and EL, however, also lower values of IVOMD and TDN. Whereas DMRec was not affected by inoculation and varieties singly after 64 days of storage in the presence of the inoculant, the middle/late variety, even with higher values of NDFi, GL and EL, provided silages with higher TDN and IVOMD, in addition higher contents of acetic and propionic acid. Ethanol production was influenced by inoculation and varieties

only the 8th days of storage, not differing after 64 days of storage, resulting in high values of DMRec.

Keywords: bacterial inoculant, cellulolytic enzyme, ensiling, *Saccharum* spp.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Aditivos Químicos	17
2.2 Aditivos Absorventes de Umidade	20
2.3 Aditivos Microbianos e Associações	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5. CONCLUSÕES	60
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
APÊNDICE A.	69
APÊNDICE B.	71
APÊNDICE C.	73
APÊNDICE D.	77
APÊNDICE E.	81

1. INTRODUÇÃO

O uso tradicional da cana-de-açúcar na forma *in natura* demanda mão-de-obra diária para corte, picagem e transporte, além de ocasionar desuniformidade nos canaviais (Nussio e Schmidt, 2004). A necessidade de maior eficiência no manejo da alimentação e nos tratamentos culturais dos canaviais tem levado os pecuaristas a optar pelo uso da cana-de-açúcar na forma de silagem. A ensilagem torna possível, ainda, a utilização da cana-de-açúcar fora do período da safra, prática que sofre restrições em consequência da perda de valor nutritivo da planta durante o verão e da dificuldade de colheita nos dias chuvosos.

A cana-de-açúcar apresenta todos os requisitos indispensáveis em uma planta a ser ensilada, que são: alto teor de carboidratos solúveis (CS) (maior que 20% na matéria natural), baixa capacidade tamponante (permite o abaixamento do pH para valores abaixo de 4,2) e teores de matéria seca adequados (30 a 35%), mas, baixos teores de proteína bruta. Entretanto, a natureza química dos CS (sacarose: dissacarídeo formado por glicose+frutose), em quantidade elevada, favorece a fermentação alcoólica pelo desenvolvimento de leveduras, que convertem a sacarose em etanol, CO₂ e água. Tal processo reduz drasticamente, além do teor de CS da forragem ensilada, a produção do agente conservador do processo, o ácido láctico, responsável pelo abaixamento do pH e inativação de microrganismos degradadores da massa ensilada.

A produção de etanol acarreta em perdas de matéria seca, de CS, elevação dos teores de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), FDN indigestível e redução da digestibilidade (Pedroso et al., 2007). Portanto, a produção de etanol, em

detrimento do valor nutritivo da silagem, pode ser considerada a maior limitação a esta tecnologia, e necessita de pesquisas que busquem alternativas que controlem a população e atividade das leveduras, sem prejuízo à qualidade da silagem (Sousa et al., 2008).

Neste sentido, os aditivos são testados a fim de proporcionar um melhor padrão de fermentação e minimizar os prejuízos ocasionados na composição bromatológica das silagens produzidas (Schmidt et al., 2007; Ávila et al., 2009; Sá Neto et al., 2013). No entanto, existe uma inconsistência nos resultados disponíveis sobre o efeito de aditivos na ensilagem, decorrentes do uso de diferentes variedades, da composição da planta no momento da colheita e pelos distintos tipos de aditivos utilizados.

Os aditivos químicos são os maiores responsáveis por alterações na composição bromatológica e taxas de degradação de carboidratos fibrosos. Entre eles, a ureia e a cal apresentam efeitos significativos e positivos sobre o teor de proteína bruta (ureia) e digestibilidade das silagens (ureia e cal). Schmidt et al. (2007), verificaram que a adição de ureia permitiu uma menor fração fibrosa (FDN), que ocasionou maior digestibilidade em relação à silagem sem aditivos, e também proporcionou elevação no teor de PB, devido à adição de nitrogênio não-protéico à silagem. Doses de até 4,0% de cal adicionadas na forragem trazem benefícios semelhantes, exceto o incremento no teor de PB. Este aditivo reduz a fração fibrosa em decorrência da hidrólise alcalina com a solubilização da hemicelulose e dissolução da celulose, por meio da reação da cal com água, onde a celulose é expandida, reduzindo as ligações intermoleculares das pontes de hidrogênio, que ligam moléculas de celulose (Balieiro Neto et al., 2007; Fortaleza et al., 2012; Fabris et al., 2013).

Os aditivos microbianos (bacterianos) são utilizados com objetivo de estimular a fermentação láctica em detrimento da alcoólica, e proporcionar o desenvolvimento de bactérias heterofermentativas, (produtoras de ácido acético e ácido láctico), que podem obter sucesso no controle de leveduras na fermentação da cana-de-açúcar. Desta forma, o padrão fermentativo é otimizado e as perdas na composição bromatológica são reduzidas. Resultados desejáveis foram observados por Miranda et al. (2011) e Freitas et al. (2006a), que utilizando *Lactobacillus buchneri* (heterofermentativa) destacaram que além da redução do pH final da silagem, houve incremento nas taxas de degradação dos carboidratos fibrosos.

Por outro lado, bactérias homoláticas como o *L. plantarum* também são testadas, entretanto, os efeitos são variáveis (Valeriano et al., 2009; Ávila et al., 2010a; Miranda et al., 2011). Silagem inoculadas com *L. plantarum* e *L. buchneri* apresentaram 12,5 e 1,95% de etanol; 21,5 e 8,05% de perda total de MS; e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de 41,2 e 48,0%, respectivamente (Pedroso et al., 2007). A menor digestibilidade pode ser explicada pelos maiores teores de FDN (68,9 e 60,6%), de FDA (48,7 e 41,0%) e lignina (9,19 e 7,38%) para canas inoculadas com *L. plantarum* e *L. buchneri*, respectivamente.

A associação de bactérias homofermentativas e heterofermentativas demonstram resultados controversos no padrão fermentativo, passíveis de maiores avaliações (Driehuis et al., 2001; Siqueira et al., 2007; Schimidt et al., 2011). No mesmo sentido, resultados referentes à associação de aditivos microbianos ou bacterianos com aditivos enzimáticos são incipientes. Ferreira et al. (2007), avaliando o efeito de aditivo microbiano enzimático na fermentação e valor nutricional da silagem de cana-de-açúcar (*Propionibacterium acidipropionici* + enzimas), não observaram redução nas perdas de MS e incremento na digestibilidade das silagens.

Fortaleza et al. (2012), avaliando aditivo composto por bactérias (*L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *Pediococcus acidilactici* e *Enterococcus faecium*) e enzimas celulolíticas, também não observaram efeitos positivos do aditivo sobre a fermentação e características bromatológicas da silagem de cana. Os autores inferem que o uso e a eficácia da adição de inoculantes dependem da espécie forrageira e suas características, da população epifítica e do momento de colheita, o que dificulta uma padronização dos resultados obtidos por trabalhos científicos.

Visto a inconsistência e falta de resultados, os inoculantes microbianos (compostos por bactérias ácido-láticas) adicionados de enzimas (celulases, amilases e hemicelulases) abrangem a classe com mais rápido desenvolvimento em todo o mundo e despertam interesse na comunidade científica, há a necessidade de se testar formulações que associem microorganismos e enzimas. Para isto o produto comercial Sil-All 4x4®, que conta com a combinação de quatro bactérias (*S. faecium*, *L. plantarum*, *P. acidilactici* e *L. salivarius*) e quatro enzimas (celulase, hemicelulase, pentosanase e amilase), desenvolvido para ocasionar maior disponibilização de substrato (açúcares) às bactérias pela ação de enzimas, resultando em redução acelerada do pH e elevada produção de ácido láctico logo no

início do processo de ensilagem, reduzindo as perdas de MS e energia da massa ensilada. Neste sentido, foi objetivo neste estudo, avaliar as possíveis alterações ocasionadas pelas diferentes variedades e pela inoculação na ensilagem ao longo do período de estocagem.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A cana-de-açúcar apresenta maturação e alto valor nutritivo na época seca do ano, coincidente com o período de escassez de forragem, podendo ser fornecida *in natura* e picada diariamente aos animais. No entanto, este manejo tem a desvantagem de demandar mão-de-obra diária para corte, picagem e transporte, além de ocasionar desuniformidade nos canaviais (Evangelista et al., 2009). A necessidade de maior eficiência no manejo da alimentação e nos tratos culturais dos canaviais e o encarecimento da mão-de-obra tem levado os pecuaristas a optar pelo uso da cana-de-açúcar na forma de silagem. O surgimento de máquinas eficientes para o corte e para o processamento da cana contribui para a viabilidade do processo, que pode ser útil também como forma de evitar a perda da forragem na ocorrência de incêndios e de geadas.

A ensilagem torna possível, ainda, a utilização da cana-de-açúcar fora do período da safra, prática que sofre restrições em consequência da perda de valor nutritivo da planta durante o verão e da dificuldade de colheita nos dias chuvosos. No entanto, deve ser considerado o custo de produção, que se eleva de 85 a 95% por tonelada de matéria seca (MS), pelo processo de ensilagem, em relação à cana *in natura* (Nussio e Schmidt, 2004).

As variedades de cana-de-açúcar podem ser classificadas quanto ao ciclo de maturação em precoce (maturação no início do período seco do ano) e médias/tardias (maturação do meio para o final do período seco do ano). Esta forrageira apresenta todos os requisitos indispensáveis em uma planta a ser ensilada, que são: alto teor de carboidratos solúveis (CS) (maior que 20% na matéria

natural), baixa capacidade tamponante (permite o abaixamento do pH para valores abaixo de 4,2) e teores de matéria seca adequados (30 a 35%).

Entretanto, a cana-de-açúcar apresenta distinção em relação a outras forrageiras tradicionalmente utilizadas para ensilagem, que é a natureza química e a quantidade dos CS, que nesta planta é quase na sua totalidade formada por sacarose (dissacarídeo formado por glicose+frutose). Este carboidrato favorece a fermentação alcoólica pelo desenvolvimento de leveduras, que convertem a sacarose em etanol, CO₂ e água. Tal processo reduz drasticamente, além do teor de CS da forragem ensilada, a produção do agente conservador do processo, o ácido láctico, responsável pelo abaixamento do pH e inativação de microrganismos degradadores da massa ensilada.

A perda da matéria seca, de CS, a elevação dos teores de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA), a redução da digestibilidade são inevitáveis no processo de ensilagem, fazendo com que as silagens tenham menor qualidade, quando comparadas com a planta forrageira original. Além de alterações na composição bromatológica e digestibilidade, são verificadas perdas de até 70% no teor de CS da silagem de cana em comparação com a cana *in natura*, bem como a elevada produção de etanol, com valores de 3,82 e 3,20% da MS (Pedroso et al., 2007; Mendes et al., 2008), podendo chegar a 6,14% da MS (Ávila et al., 2009).

O teor de etanol é inversamente correlacionado com o teor de CS residuais e com a digestibilidade da silagem, evidenciando a drástica alteração na composição do material ensilado em função da fermentação alcoólica (Pedroso et al., 2007). Além disso, Durix et al. (1991), observaram que 20 a 30% do etanol produzido é perdido por volatilização e apenas de 30 a 40% do etanol pode ser ingerido e convertido no rúmen a acetato, evidenciando a elevada perda energética ocasionada pela produção deste composto.

Tal processo é mediado por leveduras, com a oxidação do ácido láctico, formação de CO₂ e água, ocorre elevação do pH, que ocasiona a proliferação de microrganismos patogênicos, além de aumento na população de fungos deterioradores da forragem (Pedroso et al., 2011a). Portanto, a produção de etanol, em detrimento do valor nutritivo da silagem, pode ser considerada a maior limitação a esta tecnologia, e necessita de pesquisas que busquem alternativas que controlem a população e atividade das leveduras, sem prejuízo da qualidade da silagem (Sousa et al., 2008).

Tendo em vista estes problemas, diversos pesquisadores indicam que este processo não deve ser realizado sem o auxílio de aditivos, que tem a finalidade de proporcionar um melhor padrão de fermentação e minimizar os prejuízos ocasionados na composição bromatológica das silagens produzidas (Driehuis et al., 2001; Schimidt et al., 2007; Ávila et al., 2009; Lopes e Evangelista, 2010; Fortaleza et al., 2012; Sá Neto et al., 2013). No entanto, o que se vê é uma variação enorme dos resultados disponíveis na literatura quanto à resposta aos diferentes aditivos na ensilagem, em função dos genótipos, composição da planta no momento da colheita e nos distintos tipos de aditivos utilizados. Pode-se levantar uma hipótese de que, mesmo utilizando aditivos, a colheita da cana-de-açúcar em seu ponto de maturação máxima privilegiará enormemente o desenvolvimento das leveduras, preferenciais na fermentação da sacarose, sendo o inverso também verdadeiro.

Fato decorrente da inconsistência no material ensilado, quando realizados trabalhos com ensilagem de cana-de-açúcar, com variações em teores de MS de 18 a 35% em função da idade de corte (Santos et al., 2006; Muraro et al., 2009), nos teores de CS ou Brix (Silva et al., 2008), além das distintas variedades utilizadas (Suzuki et al., 2010; Fabris et al., 2013). Neste sentido, os principais aditivos utilizados na ensilagem de cana-de-açúcar são os microbianos, químicos e absorventes de umidade, sendo necessária a adequação no uso dos aditivos de acordo com as características da cana a ser ensilada, com fins de maximizar o efeito da tecnologia.

2.1 Aditivos Químicos

Entre os aditivos químicos mais utilizados, destacam-se a uréia, hidróxido de sódio e o óxido de cálcio (cal), classificados como aditivos nutrientes e inibidores de fermentação alcoólica, respectivamente. Além destes, foram objeto de estudo o benzoato, carbonato de cálcio, sulfato de cálcio, propionato de cálcio e sorbato de potássio (Schimidt et al., 2007; Santos et al., 2008; Ribeiro et al., 2010). Estes aditivos podem ser utilizados isoladamente ou associados.

O mais comumente utilizado e estudado é a ureia, pelo baixo custo e incremento no teor de proteína bruta do material ensilado, além de aumentar a vida útil da silagem devido ao controle do desenvolvimento de leveduras (Andrade et al., 2000; Santos et al., 2006; Siqueira et al., 2007; Sousa et al., 2008; Siqueira et al., 2010; Pedroso et al., 2011a; Rezende et al., 2012).

A silagem aditivada com 0,5% de ureia na matéria verde apresentou teor de PB de 7,61%, FDN de 61,5%, FDA de 39,4%, DIVMS de 45,6%, CS de 4,2%; etanol de 0,17% e N-NH₃ de 9,61% do N total; enquanto a silagem controle, sem aditivos, apresentou para estas características os seguintes valores: 3,6%; 66,0; 42,8%, 41,9%; 3,76% e 0,41% e N-NH₃ de 1,91% do N total (Schmidt et al., 2007). Discutindo o trabalho destes autores, observam-se maiores valores de FDN e FDA para silagem de cana sem aditivos, haja visto que na ensilagem há o consumo de CS, com isso ocorre a elevação da fração fibrosa. A adição de ureia permitiu uma menor fração fibrosa, que ocasionou maior DIVMS em relação à silagem sem aditivos e, também, proporcionou elevação no teor de PB, devido à adição de nitrogênio não-proteico à silagem. Pedroso et al. (2007), observaram teores de PB de 9,87; 16,6 e 22,7% para os níveis de 0,5; 1,0 e 1,5% de ureia adicionados na ensilagem da cana, enquanto o teor de PB da silagem sem aditivo foi de 4,34%.

Tais respostas confirmam que os maiores efeitos benéficos na utilização de ureia como aditivo para ensilagem de cana-de-açúcar estão relacionados à influência positiva sobre a atividade enzimática, desestruturando as ligações entre a hemicelulose e outros componentes da parede celular, além de interromper a atividade enzimática com a elevação do pH, reduzindo a degradação proteica no silo, acarretando em elevação da digestibilidade e do aproveitamento dos nutrientes da silagem (Muck e Kung Jr., 1997). Além disto, a amônia obtida por meio da ação da urease sobre a ureia possui ação inibidora sobre leveduras, o que indiretamente está relacionado com menores perdas de matéria seca nas silagens aditivadas com ureia (Ítavo et al., 2010; Lopes e Evangelista, 2010).

O hidróxido de sódio (NaOH), aditivo alcalino também conhecido por soda cáustica, deve ser utilizado com cautela, por se tratar de uma substância tóxica e corrosiva. A hidrólise causada por esta substância é a responsável pela elevação na digestibilidade, pois atua sobre as ligações dos componentes fibrosos da parede celular. A hidrólise parece atuar sobre a fração hemicelulose, onde Ezequiel et al. (2005), observaram para cana *in natura* e cana hidrolisada com NaOH ensilada, valores de 23,2 e 5,6%, respectivamente, para esta fração. Sendo a digestibilidade da hemicelulose de 94,5% para silagem de cana hidrolisada, e de 29,6% para cana *in natura*. Entretanto, estes autores observaram que a digestibilidade da MS da cana *in natura* hidrolisada foi maior que da cana hidrolisada ensilada, com maiores valores de digestibilidade das frações FDN e FDA.

O uso deste aditivo na ensilagem de cana-de-açúcar geralmente traz melhorias na composição bromatológica da silagem, por meio da redução de etanol produzido, elevação no teor de ácido láctico e da digestibilidade, o que acarreta em maior consumo pelos animais (Pedroso et al., 2007). Em comparação com a ureia e com a silagem sem uso de aditivos, a produção de etanol, a perda de MS e a DIVMS das silagens aditivadas com NaOH são de: 2,4; 10,9 e 62,5%, enquanto que na silagem aditivada com ureia estes valores são de: 3,9; 9,7 e 49,9%, e para a silagem sem aditivos são de: 3,82; 18,2 e 45,4% (Pedroso et al., 2007).

O aditivo químico que mais vem sendo testado experimentalmente é o óxido de cálcio (CaO), chamado de cal virgem, tendo como principais benefícios a redução nos teores de FDN e FDA, incremento na digestibilidade, redução na população de leveduras e, conseqüentemente, redução nas perdas por efluentes e incremento na recuperação de matéria seca (Freitas et al., 2006b; Santos et al., 2008; Miranda et al., 2011; Rezende et al., 2011; Fortaleza et al., 2012; Fabris et al., 2013). O mecanismo de ação desta substância sobre os microrganismos da silagem ainda não é bem compreendido, mas parece estar relacionado ao potencial antimicrobiano do hidróxido de cálcio (CaOH), formado a partir da reação da cal com a água.

Alguns trabalhos foram desenvolvidos testando doses de 0 a 4,0% de cal na matéria verde de cana adicionado na ensilagem. Baliero Neto et al. (2009a) e Cavali et al. (2010), observaram elevação do pH com o aumento das doses de cal, com valores variando de pH 3,66 a 4,69 (zero e 4,0% de cal, respectivamente) e 3,4 a 5,3 (zero e 4,0% de cal, respectivamente), para os dois trabalhos supracitados. Cavali et al. (2010), ainda verificaram elevação na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de 48,4 para 81,5%, nos níveis de 0 e 4,0% de cal, respectivamente. Entretanto, a elevação do pH parece ser um aspecto desfavorável, haja visto que nestas condições a massa de forragem torna-se substrato para proliferação de microrganismos indesejáveis, como os clostrídeos. A resistência ao rebaixamento do pH nas silagens aditivadas com cal é decorrente da ação alcalinizante deste composto.

A redução nos teores de FDN e FDA são decorrentes da hidrólise alcalina com a solubilização da hemicelulose e dissolução da celulose, por meio da reação da cal com a água, onde a celulose é expandida, reduzindo as ligações intermoleculares das pontes de hidrogênio, que ligam moléculas de celulose (Balieiro Neto et al.,

2007). Tal efeito tem como consequência a elevação na DIVMS dos materiais aditivados com cal.

A adição de cal não reduz perdas fermentativas (gases e efluentes) durante o processo de ensilagem (Balieiro Neto et al., 2009a; Balieiro Neto et al., 2009b), no entanto, as perdas fermentativas em aerobiose são reduzidas. Os mesmos autores observaram, ainda, incremento nas perdas por efluentes nas silagens aditivadas com cal, inferindo que a integridade estrutural das células é alterada, afetando sua pressão osmótica e a capacidade de retenção de água pelas células, causando ruptura e vazamento do conteúdo celular.

Entretanto, Cavali et al. (2010), observaram que a adição de cal reduz a população de leveduras por meio da pressão osmótica causada pela alteração do pH das células de leveduras, reduzindo seu desenvolvimento. Com isto, ocorre incremento na população de bactérias homofermentativas, acarretando em redução nas perdas por efluentes e gases. Os mesmos autores inferem que o incremento na recuperação de matéria seca na ensilagem é decorrente do potencial higroscópico da cal, elevando a capacidade de retenção do efluente produzido na ensilagem.

2.2 Aditivos Absorventes de Umidade

Assim como a cal, produtos como o milho grão, fubá de milho, milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS) e mandioca desidratada, são testados como aditivos absorventes de umidade e nutrientes na ensilagem de cana-de-açúcar. A adição de até 10% de MDPS responde pelos melhores resultados obtidos na ensilagem, melhorando o padrão fermentativo e reduzindo as perdas de MS, principalmente, por elevar a porcentagem de MS, reduzir rapidamente o pH na ensilagem e, desta forma, contribuir para diminuição da população de leveduras e, conseqüentemente, redução na produção de etanol (Santos et al., 2006; Bernardes et al., 2007; Evangelista et al., 2009). Além de melhorar o padrão fermentativo, os mesmos autores observaram que a adição de MDPS promove redução nos teores de FDN e FDA, e eleva os teores de PB e CS, melhorando o valor nutricional das silagens aditivadas em relação às silagens controle.

O grão de milho foi avaliado em associação com ureia (4,0% + 0,5% da massa natural ensilada, respectivamente) por Lopes e Evangelista (2010), que relataram efeitos semelhantes aos promovidos pela adição de MDPS, e reforçaram que a inibição das leveduras ocorre pela ação conjunta da elevação no teor de amido, que

favorece o crescimento de bactérias produtoras de ácido lático, e a ação deletéria da amônia sobre as leveduras. Esta associação de milho com ureia como aditivos de silagens de cana-de-açúcar também foi estudada por Lopes et al. (2007), que utilizou 4,0% de fubá de milho + 0,5% de ureia (na massa natural ensilada) e observaram efeito positivo sobre o valor nutritivo e o consumo e digestibilidade dos nutrientes da silagem de cana-de-açúcar por ovinos, principalmente da PB. Os mesmo autores avaliaram também a associação de mandioca desidratada + ureia (4,0% + 0,5% da massa natural ensilada, respectivamente), e não encontraram efeitos positivos sobre as mesmas características.

A associação entre mandioca e ureia também foi avaliada por Lopes e Evangelista (2010), que tiveram como principais inferências a baixa capacidade de controlar o crescimento e população de leveduras por estes aditivos, justificado pela diferença na natureza química do amido da mandioca em relação ao amido do milho, sendo o primeiro de maior degradabilidade ruminal que o amido de milho, conferida pela maior facilidade de ataque microbiano verificada pela ausência de matriz proteica associada aos grãos de milho, que conferem menor degradabilidade, para o milho. Desta forma, o amido da mandioca pode ter sido consumido rapidamente no interior do silo, em relação ao amido do grão de milho, como ocorre no rúmen animal.

O fubá de milho, isoladamente, foi utilizado como aditivo por Ítavo et al. (2010), que observaram que adição de 8,0% na massa ensilada, ocorre elevação nas porcentagens de MS, redução rápida do pH e redução nas perdas de MS, decorrentes da elevada capacidade de absorção de água e fornecimento de nutrientes (principalmente CS), pelo aditivo.

2.3 Aditivos Microbianos e Associações

Os maiores problemas na ensilagem de cana-de-açúcar são decorrentes da fermentação alcoólica por meio do desenvolvimento das leveduras. Estas podem sobreviver em ampla faixa de valores de pH, mas, sua população pode ser influenciada pela concentração de ácidos orgânicos, como o ácido acético e propiônico. Portanto, uma alternativa é a adição de microrganismos que estimulem a fermentação láctica, além do desenvolvimento de populações de bactérias heterofermentativas, produtoras de ácido acético e ácido lático, que podem obter sucesso no controle de leveduras na fermentação da cana-de-açúcar.

Contrariamente ao que ocorre na inoculação de silagens com plantas como milho e sorgo, onde se privilegia o uso de bactérias homofermentativas, produtoras específicas de ácido láctico (agente conservante na ensilagem), que causam redução rápida do pH da silagem. Fato que não é de extrema importância na ensilagem de cana-de-açúcar, pois as leveduras se desenvolvem também sob reduzido pH.

A bactéria *Lactobacillus buchneri* é a mais estudada entre os microrganismos utilizados como inoculantes biológicos (Driehuis et al. 2001; Freitas et al., 2006a; Pedroso et al., 2007; Siqueira et al., 2007; Sousa et al., 2008; Balieiro Neto et al., 2009b; Siqueira et al., 2010; Schimidt et al., 2011; Siqueira et al., 2011a; Fortaleza et al., 2012). É uma bactéria heterofermentativa, capaz de degradar, em condições anaeróbias, ácido láctico em ácido acético e 1,2-propanodiol, em quantidades equimolares (Ávila et al., 2010b). A redução do ácido láctico representa diminuição de substrato potencialmente fermentável por leveduras, que no caso da silagem da cana-de-açúcar é interessante durante o processo fermentativo e na pós-abertura.

Desta forma, o uso de *L. buchneri* reduz as perdas de MS, diminui a produção de etanol e aumenta a estabilidade da silagem em aerobiose. Mendes et al. (2008), observaram valores de MS de 27,3 e 21,7%, 2,8 e 3,2% de etanol, temperatura máxima de 22,5 e 37,8°C e estabilidade aeróbia de 92 e 56 horas para silagem aditivada com *L. buchneri* e silagem sem aditivo.

Os principais benefícios da utilização de *L. buchneri* são relacionados à redução da população de leveduras e conseqüentemente, menor produção de etanol (Driehuis et al., 2001; Pedroso et al., 2007). Tal fato é decorrente da produção de ácido acético durante a fermentação heteroláctica. Este ácido tem propriedade lipofílica, que permite sua penetração na membrana celular das leveduras. Dentro das células, a dissociação deste ácido causa “desarranjo” de prótons, acidificação do citoplasma e redução do pH intracelular, levando à morte do microorganismo (Ávila et al., 2009).

Outros efeitos benéficos no uso de *L. buchneri* são destacados, como a redução do pH final da silagem (Miranda et al., 2011), incremento no coeficiente de digestibilidade da FDN (Freitas et al., 2006a) e redução das perdas de MS (Pedroso et al., 2007; Schimidt et al., 2011).

Por outro lado, bactérias homoláticas como o *Lactobacillus plantarum* também são testadas como aditivos microbianos na produção de silagem de cana-de-açúcar. Estas podem reduzir o pH final, aumentar o conteúdo de ácido láctico e diminuir a

produção de efluentes e a perda de MS durante a conservação das silagens, no entanto, os efeitos sobre a população de leveduras, produção de etanol e estabilidade aeróbia são variáveis (Freitas et al., 2006a; Valeriano et al., 2009; Miranda et al., 2011).

Silagens inoculadas com *L. plantarum* e *L. buchneri* apresentaram 12,5 e 1,95% de etanol; 14,8 e 8,93% de perdas por gases; 21,5 e 8,05% de perda total de MS; 29,9 e 22,8 kg/t de efluentes, e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de 41,2 e 48,0%, respectivamente (Pedroso et al., 2007). A menor digestibilidade pode ser explicada pelos maiores teores de FDN (68,9 e 60,6%), de FDA (48,7 e 41,0%) e lignina (9,19 e 7,38%), respectivamente para canas inoculadas com *L. plantarum* e *L. buchneri*.

Tais respostas são decorrentes da menor eficiência em controlar a população de leveduras pelas bactérias homofermentativas em relação às heterofermentativas, pois produzem quase que exclusivamente ácido láctico em detrimento de ácido acético (inibidor do desenvolvimento de leveduras) (Ávila et al., 2010b). Mesmo produzindo elevada quantidade de ácido láctico, o que provoca a queda acentuada do pH, o controle da produção de etanol é prejudicado, pois as leveduras sobrevivem sob baixos valores de pH e ainda utilizam o ácido láctico produzido por essas bactérias homofermentativas como substrato de crescimento e o convertem em acetato (Ávila et al., 2010b). Tal fato reforça que o pH não é o fator de maior importância para avaliar o padrão fermentativo de silagens de cana-de-açúcar, mas sim, o tipo de ácidos produzidos ao longo da fermentação.

Neste sentido, o uso de *L. plantarum* como aditivo na ensilagem de cana-de-açúcar não proporciona redução considerável na população de leveduras e produção de etanol, mesmo havendo queda do pH, acarretando em elevadas perdas de MS (Freitas et al., 2006a; Freitas et al., 2006b; Pedroso et al., 2007; Valeriano et al., 2009; Ítavo et al., 2010).

Quando se associa a bactéria homofermentativa *L. plantarum* a bactérias heterofermentativas, os resultados são semelhantes ao seu uso isoladamente. No entanto, Driehuis et al. (2001), sugeriram que a associação de *L. plantarum* com *Pediococcus pentosaceus* é vantajosa para o padrão fermentativo na ensilagem de cana-de-açúcar por acelerar o processo inicial de fermentação láctica no interior do silo, podendo reduzir as perdas de MS. Tal fato decorre da ação deletéria sobre as leveduras quando bactérias heterofermentativas convertem o ácido láctico, produzido

pelas bactérias homofermentativas, a ácido acético + 1,2 propanodiol (apresentam capacidade deletéria sobre leveduras).

No entanto, Siqueira et al. (2007) e Schimidt et al. (2011), utilizando *L. plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici* e *L. plantarum* + *L. brevis* + *Enterococcus faecium*, respectivamente, sugeriram que estas associações não contribuem para reduzir a produção de etanol e as perdas de MS. Os autores inferem que, mesmo sob baixo pH, a fermentação alcoólica e as perdas de MS ocorrem pois as leveduras sobrevivem em tal condição e, a produção de ácido láctico pelas bactérias homofermentativas, em vez de melhorar o padrão fermentativo, serve de substrato para as leveduras, incrementando a produção de etanol. Desta forma, a associação de bactérias homoláticas com heteroláticas ainda produz resultados controversos, passíveis de maiores avaliações, bem como os resultados referentes à associação de aditivos microbianos com enzimáticos, que são incipientes até o momento.

Ferreira et al. (2007), avaliando o efeito de aditivo microbiano enzimático na fermentação e valor nutritivo da silagem de cana-de-açúcar (*P. acidipropionici* + enzimas), não observaram redução nas perdas de MS, recuperação de CS e digestibilidade das silagens. Fortaleza et al. (2012), avaliando aditivo composto por bactérias (*L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *P. acidilactici* e *E. faecium*) e enzimas celulolíticas, também não observaram efeitos positivos do aditivo sobre a fermentação e características bromatológicas da silagem de cana. Os autores inferem que o uso e a eficácia da adição de inoculantes dependem da espécie forrageira e suas características, da população epifítica e do momento de colheita, o que dificulta uma padronização dos resultados obtidos por trabalhos científicos. A ação dos aditivos deverão complementar a microflora epifítica a fim de potencializar a ação de microrganismos benéficos à fermentação no interior do silo.

Face à necessidade e a gama de possíveis aditivos a serem utilizados na ensilagem da cana-de-açúcar, bem como a inconsistência nos resultados disponíveis na literatura quanto à resposta ao uso destes aditivos, os inoculantes microbianos (compostos por bactérias ácido-láticas) adicionados de enzimas (celulases, amilases e hemicelulases), abrangem a classe com mais rápido desenvolvimento em todo o mundo e despertam interesse na comunidade científica. Estes aditivos são estimulantes da fermentação e têm como princípio básico de atuação o aumento da disponibilidade de açúcares simples, via complexo

enzimático, para que as bactérias tenham acesso a esses açúcares (Muck, 1988), incrementando, dessa forma, a produção de ácido lático e promovendo a queda brusca do pH.

Devido aos resultados incipientes e inconsistentes, além da oferta de produtos comerciais, há a necessidade de se testar formulações que associem microrganismos e enzimas, com objetivo de melhorar o padrão de fermentação nas ensilagens de cana-de-açúcar. Para isto, o produto comercial Sil-All 4x4®, que conta com a combinação de quatro bactérias (*S. faecium*, *L. plantarum*, *P. acidilactici* e *L. salivarius*) e quatro enzimas (celulase, hemicelulase, pentosanase e amilase), foi desenvolvido com objetivo de ocasionar maior disponibilização de substrato (açúcares) às bactérias pela ação de enzimas, resultando em redução acelerada do pH e elevada produção de ácido lático logo no início do processo de ensilagem, reduzindo as perdas de MS e energia da massa ensilada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Instituto Federal de Rondônia, Câmpus Colorado do Oeste, e as análises laboratoriais no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Mato Grosso, Câmpus Cuiabá. Para proceder à ensilagem, foram colhidas as variedades de cana-de-açúcar RB835486 e SP79-1011 em área da Destilaria de Álcool CURTPAM, sediada no município de Cerejeiras-RO, ambas com 12 meses de idade, procedentes de canavial de primeira. A variedade RB835486 apresenta ciclo de maturação precoce, altura de planta variando de 2,0 a 2,30m; diâmetro de colmo de 2,3 a 2,70cm e apresenta baixa despalha natural, retendo aproximadamente 65% das folhas senescentes (APÊNDICE A). Enquanto a variedade SP79-1011, que é de ciclo de maturação médio/tardio, apresenta menor altura (1,8 a 2,3m) e diâmetro (2,3 a 2,4cm), mas, maior despalha natural, retendo aproximadamente 45% das folhas senescente.

As variáveis supracitadas foram analisadas em experimentos paralelos. Na tabela 1 está presente a caracterização das variedades antes da ensilagem.

Foi realizada a colheita foi realizada e as avaliações morfológicas (proporções de colmo e folhas) em 20 plantas na área de coleta, no dia 20 de julho de 2012. Foi determinado o Brix (%) utilizando refratômetro portátil.

TABELA 1. Caracterização das variedades de cana-de-açúcar RB835486 e SP79-1011, antes da ensilagem.

Variável	Variedade	
	RB835486	SP79-1011
Ciclo de maturação	Precoce	Médio/tardio
Despalha natural	Baixa	Alta
Retenção de folhas senescentes (%)	65,00	45,00
Produtividade (t ha ⁻¹)	113,22	127,91
Proporção de colmo (%)	85,83	91,62
Proporção de folhas (%)	14,17	8,38
Brix ¹ (% no caldo)	24,20	25,00
Capacidade tamponante (e. mg de NaOH 100g ⁻¹ MS)	5,49	5,02
CS ² (% na MS)	20,62	18,39
pH	5,58	5,58
MS ³ (%)	36,30	36,33
FDN ⁴ (% na MS)	40,93	38,21
FDNi ⁵ (% na MS)	25,02	22,92
MM ⁶ (% na MS)	2,15	1,89
PB ⁷ (% na MS)	1,40	0,84
PIDN ⁸ (% na MS)	0,89	0,77
DIVMO ⁹ (%)	39,91	46,88
NDT ¹⁰ (% na MS)	39,60	46,71

¹Teor de sólidos solúveis. ²Teor de carboidratos solúveis. ³Porcentagem de matéria seca. ⁴Teor de fibra insolúvel em detergente neutro. ⁵Teor de fibra insolúvel em detergente neutro indigestível. ⁶Teor de matéria mineral. ⁷Teor de proteína bruta. ⁸Teor de proteína insolúvel em detergente neutro. ⁹Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica. ¹⁰Teor de nutrientes digestíveis totais.

Foram realizados dois experimentos para avaliação dos efeitos das diferentes variedades e da inoculação com o produto comercial Sil All® Alltech, Lexington, EUA, que é uma associação de quatro bactérias homofermentativas produtoras de ácido láctico: *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus salivarius* subs. *salivarius*, quatro enzimas: xilanase, amilase, celulase e enzima hemicelulolítica, além de dióxido de silício e sacarose. Os níveis mínimos de garantia do produto são de 1,89 x 10¹⁰ UFC g⁻¹ de bactérias lácticas totais, 2,10 x 10¹⁰ UFC g⁻¹ de *E. faecium*, 200 U g⁻¹ de amilase e 16 U g⁻¹ das demais

enzimas (UFC: unidades formadoras de colônias; U: unidade de atividade enzimática).

O primeiro experimento foi utilizado para coleta de dados da avaliação da composição bromatológica, padrão fermentativo e cinética da produção de gás *in vitro* das silagens e, o segundo, para avaliação das perdas fermentativas na ensilagem. Em ambos os experimentos foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2x2x4 com quatro repetições, sendo duas variedades de cana-de-açúcar (precoce: RB835486 e média/tardia: SP79-1011), a presença ou ausência do inoculante e quatro tempos de estocagem (0; 8; 16 e 64 dias).

As unidades experimentais consistiram em silos experimentais (potes de vidro), com volume de 2,5 L, dotados de tampas-rosca equipadas com válvula tipo “sifão”, para permitir a saída e evitar a entrada de gases ao interior do silo (Figura 1). As válvulas “sifão” foram instaladas nas tampas dos potes perfurando-as e utilizando-se mangueiras plásticas, aplicando nas ligações silicone acético (cola-quente) para garantir completa vedação do silo (APÊNDICE B).



FIGURA 1. Silos experimentais e válvula “sifão”. (Fonte: arquivo do autor).

Os silos experimentais foram preenchidos com forragem suficiente para obtenção de densidade de 550 kg m^{-3} de massa verde, com aproximadamente $1,375 \text{ kg}$ de forragem por silo. Foi obtida média de $549,24 \text{ kg m}^{-3}$ de massa verde de densidade real nos silos experimentais.

A forragem foi triturada em picador estacionário em partículas de até $2,0 \text{ cm}$, imediatamente antes da ensilagem. O material picado foi dividido em duas porções, sendo a primeira utilizada para enchimento dos silos sem inoculante e, a segunda porção foi tratada com inoculante na dose de $0,001\%$ ($0,01 \text{ g kg}^{-1}$ de forragem). O produto comercial foi diluído em água na proporção de $2,5 \text{ g L}^{-1}$ de água, e aplicado sobre a forragem utilizando recipiente com bico pulverizador. Foram tratadas porções de 20 kg para garantir o imediato uso e enchimento dos silos, e reduzir prejuízos sobre os microorganismos. Todos os materiais utilizados foram previamente esterilizados com álcool 96% e todos os procedimentos realizados utilizando-se luvas para procedimentos não-cirúrgicos.

A compactação da forragem foi realizada manualmente. Após enchimento, os silos foram fechados, aplicando-se nas bordas das tampas uma camada de silicone acético para completa vedação. As válvulas “sifão” foram completadas com água, com objetivo de impossibilitar a entrada de gases. Os silos permaneceram fechados conforme os tempos de estocagem pré-estabelecidos (8; 16 e 64 dias) abrigados em local arejado e sem incidência direta de luminosidade.

No momento da abertura dos silos, a coleta de amostras foi realizada no centro geométrico do silo experimental, desprezando-se as porções superiores e inferiores. No momento da ensilagem e na abertura dos silos experimentais, foram coletadas amostras da forragem e da silagem, respectivamente, divididas em duas sub-amostras. A primeira subamostra foi armazenada em sacos plásticos, congeladas, sendo parte desta utilizada para determinação da porcentagem de matéria seca (MS) por liofilização e, a segunda parte, utilizada para confecção dos extratos aquosos para determinação dos teores de etanol, ácidos orgânicos (acético, propiônico e butírico) e pH.

Para determinação da MS por liofilização foram pesados aproximadamente 30 g de amostra congelada, em duplicata, levados ao liofilizador (Marca; Thermo Fisher; Modelo; Supermodulyo 220; USA) por 48 horas, sendo determinada a MS por diferença de massa. O extrato aquoso foi confeccionado pela liquidificação por um minuto, de 50 g de forragem congelada e 200 mL de água destilada, conforme

metodologia adaptada de Kung Júnior et al. (1996). No extrato aquoso, foi medido o pH com potenciômetro digital. Posteriormente, o material foi filtrado em papel-filtro, centrifugado por 10 minutos a 2.000G e o sobrenadante, armazenado em eppendorf a -5°C.

A análise de etanol e dos ácidos orgânicos foi realizada por meio de cromatografia gasosa em equipamento Agilent 7980A, em detetor FID, utilizando coluna DB-WAXEtr (30m x 250mm x 0,25µm). O fluxo dos gases foi de 35 mL min⁻¹ para o H₂, 350 mL min⁻¹ para o ar sintético, e 15 mL min⁻¹ para o N₂. A razão de divisão da amostra foi de 1:20. A temperatura da coluna foi programada para 50°C por 1 min, com elevação para 220°C à razão de 80°C min⁻¹, mantendo-se na temperatura final por 6 minutos. A temperatura do detector foi de 330 °C, e a do injetor, de 240°C. A quantificação dos ácidos orgânicos foi realizada por normalização das áreas dos picos, e identificação destes por comparação dos tempos de eluição das amostras com o padrão confeccionado e previamente analisado. Os teores de etanol e dos ácidos orgânicos foram obtidos em milimol 100mL⁻¹, convertidos para % na MS, de acordo com a massa de forragem no extrato aquoso e MS das amostras.

Parte da subamostra congelada foi utilizada para determinação da capacidade tamponante das forragens, conforme metodologia proposta por Mizubuti et al. (2009).

A segunda subamostra foi levada à secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 65°C por 72 horas (AOAC, 1990), obtendo-se a amostra seca em estufa (ASE). Posteriormente moída em peneiras com malha de 2 mm em moinhos tipo Willey, e utilizada para determinação da composição bromatológica e cinética da produção de gás *in vitro*.

Utilizando metodologia proposta por AOAC (1990), foram determinados os teores de proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), sendo estes dois últimos utilizados no cálculo da estimativa do teor de nutrientes digestíveis totais (NDT). O teor de carboidratos solúveis (CS) foi determinado segundo metodologia proposta por Silva e Queiroz (2002), pelo método de extração de glicose em solução de oxalato de amônio e determinação colorimétrica em espectrofotômetro utilizando solução de antrona. O teor de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) foi obtido pela multiplicação do NIDN por 6,25.

Para as análises de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) foram utilizadas soluções descritas por Van Soest et al. (1991), extração em autoclave de acordo com Pell e Schofield (1993), sendo esta realizada com sacos de TNT (tecido não-tecido). O teor de fibra insolúvel em detergente neutro indigestível (FDNi) foi determinado segundo metodologia proposta por Casali et al. (2008), por meio de incubação *in situ* por 240 horas e posterior lavagem com solução de detergente neutro por 60 minutos.

Foram estimados os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT), digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), taxas de degradação dos carboidratos não-fibrosos (KdCNF) e fibrosos (KdCF) utilizando a técnica de produção de gás *in vitro* semi automática. Foi utilizada solução tampão de McDougall (McDougall, 1949), mantida em banho-maria a 39° C, sob fluxo contínuo de CO₂, tendo adicionada solução redutora (Fukushima et al., 2003) e solução de ureia (5,5 g 100 mL⁻¹ de água destilada). Conforme sugerido por Weimer et al. (2005), para cada 100 mg de amostra, adiciona-se 7,65 mL de solução McDougall, 0,35 mL de solução redutora e 2,0 mL de líquido ruminal. Como em cada frasco âmbar de 100mL foram adicionados 500 mg de amostra, foram adicionados 50 mL da solução composta por: 40 mL da solução McDougall + solução redutora e 10 mL de líquido ruminal.

Como doadoras de líquido ruminal, utilizaram-se vacas de aptidão leiteira, canuladas no rúmen, devidamente tratadas contra endo e ectoparasitas, mineralizadas e alimentadas com silagem de milho e pasto de capim-tanzânia. O líquido ruminal foi colhido no período da manhã, de vários lugares do rúmen, filtrado em peneira, acondicionado em garrafa térmica, e transportado para o Laboratório de Nutrição Animal, vindo a compor o inóculo.

A solução McDougall foi confeccionada com um dia de antecedência, sendo ajustado o pH para 7,0 por meio de saturação com CO₂. No dia seguinte, pela manhã, foi prepara a solução redutora e misturada à solução McDougall, sendo saturada com CO₂ até atingir pH de 6,9. A adição da solução e do líquido ruminal ao frasco com amostra foi realizada com os tubos saturados com CO₂, para garantir ambiente adequado ao inóculo. Os frascos foram imediatamente lacrados com tampa de borracha e anilhas de alumínio, mantidos em banho-maria a 39 °C e mantidos sob constante agitação orbital (48 rpm).

Mediram-se as pressões no interior dos frascos nos tempos 1; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 15; 18; 24; 30; 36; 48; 60; 72 e 96 horas, registrando-se as pressões lidas em psi (pressão por polegada quadrada) por meio do pressostato Datalogger Pressure PressDATA 800. As leituras realizadas em psi foram convertidas para mL, conforme curva padrão ($Y = 2,416x - 3,6237$, $R^2 = 1,00$) desenvolvida durante os dias das leituras, procedendo-se com a leitura das pressões a partir de volume de gás introduzido no interior dos frascos. A partir destes dados, obteve-se o coeficiente “b” da equação, que possibilitou a correção e transformação dos dados lidos, em volume de gás produzido em função da pressão barométrica do dia. Para descontar o volume de gás oriundo da fermentação do inóculo, frascos foram incubados sem amostra (branco); dessa forma, para cada tempo de leitura, procedeu-se com esta correção de volume e depois, os dados foram expressos em mL 200^{-1} mg de MS incubada.

A partir da produção acumulada dos gases, estimaram-se a digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e as energias (metabolizável, digestível e líquida), segundo as equações de Menke e Steingass (1988) para forragens:

$$\text{DIVMO (\%)} = 14,88 + (0,889 * P_{\text{gas}}) + (0,45 * \%PB) + (0,0651 * \%MM)$$

$$\text{EM (Mj/kg MS)} = 2,2 + (0,136 * P_{\text{gas}}) + (0,057 * \%PB) + (0,000286 * \%EE^2)$$

em que, P_{gas} corresponde à produção acumulada de gás em 24 horas (mL 200^{-1} mg de MS); e PB, MM e EE os teores de proteína bruta, matéria mineral e extrato etéreo, respectivamente, na base seca.

A energia metabolizável (EM) foi transformada considerando que um Mj corresponde a 4,184 Mcal (AFRC, 1993). A energia digestível (ED) foi estimada a partir da EM considerando que esta corresponde a 82% da ED (NRC, 1989). Por fim, estimou-se o NDT a partir da ED considerando que 1 kg de NDT corresponde a 4,409 Mcal de ED. A energia líquida (EL) foi estimada por:

$$\text{EL (Mcal/lb)} = (2,2 + (0,272 * Gas) + (0,057 * PB) + (0,149 * EE)) / 14,64$$

em que, Gas corresponde à produção acumulada de gás, em 24 horas, expressa em mL/g de MS. Convertem-se libras (lb) para quilograma utilizando a constante 2,205.

Os parâmetros da cinética da produção cumulativa dos gases foram analisados empregando o modelo logístico bicompartimental (Schofield et al., 1994):

$$V(t) = Vf_1/(1+e^{(2-4*c_1*(T-L))}) + Vf_2/(1+e^{(2-4*c_2*(T-L))})$$

em que $V(t)$ é o volume acumulado no tempo t ; Vf_1 , o volume de gás oriundo da fração de rápida digestão (carboidratos não-fibrosos - CNF); c_1 (h^{-1}), a taxa de digestão da fração de rápida digestão (CNF); L , a latência; e T , o tempo (h); Vf_2 , o volume de gás da fração de lenta digestão (carboidratos fibrosos - CF); c_2 (h^{-1}), a taxa de digestão da fração CF. Desta forma, são apresentadas as taxas de degradação dos carboidratos não-fibrosos (Kd_{CNF}) e fibrosos (Kd_{CF}) e a latência (L).

Para determinação das perdas por gases (PG), perdas por efluentes (PE) e recuperação de matéria seca (RecMS) foram adicionadas aos silos experimentais areia e tela plástica, com objetivo de recolher o efluente durante o processo de fermentação. Os componentes dos silos foram pesados antes da ensilagem: pote de vidro, tampa rosqueável, areia seca, tela de plástico. Após o enchimento dos silos com a forragem, estes foram novamente pesados. Na abertura dos silos experimentais, estes foram pesados cheios, para determinação quantitativa das perdas por gases. Retirada a silagem, foi pesado o conjunto silo + tampa + areia úmida, determinando-se quantitativamente as perdas por efluentes.

Para determinação destas perdas e da recuperação de matéria seca foram utilizadas equações adaptadas a partir de Jobim et al. (2007), em que as perdas por gases (% da MS) foram quantificadas por diferença de peso, segundo equação:

$$PG (\% \text{ da MS}) = [(P_{schf} - P_{scha}) / (MV_{fi} \times MS_{fi})] \times 1000$$

em que P_{schf} é o peso do silo cheio de forragem (kg) no fechamento do silo; P_{scha} o peso do silo cheio (kg) na abertura do silo; MV_{fi} a massa verde (kg) de forragem ensilada e MS_{fi} o teor de matéria seca (%) da forragem ensilada.

As perdas por efluente (g kg^{-1} MV) foram calculadas por equação baseada na diferença de peso da areia e relacionadas com a massa de forragem fresca no fechamento:

$$\text{PE (g kg}^{-1}\text{ MV)} = [(P_{svaa} - P_s)] - (P_{sa} - T_s)/MV_{fi} \times 100$$

em que P_{svaa} é o peso do silo vazio com areia (kg) no fechamento do silo; P_s é o peso do silo vazio; P_{sa} o peso do silo com areia (kg) sem a forragem; MV_{fi} a massa de forragem verde (kg) utilizada na confecção da silagem.

Para determinar a recuperação (%) da matéria seca utilizou-se a equação:

$$\text{RecMS (\%)} = [(MV_{fo} \times MS_{fo})/(MS_i \times MS_{si})] \times 100$$

em que MV_{fo} é a forragem verde (kg) na ensilagem; MS_{fo} o teor de matéria seca da forragem (%) no momento da ensilagem; MS_i a massa de silagem (kg) na abertura do silo; MS_{si} o teor de matéria seca da silagem (%) na abertura dos silos.

O experimento foi analisado segundo um delineamento inteiramente casualizados e a soma de quadrado de tratamento foi interpretada de acordo com um arranjo fatorial $2 \times 2 \times 4$ (variedades RB835486 e SP79-1011, presença ou ausência do inoculante e tempo de estocagem) de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + A_j + T_k + VA_{ik} + VT_{ik} + AT_{jk} + VAT_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

em que:

- Y_{ijk} = valor da variável resposta, referente ao silo experimental que recebeu a variedade i , combinado com o aditivo j , e com o tempo de abertura k ;
- μ = constante geral;
- V_i = efeito da variedade;
- A_j = efeito do aditivo;
- T_k = efeito do tempo para abertura;
- VA_{ij} = efeito da interação da variedade com o tipo de aditivo;
- VT_{ik} = efeito da interação da variedade com o tempo de abertura;

- AT_{jk} = efeito da interação tipo de aditivo com o tempo de abertura;
- VAT_{ijk} = efeito da interação da variedade, com o tipo de aditivo, e tempo de abertura;
- ϵ_{ijk} = erro aleatório associado a Y_{ijk} e ambos considerados independentes e identicamente distribuídos, com distribuição $N(0, \sigma^2)$.

As variáveis estudadas foram analisadas, utilizando-se o procedimento GLIMMIX do software estatístico SAS, versão 9.3. Os efeitos principais e interações foram definidos pelo teste-F da ANOVA, sendo o comando SLICEDIFF usado para separar interações significativas. A opção LSMEANS foi utilizada para gerar as médias individuais para cada efeito. Por tratar-se de um fator quantitativo (tempo de abertura), contrastes ortogonais foram utilizados para partição específica dos efeitos de tempo de abertura com variedade e tipo de inoculante em linear, quadrático e indeterminado (desvio de modelo). Em virtude dos tempos não serem igualmente espaçados, utilizou o procedimento IML do SAS para obtenção dos coeficientes dos contrastes. Os efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 2 são apresentados os valores-P para os efeitos principais de variedade, inoculação e tempo de estocagem, bem como as interações entre estes fatores.

Os efeitos das interações variedade*inoculação*tempo de estocagem foram analisados prioritariamente, pois se sobressaíram sobre os efeitos isolados. Foi observada interação tripla entre estes fatores para o teor de FDN, KdCNF, teores de etanol, ácido propiônico e ácido butírico. A interação variedade*inoculação foi observada para MS, CS, DIVMO, NDT, recuperação de MS e teor de ácido acético. A interação inoculação*tempo de estocagem foi verificada para MS, enquanto que a interação variedade*tempo de estocagem para CS, FDNi, PB, PE e PG.

Quando as variáveis não foram influenciadas pela interação entre fatores, foram analisados os efeitos dos fatores isoladamente. As variáveis que não foram influenciadas pelo efeito das interações foram MM, PIDN, KdCF e pH. O MM sofreu efeito de inoculação e tempo de estocagem, o PIDN de variedades, inoculação e tempo de estocagem, o KdCF de inoculação e o pH de variedade e tempo de estocagem.

Para DIVMO e NDT houve efeito da interação variedade*tempo de estocagem e efeito isolado do tempo de estocagem. Para recuperação de MS e teor de ácido acético, onde houve efeito da interação variedade*inoculação, houve efeito isolado do tempo de estocagem.

TABELA 2 – Valores-P dos efeitos principais isoladamente e das interações entre os fatores variedades de cana-de-açúcar, inoculante Sil All 4x4® e tempo de estocagem.

Variável	Efeito Principal ¹			Efeito das Interações ²			
	V	I	T	V*I	I*T	V*T	V*I*T
MS ³	0,103	0,081	<0,001	<0,001	0,049	0,055	0,097
CS ⁴	<0,001	0,003	<0,001	0,007	0,094	<0,001	0,461
FDN ⁵	0,575	0,569	<0,001	0,965	0,222	0,465	0,029
FDNi ⁶	<0,001	0,565	<0,001	0,426	0,421	<0,001	0,061
MM ⁷	0,059	0,002	<0,001	0,185	0,063	0,673	0,660
PB ⁸	<0,001	0,271	0,189	0,142	0,550	0,004	0,535
PIDN ⁹	0,015	0,012	<0,001	0,375	0,603	0,486	0,331
DIVMO ¹⁰	<0,001	0,002	<0,001	0,007	0,168	0,881	0,094
NDT ¹¹	<0,001	0,003	<0,001	0,008	0,164	0,871	0,095
KdCNF ¹²	0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,101	0,001	<0,001
KdCF ¹³	0,118	0,015	0,287	0,753	0,412	0,687	0,087
pH	0,011	0,409	<0,001	0,149	0,399	0,540	0,658
PE ¹⁴	<0,001	0,958	<0,001	0,749	0,615	0,013	0,666
PG ¹⁵	0,421	0,170	<0,001	0,095	0,630	0,045	0,386
RecMS ¹⁶	0,603	0,371	<0,001	<0,001	0,721	0,087	0,051
Etanol	0,805	0,851	<0,001	<0,001	0,145	0,387	<0,001
Acético	0,001	0,694	<0,001	0,034	0,210	0,220	0,172
Propiônico	<0,001	0,658	<0,001	<0,001	0,161	0,002	<0,001
Butírico	0,353	0,161	<0,001	0,093	0,022	0,263	0,015

¹Valores-P para o efeito principal de variedades (V), inoculação (I) e tempo de estocagem (T).

²Valores-P para o efeito das interações variedade*inoculação (V*I), inoculação*tempo de estocagem (I*T), variedade*tempo de estocagem (V*T) e variedade*inoculação*tempo de estocagem (V*I*T).

³Porcentagem de matéria seca. ⁴Teor de carboidratos solúveis. ⁵Teor de fibra insolúvel em detergente neutro. ⁶Teor de fibra insolúvel em detergente neutro indigestível. ⁷Teor de matéria mineral. ⁸Teor de proteína bruta. ⁹Teor de proteína insolúvel em detergente neutro. ¹⁰Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica. ¹¹Teor de nutrientes digestíveis totais. ¹²Taxa de digestão dos carboidratos não-fibrosos. ¹³Taxa de digestão dos carboidratos fibrosos. ¹⁴Perdas por efluentes. ¹⁵Perdas por gases. ¹⁶Recuperação de matéria seca.

Houve efeito das variedades isoladamente sobre os teores de CS, FDNi, PB, PIDN, NDT, os coeficientes de DIVMO e KdCNF, o pH, perdas por efluentes e teor de ácido propiônico. No entanto, para todas as variáveis exceto o pH, houve interação deste fator com outro fator, o que inviabiliza a discussão isolada.

Semelhante a isto, a inoculação afetou isoladamente os teores de MM, PIDN e KdCF, no entanto, sobre esta última variável, foi o único fator a exercer influencia. O efeito isolado do tempo de estocagem pode ser discutido sobre os teores de MM, PIDN, DIVMO, NDT, pH, recuperação de MS e teor de ácido acético, pois para estas variáveis este fator não interagiu com os demais fatores.

As diferenças entre as variedades proporcionaram maiores efeitos quando comparadas à inoculação e ao tempo de estocagem. Interações mais frequentes foram observadas do fator variedades com os demais, evidenciando tal resposta.

O pH não sofreu influencia do efeito da interação entre os fatores, entretanto, houve efeito isolado de variedade e tempos de estocagem. Ao longo do tempo, para ambas as variedades, com ou sem a inoculação, houve queda acentuada dos valores de pH até os 16 dias de estocagem, posteriormente sendo minimamente incrementados até os 64 dias de estocagem (Tabela 3).

Respostas semelhantes foram observadas por Evangelista et al. (2009) e Siqueira et al. (2011b), onde o pH ao final dos períodos de estocagem sofreu sutil aumento, atribuindo-se tal resposta à redução de ácido láctico ao final do processo fermentativo. Independente dos tempos de estocagem e da inoculação, os valores médios de pH aos 64 dias de estocagem foram superiores para a variedade média/tardia em relação à precoce (3,93 e 3,88; respectivamente).

O pH é um dos indicativos do padrão fermentativo em processos de ensilagem por relacionar-se com a quantidade de ácidos presentes do meio e, sob valores entre 3,6 a 4,2, inviabilizar a sobrevivência de microrganismos deterioradores da forragem (McDonald et al., 1991). A redução do pH na ensilagem se dá pela produção de ácidos orgânicos, principalmente o láctico, no entanto, na ensilagem de cana-de-açúcar, o pH não tem se mostrado um adequado indicador de qualidade do processo fermentativo pois a produção de etanol por leveduras ocorre intensamente mesmo sob valores baixos de pH (Pedroso et al., 2005; Schmidt et al., 2007).

Constantemente são encontrados na literatura valores de pH adequados para as silagens de cana-de-açúcar, demonstrando que este não é um ponto crítico para esta tecnologia (Sousa et al.; 2008; Pedroso et al., 2011a), corroborando com os resultados do presente trabalho, em que, independente dos tratamentos aplicados, os valores estiveram, logo aos 8 dias de estocagem, em uma faixa considerada adequada para conservação.

TABELA 3 – Valores de pH da forragem e das silagens, perdas na ensilagem e recuperação da matéria seca das silagens de duas variedades de cana-de-açúcar aditivadas com inoculante Sil All 4x4® em três tempos de estocagem.

Variável	Tempo de estocagem (dias)				Pol. Ortogonais ¹		
	0	8	16	64	Lin	Quad	In
pH							
Precoce Si	5,62	3,51	2,99	3,44	<0,01	<0,01	<0,01
Média/Tardia Si	5,56	3,55	3,07	3,47	<0,01	<0,01	<0,01
Precoce Ci	5,55	3,46	3,03	3,47	<0,01	<0,01	<0,01
Média/Tardia Ci	5,61	3,56	3,09	3,58	<0,01	<0,01	<0,01
Perdas por efluentes (g kg ⁻¹ de massa verde)							
Precoce Si	-	23,12 b	34,71 a	41,23 b	<0,01	<0,01	-
Média/Tardia Si	-	39,81 a	44,37 a	53,71 a	<0,01	<0,01	-
Precoce Ci	-	17,51 b	29,43 b	48,94 b	<0,01	<0,01	-
Média/Tardia Ci	-	42,09 a	43,22 a	54,88 a	<0,01	<0,01	-
Perdas por gases (% da MS inicial)							
Precoce Si	-	6,47 a	7,51	9,49	<0,01	<0,01	-
Média/Tardia Si	-	2,63 b	6,38	12,34	<0,01	0,03	-
Precoce Ci	-	1,61	6,08	8,45 b	<0,01	0,01	-
Média/Tardia Ci	-	3,28	6,36	12,45 a	<0,01	0,03	-
Recuperação de matéria seca (%)							
Precoce Si	-	79,06 b	83,69	75,98	<0,01	<0,01	-
Média/Tardia Si	-	92,85 aA	86,73	78,19	<0,01	<0,01	-
Precoce Ci	-	84,41 a	88,85 a	78,29	<0,01	0,10	-
Média/Tardia Ci	-	81,21 aB	81,03 b	74,82	<0,01	<0,01	-

Precoce Si: variedade RB835486 + Sem inoculante. Média/tardia Si: variedade SP79-1011 + Sem inoculante. Precoce Ci: variedade RB835486 + Com inoculante. Média/tardia Ci: variedade SP79-1011 + Com inoculante. ¹Valores-P dos coeficientes de polinômios ortogonais nos níveis linear (Lin), quadrático (Quad) e indeterminado/desvio (In). Letras minúsculas na coluna comparam efeito de variedades dentro da inoculação. Letras maiúsculas na coluna comparam o efeito da inoculação dentro de cada variedade.

Respostas semelhantes foram observadas por Siqueira et al. (2011a) e Evangelista et al. (2009), que mesmo para os tratamentos testemunhas, observaram, ao quarto dia de estocagem, redução nos valores de pH abaixo de 3,6, atribuindo este rápido decréscimo nos valores de pH ao elevado teor de CS da cana-

de-açúcar no momento da ensilagem e à baixa capacidade tampão da cultura, ambos fatores observados no presente trabalho.

Analisando as perdas de MS no processo de ensilagem e relacionando-as com o pH, verificou-se que a rápida redução do pH não foi suficiente para controlar as perdas fermentativas, indicando que este não é um adequado indicador de qualidade da ensilagem de cana-de-açúcar (Schmidt et al., 2007). Isto porque as leveduras sobrevivem e permanecem ativas mesmo sob meio ácido, desde que haja disponibilidade de CS (McDonald et al., 1991).

Esta atividade de leveduras na ensilagem de cana-de-açúcar está diretamente correlacionada às perdas por gases, correlacionadas positivamente com a produção de etanol e negativamente com o teor de CS (Pedroso et al., 2005), pois a fermentação de sacarose à etanol produz CO₂.

A inoculação não afetou as perdas por gases, no entanto, houve efeito da interação variedades*tempo de estocagem. Ao longo do tempo as perdas por gases foram incrementadas dos 8 aos 64 dias de estocagem. Independente da inoculação, as perdas por gases aos 64 dias de estocagem foram maiores para a variedade média/tardia em relação à variedade precoce (12,39 e 8,97%, respectivamente), sugerindo que houve maior atividade de leveduras, possivelmente nativas do material, já que o teor de Brix das duas variedades foi semelhante antes da ensilagem. Estes valores foram inferiores aos observados por Siqueira et al. (2011b), de 23,3% em silagens de cana-de-açúcar colhidas com 18 meses, possivelmente com elevado teor de Brix, entretanto, foram semelhantes aos valores observados por Schmidt et al. (2011), de 13,9% para silagens de cana-de-açúcar com 22,7% de teor de Brix.

Elevadas perdas por efluentes são associadas à ensilagem de cana-de-açúcar por três motivos principais: reduzida porcentagem de MS da forragem, elevada densidade de massa verde no silo e a conversão de CS à água na síntese de etanol por leveduras (Pedroso et al., 2005; Pedroso et al., 2007; Siqueira et al., 2007; Siqueira et al., 2010).

Assim como para as perdas por gases, as perdas por efluentes não foram influenciadas pela inoculação, mas, houve efeito da interação variedade*tempo de estocagem. Ao longo dos tempos de estocagem observou-se incremento dessas perdas dos 8 aos 64 dias de estocagem para todas as combinações entre variedade e inoculação.

Para todos os tempos de estocagem, independente da inoculação, as maiores perdas por efluentes foram observadas para a variedade média/tardia, sendo aos 64 dias de 54,29 g kg⁻¹ contra 45,08 g kg⁻¹ da variedade precoce. Considerando que ambas as variedades apresentaram no início e ao final dos tempos de estocagem valores semelhantes de MS, as perdas por efluentes deveriam ser semelhantes. Além disso, a densidade de forragem no momento da ensilagem foi de 549,24 kg m⁻³, valor próximo aos reportados na literatura (Pedroso et al., 2007; Schmidt et al., 2011; Siqueira et al., 2011b). No entanto, estes dois fatores não são os únicos determinantes na produção de efluentes, visto que a fermentação alcoólica pode interferir na quantidade de água no interior do silo (Pedroso et al., 2005).

Exceto aos 16 dias de estocagem na ausência da inoculação, as perdas por efluentes foram sempre superiores para a variedade média/tardia. São observadas na literatura perdas por efluentes variando de 7,0 a 76,2 g kg⁻¹ de matéria natural (Pedroso et al., 2007; Siqueira et al., 2007), contemplando os valores observados no presente trabalho (23,12 a 54,88 g kg⁻¹). No entanto, os valores foram superiores aos observados por Siqueira et al. (2011b), de 15,0 g kg⁻¹ para silagens obtidas de forragens com 37,0% de MS. Considerando que as forragens do presente trabalho variaram de 35,34 a 37,32% de MS, os valores de perdas por efluentes foram demasiadamente superiores. Fato que pode ser decorrente da metodologia utilizada, em que a areia na parte inferior do silo, pela higroscopicidade, pode reter elevada quantidade de umidade, principalmente no momento de compactação na forragem no silo experimental.

Associando as perdas por gases e por efluentes é contabilizada a perda total de MS durante a ensilagem, o que reduziu a porcentagem de matéria seca do início para o final do tempo de estocagem. Considerando estas perdas, a recuperação de MS tem relação inversa com a porcentagem de MS das silagens, com o teor de CS e com as perdas de MS. Houve efeito da interação entre variedade*inoculação, assim como efeito isolado do tempo de estocagem, para a recuperação de MS.

A inoculação reduziu a recuperação de MS da variedade média/tardia de 85,92 para 79,02%, enquanto que para a variedade precoce o resultado foi inverso, elevando de 79,57 para 83,85%. Este resultado reporta-se aos maiores valores de perdas por efluentes e por gases da variedade média/tardia aos 64 dias de estocagem em relação à variedade precoce.

Aos 8 dias de estocagem, para a variedade média/tardia, a inoculação reduziu a recuperação de MS de 92,85 para 81,21%. Schmidt et al. (2011), compilando trabalhos com aditivação da BAL homolática *L. plantarum*, observaram que em 91% destes trabalhos as perdas fermentativas foram superiores nas silagens inoculadas em relação às silagens controle, atribuindo tal resposta ao acelerado metabolismo das BAL homoláticas em relação às heteroláticas, e produção de ácido láctico, que pode ser metabolizado por leveduras.

No entanto, mesmo os menores valores de recuperação de MS observados no presente trabalho (74,82%), estão acima dos reportados na literatura (Pedroso et al., 2005; Santos et al., 2008; Siqueira et al., 2011b). As perdas de MS do presente trabalho, quando comparadas à outros trabalhos na literatura, estão em valores aceitáveis e baixos, assim como a recuperação de MS está acima da maioria dos valores reportados na literatura. Geralmente, atribuem-se as elevadas perdas de MS e baixa recuperação de MS na ensilagem de cana-de-açúcar à produção intensa de etanol (Pedroso et al., 2005), além da conversão de CS à ácidos graxos voláteis (AGV's) e ácido láctico.

O etanol é o principal responsável pelas perdas de MS na ensilagem de cana-de-açúcar, mas, a conversão de CS a ácido láctico e AGV's podem não consituir perdas de MS. Os valores de etanol do presente trabalho podem ser considerados baixos, com os maiores teores observados aos 8 dias de estocagem para a variedade precoce sem inoculante e para a variedade média/tardia com inoculante (Tabela 4). Tais resultados confirmam também os baixos valores de perdas de MS e valores superiores de recuperação de MS do presente trabalho em relação à literatura. Mesmo havendo produção de etanol, houve rebaixamento do pH de maneira acelerada, logo aos 8 dias de estocagem, sugerindo a presença de ácidos orgânicos atuando no meio.

Grande parte dos trabalhos avaliando a produção de etanol apresentam valores variando de 5,37 a 9,23% de etanol na MS (Pedroso et al., 2005; Bernardes et al., 2007; Sousa et al., 2008; Ávila et al., 2009; Ávila et al., 2010a; Pedroso et al., 2011a; Magalhães et al., 2012), sempre para silagens controle sem uso de aditivos.

Valores extremos foram observados por Schmidt et al. (2011), de 14,41% e por Silva et al. (2008), de 15,33% de etanol na MS. Assim como valores inferiores foram observados por Pedroso et al. (2011b), de 2,3%, e por Siqueira et al. (2011a), de 2,5% de etanol na MS. A grande variabilidade dos resultados pode ser atribuída

às diferentes variedades e épocas de colheita, o que proporciona materiais com distintos teores de CS.

TABELA 4 – Teores de etanol e ácidos graxos voláteis das silagens de duas variedades de cana-de-açúcar aditivadas com inoculante Sil All 4x4® em três tempos de estocagem.

Variedade Inoculação	Tempo de estocagem (dias)			Pol. Ortogonais ¹		
	8	16	64	Lin	Quad	In
Etanol (% na MS)						
Precoce Si	4,27 aA	2,64	3,06	<0,01	<0,01	<0,01
Média/Tardia Si	1,26 bB	2,77	2,53	<0,01	<0,01	0,57
Precoce Ci	0,97 bB	3,13	2,41	0,01	<0,01	0,14
Média/Tardia Ci	4,64 aA	3,78	1,90	0,72	<0,01	<0,01
Ác. Acético (% na MS)						
Precoce Si	6,40	5,44	9,34 A	<0,01	0,02	0,02
Média/Tardia Si	8,71	6,04 B	9,48	<0,01	<0,01	0,01
Precoce Ci	5,52	5,77 b	5,62 bB	0,03	0,01	0,11
Média/Tardia Ci	7,78	10,69 aA	11,93 a	<0,01	<0,01	0,22
Ác. Propiônico (% na MS)						
Precoce Si	1,25 aA	1,21 aA	0,66 b	0,73	<0,01	0,01
Média/Tardia Si	0,58 bB	0,65 bB	1,76 aA	<0,01	0,26	0,30
Precoce Ci	0,54 bB	0,47 bB	0,45 b	0,29	0,05	0,18
Média/Tardia Ci	1,51 aA	1,63 aA	1,21 aB	0,02	<0,01	<0,01
Ác. Butírico (% na MS)						
Precoce Si	0,21	0,16	0,33 aA	<0,01	0,19	<0,01
Média/Tardia Si	0,21	0,17	0,14 b	0,21	<0,01	<0,01
Precoce Ci	0,24	0,16	0,09 B	0,82	<0,01	<0,01
Média/Tardia Ci	0,19	0,20	0,15	0,16	<0,01	0,05

Precoce Si: variedade RB835486 + Sem inoculante. Média/tardia Si: variedade SP79-1011 + Sem inoculante. Precoce Ci: variedade RB835486 + Com inoculante. Média/tardia Ci: variedade SP79-1011 + Com inoculante. ¹Valores-P dos coeficientes de polinômios ortogonais nos níveis linear (Lin), quadrático (Quad) e indeterminado/desvio (In). Letras minúsculas na coluna comparam efeito de variedades dentro da inoculação. Letras maiúsculas na coluna comparam o efeito da inoculação dentro de cada variedade.

Houve efeito da interação variedade*inoculação*tempo de estocagem para os teores de etanol nas silagens. As variedades diferiram entre si apenas aos 8 dias de estocagem, com valores superiores para a variedade precoce nas silagens sem inoculação e com valores superiores para a variedade média/tardia nas silagens inoculadas. Para este tempo de abertura houve efeito da inoculação, havendo maior produção de etanol para variedade precoce na ausência da inoculação e maior produção de etanol para a variedade média/tardia nas silagens inoculadas.

Como aos 64 dias de estocagem não houve diferença entre variedades e a presença ou ausência da inoculação, o efeito mais pronunciado das variedades e inoculação foi aos 8 dias de estocagem. Não é possível afirmar com consistência, diferenças entre variedades ou inoculação, visto que os resultados foram contrários para ambas as variedades na presença do inoculante. Mas, pode-se inferir que quando se adicionou o inoculante às silagens da variedade precoce, estas produziram mais etanol, enquanto que para as silagens da variedade média/tardia houve redução na produção de etanol.

Associando estes resultados em conjunto com a variação no teor de CS e nas perdas por gases ao longo do tempo, variáveis que são inter-relacionadas, a inconsistência persiste. Isto porque a maior produção de etanol para a variedade média/tardia aos 8 dias de estocagem (4,64% na MS) não foi acompanhada por redução no teor de CS no mesmo período (12,44%), mesmo havendo numericamente maior perda por gás (3,28%). No entanto, a maior produção de etanol, para a variedade precoce, nas silagens sem inoculação, geraram maior perda por gases (6,47%), menor recuperação de MS (79,06%) e redução no teor de CS (8,93%), resultado mais coerente.

Além do etanol, a produção de AGV's está associada à qualidade do processo fermentativo, em que principalmente a presença de ácido butírico é um indicativo de atividade de *Clostridium* e, conseqüentemente, de que o pH não foi reduzido de maneira a inibir a atividade deste microrganismo, gerando perdas de MS e proteólise.

No presente trabalho, corroborando com resultados reportados na literatura (Silva et al., 2008; Pedroso et al., 2011a), os valores deste ácido foram reduzidos, sugerindo que transformações indesejáveis não ocorreram durante a ensilagem pela presença de microrganismos do gênero *Clostridium*, fato atribuído ao excesso de CS que favorece a fermentação láctica e, principalmente, alcoólica. Houve efeito da

interação variedade*inoculação*tempo de estocagem, sendo pronunciada a diferença aos 64 dias de estocagem, em que nas silagens da variedade precoce a inoculação reduziu o teor de ácido butírico de 0,33 para 0,09% na MS.

O ácido propiônico é produzido pelo metabolismo de bactérias ácido propiônicas, sensíveis à redução do pH (Madigan et al., 1997). Na ensilagem de cana-de-açúcar, a redução do pH é rápida, inibindo a atividade destas bactérias e proporcionando reduzidos teores na MS (Ávila et al., 2010a). Os valores médios deste ácido em silagens de cana-de-açúcar reportados na literatura variam de 0,04% (Pedroso et al., 2011a; Schmidt et al., 2011) a 0,58% na MS (Ávila et al., 2010a).

No presente trabalho, os valores médios situaram-se acima destes observados na literatura. Houve efeito da interação variedade*inoculação*tempo de estocagem sobre a produção deste ácido, com distinções entre variedades e inoculação em todos os tempos de estocagem. Nas silagens inoculadas ou não, aos 64 dias de estocagem, a variedade média/tardia proporcionou maiores teores de ácido propiônico, enquanto que, com relação à inoculação no mesmo período, a inoculação reduziu os teores deste ácido nas silagens da variedade média/tardia. Tal resposta pode ser decorrente da composição do inoculante, que possui quatro bactérias homoláticas exclusivamente produtoras de ácido láctico, ficando estas silagens com predominância deste tipo de microrganismo em conjunto com leveduras e bactérias epifíticas.

O propionato possui efeito antimicrobiano, principalmente sobre leveduras, onde a redução do pH celular impede o transporte de aminoácidos entre a membrana celular, inibindo este microrganismo. Desta forma, valores elevados de ácido propiônico nas silagens colaboram para o padrão fermentativo adequado, uma vez que podem reduzir a produção de etanol (Magalhães et al., 2012). Os teores de etanol observados nas silagens do presente trabalho foram reduzidos em comparação com trabalhos citados na literatura, indicando que este comportamento pode ter sido verdadeiro nesta ocasião.

O ácido acético também possui efeito inibitório sobre leveduras em concentrações acima de 2,0% na MS, considerando silagens com 25% de MS (Woolford, 1975), apresentando correlação negativa com as perdas de MS, redução nos teores de CS e produção de etanol (Pedroso et al., 2005).

Portanto, os teores médios de ácido acético variando de 5,64 a 10,14% na MS, sugerem que houve efeito deletério deste ácido sobre o crescimento de

leveduras, reduzindo sua população e atividade e a produção de etanol. Isto porque estes valores estão acima dos verificados na literatura, que variaram de 1,01% (Pedroso et al., 2011b) a 6,75% na MS (Pedroso et al., 2011a).

Houve efeito isolado do tempo de estocagem e da interação variedade*inoculação para os teores de ácido acético. Desdobrando esta interação, independente dos tempo de estocagem, a presença do inoculante elevou o teor deste ácido de 8,08 para 10,14% para a variedade média/tardia e reduziu o teor de ácido acético de 7,07 para 5,64% para a variedade precoce. Analisando o efeito da inoculação dentro dos tempos de estocagem, aos 64 dias, a inoculação reduziu o teor deste ácido nas silagens da variedade precoce, não afetando a variedade média/tardia.

Os elevados teores de ácido propiônico e acético sugerem que existiam bactérias heteroláticas epifíticas, visto que o inoculante utilizado é composto apenas por bactérias homoláticas e enzimas. Fator que foi de extrema importância para o processo fermentativo, pois estes microrganismos foram capazes de produzir elevada quantidade destes ácidos, auxiliando no rebaixamento do pH (Pedroso et al. 2005), inviabilizando microrganismos deterioradores, mas, ao mesmo tempo, inibindo a atividade de leveduras.

Associado a isto, as bactérias heteroláticas epifíticas, podem ter convertido parte do ácido láctico formado durante as primeiras fermentações, possivelmente incrementado pela adição das BAL homoláticas, em ácido acético e 1,2-propanodiol sob condições de anaerobiose, incrementando os teores destes ácidos nas silagens (Oude Elferink et al., 2001).

Portanto, os efeitos provocados pelas diferentes variedades e pela inoculação, não foram suficientemente importantes para determinar melhorias no padrão fermentativo. Mas, levanta-se a hipótese da presença de quantidade significativa de microrganismos epifíticos benéficos a este processo, ocasionando em baixa produção de etanol e reduzidas perdas de MS, independente da variedade e inoculação.

A porcentagem de matéria seca (MS) influencia a intensidade do processo de fermentação no interior do silo (Van Soest, 1994), sendo, ao lado do pH e da atividade de água, responsável por inibir fermentações indesejáveis, causadas principalmente por clostrídeos, sem prejudicar a fermentação láctica. Valores de MS de 30 a 35% na forragem são indicados para adequada fermentação no interior do

silo. No presente trabalho, os valores de MS estiveram entre 35,34 e 37,32% na forragem (Tabela 5), adequados para ensilagem, mas, acima dos reportados na literatura para forragem de cana-de-açúcar (Pedroso et al., 2005; Ávila et al., 2010a; Pedroso et al., 2011b), que pode estar relacionado ao protocolo utilizado para secagem das amostras no presente estudo, por meio de liofilização. Este processo reduz perdas de MS durante a secagem decorrentes da volatilização de compostos orgânicos.

TABELA 5 – Teores de matéria seca (MS) e carboidratos solúveis da forragem e das silagens de duas variedades de cana-de-açúcar aditivadas com inoculante Sil All 4x4® em três tempos de estocagem.

Variedade Inoculação	Tempo de estocagem (dias)				Pol. Ortogonais ¹		
	0	8	16	64	Lin	Quad	In
MS (%)							
Precoce Si	35,3	32,1 b	33,0 B	31,5 B	0,03	0,15	0,11
Média/Tardia Si	35,3	35,3 aA	34,5 A	31,7	0,00	0,90	0,73
Precoce Ci	37,2	33,2	36,4 aA	36,6 A	0,47	0,32	<0,01
Média/Tardia Ci	37,3	31,9 B	31,6 bB	31,3	<0,01	<0,01	0,06
CS (%)							
Precoce Si	22,37	8,93 b	3,14 b	1,50 b	<0,01	<0,01	0,03
Média/Tardia Si	21,29	17,99 aA	12,44 aA	4,95 a	<0,01	<0,01	0,22
Precoce Ci	22,95	8,05 b	2,87 b	1,50	<0,01	<0,01	<0,01
Média/Tardia Ci	21,24	12,66 aB	7,72 aB	2,92	<0,01	<0,01	0,39

Precoce Si: variedade RB835486 + Sem inoculante. Média/tardia Si: variedade SP79-1011 + Sem inoculante. Precoce Ci: variedade RB835486 + Com inoculante. Média/tardia Ci: variedade SP79-1011 + Com inoculante. ¹Valores-P dos coeficientes de polinômios ortogonais nos níveis linear (Lin), quadrático (Quad) e indeterminado/desvio (In). Letras minúsculas na coluna comparam efeito de variedades dentro da inoculação. Letras maiúsculas na coluna comparam o efeito da inoculação dentro de cada variedade.

Os valores observados de MS na forragem são desejáveis por reduzir a atividade de água e elevar a pressão osmótica, prejudicando o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis ao processo fermentativo, principalmente clostrídeos.

Reduções drásticas na porcentagem de MS da silagem em relação à forragem indicam perdas de MS durante o processo fermentativo. Quando não foram inoculadas, as silagens das duas variedades de cana-de-açúcar apresentaram

redução na MS de forma linear até os 64 dias de estocagem. Enquanto que nas silagens inoculadas, somente para a variedade precoce foi observado efeito da inoculação preservando a MS da silagem.

As reduções na MS são decorrentes, além da evaporação do CO₂ e do etanol (Ferreira et al., 2007), da perda por efluente, principalmente no início do processo fermentativo, onde o excesso de umidade tem a tendência de acumular-se na parte inferior do silo. A queda na porcentagem de MS pode ser explicada pela intensa atividade biológica promovendo fermentação, principalmente alcoólica, por leveduras, onde o consumo de um mol de glicose gera dois moles de H₂O e dois moles de CO₂, resultando em perdas de MS e acúmulo de água (McDonald et al., 1991).

A inoculação gerou redução na MS da variedade tardia em relação à variedade precoce (33,07 e 35,88%, respectivamente), explicando as maiores perdas por efluentes e gases e menores valores de recuperação de MS para as silagens desta variedade com a inoculação. Contrariamente, as silagens da variedade precoce quando inoculadas, apresentaram valores superiores de MS em relação à ausência da inoculação aos 64 dias de estocagem (36,61 e 31,51%, respectivamente). Resposta que pode ser associada ao teor de CS das silagens aos 64 dias de estocagem, onde a inoculação não promoveu redução no teor de CS para a variedade precoce (1,50% na presença e ausência do inoculante), mas, reduziu o teor de CS das silagens da variedade tardia de 4,95 para 2,92%.

Os CS representam a fração prontamente disponível para uso pelas populações biológicas no interior do silo, servem de substrato para o crescimento, principalmente de leveduras, na ensilagem da cana-de-açúcar. Desta forma, a redução na MS, decorrente das perdas por efluentes e gases, está diretamente relacionada à degradação dos CS por microrganismos deterioradores, que incrementam as perdas de MS e reduzem a porcentagem de MS das silagens em relação às forragens.

Ferreira et al. (2007), avaliando aditivo microbiano-enzimático, observou redução na MS do momento da ensilagem para 56 dias de abertura tal qual no presente trabalho. A presença de bactérias homofermentativas em conjunto com as leveduras epifíticas pode estar relacionada com maiores perdas de MS, visto o elevado teor CS das variedades no momento da ensilagem.

Os teores de CS das silagens foram reduzidos em relação às forragens para as duas variedades com ou sem a inoculação ao longo dos 64 dias de estocagem, evidenciando o consumo de CS nos processos fermentativos.

A redução no teor de CS das silagens em relação às forragens corrobora com diversos trabalhos, onde os açúcares solúveis servem de substrato de crescimento para as leveduras realizarem a fermentação alcoólica (Schmidt et al., 2007; Silva et al., 2008). O elevado teor de CS da cana-de-açúcar e a elevada população epifítica de leveduras acentuam este tipo de fermentação, indesejada durante a ensilagem por ocasionar elevadas perdas de MS em decorrência do intenso consumo de CS (Sousa et al., 2008), fato evidenciado no presente trabalho pela redução drástica dos teores de CS dos 0 aos 64 dias de estocagem.

A forragem das variedades precoce e média/tardia não diferiram quanto aos teores de CS em decorrência dos valores de Brix semelhantes para ambas (24,2 e 25,0%, respectivamente). Mas, a variedade precoce apresentou queda acentuada do teor de CS logo aos 8 dias de estocagem, ficando com valores inferiores ao da variedade média/tardia neste período. Resposta que se repetiu aos 16 dias de estocagem com ou sem a inoculação, fato que sugere maior utilização dos CS da variedade precoce logo no início do processo fermentativo no interior dos silos.

Aos 64 dias de estocagem, nas silagens não inoculadas a resposta se repetiu, com a variedade precoce finalizando os períodos de estocagem com menor teor de CS em relação à variedade média/tardia. No entanto, quando foram inoculadas, as silagens das duas variedades não diferiram quanto aos teores de CS, sugerindo que a adição de bactérias homofermentativas podem ter incrementado o consumo de CS nestas silagens.

Desdobrando o efeito da interação variedade*tempo de estocagem, nos tempos 8, 16 e 64 dias, os teores de CS da variedade média/tardia foram superiores ao da variedade precoce (15,32; 10,08 e 3,93% para a variedade média/tardia e 8,49; 3,00 e 1,50% para a variedade precoce nos três tempos de estocagem). Mesmo com redução mais lenta nos teores de CS, as silagens da variedade média/tardia apresentaram redução de pH, perdas de MS e recuperação de MS semelhante às da variedade precoce, dos 8 aos 64 dias de estocagem, não comprometendo, deste ponto de vista, o processo fermentativo.

A redução nos teores de CS teve relação direta com o incremento nas perdas por gases e na redução da recuperação de matéria seca ao longo dos períodos de

estocagem. Para ambas as variedades, independente da inoculação, as perdas por gases foram incrementadas e a recuperação de MS foi reduzida dos 8 aos 64 dias de estocagem, corroborando a redução dos teores de CS neste mesmo período.

Efeito da inoculação sobre os teores de CS foram observados apenas para a variedade média/tardia aos 8 e 16 dias de estocagem, onde a inoculação acarretou em redução nos teores de CS, sugerindo maior consumo de CS com a inoculação. Desdobrando os efeitos da interação variedade*inoculação, a variedade precoce apresentou na média dos tempos de estocagem 8,99% de CS sem inoculação e 8,84% de CS com inoculação, enquanto que a variedade média/tardia apresentou valores de 14,17% de CS sem inoculação e 11,14% de CS com inoculação.

Isto porque as perdas de MS por efluentes e gases, decorrentes do consumo de CS, têm relação direta com a concentração de componentes fibrosos na MS da silagem, incrementando os teores de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e reduzindo a digestibilidade (Pedroso et al., 2007). A variedade média/tardia apresentou FDN superior à variedade precoce aos 64 dias de estocagem nas silagens sem inoculação (51,96 e 46,87%, respectivamente) (Tabela 6).

Maiores valores de FDN para silagens inoculadas corroboram com os resultados observados por Ferreira et al. (2007), onde a inoculação com aditivo microbiano-enzimático promoveu maiores teores de FDN após 56 dias de ensilagem em relação ao tratamento controle assim como Fortaleza et al. (2012), que observaram maiores teores de FDN em relação às silagens controle utilizando aditivo microbiano. A adição de bactérias homoláticas à ensilagem pode acarretar em intensa atividade biológica dessas bactérias produtoras de ácido lático (BAL) associadas às leveduras, consumindo quase que na totalidade os carboidratos solúveis, incrementando o teor de FDN nesta ocasião.

Em contrapartida, parte das enzimas presentes no aditivo tem como função estimular a quebra de carboidratos complexos (celulose e hemicelulose) em açúcares simples que seriam prontamente fermentados pelas bactérias ácido lácticas (Zopollatto et al., 2009), o que poderia reduzir o teor de FDN, fato não confirmado no presente estudo. Segundo Dean et al. (2005), a atividade das enzimas celulase e hemicelulase é insuficiente para hidrólise completa da parede celular de gramíneas tropicais. Aliada a isto, a ação destas enzimas pode não ser garantida em condições de ensilagem, pois há redução na atividade ou dissociação de enzimas quando ocorrem alterações no pH do meio, fato ocorrido nesta ocasião, onde dos 0 aos 8

dias de estocagem o pH passou de valores próximos a 5,5 para valores próximos a 3,5.

TABELA 6 – Teores de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), FDN indigestível (FDNi) e proteína bruta (PB) da forragem e das silagens de duas variedades de cana-de-açúcar aditivadas com inoculante Sil All 4x4® em três tempos de estocagem.

Variedade Inoculação	Tempo de estocagem (dias)				Pol. Ortogonais ¹		
	0	8	16	64	Lin	Quad	In
FDN (%)							
Precoce Si	41,96	47,03	47,82 a	46,87 bB	0,26	0,03	0,43
Média/Tardia Si	39,72	42,72 B	47,43 a	51,96 a	<0,01	0,05	0,57
Precoce Ci	39,91	45,39	48,17 a	52,43 A	<0,01	0,02	0,67
Média/Tardia Ci	36,70	49,16 A	47,94 a	49,92	<0,01	<0,01	<0,01
FDNi (%)							
Precoce Si	25,67 a	26,31 b	26,78 b	26,40 b	0,72	0,39	0,99
Média/Tardia Si	21,40 b	29,66 a	29,99 a	32,78 a	<0,01	<0,01	<0,01
Precoce Ci	24,38	25,61 b	26,20 b	26,47 b	0,17	0,20	0,88
Média/Tardia Ci	24,44	29,71 a	29,73 a	30,35 a	0,01	<0,01	0,03
PB (%)							
Precoce Si	1,53 a	1,62 a	1,29	1,28 a	0,03	0,19	0,03
Média/Tardia Si	0,86 b	0,92 b	1,11	0,99 b	0,44	0,05	0,45
Precoce Ci	1,27 a	1,42 a	1,30	1,28 a	0,62	0,63	0,23
Média/Tardia Ci	0,82 b	1,00 b	1,09	1,03 b	0,27	0,04	0,78

Precoce Si: variedade RB835486 + Sem inoculante. Média/tardia Si: variedade SP79-1011 + Sem inoculante. Precoce Ci: variedade RB835486 + Com inoculante. Média/tardia Ci: variedade SP79-1011 + Com inoculante. ¹Valores-P dos coeficientes de polinômios ortogonais nos níveis linear (Lin), quadrático (Quad) e indeterminado/desvio (In). Letras minúsculas na coluna comparam efeito de variedades dentro da inoculação. Letras maiúsculas na coluna comparam o efeito da inoculação dentro de cada variedade.

Observou-se incremento nos teores de FDN das forragens aos 64 dias de estocagem para as duas variedades, com ou sem a inoculação. Esta resposta é decorrente da perda de MS, principalmente dos CS, acarretando em acúmulo de carboidratos fibrosos e incremento nos teores de FDN (Ávila et al., 2009). Resposta

semelhante foi observada por Siqueira et al. (2011a), que verificaram incremento nos teores de FDN dos 0 aos 56 dias de estocagem.

A FDN compõe a fração de carboidratos fibrosos e é correlacionada negativamente com o consumo (Van Soest, 1994), assim como a FDNi, que expressa o potencial de degradação da FDN, sendo sua fração indigestível (Detmann et al., 2004). Portanto, elevados teores destas frações são responsáveis por reduzirem a digestibilidade do alimento, sendo limitantes ao consumo e desempenho animal.

O teor de FDNi mostrou-se distinto para as duas variedades. Para a variedade precoce, independente da inoculação, os teores de FDNi foram menores do que a variedade média/tardia e, praticamente, não variaram ao longo do tempo dos 0 aos 64 dias de estocagem. Para a variedade média/tardia os teores de FDNi foram incrementados da forragem em relação às silagens no maior período de estocagem (64 dias).

Portanto, os maiores teores de FDNi para a variedade média/tardia podem ser reflexo do tipo de carboidrato fibroso presente em sua estrutura. Por se tratar de uma variedade média/tardia, pode ocorrer maior acúmulo de carboidratos estruturais (fibrosos) na fase vegetativa e início da maturação, visto que o acúmulo de carboidratos solúveis para estas variedades é protelado em relação a variedades precoces. Na cana-de-açúcar ocorre o espessamento da parede celular com o avanço da idade, ocorrendo acúmulo de lignina e de compostos lignocelulósicos, além da diminuição na degradabilidade da fibra (Fernandes et al., 2003). Neste sentido, a ação biológica e enzimática provocada pelo aditivo não foi suficiente para reduzir os teores de FDNi, visto que as enzimas tem ação sobre celulose e hemicelulose, provavelmente, não sendo capaz de degradar compostos lignocelulósicos.

Desdobrando o efeito da interação variedade*tempo de estocagem, os maiores teores de FDNi foram observados para a variedade média/tardia aos 64 dias de estocagem em comparação à variedade precoce (31,56 e 26,43%, respectivamente).

A redução nos teores de CS ao longo do tempo de estocagem associada às perdas de MS faz com que os teores de outros nutrientes presentes na MS sejam concentrados, incrementando-os nas silagens em relação às forragens (Ávila et al., 2009; Balieiro Neto et al., 2009a; Valeriano et al., 2009; Siqueira et al.; 2011b). Os

teores de MM nas silagens das duas variedades foram influenciados pelo tempo de estocagem, com efeito quadrático com a inoculação e efeito linear na ausência do inoculante.

Os teores de MM não foram influenciados por interações entre os fatores avaliados, havendo distinção apenas pelo efeito isolado da inoculação e do tempo de estocagem. Independente das variedades e dos tempos de estocagem, a inoculação reduziu os teores de MM de 2,43 para 2,23%, sugerindo que as perdas de MS por meio de carboidratos solúveis acarretaram em incremento de MM (Valeriano et al., 2009).

A pequena redução no teor de PB para a variedade precoce na ausência do inoculante da forragem para as silagens aos 64 dias de estocagem (1,53 para 1,28%, respectivamente), pode ter ocorrido em função de diferenças no material amostrado. Embora as silagens tenham sido confeccionadas simultaneamente com a mesma forragem triturada, podem ter ocorrido falhas na amostragem ou no enchimento do silo, distintas participações do componente folha verde podem alterar o teor de PB, haja visto que esta porção da planta possui elevados teores de PB.

Segundo Rotz e Muck (1994), o teor de PB pode sofrer aumento de 1 a 2 pontos percentuais na MS durante o processo de ensilagem, visto as perdas de MS. No presente trabalho, os teores de PB mantiveram-se semelhantes aos da forragem ou foram incrementados ao longo dos 64 dias de estocagem, exceto para a variedade precoce na ausência do inoculante. A manutenção dos teores de PB no último período de estocagem, semelhantes aos teores iniciais, sugerem que a atividade de bactérias proteolíticas foi praticamente inexistente, com adequado padrão fermentativo.

Em condições adversas, principalmente sob elevado pH e umidade (atividade de água), bactérias do gênero *Clostridium* são responsáveis por ocasionarem perdas de MS decorrentes da conversão de carboidratos solúveis à ácido butírico, comprometendo o processo fermentativo e a qualidade da silagem produzida (Pedroso et al.; 2005; Mendes et al., 2008). Mas, devido a rápida queda no pH das silagens, o crescimento destes microrganismos que degradam proteínas é prejudicado, explicando a não redução nos teores de PB nas silagens (Valeriano et al., 2009).

Houve efeito da interação variedade*tempo de estocagem para os teores de PB, sendo que na forragem, independente da inoculação, a variedade precoce

apresentou maiores teores de PB em relação à variedade média/tardia, justificado pela maior proporção de folhas verdes dessa variedade no momento da ensilagem. Desta forma, exceto aos 16 dias de estocagem, os teores de PB foram superiores para a variedade precoce em relação à média/tardia nas silagens, tanto na presença como na ausência do inoculante.

O teor de PIDN representa a fração insolúvel do nitrogênio, que está associado aos componentes da parede celular, de lenta e incompleta digestão e aproveitamento pelo animal. Não houve efeito da interação entre os fatores estudados sobre os teores de PIDN, no entanto, houve efeito isolado dos três fatores: variedade, inoculação e tempo de estocagem.

Ao longo do tempo observou-se redução nos teores de PIDN da forragem para as silagens aos 64 dias de estocagem. Independente das variedades e dos tempos de estocagem as médias de PIDN foram reduzidas de 0,78 para 0,69% com a inoculação às silagens.

Analisando as variedades independente da inoculação e tempo de estocagem, a precoce apresentou valor superior de PIDN de 0,78%, enquanto que a variedade média/tardia, 0,69%. No entanto, os valores de PIDN apresentados são absolutos e não valores proporcionais ao teor de PB das forragens e silagens. Se forem consideradas as médias de PIDN e de PB ao longo do tempo para cada variedade na presença ou ausência do inoculante, a resposta inverte-se. A porcentagem de PIDN na PB da variedade precoce é de 58,74% na ausência do inoculante e de 54,54% com a inoculação, enquanto que na variedade média/tardia esses valores foram de 74,22 e 67,67%, respectivamente.

Os valores observados no presente trabalho estão acima dos verificados por Fernandes et al. (2003), com cana-de-açúcar *in natura*, e Cavali et al. (2010), com silagens de cana-de-açúcar, de 18,6 e 27,3% do teor de PB, respectivamente. Tal resposta pode ser decorrente da elevada fração indigestível da FDN, decorrente da lignificação da cana-de-açúcar com o avanço da idade.

Poderia esperar-se que maiores teores de FDNi estivessem relacionados com menores coeficientes de DIVMO, o que não foi comprovado no presente trabalho (Tabela 7). Nas silagens inoculadas os valores de DIVMO foram superiores em todos os tempos de estocagem para a variedade média/tardia. Quando o inoculante não foi utilizado, as variedades não diferiram entre si, exceto aos 8 dias de estocagem.

TABELA 7 – Coeficiente de digestibilidade in vitro da matéria orgânica (DIVMO), teor de nutrientes digestíveis totais (NDT), coeficientes de degradabilidade dos carboidratos não-fibrosos (KdCNF) da forragem e das silagens de duas variedades de cana-de-açúcar aditivadas com inoculante Sil All 4x4® em três tempos de estocagem.

Variedade Inoculação	Tempo de estocagem (dias)				Pol. Ortogonais ¹		
	0	8	16	64	Lin	Quad	In
DIVMO (%)							
Precoce Si	40,7 A	30,6 b	29,6 A	27,5	<0,01	<0,01	0,02
Média/Tardia Si	42,4	37,3 a	33,4	29,8	<0,01	0,01	0,93
Precoce Ci	35,0 bB	29,6 b	23,3 bB	24,1 b	<0,01	<0,01	0,47
Média/Tardia Ci	45,5 a	35,1 a	29,8 a	31,3 a	<0,01	<0,01	0,38
NDT (%)							
Precoce Si	40,4 A	30,2 b	29,1 A	27,1	<0,01	<0,01	0,02
Média/Tardia Si	42,2	37,0 a	33,0	29,4	<0,01	0,01	0,94
Precoce Ci	34,7 bB	29,2 b	22,8 bB	23,6 b	<0,01	<0,01	0,47
Média/Tardia Ci	45,3 a	34,8 a	29,4 a	30,9 a	<0,01	<0,01	0,38
KdCNF (% h ⁻¹)							
Precoce Si	14,1 aA	16,4 aA	15,2 aA	17,7 aA	0,02	0,70	0,15
Média/Tardia Si	10,2 b	7,6 b	7,9 b	10,8 bB	0,13	0,04	0,34
Precoce Ci	7,3 B	6,3 B	10,3 B	5,7 bB	0,16	0,02	0,03
Média/Tardia Ci	8,0	8,7	10,2	15,9 aA	<0,01	0,93	0,73

Precoce Si: variedade RB835486 + Sem inoculante. Média/tardia Si: variedade SP79-1011 + Sem inoculante. Precoce Ci: variedade RB835486 + Com inoculante. Média/tardia Ci: variedade SP79-1011 + Com inoculante. ¹Valores-P dos coeficientes de polinômios ortogonais nos níveis linear (Lin), quadrático (Quad) e indeterminado/desvio (In). Letras minúsculas na coluna comparam efeito de variedades dentro da inoculação. Letras maiúsculas na coluna comparam o efeito da inoculação dentro de cada variedade.

Este efeito controverso de maiores coeficientes de DIVMO para a variedade que apresentou maiores teores de FDNi pode ser explicado pelos maiores teores de NDT desta variedade. Fato que sugere que esta variedade teve seus nutrientes consumidos de maneira mais lenta durante a fermentação no interior do silo, comportamento evidenciado com o teor de CS. Isto porque a DIVMO é

correlacionada com o NDT, assim como é correlacionada com o teor de carboidratos solúveis (Pedroso et al., 2005).

Para a variedade precoce, tanto para DIVMO quanto para NDT, a inoculação influenciou as silagens apenas aos 16 dias de estocagem, em que a inoculação reduziu de 29,62 para 23,32% a DIVMO e de 29,18 para 22,81% o NDT. Mas, aos 64 dias de estocagem essa resposta não se confirmou, não havendo efeito da inoculação sobre estas variáveis.

À medida que a fermentação inicia-se no interior do silo, os açúcares solúveis são consumidos pela microflora epifítica, principalmente leveduras, incrementando a fração fibrosa e ocasionando menores valores de NDT e coeficientes de DIVMO, fato observado por diversos autores (Balieiro Neto et al., 2007, Siqueira et al., 2007, Pedroso et al., 2007; Sousa et al., 2008; Siqueira et al., 2011b). Resposta observada no presente trabalho, em que independente das variedades e da inoculação, os valores de NDT e DIVMO decresceram de acordo com o tempo de estocagem até os 64 dias.

Os valores de DIVMO das forragens variando de 35,07 e 45,53%, assim como os valores finais aos 64 dias de estocagem, variando de 24,11 a 31,36% estão abaixo dos observados por Santos et al. (2008), onde a forragem apresentou DIVMO de 59,09% e as silagens controle finalizaram a fermentação aos 90 dias com 47,96%.

No entanto, a variação nos coeficientes de DIVMO foi de 10,96 a 14,17 pontos percentuais para a forragem e a silagem das variedades, respectivamente. Valores inferiores aos observados por Siqueira et al. (2011b) e Pedroso et al. (2005), que observaram redução de mais de 20 pontos percentuais nos valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) entre a forragem e as silagens de cana-de-açúcar *in natura*, queimada e tratada com *L. buchneri* e atribuíram esta resposta à intensa perda por gases e baixa recuperação de MS no período de ensilagem.

Desdobrando o efeito da interação variedade*inoculação, observou-se redução no teor de NDT de 31,74 para 27,60% de NDT da variedade precoce com inoculação, acarretando em redução na DIVMO de 32,16 para 28,04%. No entanto, para a variedade média/tardia a inoculação não reduziu os teores de NDT (35,42 e 35,16% na presença e ausência do inoculante, respectivamente) e, conseqüentemente, a DIVMO também não foi alterada (35,76 e 35,49% na presença

e ausência do inoculante, respectivamente). Portanto, quando foram inoculadas, as silagens da variedade precoce apresentaram DIVMO de 28,04%, enquanto as da variedade média/tardia apresentaram DIVMO de 35,49%.

Esta resposta explica porque, mesmo com maiores teores de FDNi, a DIVMO da variedade média/tardia foi superior à variedade precoce com inoculação. Provavelmente a fração solúvel desta variedade foi afetada negativamente com menor intensidade pela inoculação, mantendo elevados os coeficientes de DIVMO.

Os teores de NDT e a DIVMO, para ambas as variedades na presença ou não do inoculante, foram reduzidos ao longo dos tempos de estocagem, acompanhando as respostas de redução de CS e elevação da FDN ao longo dos tempos de estocagem (Schmidt et al., 2007).

O KdCNF expressa a taxa de degradação e uso dos carboidratos não-fibrosos pelo animal, tomando importância considerável quando se refere à cana-de-açúcar, forrageira com elevados teores de carboidratos solúveis, principalmente a sacarose.

Houve efeito da interação variedade*inoculação*tempos de estocagem, em que com a inoculação o KdCNF foi distinto entre as variedades apenas para o período de 64 dias de estocagem. Entretanto, na ausência do inoculante, a variedade precoce apresentou valores superiores de KdCNF ao longo de todos os períodos de estocagem, confirmando a discussão supracitada.

Para todos os tempos de estocagem para a variedade precoce, a inoculação promoveu redução no KdCNF, resposta evidenciada pelos menores valores de CS desta variedade em relação à média/tardia ao longo dos tempos de estocagem. Enquanto que para a variedade média/tardia a inoculação somente promoveu alterações no KdCFN no maior tempo de estocagem (64 dias), promovendo incremento no KdCNF.

Poderia ser esperado valores superiores de KdCNF com a inoculação por conta do incremento de BAL, no entanto, provavelmente a rápida redução no pH ao início do período de estocagem pode ter favorecido a predominância de leveduras sobre outras bactérias, fazendo com que a presença do inoculante não favorecesse a aceleração da degradabilidade da fração não-fibrosa dos carboidratos.

Para a variedade média/tardia, em que maiores valores de KdCNF foram observados com a inoculação aos 64 dias de estocagem, indicando que houve maior atividade microbiana sobre estes compostos, sendo verificada redução no teor de CS de 4,95 para 2,92% nas silagens inoculadas.

Azevedo et al. (2003) e Cabral et al. (2000), observaram valores de KdCNF variando de 26,60 e de 20,26 % h⁻¹ para cana-de-açúcar *in natura*, respectivamente, assim como valores de KdCF de 2,6 e 3,86 % h⁻¹, respectivamente. Estes valores de KdCNF são superiores aos valores iniciais observados no presente experimento, que variaram de 7,36 a 14,11 % h⁻¹. Isto sugere lenta degradação dos carboidratos não-fibrosos no início do processo fermentativo, mesmo as variedades tendo sido colhidas com valores elevados de Brix (24,20 e 25,00%, para variedade precoce e média/tardia, respectivamente).

Opostamente ao ocorrido com o KdCNF, o KdCF não foi afetado pelas interações entre os fatores estudados, mas, somente pelo fator inoculação isoladamente. Desta forma, a inoculação das silagens reduziu o valor de KdCF de 1,54 para 1,32 % h⁻¹ (Tabela 8). A inoculação nos períodos de estocagem de 8 e 64 dias, para a variedade média/tardia e precoce, respectivamente, incrementou os teores de FDN, mas, não apresentou efeito sobre a FNDi, variáveis diretamente relacionadas ao KdCF. Portanto, fica evidente a avaliação dos coeficientes de degradação dos carboidratos, onde foi possível detectar o efeito deletério da inoculação sobre esta fração.

TABELA 8 – Taxa de degradabilidade dos carboidratos fibrosos (KdCF) da forragem e das silagens de duas variedades de cana-de-açúcar aditivadas com inoculante Sil All 4x4® em três tempos de estocagem.

Variedade Inoculação	Tempo de estocagem (dias)				Média	Pol. Ortogonais ¹		
	0	8	16	64		Lin	Quad	In
Precoce Si	1,48	1,48	1,53	1,46	1,55 a	0,91	0,84	0,90
Média/Tardia Si	1,44	1,43	2,13	1,40		0,52	<0,01	0,06
Precoce Ci	1,22	1,29	1,38	1,05	1,33 b	0,31	0,38	0,89
Média/Tardia Ci	1,37	1,37	1,30	1,59		0,27	0,61	0,84

Precoce Si: variedade RB835486 + Sem inoculante. Média/tardia Si: variedade SP79-1011 + Sem inoculante. Precoce Ci: variedade RB835486 + Com inoculante. Média/tardia Ci: variedade SP79-1011 + Com inoculante. ¹Valores-P dos coeficientes de polinômios ortogonais nos níveis linear (Lin), quadrático (Quad) e indeterminado/desvio (In). Letras minúsculas na coluna comparam o efeito da inoculação independente da variedade e dos tempos de estocagem.

Tais respostas evidenciam também que o efeito das enzimas fibrolíticas presentes no aditivo não foi suficiente para incrementar a degradação desta porção.

Da mesma forma, os valores observados por Azevêdo et al. (2003) e Cabral et al. (200), para KdCF, foram superiores aos verificados no presente trabalho, sugerindo menor taxa de digestão da fração fibrosa. Fato indesejável do ponto de vista nutricional por retardar a taxa de passagem do alimento pelo rúmen e limitar o consumo animal (Fernandes et al., 2003).

5. CONCLUSÕES

Houve redução ao longo do tempo para MS, CS, NDT, DIVMO e RecMS, enquanto que foram incrementados os teores de FDN e perdas por gases e efluentes.

Maiores efeitos (isolados ou em interações) proporcionados pelas variedades em relação à inoculação.

A variedade média/tardia SP79-1011 apresentou maiores teores de CS, NDT e coeficiente de DIVMO aos 64 dias de estocagem.

Quando houve efeito da inoculação, este foi prejudicial à qualidade da silagem e do processo fermentativo.

Independente dos tempos de estocagem e das variedades, a presença do inoculante reduziu os teores de MM, PIDN e coeficiente KdCF.

A inoculação associada à variedade precoce reduziu a MS e elevou o teor de FDN, além de reduzir o teor de ácido acético.

Em associação com a variedade média/tardia, a inoculação aumentou a DIVMO e NDT, mas, incrementou também as perdas por efluentes e gases.

Houve pequena produção de etanol e elevados teores dos ácidos acético e propiônico, acarretando em elevada recuperação de MS. Sugere-se o estudo da microflora epifítica para verificar atividade de bactérias heteroláticas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRICULTURAL AND FOOD REASERCH COUNCIL - AFRC. **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford: CAB International, 1993. 159p.

ANDRADE, J.B.; FERRARI JÚNIOR, E.; POSSENTI, R.A.; LEINZ, F.F; BIANCHINI, D.; RODRIGUES, C.F.C. Aditivo biológico na ensilagem de cana-de-açúcar tratada com uréia. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v.57, n.2, p.139-149, 2000.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed. Arlington: AOAC International, 1990. 1117p.

ÁVILA, C. L. S.; PINTO, J.C.; FIGUEIREDO, H.C.P.; SCHWAN, R.F. Effects of an indigenous and a commercial *Lactobacillus buchneri* strain on quality of sugar cane silage. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.64, p.384–394, 2009.

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

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

AZEVEDO, J.A.C.; PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C. E. et al. Composição químico-bromatológica, fracionamento de carboidratos e cinética da degradação *in vitro* da fibra de três variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1443-1453, 2003.

BALIEIRO NETO, G.; SIQUEIRA, G.R.; NOGUEIRA, J.R.; REIS, R.A.; ROTH, A.P.T.P.; ROTH, M.T.P. Perdas fermentativas e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar aditivadas com cal virgem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.10, n.1, p.24-33, 2009a.

BALIEIRO NETO, G.; FERRARI JÚNIOR, E.; NOGUEIRA, J.R.; POSSENTI, R.; PAULINO, V.T.; BUENO, M.S. Perdas fermentativas, composição química,

estabilidade aeróbia e digestibilidade aparente de silagem de cana-de-açúcar com aditivos químico e microbiano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.6, p.621-630, 2009b.

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

BERNARDES, T.F.; REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; BERCHIELLI, T.T.; COAN, R.M. Avaliação da queima e da adição de milho desintegrado com palha e sabugo na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.2, p.269-275, 2007.

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

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J.C.; HERINQUES, L.T.; FREITAS, S.G.F.; PAULINO, M.F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.2, p.335-342, 2008.

CAVALI, J.; PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C.; SANTOS, E.M.; CARVALHO, G.G.P.; SANTOS, M.V.; PORTO, M.O.; RODRIGUES, J.F.H. Bromatological and microbiological characteristics of sugarcane silages treated with calcium oxide. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.7, p.1398-1408, 2010.

DEAN, D.B.; ADESOGAN, A.T.; KRUEGER, N.; LITTELL, R.C. Effect of fibrolytic enzymes on the fermentation characteristics, aerobic stability, and digestibility of bermudagrass silage. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.3, p.994-1003, 2005.

DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; PONCIANO, N.J.; FERNANDES, A.M. Validação de equações preditivas da fração indigestível da fibra em detergente neutro em gramíneas tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.6, p.1866-1875, 2004. (suplemento, 1)

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**, Oxford, v.56, p.330-343, 2001.

DURIX, A.; JEAN-BLAIN, C.; SALLMANN, H.P.; JOUANY, J.P. Use of a semicontinuous culture system (RUSITEC) to study the metabolism of ethanol in the rumen and its effects on ruminal digestion. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.71, n.1, p.115-123, 1991.

EVANGELISTA, A.R.; SIQUEIRA, G.R.; LIMA, J.A.; LOPES, J.; REZENDE, A.V. Perfil fermentativo de silagens de cana-de-açúcar com e sem inclusão de milho desintegrado com palha e sabugo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.1, p.20-26, 2009.

EZEQUIEL, J.M.B.; QUEIROZ, M.A.A.; GALATI, R.L.; MENDES, A.R.; PEREIRA, E.M.O.; FATURI, C.; NASCIMENTO FILHO, V.F.; FEITOSA, J.V. Processamento da cana-de-açúcar: efeitos sobre a digestibilidade, o consumo e a taxa de passagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n.5, p. 1704-1710, 2005.

FABRIS, L.B.; GOMES, H.R.; DOMINGUES, F.N.; FOLONI, J.S.S.; ZANET, C.; SANTOS, D.H. Composição bromatológica da silagem de dois cultivares de cana-de-açúcar tratadas com doses crescentes de cal virgem. **Revista Agrarian**, Dourados, v.6, n.21, p.333-339, 2013.

FERNANDES, A.M.; QUEIROZ, A.C.; PEREIRA, J.C.; LANA, R.P.; BARBOSA, M.H.P.; FONSECA, D.M.; DETMANN, E.; CABRAL, L.S.; PEREIRA, E.S.; VITTORI, A. Fracionamento e cinética da degradação *in vitro* dos carboidratos constituintes da cana-de-açúcar com diferentes ciclos de produção em três idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.6, p.1778-1785, 2003. (suplemento, 1)

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

FORTALEZA, A.P.S.; SILVA, L.D.F.; ZACKM, E.; BARBERO, R.P.; RIBEIRO, E.L.A.; PEGORARO, M.; SANTOS, L.E.; MIZUBUTI, I.Y. Composição química e degradabilidade ruminal de silagens da cana-de-açúcar tratada com aditivos químicos e bacteriano. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 3341-3352, 2012 (suplemento, 2)

FREITAS, A.W.P.; PEREIRA, J.C.; ROCHA, F.C.; COSTA, M.G.C.; LEONEL, F.P.; RIBEIRO, M.D. 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**, Viçosa, v.35, n.1, p.38-47, 2006a.

FREITAS, A.W.P.; PEREIRA, J.C.; ROCHA, F.C.; DETMANN, E.; RIBEIRO, M.D.; COSTA, M.G.; LEONEL, F.P. Características da silagem de cana-de-açúcar tratada com inoculante bacteriano e hidróxido de sódio e acrescida de resíduo da colheita de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.1, p.48-59, 2006b.

FUKUSHIMA, R.S.; WIEMER, P.J.; KUNS, D.A. Use of photocatalytic reduction to hasten preparation of culture media for saccharolytic *Clostridium* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, n.1, p.22-26, 2003.

ÍTAVO, L.C.V.; ITAVO, C.C.B.F.; MORAIS, M.G.; DIAS, A.M.; COELHO, E.M.; JELLER, H.; SOUZA, A.D.V. Composição química e parâmetros fermentativos de

silagens de capim-elefante e cana-de-açúcar tratadas com aditivos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.11, n.3, p.606-617, 2010.

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

KUNG JUNIOR, L. **Preparation of silage water extracts for chemical analyses**. Standard operating procedure – 001 2.03.96. ed. Delaware: University of Delaware - Ruminant Nutrition Lab., 1996. 32p.

LOPES, J.; EVANGELISTA, A.R. Características bromatológicas, fermentativas e população de leveduras de silagens de cana-de-açúcar acrescidas de uréia e aditivos absorventes de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.5, p.984-991, 2010.

LOPES, J.; EVANGELISTA, A.R.; ROCHA, G.P. Valor nutricional da silagem de cana-de-açúcar acrescida de uréia e aditivos absorventes de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.4, p.1155-1161, 2007. (suplemento)

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Brock biology of microorganisms**. 8.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. 986p.

MAGALHÃES, F.A.; VALADARES FILHO, S.C.; MENEZES, G.C.C.; MACHADO, M.G.; ZANETTI, D.; PINA, D.S.; PEREIRA, O.G.; PAULINO, M.F. Chemical composition and fermentative losses of sugar cane ensilage with different Brix degrees, with or without calcium oxide. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.41, n.2, p.256-263, 2012.

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

McDOUGAL, E.I. Studies on ruminal saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemical Journal**, v.43,n.1, p.99-109, 1949.

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

MENKE, K.H.; STEINGASS, H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. **Animal Research Development**, v.28, p.7–55, 1988.

MIRANDA, D.C.L.; DIAS JÚNIOR, G.S.; LOPES, F.; PEREIRA, R.A.N.; PEREIRA, M.N. Composição e pH de silagem de cana-de-açúcar com aditivos químicos e microbiológicos. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v.54, n.2, p.122-130, 2011.

MIZUBUTI, I. Y.; PINTO, A. P.; RAMOS, B. M. O.; PEREIRA, E. S. **Métodos laboratoriais de avaliação de alimentos para animais**. Londrina: EDUEL, 2009. 228 p.

MUCK, R. E.; KUNG JR, L. Effects of silage additives on ensiling. In: SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK, Ithaca, 1997. **Proceedings...** Ithaca: NRAES, 1997. p.187-199.

MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.13, p.2992-3002, 1988.

MURARO, G.B. ROSSI JÚNIOR, P.; OLIVEIRA, V.C.; GRANZOTTO, P.M.C.; SCHOGOR, A.L.B. Efeito da idade de corte sobre a composição bromatológica e as características da silagem de cana-de-açúcar plantada em dois espaçamentos e três idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.38, n.8, p.1525-1531, 2009.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of the dairy cattle**. 6.ed. Washington, D.C., 1989. 158p.

NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P. Tecnologia e produção e valor alimentício de silagens de cana-de-açúcar. In: JOBIM, C. C.; CECATO, U.; CANTO, M. W. (Ed.). **II SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS**. Maringá: UEM/CCA/DZO, 2004. p. 1-33.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; KROONEMAN, J.; GOTTSCHAL, J.C.; SPOELSTRA, S.F.; FABER, F.; DRIEHUIS, F. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.67, p.125-132, 2001.

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

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; LOURES, D.R.S.; IGARASI, M.S.; COELHO, R.M.; PACKER, I.H.; HORII, J.; GOMES, L.H. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.62, n.5, p.427-432, 2005.

PEDROSO, A.F.; RODRIGUES, A.A.; BARIONI JÚNIOR, W.; BARBOSA, P.F.; SANTOS, F.A.P.; NUSSIO, L.G. Aditivos químicos e inoculante bacteriano na ensilagem de cana-de-açúcar: efeitos sobre a fermentação das silagens e o desempenho de garrotes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.40, n.6, p.1181-1187, 2011a.

PEDROSO, A.F.; RODRIGUES, A.A.; BARIONI JÚNIOR, W.; SOUZA, G.B. Fermentation parameters, quality and losses in sugarcane silages treated with chemical additives and a bacterial inoculant. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.40, n.11, p.2318-2322, 2011b.

PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.9, p.1063-1073, 1993.

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

REZENDE, A.V.; SENEDESE, S.S.; RABELO, C.H.S.; NOGUEIRA, D.A.; VIEIRA, P.F.; RABELO, F.H.S. Composição química e digestibilidade *in vitro* da massa seca de cana-de-açúcar acrescida de ureia em diferentes tempos de estocagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.13, n.1, p.25-34, 2012.

RIBEIRO, L.S.; PIRES, A.J.V.; CARVALHO, G.G.P.; SANTOS, A.B.; FERREIRA, A.R.; BONOMO, P.; SILVA, F.F. Composição química e perdas fermentativas de silagem de cana-de-açúcar tratada com ureia ou hidróxido de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.9, p.1911-1918, 2010.

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

SÁ NETO, A.; NUSSIO, L.G.; ZOPOLLATTO, M.; JUNGES, D. BISPO, A.W. Silagem de milho ou de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* exclusivamente ou em associação com *L. plantarum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.5, p.528-535, 2013.

SANTOS, M.C.; NUSSIO, L.G.; MOURÃO, G.B.; SCHMIDT, P.; MARI, L.J.; RIBEIRO, J.L. Influência da utilização de aditivos químicos no perfil da fermentação, no valor nutritivo e nas perdas de silagens de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.9, p.1555-1563, 2008.

SANTOS, R.V.; EVANGELISTA, A.R.; PINTO, J.C.; COUTO FILHO, C.C.C.; SOUZA, R.M. Composição química da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) e das silagens com diferentes aditivos em duas idades de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.6, p.1184-1189, 2006.

SCHMIDT, P.; MARI, L.J.; NUSSIO, L.G.; PEDROSO, A.F.; PAZIANI, S.F.; WECHSLER, F.S. Aditivos químicos e biológicos na ensilagem de cana-de-açúcar. 1. Composição química das silagens, ingestão, digestibilidade e comportamento ingestivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.5, p.1666-1675, 2007.

SCHMIDT, P.; ROSSI JÚNIOR, P.; JUNGES, D.; DIAS, L.T.; ALMEIDA, R.; MARI, L.J. Novos aditivos microbianos na ensilagem da cana-de-açúcar: composição bromatológica, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.40, n.3, p.543-549, 2011.

SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL, A.N. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. **Journal of Animal Science**, v.72, n.11, p.2980-2991, 1994.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 165p.

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

SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCHEN-ITURRINO, R.P.; ROTH, A.P.T.P.; ROTH, M.T.P.; REZENDE, F.D. Perfil fermentativo de silagens de cana-de-açúcar in natura ou queimada e tratadas ou não com *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.40, n.8, p.1651-1661, 2011a.

SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; PIRES, A.J.V.; BERNARDES, T.F.; AMARAL, R.C. Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.6, p.2000-2009, 2007. (suplemento)

SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; PIRES, A.J.V.; BERNARDES, T.F.; ROTH, M.T.P. Queima e aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.1, p.103-112, 2010.

SIQUEIRA, G.R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; ROTH, A.P.T.P.; DOMINGUES, F.N.; FERRAUDO, A.S.; REIS, R.A. Óxido de cálcio e *Lactobacillus buchneri* NCIMB 40788 na ensilagem de cana-de-açúcar in natura ou queimada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.40, n.11, p.2347-2358, 2011b.

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

SUZUKI, T.; SAKAIGAICHI, T.; TERAJIMA, Y.; MATSUOKA, M.; KAMIYA, Y.; HATTORI, I.; TANAKA, M. Chemical composition and in situ degradability of two varieties of sugarcane at different growth stages in subtropical Japan. **Grassland Science**, v.56, p.134–140, 2010.

VALERIANO, A.R.; PINTO, J.C.; ÁVILA, C.L.S.; EVANGELISTA, A.R.; TAVARES, V.B.; SCHWAN, R.F. Efeito da adição de *Lactobacillus* sp. Na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.6, p.1009-1017, 2009.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Comstock, 1994. 476p.

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

WEIMER, P.J.; DIEN, B.S.; SPRINGER, T.L.; VOGEL, K.P. 2005. In vitro gas production as a surrogate measure of the fermentability of cellulosic biomass to ethanol. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.67, n.1, p.52–58, 2005.

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

ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; RIBEIRO, J.L.; SARTURI, J.O.; MOURÃO, G.B. Relações biométricas entre o estágio de maturação e a produtividade de híbridos de milho para produção de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.2, p.256-264, 2009.

APÊNDICE A – Variedades de cana-de-açúcar utilizadas no experimento.



FIGURA 1. Variedade precoce RB835486 – detalhe da retenção de folhas senescentes.



FIGURA 2. Variedade média/tardia SP79-1011 – detalhe da despalha natural.

APÊNDICE B – Detalhes da confecção dos silos experimentais.**FIGURA 1.** Montagem das tampas com válvula “sifão”.



A



B

FIGURA 2. Silos experimentais prontos para uso (A) e compondo o experimento de determinação de perdas de matéria seca (B).

APÊNDICE C – Gráficos dos desdobramentos de variedades e inoculação ao longo dos tempos de estocagem referentes ao padrão fermentativo na ensilagem de cana-de-açúcar inoculada com aditivo Sil All 4x4®.

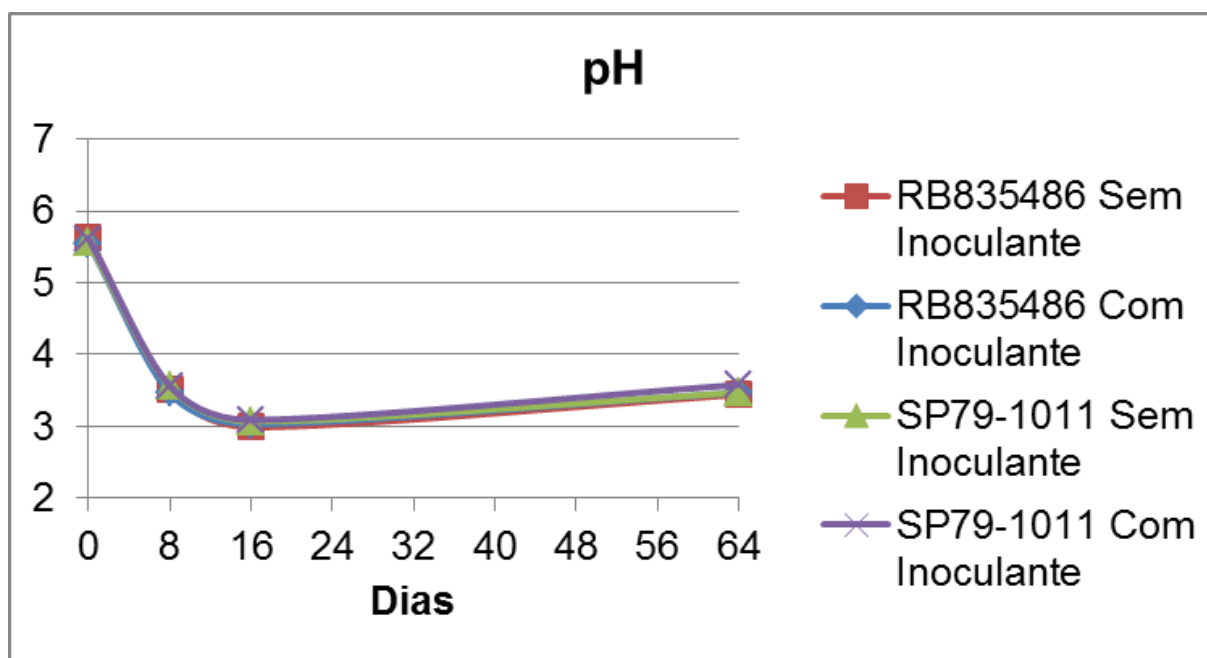


GRÁFICO 1. Valores de pH.

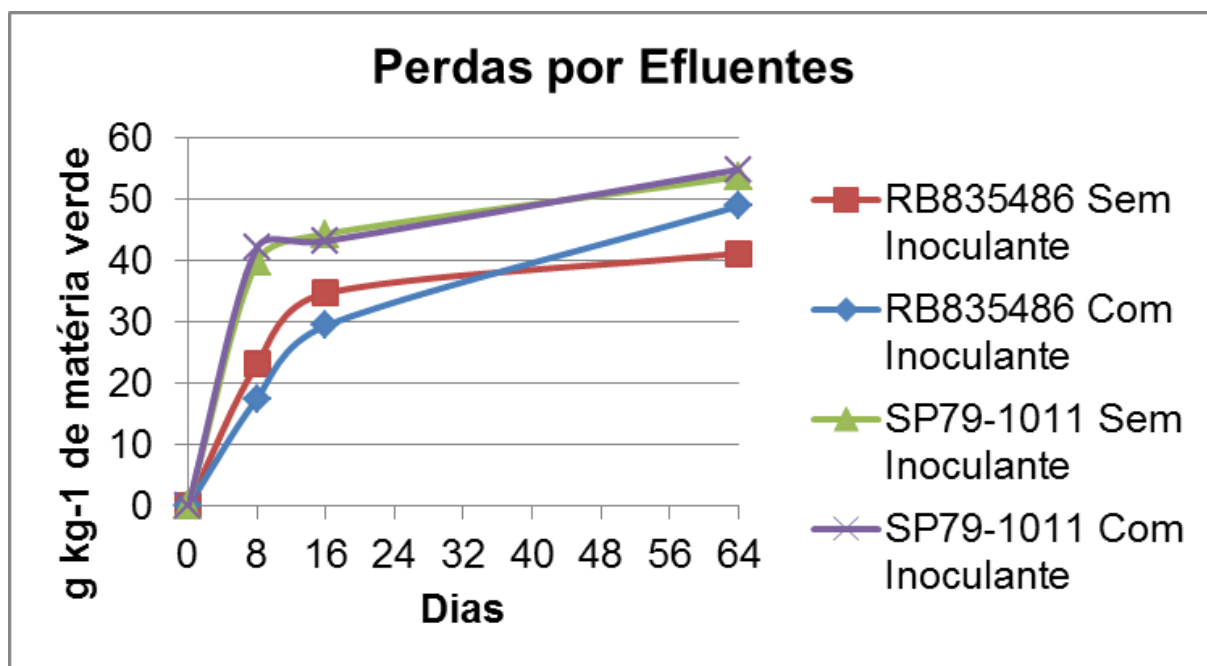


GRÁFICO 2. Perdas por efluentes.

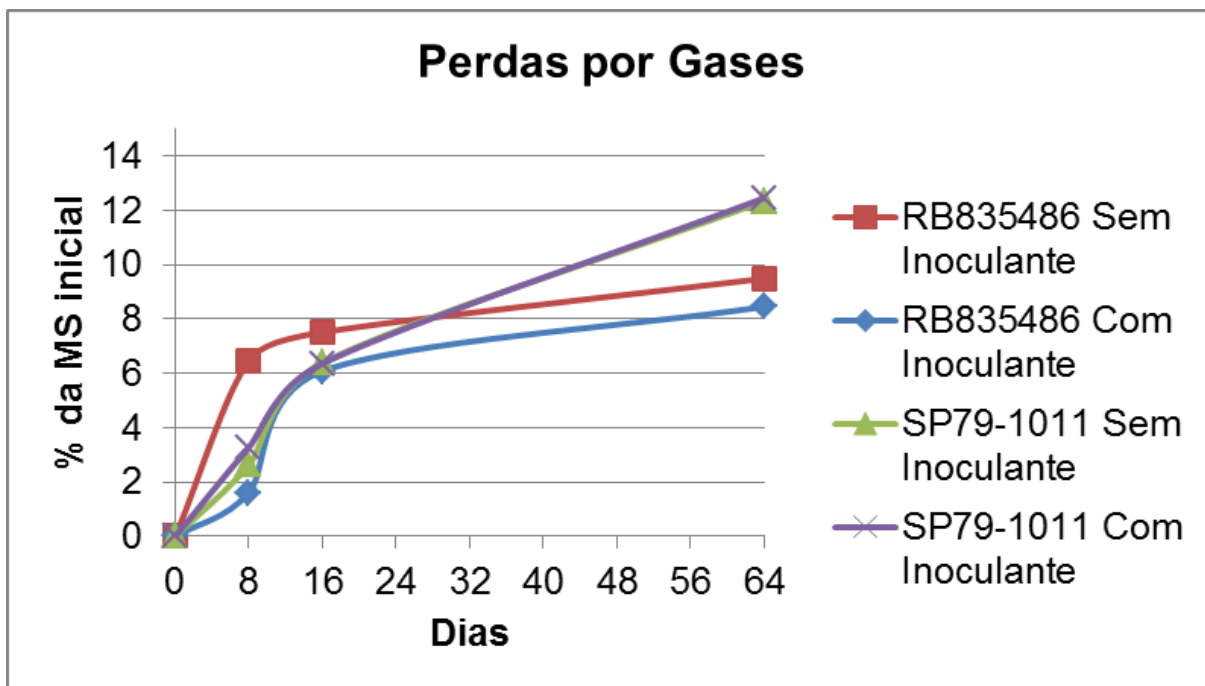


GRÁFICO 3. Perdas por gases.

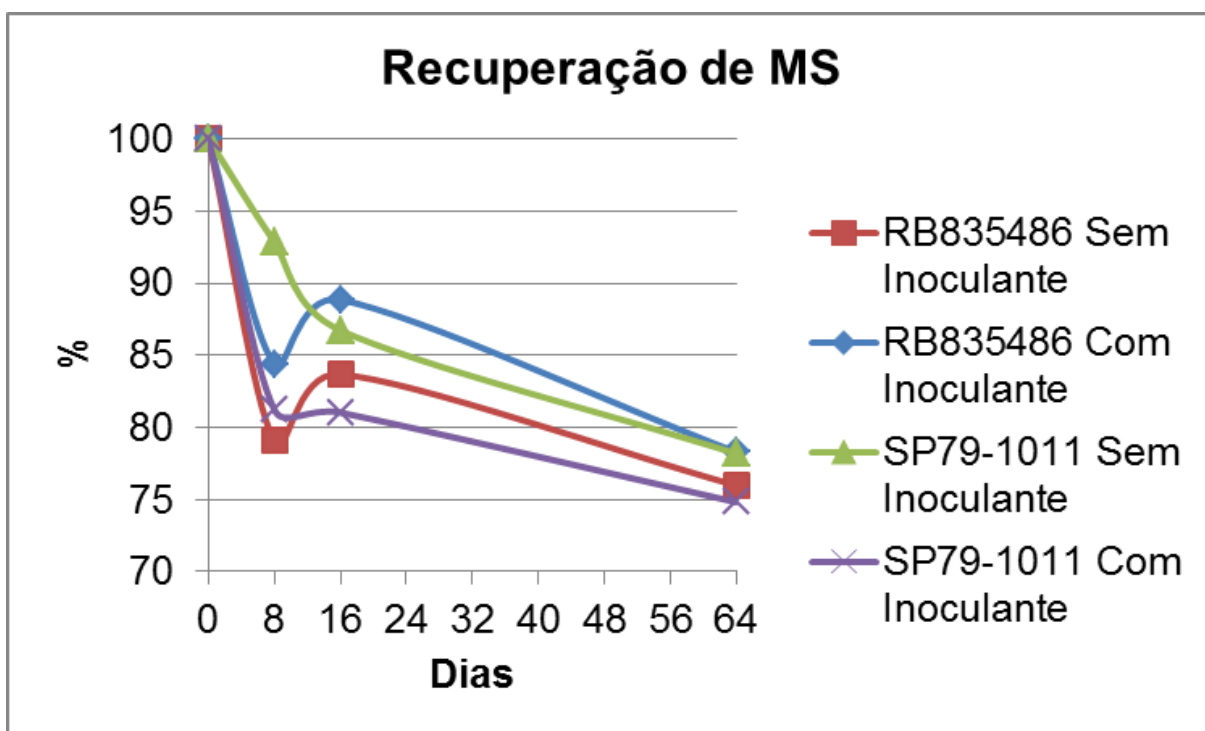


GRÁFICO 4. Recuperação de matéria seca.

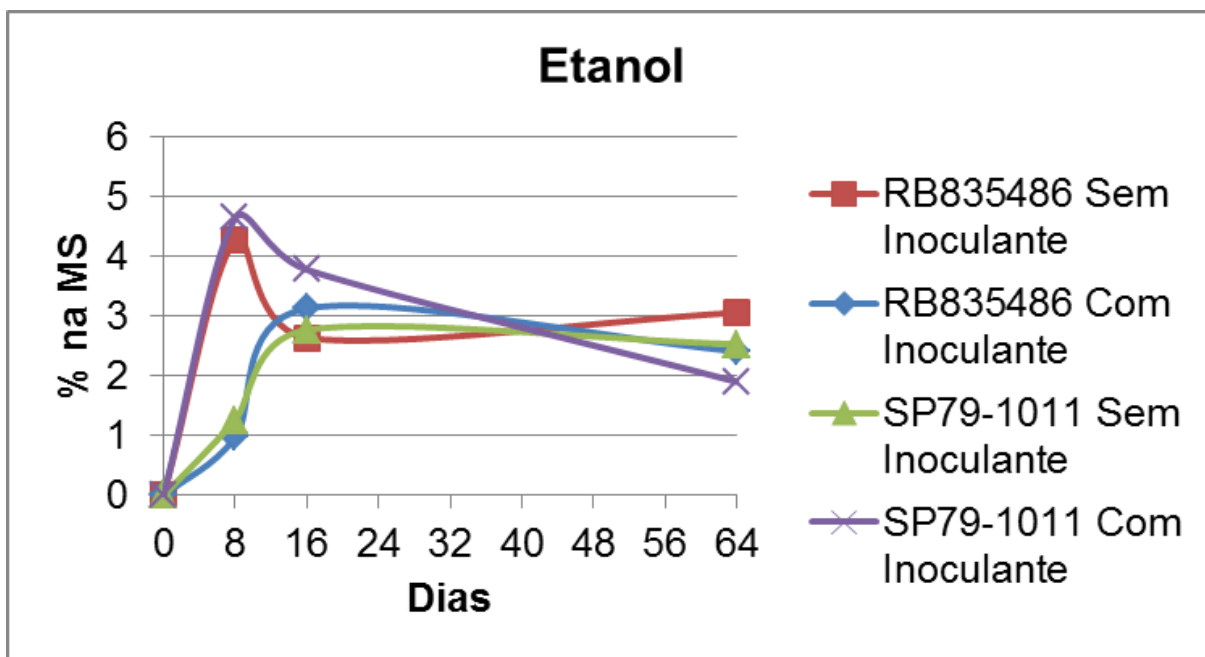


GRÁFICO 5. Teores de etanol.

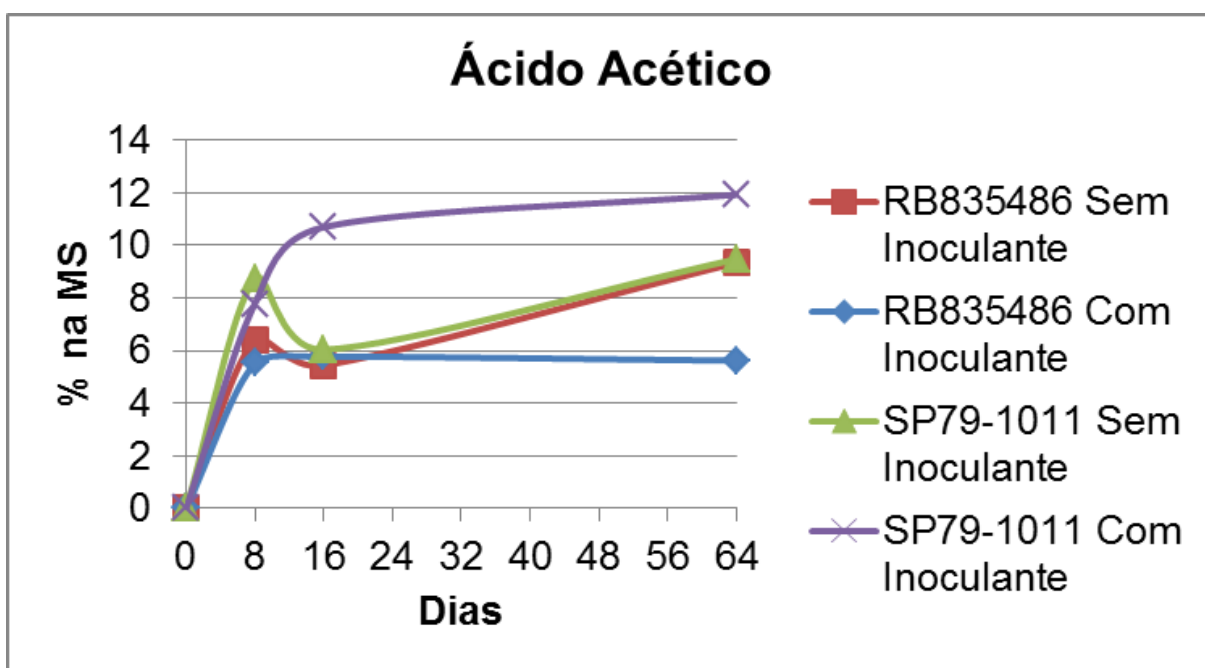


GRÁFICO 6. Teores de ácido acético.

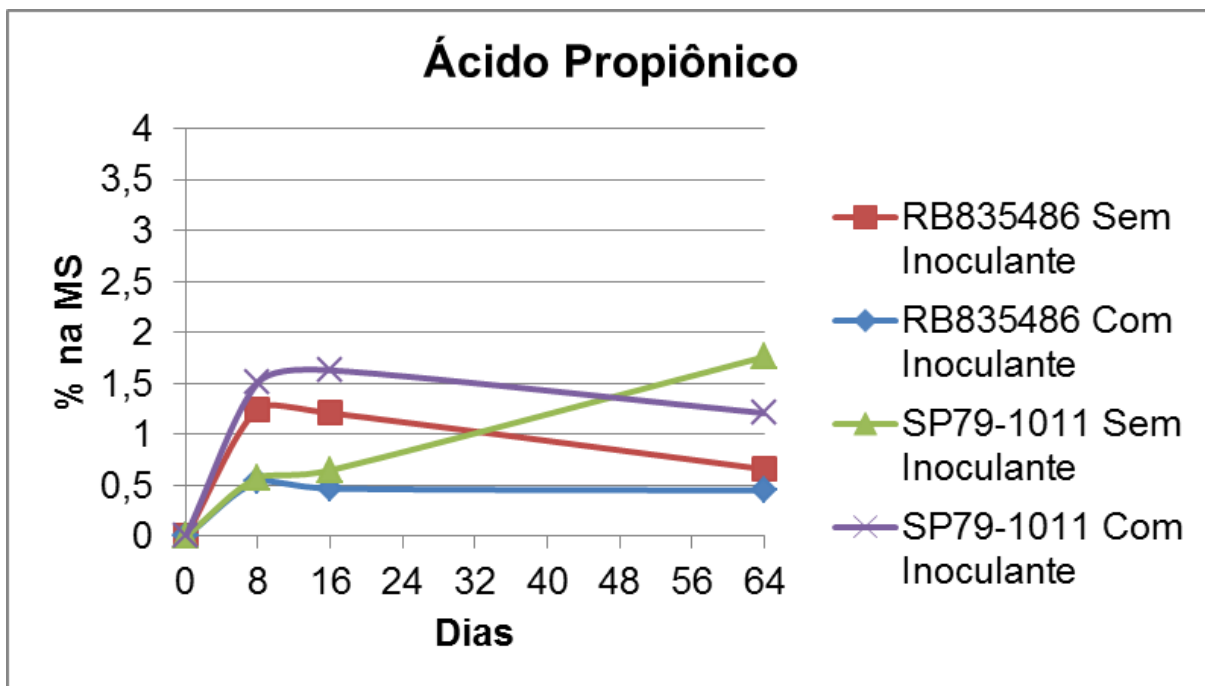


GRÁFICO 7. Teores de ácido propiônico.

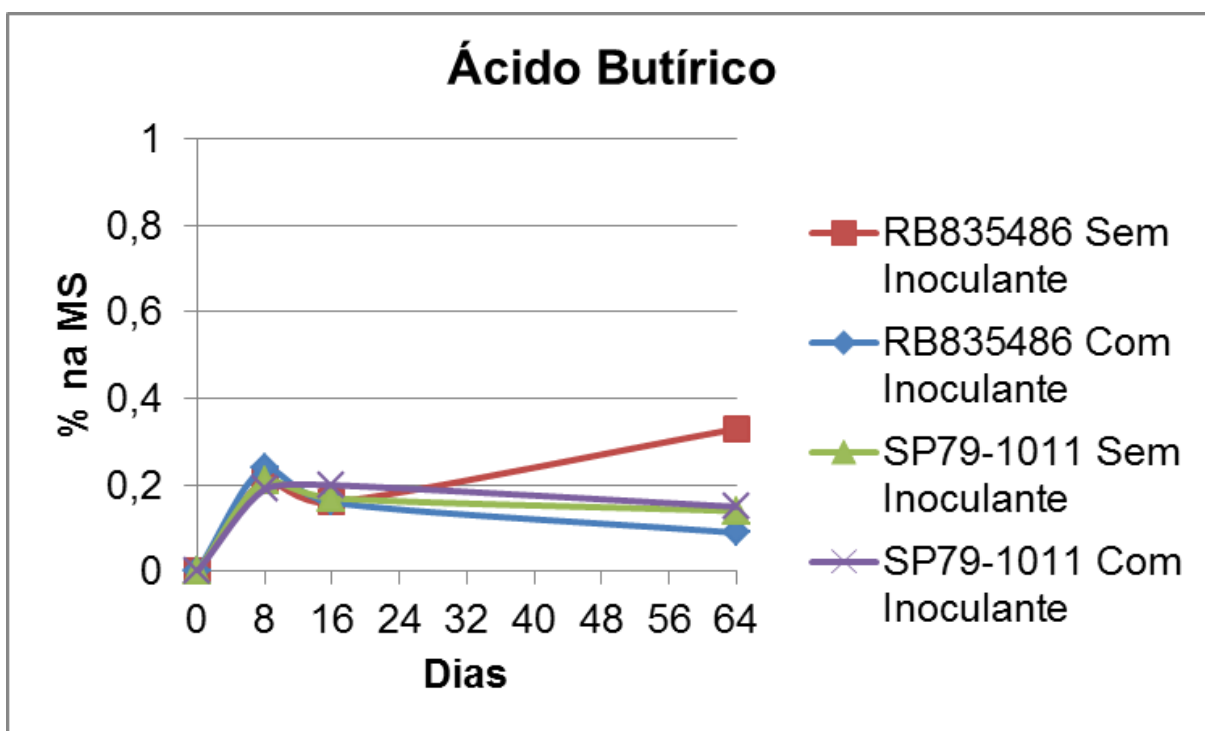


GRÁFICO 8. Teores de ácido butírico.

APÊNDICE D – Gráficos dos desdobramentos de variedades e inoculação ao longo dos tempos de estocagem referentes à composição bromatológica das silagens de cana-de-açúcar inoculadas com aditivo Sil All 4x4®.

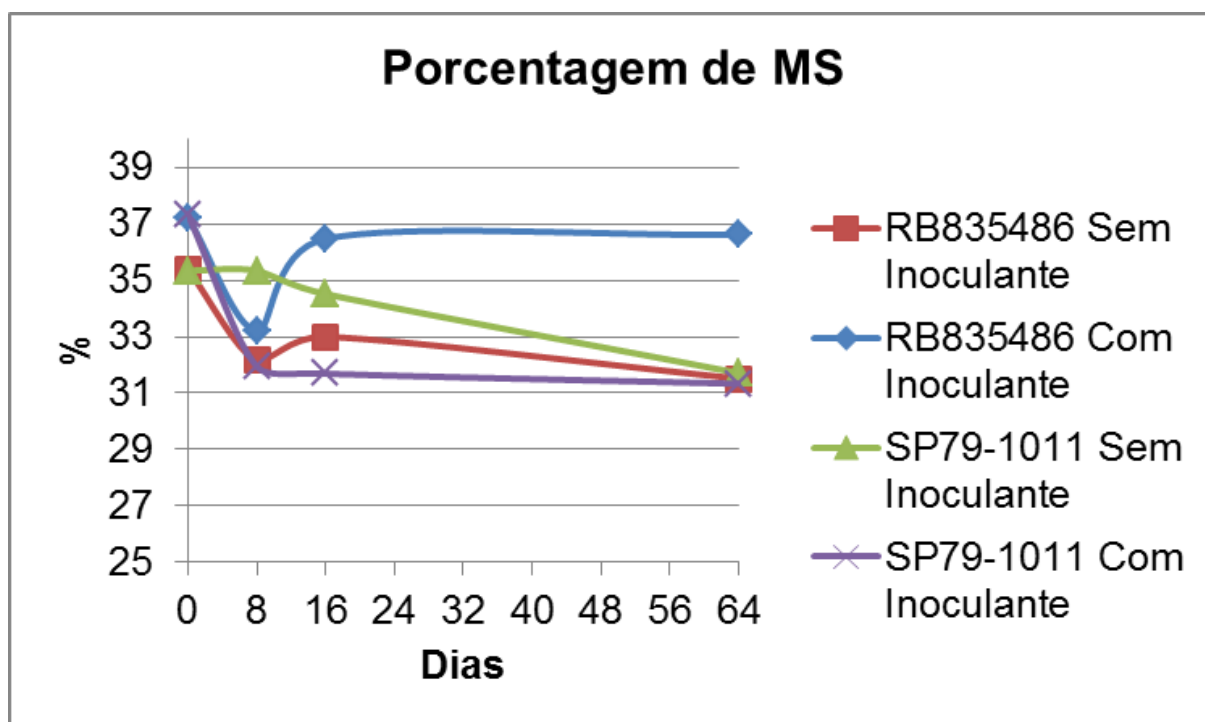


GRÁFICO 1. Porcentagens de matéria seca (MS).

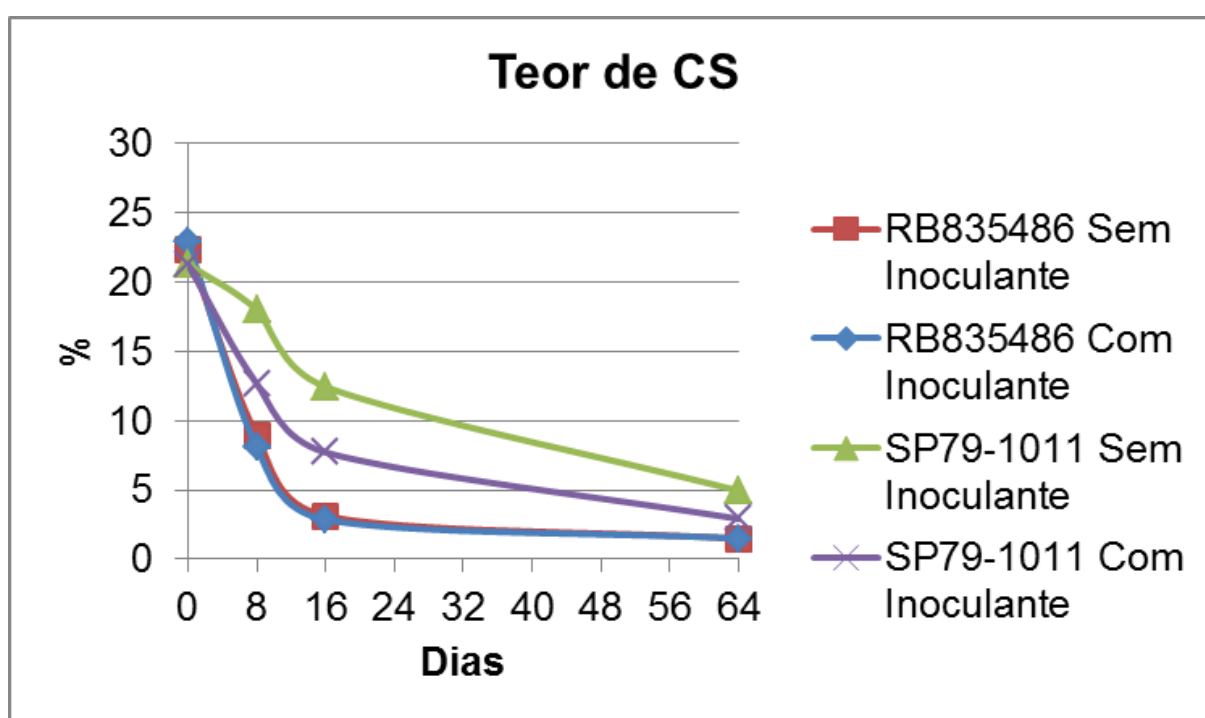


GRÁFICO 2. Teores de carboidratos solúveis (CS).

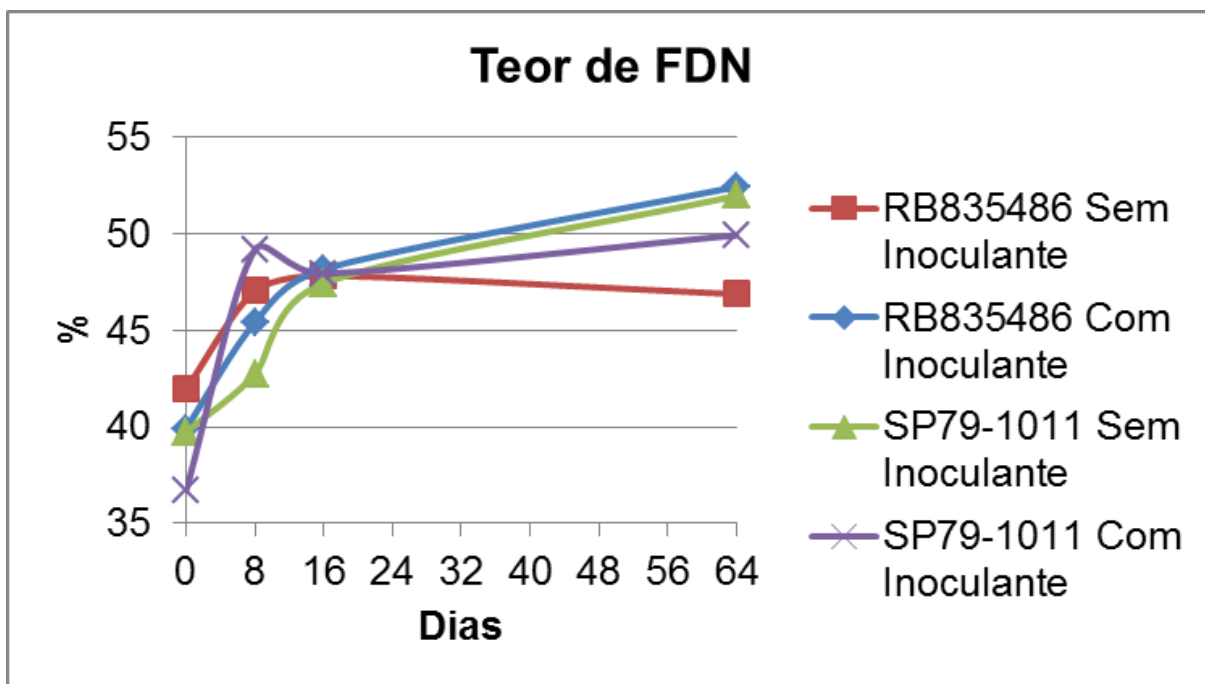


GRÁFICO 3. Teores de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN).

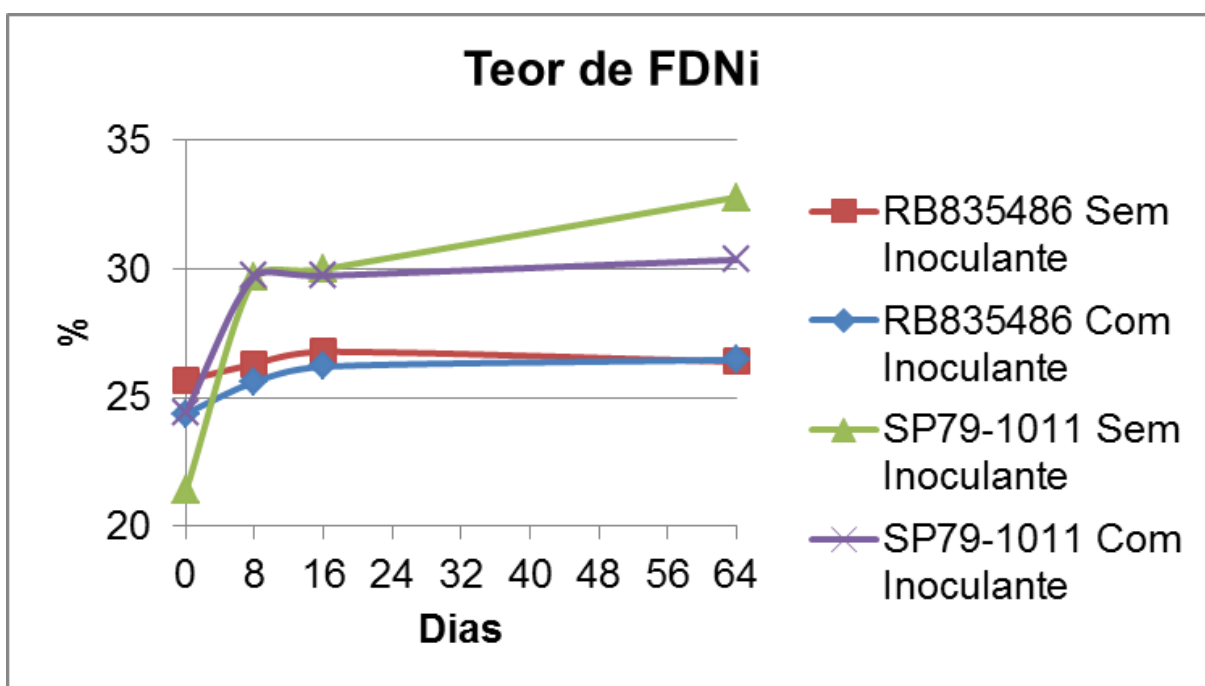


GRÁFICO 4. Teores de fibra insolúvel em detergente neutro indigestível (FDNi).

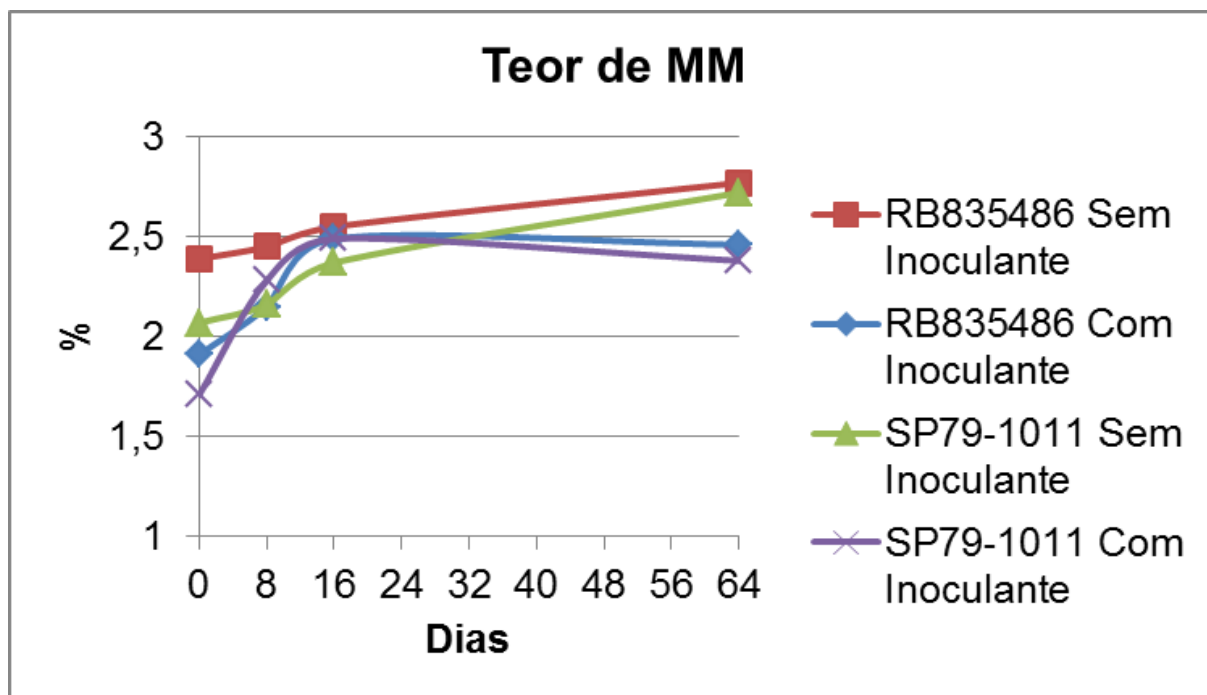


GRÁFICO 5. Teores de matéria mineral (MM).

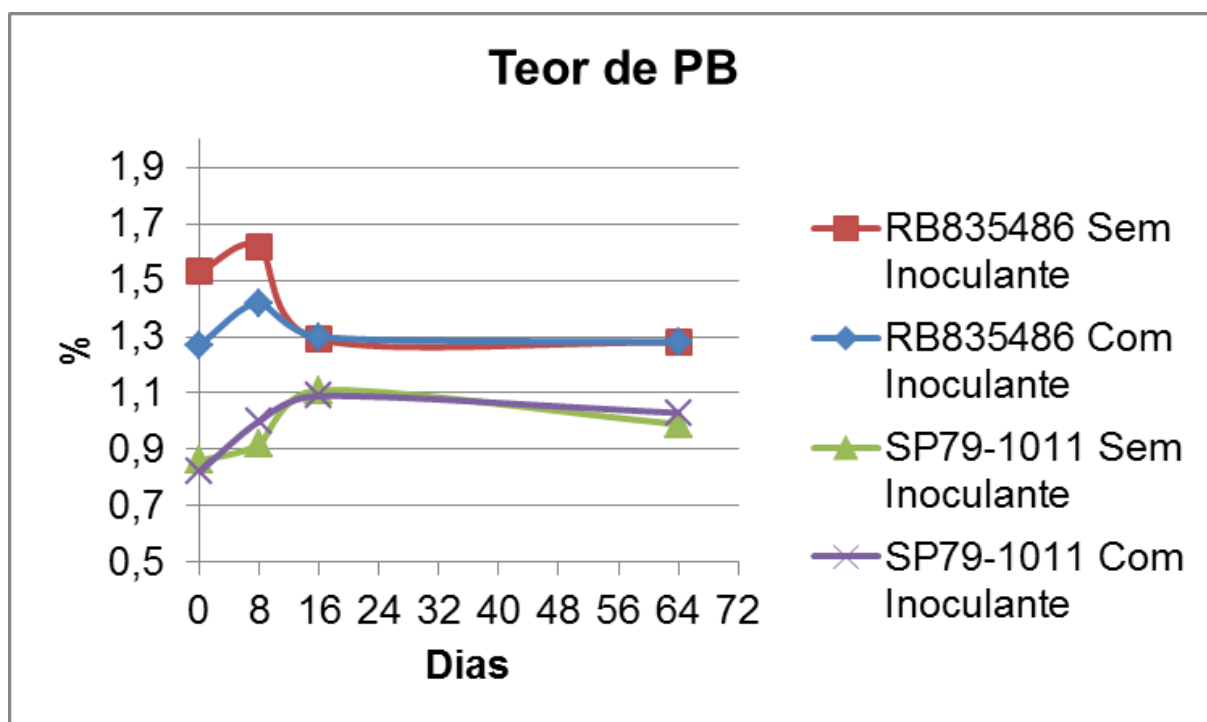


GRÁFICO 6. Teores de proteína bruta (PB).

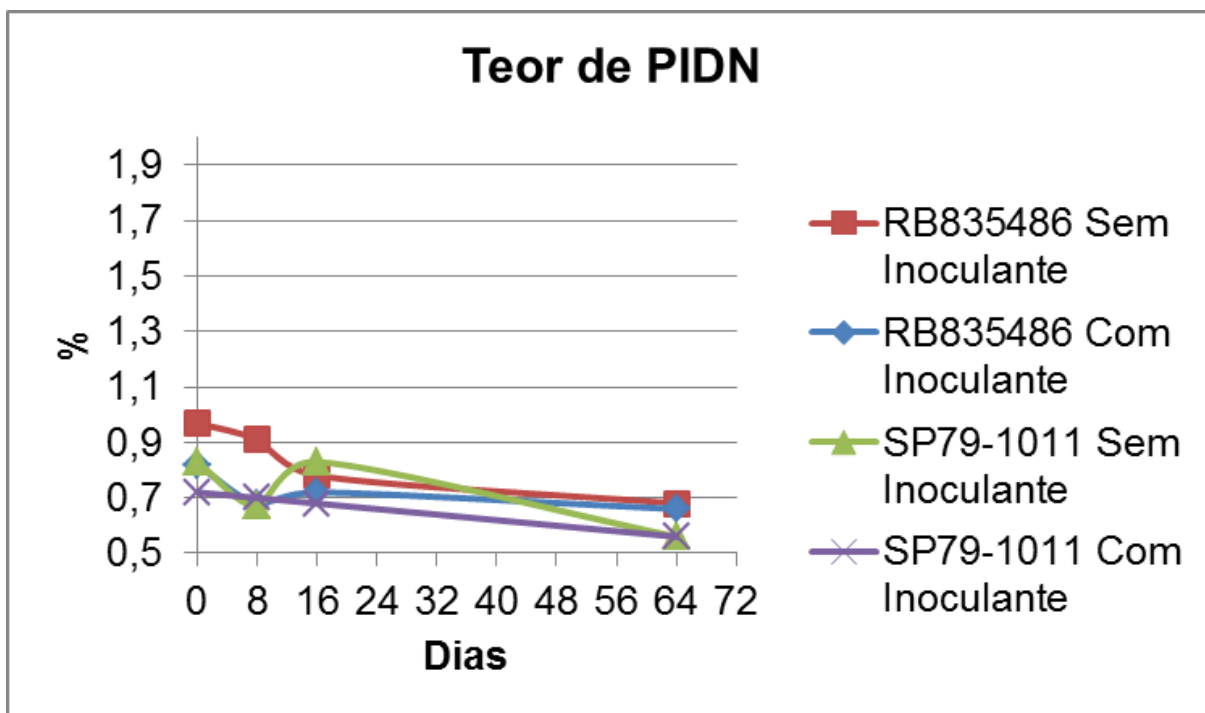


GRÁFICO 7. Teores de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN).

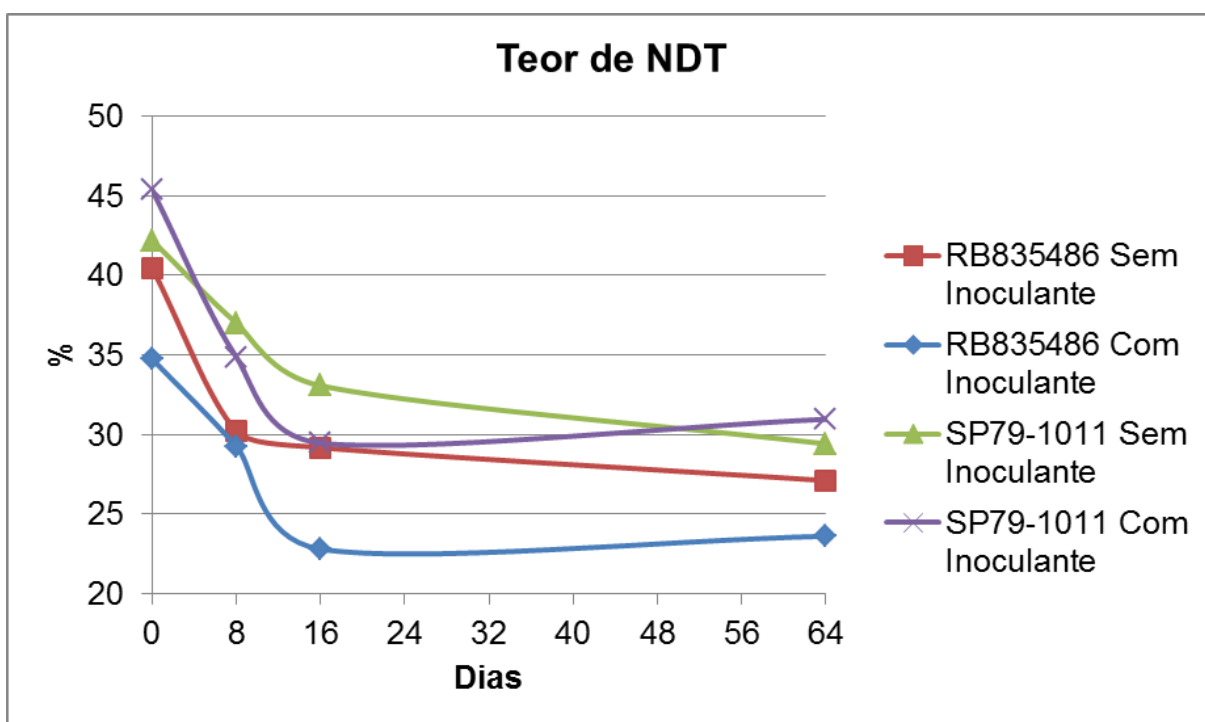


GRÁFICO 8. Teores de nutrientes digestíveis totais (NDT).

APÊNDICE E – Gráficos dos desdobramentos de variedades e inoculação ao longo dos tempos de estocagem referentes à digestibilidade de taxas de digestão de carboidratos das silagens de cana-de-açúcar inoculadas com aditivo Sil All 4x4®.

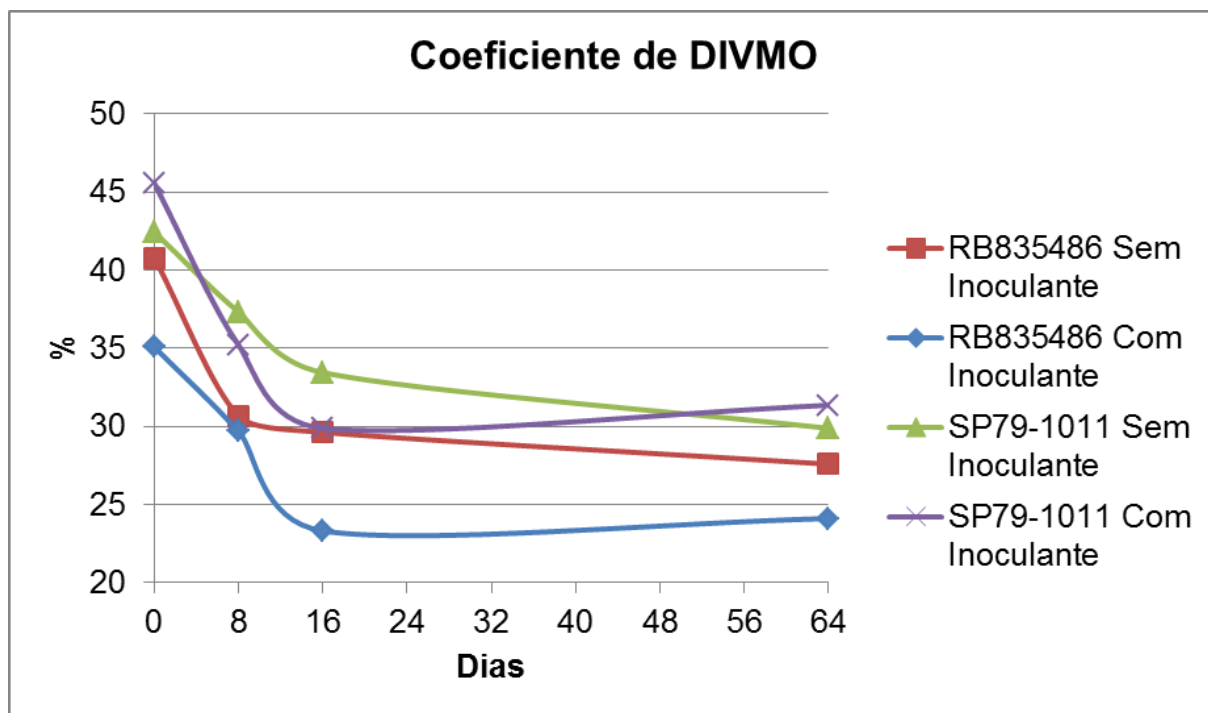


GRÁFICO 1. Coeficiente de digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO).

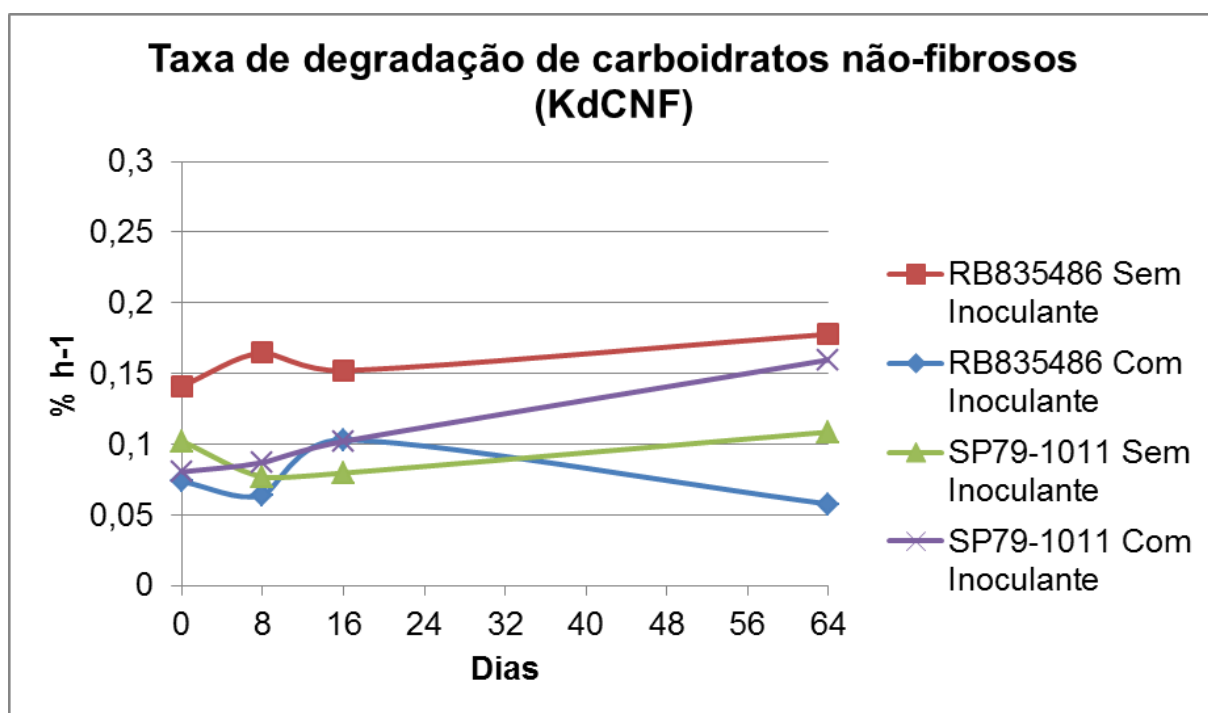


GRÁFICO 2. Taxa de degradação de carboidratos não-fibrosos (KdCNF).

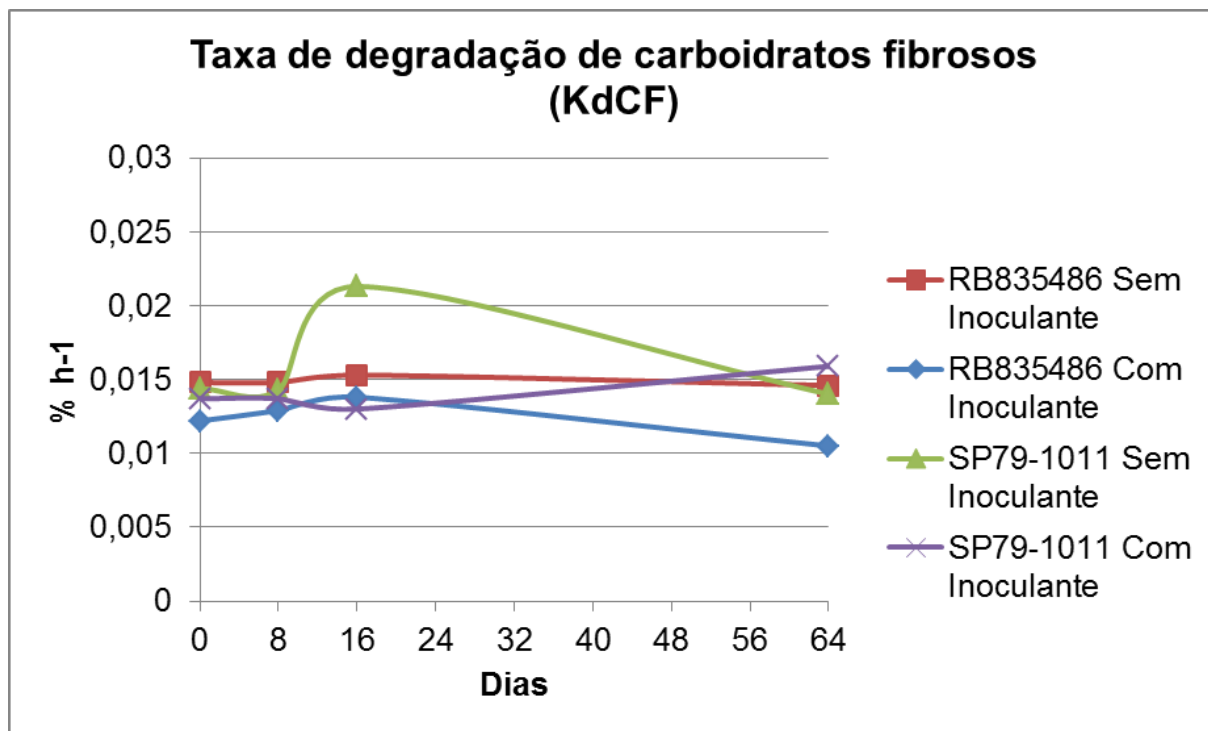


GRÁFICO 3. Taxa de degradação de carboidratos fibrosos (KdCF).