

**PERDA DE MATÉRIA SECA EM SILAGEM DE
CANA-DE-AÇÚCAR TRATADA COM
ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS**

DANIEL CÉSAR LEITE MIRANDA

2006

DANIEL CÉSAR LEITE MIRANDA

**PERDAS DE MATÉRIA SECA EM SILAGEM DE CANA-DE-
AÇÚCAR TRATADA COM ADITIVOS QUÍMICOS E
MICROBIOLÓGICOS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em produção de Ruminantes, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador
Prof. Marcos Neves Pereira

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Miranda, Daniel César Leite

Perdas de matéria seca em silagem de cana-de-açúcar tratada com aditivos
químicos e microbiológicos. – Lavras : UFLA, 2006.
74 p. : il.

Orientador: Marcos Neves Pereira.
Dissertação (Mestrado) - UFLA.
Bibliografia.

1. Silagem. 2. Cana-de- açúcar. 3. Matéria seca, 4. Nutrição animal. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-636.08552

DANIEL CÉSAR LEITE MIRANDA

**PERDAS DE MATÉRIA SECA EM SILAGEM DE CANA-DE-
AÇÚCAR TRATADA COM ADITIVOS QUÍMICOS E
MICROBIOLÓGICOS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em produção de Ruminantes, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 07 de Agosto de 2006

Prof. Gustavo Augusto de Andrade – UNIFENAS

Prof. Marcio Machado Ladeira – UFLA

Prof^a Nadja Gomes Alves – UFLA

**Prof. Marcos Neves Pereira.
UFLA
(Orientador)**

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL**

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	iii
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Valor nutritivo da cana-de-açúcar.....	3
2.2 Microbiologia na ensilagem da cana-de-açúcar.....	6
2.3 Composição química e valor nutritivo da silagem de cana-de-açúcar.....	12
2.4 Perda de nutrientes durante a ensilagem da cana-de-açúcar.....	14
2.5 Deterioração aeróbica de silagens.....	17
2.6 Aditivos na ensilagem de cana-de-açúcar.....	19
2.6.1 Aditivos microbianos.....	20
2.6.2 Aditivos químicos.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
3.1 Experimento 1.....	34
3.2 Experimento 2.....	38
3.3 Experimento 3.....	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5 CONCLUSÕES.....	66
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição bromatológica de cana-de-açúcar <i>in natura</i> e ensilada em diferentes estudos (MS = matéria seca, PB = proteína bruta, FDN = fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente ácido e DIVMS = digestibilidade <i>in vitro</i> da MS).....	14
Tabela 2: Matéria seca de silagens de cana-de-açúcar (% da MN) mensurada por secagem em estufa ventilada a 58°C por 72 horas e por posterior secagem a 100°C por 24 horas (MS100) ou por destilação da amostra com tolueno (MStol), diferença entre a MStol e a MS100 (DIF), porcentagem de FDN na MS100 (FDN) e pH. Os tratamentos foram formados pelo arranjo fatorial de quatro aditivos químicos e três aditivos microbiológicos, submetidos à quatro tempos de ensilagem.....	43
Tabela 3: Frequência de silagens de cana-de-açúcar anormais 77 dias após o enchimento e submetidas a um arranjo fatorial de quatro tratamentos químicos (Controle Químico, Cal, Sorbato e Uréia) com três microbiológicos (Controle Microbiológico, <i>L. Buchneri</i> e <i>L. plantarum</i>).....	45
Tabela 4: Características de nove mini-silos de PVC preenchidos com $1,900 \pm 0,093$ kg (média $\pm$ desvio padrão) de cana-de-açúcar <i>in natura</i> e ensilados por 767 dias.....	57
Tabela 5: Características de sessenta amostras de cana-de-açúcar no momento da ensilagem. As amostras foram ensiladas sem uso de aditivo (Cont), ou usando inóculos microbiológicos contendo <i>L. buchneri</i> (Buch) ou <i>L. plantarum</i> (Plant).....	59
Tabela 6: Características de sessenta amostras de cana-de-açúcar ensiladas por 40 dias. As amostras foram ensiladas sem uso de aditivo (Cont), ou usando inóculos microbiológicos contendo <i>L. Buchneri</i> (Buch) ou <i>L. plantarum</i> (Plant).....	61
Tabela 7: Aquecimento pós-abertura de silagens de cana-de-	

açúcar ensiladas por 77 dias e submetidas a quatro aditivos químicos (Controle Químico, Sorbato, Uréia e Cal) em arranjo fatorial de tratamentos com três aditivos microbiológicos (Controle Microbiológico, *L. buchneri*, *L. plantarum*). A temperatura das silagens foi mensurada 25 vezes a cada 6 horas e a temperatura ambiente foi mensurada a cada três silos..... 63

Tabela 8: Aquecimento pós-abertura de sessenta amostras de cana-de-açúcar ensiladas por 40 dias. As amostras foram ensiladas sem uso de aditivo (Cont), ou usando inóculos microbiológicos contendo *L. buchneri* (Buch) ou *L. plantarum* (Plant). A temperatura das silagens foi mensurada 14 vezes a cada 6 horas e a temperatura ambiente foi mensurada a cada três silos..... 65

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Efeito de aditivos químicos e aditivos microbiológicos sobre o pH de silagens de cana-de-açúcar após 7, 14, 28 e 77 dias de ensilagem. $P < 0,01$ para a interação entre o efeito de aditivo químico e o efeito do dia de abertura. $P > 0,70$ para o efeito de aditivo microbiológico e para a interação entre este efeito e o efeito do dia de abertura..... 44
- Figura 2: Teor de matéria seca determinada por secagem a 100°C (MS100) de silagens de cana-de-açúcar ensiladas por 7, 14, 28 e 77 dias e submetidas a quatro aditivos químicos (Controle Químico, Sorbato, Uréia e Cal) em arranjo fatorial de tratamentos com três aditivos microbiológicos (Controle Microbiológico ◆, *L. buchneri* ■, *L. plantarum* ▲). $P = 0,04$ para a interação entre aditivo químico, aditivo microbiológico e dia de abertura dos silos..... 49
- Figura 3: Efeito de aditivos químicos sobre o teor de FDN de silagens de cana-de-açúcar após 7, 14, 28 e 77 dias de ensilagem. $P < 0,01$ para a interação entre o efeito de aditivo químico e o efeito do dia de abertura. FDN no Controle Químico (% da MS100) = $70,444 + 3,0767 (\text{Ln dia})$, $r^2 = 0,87$. FDN no Sorbato (% da MS100) = $60,669 + 5,22217 (\text{Ln dia})$, $r^2 = 0,87$. FDN na Uréia (% da MS100) = $66,495 + 3,9082 (\text{Ln dia})$, $r^2 = 0,89$. FDN na Cal (% da MS100) = $68,293 - 0,0431 \text{ dia} + 0,0013 \text{ dia}^2$, $r^2 = 0,99$ 53
- Figura 4: Teor de MS determinado por destilação em tolueno subtraída da MS determinada por desidratação em estufa (DIF) em silagens de cana-de-açúcar. As forragens foram ensiladas por 7, 14, 28 e 77 dias e submetidas a quatro aditivos químicos (Controle Químico, Sorbato, Uréia e Cal) em arranjo fatorial de tratamentos com três aditivos microbiológicos (Controle Microbiológico, *L. buchneri*, *L. plantarum*). $P = 0,04$ para a interação entre o efeito de aditivo químico e o efeito de aditivo microbiológico..... 55

Figura 5: Teor de MS determinado por destilação em tolueno (MStol) em silagens de cana-de-açúcar. As forragens foram ensiladas por 7, 14, 28 e 77 dias e submetidas a quatro aditivos químicos (Controle Químico, Sorbato, Uréia e Cal) em arranjo fatorial de tratamentos com três aditivos microbiológicos (Controle Microbiológico, *L. buchneri*, *L. plantarum*). $P=0,01$ para a interação entre o efeito de aditivo químico e o efeito de aditivo microbiológico..... 56

RESUMO

Miranda, Daniel César Leite. **Perdas de matéria seca em silagem de cana-de-açúcar tratada com aditivos químicos e microbiológicos**. 2006. 74p Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

A cana-de-açúcar é uma opção forrageira para a alimentação de bovinos, já que tem alto potencial de produção de matéria seca, de alto conteúdo energético, por hectare. A colheita concentrada da cana para ensilagem pode ser uma alternativa ao manejo alimentar tradicional de colheita diária da forrageira fresca. A ensilagem pode facilitar o manejo do rebanho, permite a utilização da forragem na estação chuvosa do ano, e maximiza a eficiência dos tratos culturais, dentre outras vantagens. Entretanto, conseqüências da fermentação alcoólica da cana são a alta perda de sacarose e a baixa estabilidade aeróbica da silagem descarregada. O Experimento 1 avaliou o uso de aditivos químicos e microbiológicos na ensilagem da cana. Amostras da forragem ao redor de 9 kg foram ensiladas em baldes de 20l. Um arranjo fatorial 4x3 de tratamentos foi adotado. Aditivos químicos: Controle, sorbato de potássio (0,05% da matéria natural, MN), uréia (1% da MN) e cal hidratada (1% da MN). Aditivos microbiológicos: Controle, *L. plantarum* e *L. buchneri* (ambos a 1×10^6 ufc/g de MN). Cada uma das doze possíveis combinações de tratamentos foi replicada seis vezes em cada dia de abertura dos silos: 7, 14, 28 e 77 dias após a ensilagem. Não houve efeito de tratamento sobre o aquecimento por 126 horas da silagem descarregada ($P>0,13$). A inclusão de cal reduziu o teor de FDN de 79,9% da MS para 69,2% ($P<0,01$). Tanto a uréia quanto a cal aumentaram o pH da silagem, sendo o aumento mais marcado no dia 77 ($P<0,01$ para a interação entre aditivo químico e dia de abertura). Este maior pH foi associado à ocorrência de 39% de silagens com fermentação clostrídica no tratamento uréia e 56% no tratamento cal, apenas no dia 77 de abertura dos silos ($P<0,01$, Chi-Quadrado). A associação de sorbato com os inoculantes microbiológicos aumentou o teor de MS aos 7 e aos

¹ **Orientador:** Prof. PhD. Marcos Neves Pereira – UFLA. **Comitê de Orientação:** Prof. Dr. João Chrysóstomo de Resende Júnior – UFLA e Prof^a Dra. Suely Fátima da Costa – UFLA.

77 dias de ensilagem, enquanto a associação de uréia com os inoculantes só atuaram positivamente sobre o teor de MS aos 77 dias ($P=0,04$ para a interação entre aditivo químico, aditivo microbiológico e dia de abertura). O Experimento 2 avaliou a perda na massa de nutrientes, ao longo de 767 dias de ensilagem, de 9 amostras de 1,9 kg de cana pura. O teor de FDN aumentou de 47,0% da MS para 68,7%. A perda de nutrientes, proporcionalmente ao original, foi: 32,8% para a MS em tolueno, 44,1% para a MS a 100°C, 18,3% para a FDN e 67,0% para a MS não-FDN. O Experimento 3 avaliou a perda na massa de nutrientes e o aquecimento pós-abertura de 60 amostras de 7,9 kg de cana ensiladas por 40 dias. Os três tratamentos foram: Controle, *L. plantarum* (1×10^6 ufc/g de MN) e *L. Buchneri* ($6,6 \times 10^5$ ufc/g de MN). A ensilagem aumentou o teor de FDN da cana ensilada de 47,5% da MS para 70,5%. Em média, a perda nas massas de nutrientes foi: 23,9% para a MS em tolueno, 34,0% para a MS a 100°C, 1,9% para a FDN e 62,9% para a MS não-FDN. Enquanto o *L. plantarum* reduziu, o *L. buchneri* aumentou a perda de MS a 100°C ($P<0,05$), apesar da magnitude biológica do efeito ter sido pequena ($\pm 1,6$ unidades percentuais). Não foi detectado efeito de tratamento sobre o aquecimento das silagens após a abertura dos silos. A ensilagem da cana induziu a um aumento significativo no teor de FDN da forragem fresca e a uma alta perda de nutrientes. A associação entre sorbato de potássio e inoculantes microbianos melhorou a ação tanto dos microorganismos homo quanto dos heterofermentativos. Entretanto, o efeito dos inoculantes microbianos sobre a perda e o teor de matéria seca foi pequeno. O uso da uréia não se mostrou promissor. O uso de cal, em cana ensilada por períodos inferiores a 28 dias, pode ser uma maneira de reduzir o teor de fibra do alimento. O uso de aditivos capazes de aumentar o pH, por períodos prolongados de ensilagem, pode aumentar o risco de ocorrência de fermentação clostrídica da cana.

ABSTRACT

Miranda, Daniel César Leite. **Dry matter loss in sugarcane silage treated with chemical and microbiological additives.** 2006. 74p
Dissertation (Master in Animal Science) – Federal University of Lavras, Lavras.¹

Sugarcane is a viable forage for feeding bovine, since it has a high potential for producing dry matter, of high energy content, per hectare. The concentrated harvesting of the sugarcane for ensilaging may be an alternative to the traditional feeding management of daily harvesting fresh forage. The ensilaging may facilitate the management of the herd, allows the use of the forage during the rainy season of the year, and maximize the efficiency of cultural practices, among other advantages. However, consequences of the alcoholic fermentation of the sugarcane are the high sucrose loss and the low aerobic stability of the unloaded silage. Experiment 1 evaluated the use of chemical and microbiological additives in sugarcane silage. Around 9 kg forage samples were ensiled in 20 l buckets. A 4x3 factorial arrangement of treatments was adopted. Chemical additives: Control, potassium sorbate (0.05% of fresh weight, FW), urea (1% of FW) and calcium hydroxide (1% of FW). Microbiological additives: Control, *L. plantarum* and *L. buchneri* (both at 1×10^6 cfu/g of FW). Each one of the twelve possible combinations of treatments was replicated six times in each day of silage opening: 7, 14, 28 and 77 after ensilaging. There was no treatment effect on the 126-hour heating of the unloaded silage ($P>0.13$). The inclusion of calcium hydroxide reduced the NDF content from 79.9% of DM to 69.2% ($P<0.01$). Both urea and calcium hydroxide increased silage pH, being the increase more accentuated on day 77 ($P<0.01$ for the interaction between chemical additive and day of opening). This increased pH was associated to the occurrence of 39% of silages with clostridial fermentation in the urea treatment and 56% in the calcium hydroxide treatment, only during

¹ **Adviser:** Prof. PhD. Marcos Neves Pereira – UFLA. **Committee of Orientation:** Prof. Dr. João Chrysóstomo de Resende Júnior – UFLA e Prof^a Dra. Suely Fátima da Costa – UFLA.

day 77 of silo opening ($P < 0.01$, Chi-Square). The association of sorbate with microbiological additives increased the DM content at 7 and 77 days of ensilaging, while the urea association with inoculum had a positive action only on day 77 ($P = 0.04$ for the interaction among chemical additive, microbiological additive and day of opening). Experiment 2 evaluated the loss in nutrient mass, along 767 days of ensilaging, of nine 1.9 kg pure sugarcane samples. The NDF content increased from 47.0% of DM to 68.7%. Silage loss, proportionally to the original, was: 32.8% for toluene DM, 44.1% for oven DM, 18.3% for NDF and 67.0% for the non-NDF DM. Experiment 3 evaluated the loss of nutrient mass and the heating following unloading of sixty 7.9 kg sugarcane samples ensiled for 40 days. The three treatments were: Control, *L. plantarum* (1×10^6 cfu/g of FW) or *L. buchneri* (6.6×10^5 cfu/g of FW). The ensilaging increased the sugarcane NDF content from 47.5% of DM to 70.5%. On average, the losses in nutrient mass were: 23.9% for toluene DM, 34.0% for oven DM, 1.9% for NDF and 62.9% for the non-NDF DM. While *L. plantarum* reduced, *L. buchneri* increased the loss of 100°C DM loss ($P < 0.05$), in spite of the small biological magnitude of the effect (± 1.6 percentage units). It was not detected a treatment effect on silage heating following unloading. The ensilaging of the sugarcane induced a significant increase in NDF content of the fresh forage and a high nutrient loss. The association between potassium sorbate and microbial inoculum improved the action of homo as well as heterofermentative microorganisms. However, the effect of microbial inoculants on DM loss and content was small. The use of urea was not promising. The use of calcium hydroxide in sugarcane ensiled for less than 28-day periods, may be a way to reduce the fiber content of the feed. The use of additives capable of increasing pH, during prolonged periods of ensilaging, may increase the risk of occurring clostridial fermentation of the sugarcane.

1 INTRODUÇÃO

O alimento cana-de-açúcar é capaz de conciliar a alta capacidade de produção de matéria seca por hectare ao alto conteúdo energético por unidade de matéria seca produzida. O máximo valor nutritivo da forrageira é obtido no período seco do ano, aquele no qual a planta apresenta o maior conteúdo de sacarose. Como o alto valor nutritivo se mantém por período relativamente longo de tempo, a opção de utilização da cana em sistema de corte diário para suplementação *in natura*, no período da seca de escassez de pastagens, tem sido a forma prevalente de utilização da forrageira na criação de bovinos.

Apesar da utilização da cana fresca ser uma alternativa eficiente de utilização, a ensilagem pode apresentar vantagens em casos específicos. O corte diário ou quase diário dificulta, ou mesmo inviabiliza, a utilização da cana em fazendas que trabalham com alto número de animais. A ensilagem também permite a colheita de grandes áreas em curto espaço de tempo, diminuindo o tempo de uso de mão-de-obra para colheita, o que pode facilitar o manejo da fazenda.

A ensilagem da cana colhida na seca pode ser uma opção para fazendas onde se deseja utilizar a forrageira durante todo ano, um acréscimo ao uso tradicional apenas no período seco do ano. O corte concentrado da cana na seca também aumenta a eficiência de aplicação de tratamentos culturais necessários para a obtenção de alta produtividade e longevidade dos canaviais. Canaviais acometidos por queima acidental ou por forte geada também poderiam ser ensilados rapidamente, antes que apresentassem queda acentuada no valor nutritivo. A ensilagem também propicia a compra ou venda de forragem sem a necessidade de colheita e transporte ao longo do período de utilização do alimento, além de propiciar a armazenagem do excesso de produção da seca,

visando a obtenção de rebrota vigorosa da mesma área na estação seca subsequente.

Apesar de existirem vantagens potenciais, a ensilagem da cana-de-açúcar apresenta alguns inconvenientes. No processo fermentativo da sacarose, conduzido majoritariamente por leveduras, pode ocorrer perda acentuada de matéria seca e de valor nutritivo, devido à conversão de açúcares em etanol, CO₂ e água. A perda de matéria seca por deterioração aeróbica após a abertura do silo também pode ser alta.

Aditivos químicos e microbiológicos podem ser utilizados para manipular o perfil fermentativo de silagens, a perda de matéria seca e a estabilidade aeróbica (Muck & Kung Jr., 1997). O ácido sórbico, na forma de sorbato de potássio, tem sido utilizado como inibidor de leveduras pela indústria alimentícia. A adição de base forte e a conversão de uréia em amônia no silo também podem atuar benéficamente sobre a ensilagem da cana. Bactérias homofermentativas e heterofermentativas também podem ter ação favorável sobre a silagem.

No Experimento 1, o objetivo foi avaliar os teores de matéria seca e fibra e o aquecimento pós-abertura de silagens de cana-de-açúcar tratadas com os aditivos químicos uréia, cal e sorbato de potássio, e os aditivos microbiológicos *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus buchneri*. A associação entre estes aditivos químicos e os aditivos microbiológicos foi avaliada por um arranjo fatorial entre estes dois efeitos. No Experimento 2, foi avaliada a perda de matéria seca em uma amostra de cana ensilada *in natura* por aproximadamente dois anos. No Experimento 3, a ação dos aditivos microbiológicos foi avaliada utilizando dosagens dos inoculantes recomendadas pelos fabricantes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Valor nutritivo da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma forrageira capaz de promover produtividades animais eficientes em regiões tropicais devido a algumas características principais: (i) alcance de máximo valor nutritivo durante o período seco do ano; (ii) manutenção da alta digestibilidade por período relativamente longo de tempo; (iv) alta capacidade de produção de matéria seca e de energia por unidade de área em um único corte anual; (v) possibilidade de se obter baixo custo por tonelada de MS; e (vi) por conter baixo teor de Fibra em Detergente Neutro (FDN), sinônimo de alto conteúdo de Carboidratos não-Fibrosos (CNF).

Andrade et al (2004) avaliaram a composição química de 60 genótipos de cana-de-açúcar Planta (24 cultivares e 36 clones) e detectaram que o teor médio de FDN foi 49,1% da MS aos 12 meses de crescimento vegetativo, sendo que 33% do material estudado apresentou teor de FDN inferior a 45%. A média de teor de FDN em 60 híbridos de milho cultivados no sul do estado de Minas Gerais foi 54,5% (Fonseca et al, 2002) e a média de 18 híbridos de sorgo foi 50,3% (Resende et al, 2003), evidenciando o potencial da cana-de-açúcar como forrageira de alto conteúdo energético.

Apesar do seu alto potencial como recurso forrageiro, a cana-de-açúcar apresenta deficiências nutricionais. O baixo teor de nitrogênio na planta pode ser um sério limitante à digestibilidade da cana *in natura*. Entretanto, suplementar nitrogênio na forma de proteína verdadeira ou nitrogênio não-protéico é uma prática nutricional corriqueira. Costa (2002) avaliou o efeito da concentração ruminal de amônia sobre a digestibilidade da fibra da cana. Foi observado ganho em digestão da fração fibrosa ao redor de 30% quando a concentração de amônia

no fluído ruminal foi aumentada de 3,4 para 12,6 mg/dL. Ainda neste estudo, o ordenamento dos cultivares pelo valor da degradabilidade da fibra e da MS foi similar em ambientes ruminais caracterizados por alto pH e baixa amônia ou por baixo pH e alta amônia, mostrando que o potencial de digestão do genótipo de cana é mantido em ambientes ruminais distintos.

O teor de minerais, à exceção do potássio, e de ácidos graxos de cadeia longa, também é irrisório nesta forrageira. Entretanto, estes nutrientes, assim como em relação ao nitrogênio, são facilmente suplementáveis. Como alimento, a cana-de-açúcar pode ser considerada uma fonte de carboidratos para a dieta animal.

Quimicamente, os CNF da cana são representados quase que exclusivamente por sacarose, mas também por pequena quantidade de amido, glicose e frutose (Barnes, 1974). A fração CNF da cana-de-açúcar apresenta alta digestibilidade aparente no trato digestivo total. Corrêa et al (2003) observaram que a digestibilidade da Matéria Seca não-FDN (MSnFDN) foi 79,8% em uma dieta com cana e de 75,0% em uma dieta isonutricional formulada com a mesma inclusão dietética de silagem de milho, mostrando que a digestibilidade dos CNF da cana pode ser superior à do milho. Andrade (1999) observou resposta similar quando a FDN dietética oriunda de cana-de-açúcar foi substituída pelo mesmo teor dietético de FDN oriunda de silagem de milho na dieta de novilhas Holandesas.

Entretanto, a digestibilidade da FDN na cana-de-açúcar é inferior a digestibilidade da FDN em outras gramíneas tropicais. A digestibilidade da FDN da cana é normalmente de 20 a 25%, enquanto a digestibilidade da FDN na silagem de milho é praticamente o dobro (Andrade, 1999; Corrêa et al, 2003). Na cana-de-açúcar, a digestibilidade da FDN no trato digestivo total é similar à

degradabilidade da FDN no rúmen (Costa, 2002), mostrando que eventos ruminais são decisivos para a digestão deste alimento.

Teixeira (2004) avaliou quais características químicas e agronômicas seriam determinantes do valor nutritivo de 20 clones de cana-de-açúcar. Não houve correlação entre o teor de lignina e as estimativas *in situ* da degradabilidade ruminal da FDN e da MS. O teor de lignina na cana, ao redor de 6% da MS (Teixeira, 2004), é inferior ao observado na alfafa, ao redor de 8% (NRC, 2001); o que demonstra que este componente químico não constitui, isoladamente, uma explicação para a baixa digestibilidade da FDN nesta forrageira (Akin & Robson, 1982). Teixeira (2004) observou que o teor de fibra na planta foi a variável mais correlacionada à degradabilidade da MS no rúmen, e modelos contendo o comprimento e a porcentagem de colmo na planta, além do teor de fibra, foram efetivos como explicação matemática para a degradabilidade. Canas com baixo teor de fibra, colmos curtos e alta relação entre colmos e folhas foram melhor digeridas. Neste trabalho, também foi evidenciado que a correlação entre digestibilidade e produtividade é baixa na cana, mostrando que a seleção para alta digestibilidade não requer que o valor da produtividade seja penalizado. Melhoramento genético para digestibilidade é plausível na cana-de-açúcar, já que a característica é de alta herdabilidade (Teixeira, 2004) e existe variabilidade para a característica na população (Costa, 2002; Teixeira, 2004).

A ensilagem da cana pode minimizar algumas limitações da colheita diária ou quase diária da cana nos estádios vegetativos onde a planta apresenta alto conteúdo de sacarose, normalmente durante o período seco do ano nas regiões centrais do Brasil. Quando a produção de leite é em larga escala, a colheita diária da cana pode ser difícil do ponto de vista operacional. O corte ao longo do período seco do ano também dificulta a adoção de tratamentos culturais

condizentes com a obtenção de alta produtividade na cultura, comparativamente ao corte em curto espaço de tempo para ensilagem. Do ponto de vista fisiológico, um fator limitante ao uso da cana-de-açúcar fresca durante todo o ano é a queda no teor de carboidratos solúveis (CHO-sol) durante a época das águas (Landell et al, 2002). Em fazendas leiteiras onde o rebanho é continuamente suplementado com forrageiras, a ensilagem da cana colhida na seca pode ser uma alternativa para prover alimento de bom valor nutritivo e com alta taxa de lotação animal ao longo do ano. Portanto, a determinação das perdas durante a ensilagem, tanto de matéria seca quanto de valor nutritivo, merecem ser avaliadas.

2.2 Microbiologia na ensilagem da cana-de-açúcar

A ensilagem é um método de preservação de forragens baseado na acidificação resultante de algum processo fermentativo (McDonald et al, 1991). A ensilagem clássica é baseada em bactérias ácido-láticas (BAL) que convertem CHO-sol em ácidos orgânicos, principalmente ácido láctico, sob condições anaeróbicas. Como resultado, observa-se queda do pH e conseqüente controle do desenvolvimento de microorganismos indesejáveis e redução no metabolismo celular nos tecidos da planta colhida. Para fins de ensilagem, a cana-de-açúcar pode ser considerada uma boa alternativa, por possuir conteúdo relativamente alto de MS, baixa capacidade de tamponamento e teores adequados de CHO-sol.

Entretanto, uma diferença importante entre a cana-de-açúcar e outras forrageiras tradicionalmente utilizadas para ensilagem, como o milho e o sorgo, é a natureza química dos seus CHO-sol. A cana-de-açúcar apresenta alto teor de CNF na forma de sacarose, um dissacarídeo constituído por glicose e frutose.

Este tipo de carboidrato parece favorecer o desenvolvimento de leveduras durante a ensilagem (Woolford, 1984). Leveduras aparentemente convertem a sacarose em etanol, CO₂ e água, um exemplo típico de fermentação alcoólica; bioquimicamente distinta da fermentação láctica conduzida por BAL a partir de outros carboidratos, especialmente a partir de amido.

Uma consequência inevitável de qualquer processo de ensilagem é a redução no teor de CHO-sol da forrageira e a consequente concentração dos componentes fibrosos, resultando em alguma perda de MS tanto por respiração celular quanto por metabolismo microbiano (McDonald et al, 1991).

A microbiota da silagem é importante para o sucesso do processo de conservação. A microbiota pode ser dividida em dois grupos distintos: microorganismos desejáveis e indesejáveis. Os microorganismos desejáveis são as BAL. Os indesejáveis são aqueles que são ineficientes na conservação da forragem por sua baixa capacidade (ou mesmo a incapacidade) de acidificar o meio, apresentando alto consumo de nutrientes (leveduras, clostrídios e enterobactérias) ou deterioração aeróbica (leveduras, fungos, bacilos e *Listeria*). Muitos destes microorganismos não só diminuem o valor nutritivo da silagem, como também podem ser prejudiciais à saúde animal e/ou qualidade do leite (Seglar, 2003; Thuault et al, 1991).

Durante a ensilagem, os microorganismos capazes de crescer em meio anaeróbio (BAL, enterobactérias, clostrídios, alguns *Bacillus* spp. e leveduras) se desenvolvem e competem pelos nutrientes disponíveis. Assim, as mudanças ocorridas nos primeiros dias após a ensilagem são críticas para o sucesso da fermentação subsequente. Em condições favoráveis, com o teor de MS ao redor de 30%, ambiente anaeróbico e presença de CHO-sol, as BAL rapidamente acidificam o meio e os microorganismos indesejáveis (leveduras, clostrídios,

enterobactérias, fungos, bacilos e *Listeria*) não são capazes de sobreviver, de tal maneira que o resultado final é a silagem com pH baixo e estável.

As BAL pertencem à microflora epífita das plantas, vivendo sistemicamente, sem lhe causar dano. As características da planta tais como teor de MS, conteúdo e natureza química dos açúcares, combinadas às propriedades das BAL como tolerância a meio ácido e tipo de substrato a ser utilizado, serão importantes para a competitividade das BAL durante o processo de fermentação.

Podemos citar como BAL freqüentemente encontradas em silagens, as bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Streptococcus*. Todas as BAL são aeróbicas facultativas, mas algumas têm preferência por meio anaeróbico. Baseando-se na fermentação de açúcares, as BAL podem ser classificadas em: a) homofermentativas obrigatórias, que produzem quase exclusivamente ácido lático na fermentação de hexoses e não fermentam pentoses; b) heterofermentativas facultativas, semelhantes às anteriores, mas também capazes de fermentar pentoses em ácido lático e acético; e c) heterofermentativas obrigatórias, que fermentam hexoses em ácido lático, ácido acético, etanol e CO₂.

Se o pH não for rapidamente acidificado pelas BAL e se manter em valores acima de 4,2; os microorganismos competidores indesejáveis serão capazes de crescer e competir por nutrientes (McDonald et al, 1991), resultando em maiores perdas de CNF e conseqüentemente reduzindo o valor nutricional do alimento.

A partir da estabilização do processo fermentativo, a atividade das BAL cessa, enquanto leveduras continuam a influenciar as perdas de MS (Pedroso et al, 2005). Segundo os mesmos autores, a queda no pH da silagem de cana ocorre mesmo com pouca quantidade de ácido sendo produzida pelas BAL, graças ao baixo poder tampão da forragem.

A população de BAL no processo de ensilagem da cana-de-açúcar apresentou um crescimento inicial de 4,6 para 7,5 ufc/g de forragem do dia 0 ao dia 3. Este aumento coincide com a rápida acidificação do meio neste período (5,8 para 3,9), quando o pH foi capaz de controlar o desenvolvimento das BAL, que a partir de então apresentaram um declínio até o dia 45, quando a população se manteve estável em 3,6 ufc/g de forragem até 180 dias após a ensilagem (Pedroso et al, 2005).

A redução do pH não garante que a atividade dos microorganismos indesejáveis seja completamente inibida durante a ensilagem. As enterobactérias, clostrídios e leveduras podem competir por nutrientes existentes na massa ensilada e os transformam em produtos como etanol e butirato, que podem não ajudar na preservação, além de aumentar as perdas de MS durante o processo de ensilagem.

Para que a inibição do desenvolvimento desses microorganismos ocorra, é necessário que a redução do pH seja atingida rapidamente. Entretanto, este controle pode não ter efeito sobre as leveduras, que são capazes de crescer em um ambiente de baixo pH. As leveduras são microorganismos anaeróbicos facultativos e suas atividades, tanto aeróbicas quanto anaeróbicas são consideradas indesejáveis nas silagens. Em condições anaeróbicas, elas convertem açúcares simples como sacarose, glicose e frutose em etanol, CO₂ e H₂O (McDonald et al, 1991). O etanol produzido, além de diminuir a quantidade de açúcar disponível para a fermentação láctica, também pode ter efeito negativo sobre o sabor do leite (Randby et al, 1998). Sob condições aeróbicas, as leveduras degradam ácido láctico a CO₂ e H₂O, causando aumento no pH e permitindo o crescimento de outros microorganismos deterioradores, como fungos (Filya, 2003). A sobrevivência das leveduras é influenciada pela concentração de ácidos orgânicos. As leveduras são capazes de sobreviver em meio anaeróbico, porém a presença de ácidos orgânicos como ácido acético e

propiónico apresenta toxicidade a esses microorganismos. Filya (2003) observou queda de $3,86 \log_{10}$ ufc/g de forragem para $< 2 \log_{10}$ ufc/g na população de leveduras em silagem de milho ensilada por 90 dias quando os teores de ácido acético amentaram de 1,3 para 3,9% da MS, evidenciando a capacidade que este ácido tem de controlar o desenvolvimento destes microorganismos.

Ao avaliar a microflora epífita na ensilagem de cana, Pedroso et al (2005) observaram a presença ($2,0 \log_{10}$ ufc/g de forragem) de leveduras aos 180 dias de ensilagem com pH 3,4; embora sua maior atividade tenha ocorrido nos primeiros dias do processo, quando foi observada a presença de $5,0 \log_{10}$ ufc/g de forragem em pH 4,1. A sobrevivência das leveduras é possível em pH ácido, desde que haja açúcar em quantidade suficiente para fermentação e obtenção de energia para o microorganismo a partir deste processo. O que também foi observado por estes autores foi que a atividade das leveduras ocorreu simultaneamente à queda de CHO-sol da silagem.

Em contrapartida, a presença de ácidos orgânicos de cadeia curta (como os ácidos láctico e acético) reduzem a eficiência energética da célula microbiana. Estes ácidos entram nas células por difusão passiva e então se dissociam, gerando íons H^+ . Para estes íons saírem da célula, é necessário que haja gasto de energia na forma de ATP. Na ausência de açúcares para geração de energia a partir da fermentação, íons H^+ se acumulam no interior das leveduras causando morte celular (McDonald et al, 1991).

As enterobactérias são bactérias gram negativas pertencentes à família das Enterobacteriaceae. Estão amplamente distribuídas no solo, água, plantas e no intestino do homem e de animais. O grande interesse no estudo das enterobactérias é devido ao número de patógenos que atacam o homem, os animais e as plantas, como *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Proteus*, *Yersinia*, entre outros. As

enterobactérias são anaeróbicas facultativas. A maioria encontrada nas silagens é considerada não patogênica, mas seu desenvolvimento não é desejável porque competem com as BAL pelos açúcares disponíveis, além de degradarem proteínas. As enterobactérias não se desenvolvem em pH baixo e assim, manejos de ensilagem que favoreçam a rápida queda de pH atuam no controle de desenvolvimento enterobacteriano (McDonald et al, 1991).

Os clostrídios são bactérias obrigatoriamente anaeróbicas e que fermentam tanto carboidratos como proteínas, causando queda no valor nutricional da forragem e produzindo aminas biogênicas que são compostos envolvidos diretamente em processos de neurotransmissão e, conseqüentemente, relacionados com doenças neurodegenerativas, além de poder prejudicar a qualidade do leite (Thuault et al, 1991). Bactérias deste gênero também podem degradar ácido láctico em ácido butírico, H_2 e CO_2 . A silagem que sofre fermentação clostridiana apresenta alta concentração de ácido butírico, alto pH (> 5) e alta concentração de amônia. Métodos de ensilagem que ocasionem rápida queda no pH auxiliam na prevenção do desenvolvimento de clostrídios, pois estes são susceptíveis a pH baixo. Outra forma de controle destes microorganismos é o aumento do teor de MS do material, visto que são sensíveis à baixa umidade (McDonald et al, 1991).

Os bacilos são bactérias semelhantes aos clostrídios, porém são facilmente separados destes, visto serem aeróbicos facultativos. Os bacilos fermentam uma ampla variedade de carboidratos em ácidos orgânicos (acetato, lactato e butirato), etanol, 2,3-butanediol e glicerol. Apesar de a produção destes ácidos poder contribuir para o controle da deterioração aeróbica, a sua proliferação nas silagens é indesejada, pois além de serem menos eficientes na produção de lactato e acetato que as BAL, podem também contribuir para a deterioração aeróbica nos estádios mais avançados do processo de ensilagem em casos de problemas na vedação do silo. Para controlar o desenvolvimento de

bacilos na silagem, a entrada de ar nos silos deve ser minimizada e a contaminação do material fresco deve ser controlada, evitando o contato com solo e dejetos (McDonald et al, 1991).

Em geral, a infestação de fungos nas silagens é facilmente detectada dada a grande quantidade de estruturas filamentosas e esporos coloridos produzidos por muitas espécies. Os fungos se desenvolvem em partes do silo onde o oxigênio está presente. Durante a fase de estocagem, os fungos são encontrados principalmente na superfície do silo. Já na fase de exposição aeróbica, toda a silagem pode ser contaminada por fungos, que podem não somente causar a redução do valor nutricional e da palatabilidade da forragem, como também um efeito negativo na saúde animal e do homem, por produzirem micotoxinas (Seglar, 2003). Algumas micotoxinas são de interesse de saúde pública e agrônômica tais como: aflatoxinas, ocratoxinas, tricotecenos, zearalenona, fumonisinas, toxinas tremorgênicas e alcalóides de ergot. Estas micotoxinas computam milhões de dólares, anualmente, em perdas mundiais na saúde humana, animal e em produtos agrícolas (Vasanthi & Bhat, 1998). Boas práticas de ensilagem que minimizem a entrada de ar, favoreçam o descarregamento rápido do silo e possibilitem o uso de aditivos que previnam o início da deterioração aeróbica, como *L. buchneri* (Filya, 2003), e ácido propiônico (Kung Jr. et al, 2004), auxiliam no controle do crescimento de fungos.

2.3 Composição química e valor nutritivo da silagem de cana-de-açúcar

Boodoo et al (1977) ensilaram cana-de-açúcar sem aditivos por 33 dias e observaram 30% de queda no teor de MS e 24% de perda no valor de graus brix, após a ensilagem. Em silos laboratoriais, Alli et al (1982) verificaram, com dez

dias de ensilagem, redução de 90% no teor de CHO-sol, teor de etanol de 8,86% na MS e aumento no teor de FDA de 29,9 para 43,1% da MS. Segundo os autores, a produção de álcool pelas leveduras pode ter sido responsável pelo consumo de 50% da sacarose presente na cana fresca e a outra parte pode ter sido consumida na fase aeróbica, pela respiração celular. A queda no valor nutricional da silagem de cana-de-açúcar em comparação com a cana fresca foi também evidenciada na redução da digestibilidade *in vivo* da MS (55,3 vs 66,4%) e menor consumo voluntário (5,7 vs 7,1% do PV^{0,75}) em ovinos (Alcântara et al, 1989).

Santos (2004) constatou que a degradabilidade *in situ* da MS foi 43,4% para cana fresca adicionada de uréia e sulfato de amônio, 33,9% para silagem de cana *in natura* e 38,0% para a silagem de cana com 1% de uréia ($P<0,05$), mostrando que o uso de aditivos na ensilagem da cana-de-açúcar pode contribuir para o aproveitamento da forragem.

Avaliando cana ensilada com 44,6% de polpa cítrica, Freitas (2001) observou baixa ingestão de MS (1,38% do PV) quando comparada à silagem de milho, cuja ingestão foi de 2,47% do PV. Esta diferença pode ser atribuída ao FDN oriundo da silagem de cana, pois a queda na ingestão voluntária em dietas à base de cana têm sido atribuída à má qualidade de sua fibra. Isto pode ser observado por meio do coeficiente de digestibilidade aparente da FDN no trato digestivo total, que mesmo acrescida de polpa cítrica foi de 36,3%. A partir de diferentes trabalhos, a tabela 1 apresenta a composição bromatológica da cana-de-açúcar *in natura* e ensilada.

TABELA 1: Composição bromatológica de cana-de-açúcar *in natura* e ensilada em diferentes estudos (MS = matéria seca, PB = proteína bruta, FDN = fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente ácido e DIVMS = digestibilidade *in vitro* da MS).

	MS	PB	FDN	FDA	DIVMS	Referência
Cana fresca	29,8	4,1	57,3	38,4	-	Pedroso, 2003
Silagem de cana	25,4	4,3	64,5	44,3	53,2	
Cana fresca	28,7	2,2	55,1	32,3	-	Castro Neto, 2003
Silagem de cana	21,2	2,8	70,8	45,1	46,2	
Cana fresca	34,5	2,0	49,6	32,5	-	Pedroso, 2005
Silagem de cana	25,5	3,36	70,6	45,8	45,4	
Cana fresca	35,7	1,4	50,8	35,2	57,0	Siqueira et al, 2005
Silagem de cana	28,7	1,8	69,3	45,1	43,0	
Cana fresca	26,0	2,9	53,0	30,5	-	Freitas et al, 2006
Silagem de cana	21,3	3,8	67,3	39,8	54,1	
Cana fresca	28,6	2,6	36,2	23,6	-	Freitas et al, 2006
Silagem de cana	20,7	3,4	63,2	41,6	58,7	

2.4 Perda de nutrientes durante a ensilagem da cana-de-açúcar

Um dos fatores determinantes da eficiência na conservação de forragens é a perda de nutrientes que ocorre desde a colheita até a ingestão pelos animais. Existem três principais tipos de perdas: mecânicas, bioquímicas e por efluentes.

A perda de MS poderia ser mensurada de três maneiras: como nutrientes contidos nos efluentes, como calor de catabolismo de nutrientes por células vivas e como subprodutos gasosos do catabolismo de nutrientes (CO_2 , NH_4 e CH_4) (Gordon, 1967).

Durante e logo após a colheita, podem ocorrer perdas bioquímicas por respiração celular, pelos tecidos da planta, por microorganismos aeróbicos e perda mecânica durante os processos de colheita e transporte da forragem. A respiração da planta nesta fase está relacionada à perda de açúcares e proteínas.

Concomitante ao processo de respiração celular, ocorre à proliferação de microorganismos aeróbicos, entre os quais, fungos. Após a forragem ser colocada no silo, a eficiência na remoção de oxigênio da massa ensilada determina a perda de MS na fase aeróbica da ensilagem (McDonald et al, 1991). Nesta fase, a presença de oxigênio irá promover respiração celular pelos tecidos da planta e o aparecimento de microorganismos indesejáveis.

A energia dissipada pela quebra aeróbica de carboidratos na respiração pelos tecidos da planta é a responsável pelo aumento da temperatura da forragem após o corte. A temperatura da massa é dependente da quantidade de oxigênio presente e da disponibilidade de CHO-sol para oxidação (Ruxton et al 1975).

O sistema enzimático tanto da plantas quanto dos microorganismos está envolvido no catabolismo aeróbico da forragem. Este é um processo exotérmico e a produção de calor tem um efeito indesejável sobre a qualidade do alimento. Neste processo, os CNF são perdidos preferencialmente em relação à parte fibrosa da planta, pois o catabolismo de carboidratos fibrosos é competência única de sistemas fermentativos anaeróbicos.

Durante a fase anaeróbica da ensilagem, as perdas são promovidas pela fermentação e por efluentes. Na ensilagem da cana-de-açúcar, ocorrem perdas de MS e energia no catabolismo de carboidratos a etanol. Segundo McDonald et al (1991), as perdas de MS resultantes da fermentação ditada por leveduras pode

chegar a 48,9%. Cada molécula de glicose fermentada resulta em duas moléculas de etanol, duas de dióxido de carbono, duas de água e gera ATP (Lehninger et al, 1993) para crescimento das leveduras que conduzem o processo fermentativo. Infiltração de ar durante o armazenamento da silagem também pode induzir a perdas por respiração.

Avaliando as perdas ao longo de 180 dias de ensilagem de cana-de-açúcar, Pedroso et al (2005) observaram perda total de MS de 31,4%, sendo que esta perda cresceu gradativamente desde os primeiros dias de ensilagem. Esta perda contínua pode ser atribuída à atividade das leveduras cuja presença foi detectada a partir de $2,0 \log_{10}$ ufc/g de forragem ao final do período de 120 dias. Entretanto, a presença das leveduras foi decrescendo (de 5,0 a $2,0 \log_{10}$ ufc/g de forragem) e, ao final de 180 dias, sua presença não foi mais detectada.

À medida que diminuiu o teor de CHO-sol da silagem (CHO-sol de 23% a 5,98% da MS), houve queda na atividade das leveduras dependentes da presença de açúcares solúveis. Essa característica do processo fermentativo da cana é de grande importância, pois se as perdas causadas pelas leveduras são contínuas, o seu controle é essencial para a redução das perdas durante o processo e na qualidade do produto final.

Santos (2004) estudou silagens de cana em duas idades de corte, 11 e 24 meses. Este autor observou maiores teores de MS e FDN na cana cortada aos 24 meses de crescimento, 31,5% de MS e 55,0% de FDN, enquanto que a cana cortada aos 11 meses apresentou 29,3% de MS e 48,6% de FDN. Esta diferença está diretamente ligada ao teor brix que foi de 16,8% e 18,2% para cana cortada aos 24 e 11 meses respectivamente. Como o teor brix é um bom parâmetro para CHO-sol, à medida que este diminuiu, ocorreu uma concentração dos outros constituintes, como foi observado em relação ao teor de FDN nas diferentes idades de corte. Com relação às perdas no processo de ensilagem, Santos (2004) observou maiores perdas por gases e efluentes nas silagens produzidas a partir

de cana aos 11 meses de crescimento quando comparada à cana colhida aos 24 meses, com isso obtendo recuperação de MS de 71,8% e 81,1%, respectivamente. Os resultados indicam uma relação entre as perdas no processo de ensilagem, o baixo teor de MS e alto teor de CHO-sol, onde menores teores de MS e maiores concentrações de CHO-sol resultam em maiores perdas na ensilagem.

Freitas et al (2006) avaliaram o uso de inóculos microbianos (*L. plantarum* e *L. buchneri*) na ensilagem de cana e observaram altas perdas de CHO-sol após 45 dias de armazenamento. Estas perdas foram de 89,3%, 90,6% e 92,0% para tratamento controle (sem aditivo), *L. plantarum* e *L. buchneri*, respectivamente. Estes autores ainda observaram que a aplicação de inoculantes microbianos junto ao resíduo de colheita de soja, aplicados a 10% da MV de cana ensilada, resultou em perdas superiores à perda observada com adição exclusiva de resíduo. Esta observação indica que o estímulo à fermentação pode prejudicar o processo de ensilagem da cana, já que aumentaria o consumo de CHO-sol.

2.5 Deterioração aeróbica de silagens

Outra possibilidade de perda de MS em silagens é por deterioração aeróbica ocorrida principalmente durante o processo de descarregamento, transporte e até mesmo o período em que está no cocho. A deterioração é causada pela atividade de microorganismos presentes na silagem, que se tornam ativos após o contato com o oxigênio, e está relacionada à alta perda de nutrientes, principalmente CHO-sol e proteínas.

A deterioração é um fator ainda mais relevante em silagens que apresentam altos teores de açúcares residuais, como é o caso da silagem de cana. A preocupação com esse problema é maior em a) fazendas onde o descarregamento do silo não pode ser feito próximo ao momento do fornecimento aos animais; b) quando os silos são grandes demais e o descarregamento em fatias e sem descompactação do remanescente é impossível; c) em silagens de alta qualidade, ricas em CHO-sol residuais; d) em silos e cochos sujos e contaminados por restos de forragem e d) em ambientes mais quentes, onde a deterioração ocorre mais rapidamente, visto que as leveduras aeróbicas são mais ativas entre 20 e 30°C (Ashbell et al, 2002).

A deterioração da silagem pode ser medida pelo aumento da temperatura e do pH devido ao consumo de açúcares e ácidos orgânicos pelas leveduras, que são convertidos a CO₂, água e calor. Ocorre queda no teor de CHO-sol durante a exposição ao ar, o que pode ser atribuído à ação de *Saccharomyces cerevisiae*, que consome açúcares durante sua atividade aeróbica. Já o aumento do pH pode ser atribuído à presença de *Candida krusei*, que consome o lactato (Sanderson, 1993). A baixa estabilidade das silagens não está apenas associada à alta perda de MS, mas também ao risco da produção de micotoxinas por fungos, tornando o fornecimento deste alimento um risco à saúde dos animais (Seglar, 1998).

Henderson et al (1979) avaliaram a perda de MS ao longo de 9 dias de exposição ao ar de 18 silagens obtidas de fazendas comerciais do sudeste escocês. A utilização deste longo período buscou avaliar o efeito da exposição da silagem ao ar ainda no silo, quando o descarregamento sem a descompactação da face do silo não é possível. Esta observação considera então que esta silagem ficaria exposta ao ar por períodos maiores que apenas aquele entre o seu descarregamento e fornecimento aos animais.

As perdas variaram de 0 a 20,3%, sendo que o valor médio foi de 4,4%. Entre a data de abertura do silo até o dia 9, os autores observaram que as

correlações entre perda de MS e aumento de pH foi 0,87; entre perda e a temperatura máxima atingida pela massa da forragem, medida a cada 12 horas, foi 0,88 e entre o aumento de pH e a temperatura máxima atingida foi 0,89, sugerindo que aquecimento é um indicador razoável da perda aeróbica em silagens. Um outro indicativo é o de que a amônia pode ajudar no controle de leveduras, responsáveis pelo início da deterioração aeróbica em silagens que foram mais estáveis com maior teor de nitrogênio amoniacal.

O`Kiely & Muck (1992) observaram perda de MS por deterioração aeróbica de 6,2% em silagem de alfafa e de 16,4% em silagem de milho quando expostas ao ar por 7 dias. Foram detectados aumentos do pH, da produção de CO₂, da temperatura e da contagem de leveduras na silagem ao longo do período de exposição ao oxigênio. Estas observações sugerem que pode existir diferença na deterioração aeróbica entre silagens oriundas de plantas diferentes. De acordo com os resultados obtidos por estes autores, espera-se que plantas ricas em CHO-sol apresentem maiores perdas quando expostas ao oxigênio. Assim, no caso da silagem de cana, esse fato merece atenção já que é uma forragem com alto teor de CHO-sol.

2.6 Aditivos na ensilagem de cana-de-açúcar

Os aditivos para silagem têm sido desenvolvidos para atuar sobre o processo de ensilagem tais como: Melhorar o valor nutritivo das silagens, reduzir a produção de etanol e as perdas de MS, além de aumentar a estabilidade aeróbica na ensilagem da cana-de-açúcar (Pedroso, 2003; Castro Neto, 2003; Freitas et al, 2006). Os aditivos devem, no entanto, ser seguros quanto ao seu

manuseio, devem melhorar a higiene das silagens, minimizar a ocorrência de patógenos e ser economicamente viáveis (Henderson, 1993).

Os aditivos de silagens podem ser classificados em cinco principais categorias: estimulantes de fermentação, inibidores de fermentação, inibidores de deterioração aeróbica, nutrientes e absorventes (McDonald et al, 1991). Dentro destas categorias, os aditivos podem ser subdivididos em microbianos, químicos e enzimáticos.

2.6.1 Aditivos microbianos

Aditivos microbiológicos não são corrosivos, são seguros quanto ao manuseio e tem sua efetividade baseada na atividade de seres vivos. Assim, o modo de estocagem é de vital importância para sua efetividade. Os inoculantes procuram suplementar a população endógena de BAL, para que a fermentação seja realizada prioritariamente por estas bactérias.

Os aditivos microbiológicos podem ser classificados em dois grupos: estimulantes de fermentação e inibidores de deterioração aeróbica. Estes produtos contêm BAL que aumentam a população microbiana ácido-lática natural da forragem, ajudando a garantir a fermentação rápida e eficiente no silo. A maioria deles adiciona cerca de 90 bilhões a um trilhão de bactérias por tonelada de forragem ensilada, sendo que tais bactérias podem ser de uma ou mais espécies. Tais bactérias normalmente são encontradas nas forragens e silagens e têm sido selecionadas em função de seu rápido crescimento em uma ampla faixa de temperatura, pH e umidade; como também pelo fato de produzirem preferencialmente ácido láctico durante seu crescimento (Muck & Kung Jr., 1997).

Os inoculantes comerciais normalmente contêm linhagens de bactérias homofermentativas produtoras de ácido lático, como *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus faecium*, *Enterococcus faecium* e *Lactococcus lactis* (McDonald et al, 1991). Entre as BAL, o *Lactobacillus plantarum* foi considerado ideal para a inoculação das silagens, sendo que uma ou mais cepas desta bactéria têm sido incluídas na maioria dos produtos comerciais (Bolsen et al, 2000). O principal efeito da adição de bactérias homoláticas na ensilagem é a rápida diminuição do pH, o que ajuda a preservar a forragem durante o processo de estocagem no silo.

As bactérias selecionadas são aquelas que apresentam rápido crescimento e que, conseqüentemente, produzem fermentação mais rápida, conduzindo à rápida redução no pH da forragem. As BAL naturais das forragens não produzem apenas o ácido lático durante a ensilagem, mas uma variedade de outros produtos, incluindo o ácido acético e o etanol. Por outro lado, as bactérias homofermentativas presentes nos inoculantes produzem apenas ácido lático em grande quantidade. Como o ácido lático é mais forte que o ácido acético, o resultado esperado é uma queda mais rápida no pH final da silagem inoculada (Muck & Kung Jr., 1997), o que ajuda a diminuir as perdas durante a ensilagem.

Para obter sucesso, as BAL presentes nos inoculantes devem ser capazes de elevar o número de BAL existente na planta. Quando a população epífita de BAL é aumentada, podem ser observados rápido decréscimo do pH e aumento na recuperação de MS; menor valor de pH final; maior relação lactato:acetato (obtida por aumento da produção de ácido lático e diminuição da produção de ácido acético) e baixo teor de N amoniacal (provavelmente pela utilização de amônia por cepas de BAL que não fermentam aminoácidos e pela redução da degradação de proteínas) (Weinberg & Muck, 1996).

Entretanto, alguns estudos demonstraram que a inoculação de BAL homofermentativas pode piorar a estabilidade aeróbica de silagens (Ranjit &

Kung Jr., 2000; Rodrigues et al, 2002; Kung Jr. et al, 2004). Isto foi relacionado ao fato de as silagens inoculadas apresentarem altos teores de CHO-sol residuais combinados com alta concentração de ácido láctico e baixa concentração de ácidos acético, propiônico e butírico. Esta situação pode levar ao aquecimento da silagem após o descarregamento pois tanto os CHO-sol quanto o ácido láctico são substratos para fungos e leveduras, enquanto os ácidos acético, propiônico e butírico inibem o desenvolvimento destes microorganismos (Weinberg & Muck, 1996).

Como os inoculantes contendo BAL homofermentativas nem sempre previnem ou reduzem a atividade de microorganismos indesejáveis, uma variedade de outros tipos de BAL, como o *L. buchneri*, têm sido testadas (Ranjit & Kung Jr., 2000). Entre elas, algumas cepas que atendem a objetivos específicos para diferentes plantas, como por exemplo, o controle de fermentações secundárias em forragens com alta umidade e controle da estabilidade aeróbica.

Recentemente, inoculantes contendo bactérias heterofermentativas produtoras de ácidos acético e propiônico como *Lactobacillus buchneri*, *Pediococcus cerevisiae*, *Propionibacterium shermani* e *Propionibacterium acidipropionice* têm sido avaliados buscando melhorar a estabilidade aeróbica das silagens (McDonald et al, 1991). No caso de se mostrarem eficientes, estes inoculantes podem auxiliar no controle da população de leveduras, pois produzem AGV, tóxicos ao desenvolvimento destes microorganismos.

A fermentação heterolática converte glicose e frutose em ácido láctico, ácido acético e uma variedade de outros produtos (McDonald et al, 1991). Ao estudarem a aplicação de *L. buchneri* (1×10^6 ufc/g de forragem) em silagem de milho, Ranjit & Kung Jr. (2000) não observaram aquecimento da massa após 900 horas de monitoração, com medições a cada minuto e sendo utilizadas médias obtidas a cada duas horas.

Taylor & Kung Jr. (2002) estudando o uso de *L. buchneri* em silagens de grão úmido de milho ($6,6 \times 10^5$ ufc/g de material ensilado) observaram melhora na estabilidade aeróbica da silagem. Pedroso (2003) avaliando a estabilidade aeróbica de silagem de cana inoculada com *L. buchneri* ($3,64 \times 10^5$ ufc/g de forragem) observou estabilidade da silagem tratada de 78 horas, enquanto que a estabilidade no grupo controle (sem aditivo) foi de 48 horas.

A fermentação heterolática pode resultar na formação de etanol, o que depende do substrato utilizado e da bactéria envolvida no processo. A bactéria *L. buchneri*, por exemplo, não possui a enzima acetaldéido desidrogenase e, assim, apresenta a vantagem de não produzir etanol na fermentação da glicose (McDonald et al, 1991). Ranjit & Kung Jr. (2000) observaram que o *L. buchneri* testado na silagem de milho melhorou a estabilidade aeróbica deste material, aparentemente convertendo ácido láctico em ácido acético.

Oliveira et al (2005) estudando o efeito no pH e concentração de etanol, da inoculação em silagem de cana-de-açúcar com *L. buchneri*, armazenada por 48 dias, não observaram variação do pH, que foi em média 3,4, em diferentes concentrações do inoculante ($1,25 \times 10^{10}$, $2,5 \times 10^{10}$ e 10×10^{10} ufc/t de forragem) e sem a sua aplicação. Porém, a concentração de etanol foi diminuindo de forma quadrática. Foram observados valores de 1,7; 1,3; 0,9 e 1,3 mg de etanol/100g de MS da silagem para os tratamentos sem inoculante, $1,25 \times 10^{10}$, $2,5 \times 10^{10}$ e 10×10^{10} ufc/t de forragem, o que é uma baixa concentração de etanol, visto que Alli et al (1982) observaram teor de etanol de 8,9%, mostrando potencial destas bactérias em controlar a produção de etanol em silagens de cana.

Em relação ao desempenho animal, o efeito positivo resultante da adição de inoculantes à silagem é menos freqüente do que o observado no perfil de fermentação. As causas da melhora no desempenho animal não são claras. Muck (1993) observou alta correlação entre a inoculação de silagens, digestibilidade

da MS e desempenho animal, bem como aumento na digestibilidade da fibra em 30% dos estudos onde esta variável foi analisada. Outra hipótese levantada por Weinberg & Muck (1996) sugere que a melhora no desempenho pode estar relacionada a um efeito probiótico, embora o mecanismo ainda não esteja claro.

Pereira et al (2005) avaliando o efeito do uso de aditivo enzimo-bacteriano contendo *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus salivaris* (10 bilhões UFC/g), enzimas celulase e hemicelulase a 5% e um controle (sem aditivos) na degradabilidade ruminal da MS e FDN de silagem de cana-de-açúcar, não encontraram diferença significativa entre as silagens tratadas e as sem o inoculante.

Atenção deve ser dada à especificidade do inoculante em relação ao material a ser ensilado. Primeiramente, as cepas de bactérias podem ser mais eficientes quando usadas nas plantas das quais foram isoladas. Outro ponto de interesse é que as diferentes culturas apresentam diferentes pontos críticos de controle durante sua ensilagem, como por exemplo: baixos teores de MS, baixa estabilidade aeróbica, fermentações secundárias, entre outros. Assim para o uso de inoculante em silagem de cana, deve-se buscar uma espécie de bactéria que seja capaz de solucionar os problemas dessa silagem tais como a alta perda de MS (principalmente a fração MSnFDN) e a baixa estabilidade aeróbica. Para isso, talvez seja necessário isolar uma cepa de bactéria da própria cana-de-açúcar.

Jones et al (1992) estudando o efeito do nível de inoculação (*L. plantarum* e *P. cerevisiae*) em silagem de alfafa (baixo – 2×10^3 e alto – 6×10^6 ufc/g) observaram que este alterou a solubilização da arabinose e da galactose da parede celular das silagens devido ao rápido decréscimo do pH observado no nível alto de inoculação. Porém, o efeito se perdeu aos 64 dias de ensilagem, quando o pH dos diferentes tratamentos foi semelhante. Este aumento da solubilização observado em estádios iniciais da fermentação ocorre

simultaneamente ao declínio do pH das silagens inoculadas, sugerindo que a solubilização está relacionada ao pH, o qual resulta em hidrólise ácida da parede celular, não sendo decorrente de enzimas da planta.

Estudando o efeito de inoculante (*L. plantarum*, *L. bulgaricus* e *L. acidophilus*) em silagem de milho após 95 dias de ensilagem, Meesk & Basson (1998) observaram menor pH, menor teor de ácido acético, maior concentração de CHO-sol e maior teor de ácido lático para o grupo controle (sem aditivo) quando comparada à silagem inoculada (pH: 3,7 vs 3,9; ácido acético: 1,1% vs 1,4% da MS; CHO-sol: 7,1% vs 5,2% da MS e ácido lático: 6,9% vs 6,4% da MS, respectivamente). Quando avaliaram o efeito das silagens inoculadas no desempenho de cordeiros, estes autores não observaram diferença significativa em nenhum dos parâmetros estudados: peso dos cordeiros, ganho de peso diário, ingestão de silagem, ingestão total de MS e taxa de conversão alimentar.

Avaliando a utilização de *L. buchneri* em silagem de cana-de-açúcar, Siqueira et al (2005) observaram maior teor de CNF (26,1% da MS), maior teor de MS (32,8%) e DIVMS (52,4%) quando comparados ao grupo sem inoculante (17,3, 28,7 e 43,0% para teores de CNF, MS e DIVMS, respectivamente; $P<0,05$). No mesmo trabalho, os autores ainda observaram queda no FDN das silagens tratadas com o inóculo, que foi de 63% (MS), comparado ao grupo sem inoculante que foi de 69,3% (MS) ($P<0,05$). Neste trabalho os autores não citam a concentração de aplicação do inoculante, nem o período em que a forragem ficou ensilada, o que dificulta a análise dos dados.

Estudando a aplicação de inoculante contendo uma mistura de bactérias homoláticas e heteroláticas (*Pediococcus* e *L. buchneri* - 5×10^5 ufc/g de forragem) na ensilagem de cana-de-açúcar por 110 dias, Sousa et al (2005) observaram aumento da recuperação de MS (74,24%) quando comparada ao grupo controle (64,71%). No entanto, no mesmo estudo, os autores não observaram melhoria na recuperação de MS quando usaram inóculo contendo

exclusivamente *L. buchneri* (5×10^5 ufc/g de forragem), que foi de 63,3% da MS originalmente ensilada, indicando que talvez seja necessário a utilização de diferentes espécies de bactérias nos inoculantes para cana-de-açúcar.

Pedroso (2003) avaliou o desempenho de novilhas Holandesas em alimentadas com silagens de cana-de-açúcar tratadas com *L. buchneri* ($3,64 \times 10^5$ ufc/g) e controle (sem aditivo), ensiladas por 98 dias. Neste estudo, foram formuladas dietas para a obtenção de ganho médio diário de 0,850 kg, contendo 46% de silagem de cana na MS da dieta. Os animais alimentados com a silagem tratada com o *L. buchneri* apresentaram 32% a mais de ganho de peso se comparados ao controle (1,24 kg/dia vs 0,94 kg/dia, respectivamente, $P < 0,05$). A ingestão de MS superior apresentada pelos animais do tratamento com *L. buchneri* pode explicar este resultado, que apesar de não ter se mostrado estatisticamente superior, apresentou diferença de quase 1 kg de MS por dia.

Existe um problema relacionado ao tipo de bactéria que será inoculada: as que melhoram a eficiência da fermentação e as que melhoram a estabilidade da silagem em ambiente aeróbico parecem ser antagonistas na produção de silagem de alta qualidade. Melhores fermentações implicam menor estabilidade aeróbica (Umaña et al, 1991).

2.6.2 Aditivos químicos

Diversos aditivos químicos têm sido avaliados visando a melhorar o padrão de fermentação, a estabilidade aeróbica, o controle do desenvolvimento de leveduras e a conservação da cana-de-açúcar na forma de silagem. No entanto, aditivos químicos podem ser corrosivos, eventualmente danificando os equipamentos utilizados durante a ensilagem e podem ser de manuseio perigoso.

Os aditivos químicos podem ser nitrogênio não-protéico, como é o caso da amônia e da uréia, também classificados como aditivos nutrientes; ácidos e bases, como o ácido sórbico e a cal, que são classificados como inibidores de fermentação. A uréia é o aditivo não-protéico mais comumente usado na maioria dos países. Entre as principais razões para o seu uso disseminado estão o seu baixo custo, associado ao incremento de proteína bruta na forragem e o aumento da vida útil da silagem, devido ao controle do desenvolvimento de leveduras no material ensilado (Muck & Kung Jr., 1997).

A uréia e a amônia atuam na silagem de forma similar, elevando rapidamente o pH e podem ser classificadas como nutrientes e inibidoras de deterioração aeróbica. Entretanto, a velocidade de ação da uréia é inferior à da amônia e a intensidade do aumento do pH é menor, uma vez que a uréia antes precisa ser dissociada em amônia e dióxido de carbono para depois ocasionar aumento no valor de pH, aumento este que pode gerar problema na conservação da forragem por proporcionar um meio adequado ao desenvolvimento de microorganismos indesejáveis (clostrídios, enterobactérias, fungos, bacilos e *Listeria*). O alto teor de amônia associado ao pH elevado é tóxico às leveduras, aos fungos e a muitas bactérias das forragens, incluindo as BAL (Muck & Kung Jr., 1997).

Estudando ensilagem de cana-de-açúcar por 60 dias, Roth et al (2005), observaram maior teor de MS no momento da abertura dos silos, quando foi aplicado 1% de uréia (com base na MV) em relação ao grupo controle (sem aditivo), 30,4% vs 27,4%, respectivamente, não sendo observadas diferenças no material original no momento da ensilagem. Seguindo o mesmo padrão, os teores de FDN foram menores para as silagens tratadas (64,9% da MS) do que para o grupo controle (75,0% da MS). Neste estudo, como esperado, o pH das silagens foi mais alto quando se adicionou uréia (4,1 vs 3,7 com 1% de uréia e

sem aditivo, respectivamente). Esses resultados indicam a eficiência da uréia em controlar as perdas que ocorrem na ensilagem da cana-de-açúcar, provavelmente devido ao controle do desenvolvimento da população de leveduras.

Polan et al (1998) observaram que, no momento da ensilagem de alfafa, a utilização de NH_3 como aditivo aumentou a capacidade tampão da massa quando comparado à forragem não tratada (40,7 vs 34,9 respectivamente, valores expressos em miliequivalente de álcali requerido para mudar o pH de 1 kg de MS de forragem de 4 para 6). A alfafa não tratada apresentou fermentação mais favorável do que a que foi tratada com NH_3 como, por exemplo, pH mais baixo (5,95 e 6,85, respectivamente), maior teor de CHO-sol (3,1 e 2,3, respectivamente) e maior recuperação de CHO-sol após 40 dias de ensilagem (48,7 e 36,85%, respectivamente). Esta é uma informação importante quando se usa a cal e a uréia como aditivos, pois essas bases podem dificultar o rápido declínio do pH, não controlando o desenvolvimento de microorganismos indesejáveis.

Sousa et al (2005) também observaram maior recuperação de MS em relação ao grupo controle (68,5 vs 64,7%, respectivamente) quando avaliou a dose de 1% de uréia com base na MV em silagem de cana-de-açúcar armazenada por 110 dias. Silagens de cana-de-açúcar aditivadas apresentaram perdas de matéria seca menos intensas no período entre o 7º e o 35º dia. A silagem controle, diferentemente, apresentou perdas maiores nesse período de armazenagem, que se estabilizaram a partir de então.

A adição de uréia à forragem pode influenciar a atividade enzimática no silo, pois a amônia cliva algumas ligações entre a hemicelulose e outros componentes da parede celular da planta e pode ainda interromper a atividade enzimática direta ou indiretamente pelo aumento do pH, reduzindo a degradação protéica no silo. Estes efeitos podem ser benéficos à medida em que aumentam a

digestibilidade e o aproveitamento de nutrientes da silagem (Muck & Kung Jr., 1997).

Carvalho et al (2005) observaram alterações na degradabilidade da FDN ao estudarem a aplicação de uréia em silagem de bagaço de cana-de-açúcar armazenada por 110 dias. Os autores usaram quatro diferentes dosagens no momento da ensilagem: controle (sem uréia), 2,5%, 5% e 7,5% de uréia com relação a MV. Foram observadas degradabilidades da FDN de 39,3, 44,2, 58,7 e 63,3% respectivamente para os tratamentos acima descritos.

Alguns agentes germicidas freqüentemente usados como conservantes na indústria alimentícia têm sido testados como aditivos. Dentre eles, encontra-se o ácido sórbico, utilizado na forma de sorbato de potássio. Este ácido está incluído na classificação dos aditivos como um agente inibidor tanto da fermentação quanto da deterioração aeróbica (McDonald et al, 1991). Existem poucas publicações sobre a função do ácido sórbico como aditivo químico. No entanto, as evidências até então encontradas sugerem que este é um potente inibidor do crescimento de clostrídios, leveduras e fungos (Woolford, 1975), apresentando também capacidade de diminuir a produção de etanol na silagem (Pedroso, 2003).

Ao comparar silagens de cana-de-açúcar tratadas com três diferentes níveis de sorbato de potássio (0,015; 0,03; e 0,045% da Matéria Natural - MN) com silagem sem aditivo (controle), Pedroso (2003) não observou alteração nos teores de etanol produzidos nas silagens (3,1, 1,8 e 2,9%, respectivamente), provavelmente devido à baixa presença deste álcool no grupo controle, que foi de 3,82% da MS. Porém, a dose de 0,03% reduziu as perdas totais de MS em aproximadamente 39% e melhorou a estabilidade aeróbica da silagem.

Em um segundo experimento, Pedroso (2003) observou diferença na produção de etanol quando usou o sorbato de potássio com dosagem de 0,03%

da MV. Neste experimento, a produção de etanol foi de 4,05% e 2,93% da MS para os tratamentos controle e sorbato de potássio respectivamente. Avaliando a aplicação de 0,05% de sorbato de potássio na MN de silagem de polpa de laranja úmida, Weinberg et al (1989) observaram redução no teor de álcool quando comparado com o grupo controle (8,3 vs 15,7% da MS, respectivamente). Neste estudo, o aditivo não reduziu significativamente a contagem de leveduras, mas provavelmente houve inibição da atividade destes microorganismos, já que eles são responsáveis pela produção de etanol.

Segundo Losada et al (1977), a utilização de álcalis, classificados como inibidores de fermentação (McDonald et al, 1991), há muito vem sendo estudada no tratamento de forragens. A justificativa para a aplicação de álcalis está no fato de a lignina de gramíneas ser particularmente susceptível ao ataque hidrolítico dos mesmos, em ligações covalentes do tipo éster entre a lignina e a parede celular (Van Soest, 1994).

Os primeiros estudos envolvendo a utilização destes aditivos visavam a obter silagens de cereais em estágio vegetativo tardio, de baixa digestibilidade, porém com produção maior (McDonald et al, 1991). Tetlow & Mason (1987) comprovaram a eficácia do NaOH em silagens de cereais com alto teor de MS, em torno de 60%, onde a produção por área era maior. No entanto, em materiais com baixo teor de MS, a aplicação de álcali pode não ser benéfica, pois devido ao seu forte poder tampão, promoveria a estabilização do pH em valores mais altos, o que poderia beneficiar o desenvolvimento de clostrídios, favorecendo a fermentação butírica e, conseqüentemente, queda da qualidade da silagem.

Pedroso (2003) não observou alteração no teor de etanol quando utilizou o NaOH como aditivo (1,0; 2,0; e 3,0% da MN) em silagem de cana-de-açúcar. O pH das silagens tratadas com NaOH foi superior ao máximo considerado adequado à estabilização de forragens ensiladas. O autor também observou que a

digestibilidade *in vitro* (DIVMS) foi 46% maior nas silagens tratadas com 2,0 e 3,0% de NaOH, as quais apresentaram menores teores de FDN, FDA e lignina. A DIVMS foi de 45,4, 65,4 e 67,3% para as silagens do grupo controle, tratadas com 2,0 e 3,0% de NaOH, respectivamente. Outro resultado encontrado foi que as silagens tratadas com o aditivo apresentaram menores valores de perda total de MS, quando comparadas com o grupo controle (10,9% vs 18,2%, respectivamente). Assim, a capacidade do álcali de romper a estrutura e solubilizar os componentes da parede celular compensou o aumento que deveria ser observado na concentração destes nutrientes, em decorrência do consumo de CHO-sol durante a fermentação (Pedroso, 2003). Escobar et al (1985) encontraram resultados semelhantes quando utilizaram NaOH em bagaço de cana-de-açúcar, ocorrendo redução no conteúdo de FDN, principalmente como resultado da solubilização da hemicelulose.

Singh et al (1996) estudando a utilização de NaOH em silagens de polpa de beterraba e alfafa observaram a presença de odor desagradável em alguns silos que continham o aditivo e 12,5% apresentavam fungos na camada superficial (2 a 3 cm) (baseado em observação visual). O tratamento com NaOH apresentou pH alto aos 90 dias de ensilagem ($4,71 \pm 0,06$), presença de ácido butírico (1,15% da MS) e de N-amoniaco (10,56% do N total), indicando a presença de clostrídios sacarolíticos e proteolíticos, o que não foi observado no grupo controle (sem aditivo). Não foi possível atingir uma completa dominância de fermentação ácido-lática com esse pH alto observado, havendo proliferação de clostrídios a partir de 35 dias de ensilagem.

A utilização de NaOH nas silagens de palhada de trigo aumentou a digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica e diminuiu a FDN e hemicelulose desde o dia do tratamento até 90 dias após a ensilagem; quando comparado ao grupo controle. O desaparecimento de FDN foi de 4,52% e 7,7% e de hemicelulose foi de 22,4% e 34,4% para o grupo controle e tratado com NaOH

respectivamente. Maiores perdas de MS foram observadas nas silagens tratadas com o aditivo do que no grupo controle (5,94 e 2,84% respectivamente). O aumento de conteúdo celular (CC) concomitante à redução de hemicelulose no tratamento com NaOH indica que o aumento do CC deveu-se em parte à contribuição de pentoses advindas da degradação de hemicelulose (Singh et al, 1996). Em relação ao grupo controle, a estabilidade aeróbica melhorou 85% em silagem tratada com 1% de NaOH. No entanto, a estabilidade diminuiu com o aumento da dosagem do aditivo. O autor justifica estes resultados na disponibilidade de CHO-sol dado que, com o aumento das doses, houve diminuição do teor de FDN e aumento da digestibilidade *in vitro*, dessa forma sugerindo maior disponibilidade de CHO-sol como substrato para o desenvolvimento de microorganismos aeróbicos.

Ezequiel et al (2005) estudaram a aplicação de NaOH em cana fresca e ensilada por 30 dias. Foi aplicado NaOH em solução 50%, a 1,5% da massa verde. O tratamento alcalino aumentou a digestibilidade da MS, que foi 80,2, 72,5 e 58,6% para cana fresca tratada com NaOH, silagem tratada com NaOH e cana fresca, respectivamente. A digestibilidade da FDN seguiu o mesmo comportamento 65,4, 50,5 e 29,4% para cana fresca tratada com NaOH, silagem tratada com NaOH e cana fresca respectivamente. No mesmo experimento, os autores avaliaram o consumo de matéria seca da cana tratada e não tratada. Nos diferentes processamentos, observaram que a hidrólise melhorou o consumo da cana (10,5 kg MS/dia), já a silagem hidrolisada teve o consumo igual ao da cana fresca (8,4 kg MS/dia). Embora a IMS da silagem ter sido a mesma da cana fresca, o tratamento pode ser considerado vantajoso, pois, como citado anteriormente, a IMS da silagem de cana é inferior à da cana *in natura*.

A cal (CaOH) é uma base mais fraca que o NaOH e, desta forma, ainda que sejam esperados resultados semelhantes aos acima descritos, tais resultados,

quando observados, seriam de menor extensão. Entretanto, a facilidade de manuseio é uma vantagem da utilização de CaOH em relação ao NaOH.

Boodoo et al (1977) utilizaram cal como aditivo para silagem de cana-de-açúcar, objetivando neutralizar o pH ou aumentar a capacidade de tamponamento do material nos estádios iniciais da fermentação, o que poderia auxiliar no controle de leveduras. No entanto, observaram alta perda de graus brix e perda de 13,5 % no teor de MS da silagem.

Balieiro Neto et al (2005) estudaram a ensilagem de cana-de-açúcar tratada com 0,5, 1 e 2% de CaO (com base na MV), armazenada pelo período de 84 dias. As silagens tratadas não apresentaram diferenças significativas na recuperação de MS com relação ao controle (sem aditivo). Neste trabalho, a recuperação média de MS foi de 79,6% do total de MS inicialmente ensilado.

Em outro experimento, os autores avaliaram os efeitos dos mesmos tratamentos sobre a estabilidade aeróbica nas silagens de cana durante 9 dias de exposição ao ar, após a abertura. Os autores constataram que o tratamento com 2% de CaO foi eficiente em manter o pH da silagem até o nono dia de exposição, o que não ocorreu com os demais tratamentos. Ao observarem a estabilidade das silagens avaliada pela elevação de temperatura, os autores encontraram melhora com a adição de cal. O tempo para elevação de 2°C foi de 38 horas para as silagens sem cal, 62 horas para silagens com 0,5% de cal, 134 horas para silagens com 1% de cal e silagens com 2% de cal não atingiram elevação de 2°C até 204 horas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Experimento 1

A cana-de-açúcar de primeira rebrota foi colhida madura, em outubro de 2004, com aproximadamente 14 meses de crescimento após o corte da Cana Planta. Os colmos foram colhidos manualmente durante corte de rotina de cana para ensilagem, rente ao solo, seguido por empilhamento sem desfolha no campo. Estes foram introduzidos manualmente em uma ensiladeira (Pecus 9004, Nogueira S/A Maquinas Agrícolas, Itapira, SP) acoplada a trator e regulada para corte no menor tamanho possível de partícula.

Como as amostras foram oriundas de dois canaviais e a colheita ocorreu em dois dias consecutivos, houve a necessidade de blocagem das partidas oriundas do campo. Seis carretas de cana colhidas independentemente formaram seis blocos. De cada bloco, foram retiradas 48 amostras com peso ao redor de 7 kg, correspondente ao peso introduzido em cada mini-silo.

A lógica para as 48 amostras foi a seguinte: Doze combinações possíveis de dois efeitos (Aditivo Químico ou Aditivo Microbiológico) foram formadas por um arranjo 4x3 de tratamentos. Quatro fatores compuseram o efeito de Aditivo Químico: Controle Químico, uréia (Uréia agrícola, Petrobrás, Camaçari, BA), cal hidratada (Ouro Cal Elda Ltda., Córrego Fundo, MG) e sorbato de potássio (Sulatlantica, Rio de Janeiro, RJ). Três fatores compuseram o efeito de Aditivo Microbiológico: Controle Microbiológico, *Lactobacillus plantarum* (Biomax 5[®], Chr Hansen, Valinhos, SP) e *Lactobacillus buchneri* (Lalsil Cana[®], Lallemand Animal Nutrition and Health, Blagnac Cedex, France). Para cada

uma das doze possíveis combinações dos dois efeitos, quatro amostras foram ensiladas em cada bloco para abertura aleatória após 7, 14, 28 e 77 dias de ensilagem.

A aplicação dos tratamentos à massa de cana picada ocorreu em galpão coberto e sobre lona plástica. O tempo aproximado de mistura dos tratamentos e enchimento dos 48 silos em cada bloco foi de 60 minutos. Os aditivos químicos foram diluídos em 58 L de água por tonelada de cana *in natura*, quantidade necessária para diluir a Cal, enquanto os inoculantes microbiológicos foram diluídos em 19 L de água por tonelada de cana. Foi homogeneizada a mesma quantidade de água destilada pura (nos controles) ou acrescida dos tratamentos para cada monte de cana. O objetivo foi obter as seguintes concentrações dos tratamentos por unidade de massa verde de cana: Uréia 1%; Cal 1%; Sorbato 0,05% e inoculantes microbiológicos 1×10^6 ufc/g de forragem verde.

Como mini-silos experimentais, foram utilizados baldes plásticos de 20 litros, de 35 cm de altura e 30 cm de diâmetro. A cana foi compactada com os pés, buscando a maior densidade possível. Após o enchimento, os silos foram tampados com lona plástica e uma camada de 10 cm de areia foi adicionada sobre a lona. As laterais da lona foram vedadas com fita plástica adesiva. Durante o período de ensilagem, os silos foram mantidos em galpão coberto e arejado.

Um silo, representando uma das 12 possíveis combinações de tratamentos em cada bloco, foi escolhido aleatoriamente para abertura nos dias 7, 14, 28 ou 77. Os silos foram totalmente esvaziados e a amostra foi homogeneizada. O pH foi imediatamente medido (potenciômetro DM-20, Digicrom Analítica Ltda, Digimed, São Paulo, SP) em uma solução formada por 25 g de silagem, diluída em 225 ml de água destilada e homogeneizada por um

minuto em liquidificador. Uma amostra de silagem foi imediatamente congelada e armazenada até a realização das análises laboratoriais.

Parte das amostras descongeladas foi desidratada em estufa com ventilação forçada a 58°C por 72 horas. Após esta pré-secagem, as amostras foram moídas em moinho estacionário tipo Thomas-Wiley com peneira de 1 mm. O teor de matéria seca a 100°C (MS100) foi então determinado por desidratação a 100°C por 24 horas da amostra pré-seca e moída. O teor de FDN foi determinado por um Determinador de Fibra (Tecnal Equipamentos para Laboratório Ltda, Piracicaba, SP).

O teor de matéria seca das amostras descongeladas também foi determinado por destilação em tolueno (MStol) (McDonald e Dewar, 1960). A uma amostra de 30 g de silagem foi adicionado cerca de 200 ml de tolueno, suficiente para cobrir a amostra. O teor de umidade da amostra foi calculado pela perda de água por destilação dividida pelo peso inicial da amostra *in natura*. A diferença entre a MStol e a MS100 (DIF) foi calculada e utilizada como um indicador de compostos voláteis nas amostras.

A deterioração aeróbica foi estimada pela determinação da temperatura das silagens após a abertura dos silos (Kung Jr. et al, 2000). Este parâmetro foi avaliado apenas nos silos abertos 77 dias após a ensilagem. Cerca de três kg de cada silo foi colocada em baldes plásticos de 30 cm de diâmetro e 35 cm de altura, sem tampa e mantidos em repouso. A temperatura do centro da massa foi medida com um termômetro digital com haste de 30 cm (Modelo 1710 k autorange, S&E Instrum Testes e Medição Ltda. São Paulo, SP) a cada 6 horas a partir do momento de abertura, por 25 vezes. A cada três medições da temperatura dos silos, foi feita, simultaneamente, a medição da temperatura ambiente. A temperatura média acumulada das silagens durante o período total de amostragem (TStotal) foi calculada assumindo mudança linear na

temperatura entre dois pontos de mensuração da mesma. A temperatura média acumulada em 3600 minutos também foi calculada assumindo mudança linear na temperatura entre duas mensurações (TS3600). A temperatura média acumulada do ambiente em 3600 minutos e no tempo total também foram similarmente calculadas (TA3600 e TAtotal). A DIF3600 e a DIFtotal foi definida como a diferença entre a temperatura das silagens e a temperatura do ambiente.

Análise estatística

O efeito dos tratamentos sobre as variáveis MS100, MStol, DIF, FDN e pH foi analisado pelo procedimento GLM do pacote estatístico SAS (1985) pelo seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + Q_j + M_k + QM_{jk} + D_l + QD_{jl} + MD_{kl} + QMD_{jkl} + e_{ijkl}$$

Onde:

μ = média geral

B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 6)

Q_j = efeito de aditivo químico (j = controle químico, sorbato de potássio, uréia, cal).

M_k = efeito de aditivo microbiológico (k = controle microbiológico, *L. plantarum*, *L. buchneri*).

QM_{jk} = interação entre aditivo químico e aditivo microbiológico

D_l = efeito de dia de abertura ($l = 7, 14, 28$ e 77).

QD_{jl} = interação entre aditivo químico e dia de abertura

MD_{kl} = interação entre aditivo microbiológico e dia de abertura

QMD_{jkl} = interação entre aditivo químico, aditivo microbiológico e dia de abertura.

e_{ijkl} = erro residual

Para o estudo das variáveis TS3600, TStotal, DIF3600, DIFtotal e Período Total de amostragem da temperatura foi utilizado um modelo similar ao anterior, do qual os efeitos de Dia de Abertura e suas interações foram removidos. Três contrastes ortogonais com um grau de liberdade foram testados para o efeito de Aditivo Químico: Controle versus Cal, Controle versus Sorbato de potássio e Controle versus Uréia. Dois contrastes foram testados para o efeito de Aditivo Microbiológico: Controle versus *L. buchneri* e Controle versus *L. plantarum*. A frequência de silagens anormais após 77 dias de ensilagem foi analisada pelo teste de Qui-Quadrado contido no procedimento FREQ do SAS.

3.2. Experimento 2

A ensilagem de cana-de-açúcar por longo prazo e sem aditivos foi avaliada em amostras de primeiro corte (Cana Planta) colhidas em estágio maduro de maturação, em agosto de 2003, com aproximadamente 17 meses de crescimento após o plantio. Os colmos foram colhidos manualmente durante corte de rotina de cana para ensilagem na fazenda e foram triturados como descrito no Experimento 1.

A forragem moída no campo foi transportada para o laboratório e ensilada em 9 mini-silos experimentais de PVC com diâmetro de 10 cm e altura de 40 cm. Uma amostra composta do material *in natura* foi formada imediatamente antes da ensilagem e congelada. O peso de cana *in natura* ensilada em cada mini-silo foi $1,900 \pm 0,093$ kg (média $\pm$ desvio padrão). Os mini-silos foram fechados com tampa equipada com válvula tipo “Bunsen” e vedados com fita plástica adesiva.

Os mini-silos foram abertos 767 dias após a ensilagem. Estes foram completamente esvaziados e a amostra homogeneizada. Uma amostra foi imediatamente congelada e armazenada até a realização das análises laboratoriais. O pH, a MS100, a MStol e o teor de FDN foram medidos como descrito no Experimento 1. O teor de matéria seca não fibrosa (MSnFDN) foi calculado subtraindo-se o teor de FDN da matéria seca total. Estatísticas descritivas foram geradas para cada variável: média, desvio-padrão, valor mínimo e valor máximo.

3.3. Experimento 3

A perda de nutrientes e a deterioração aeróbica de silagens de cana-de-açúcar acrescidas de inoculante microbiológico foram avaliadas em colmos de primeira rebrota colhidos em estágio maduro, em setembro de 2005, com aproximadamente 12 meses de crescimento após a colheita da Cana Planta. Os colmos foram colhidos manualmente durante corte de rotina de cana para ensilagem na fazenda e foram triturados como anteriormente descrito.

Os tratamentos testados foram: Controle, *Lactobacillus plantarum* (Biomax 5®, Chr Hansen, Valinhos, SP) e *Lactobacillus buchneri* (Lalsil® Cana, Lallemand Animal Nutrition and Health, Blagnac Cedex, France). Os inoculantes foram misturados à cana-de-açúcar picada, em soluções aquosas de 3 l/ton de forragem verde. As dosagens objetivaram a obtenção de concentrações de microorganismos segundo recomendação dos fabricantes: 1×10^6 ufc/g de forragem fresca para o inoculante contendo *Lactobacillus plantarum* e $6,6 \times 10^5$ ufc/g do inoculante contendo *Lactobacillus buchneri*.

Uma amostra do material fresco de cada silo foi imediatamente congelada até a realização das análises laboratoriais. Os mini-silos experimentais foram 20 baldes plásticos de 20 litros de 35 cm de altura e 30 cm de diâmetro para cada tratamento. Os procedimentos de ensilagem foram similares aos descritos no Experimento 1. O tempo aproximado de enchimento dos silos foi de 60 minutos. O peso do material ensilado em cada mini-silo foi $7,868 \pm 0,619$ kg (média $\pm$ desvio padrão).

Os mini-silos foram abertos 40 dias após a ensilagem. A silagem foi completamente retirada e homogeneizada antes da amostragem. As amostras foram então congeladas até a realização das análises laboratoriais. O pH das silagens e os teores de MS100, MStol, FDN e MSnFDN nas amostras frescas e nas silagens foram mensurados como descrito anteriormente. A perda de massa de matéria seca, de FDN e de MSnFDN foram calculadas.

Em todos os mini-silos, o aquecimento pós-abertura foi avaliado aleatoriamente. Amostras de três kg de silagem de cada mini-silo foram colocadas em baldes plásticos sem tampa e mantidas em repouso. A temperatura das silagens foi medida 14 vezes a intervalos de 6 horas e a temperatura ambiente foi medida a cada três silos. O período total de medição das 14 avaliações de temperatura, a TS3600 e a TStotal foram determinados

similarmente ao Experimento 1. As temperaturas médias ambientes em 3600 minutos (TA3600) e no período total (TAtotal) foram calculadas e as diferenças entre a temperatura da silagem e a temperatura ambiente foram calculadas (DIF3600 e DIFtotal).

Análise estatística

A resposta aos tratamentos foi analisada usando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS (1985) pelo seguinte modelo:

$$Y_i = \mu + M_i + e_i$$

Onde:

μ = média geral

M_i = efeito de aditivo microbiológico (i = controle, *L. plantarum*, *L. buchneri*).

e_i = erro residual

Dois contrastes ortogonais com 1 grau de liberdade foram testados: Controle versus *L. buchneri* e Controle versus *L. plantarum*.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Relativamente ao Controle Químico, os aditivos químicos Uréia e Cal induziram maior pH nas silagens, coerente com ao observado na literatura (Boodoo et al, 1977; Castro Neto, 2003; Pedroso, 2003), sendo que não foi detectado efeito dos aditivos microbiológicos sobre esta variável (Tabela 2). O pH das silagens com Uréia e Cal foi mais alto em todos os dias de abertura dos silos, acentuando-se aos 77 dias de ensilagem (Figura 1). Não houve qualquer efeito da associação entre aditivos químicos e microbiológicos sobre os valores de pH ao longo do tempo (Tabela 2).

O aumento acentuado do pH no 77^o dia se explica pela alta incidência de silagens “anormais” neste dia de abertura dos silos (Tabela 3). Nas silagens anormais, toda a massa ensilada tinha uma coloração que variou entre as tonalidades marron-escura e preta. A ocorrência de silagens anormais apenas no tempo mais longo de ensilagem, o odor não típico de silagem de cana e o pH acima de 4,8, sugerem a ocorrência de fermentação clostrídica (McDonald et al, 1991). O pH das 17 silagens anormais nos tratamentos Uréia e Cal foi $6,63 \pm 1,17$ (média $\pm$ desvio padrão), variando de 4,81 a 8,54. Apesar de não terem sido encontrados relatos publicados relacionando o uso destes aditivos químicos a esta ocorrência, com base nestes dados, a inoculação de silagens de cana com uréia ou cal só poderia ser recomendada para ensilagens por tempo inferior a 28 dias.

TABELA 2: Matéria seca de silagens de cana-de-açúcar (% da MN) medida por desidratação a 100 °C (MS100), por destilação da amostra com tolueno (MStol), diferença entre a MStol e a MS100 (DIF), porcentagem de FDN na MS100 (FDN) e pH. Os tratamentos foram formados pelo arranjo fatorial de quatro aditivos químicos e três aditivos microbiológicos, submetidos a quatro tempos de ensilagem. Experimento 1.

	MS100	MStol	DIF	FDN	pH
Efeito de aditivo químico					
Cont Q ¹	22,0	26,8	4,8	79,9	3,12
Sorb ¹	22,7	30,2	7,0	76,7	3,07
Uréia	22,1	27,6	5,4	78,5	3,84
Cal	24,4	30,6	6,1	69,2	4,41
EPM ²	0,17	0,95	0,94	0,63	0,071
Efeito de aditivo microbiológico					
Cont M ¹	22,5	29,3	6,8	76,4	3,64
Buch ¹	23,0	27,4	4,1	76,4	3,57
Plant ¹	23,0	29,7	6,6	75,3	3,62
EPM	0,15	0,83	0,82	0,55	0,062
Efeito de dia de abertura dos silos					
7	24,3	30,0	5,8	71,3	3,51
14	22,9	29,7	6,7	75,1	3,44
28	22,7	28,5	5,7	77,9	3,39
77	21,4	26,9	5,1	79,9	4,09
EPM	0,17	0,96	0,94	0,63	0,071
P para os efeitos e suas interações					
Quim ³	<0,01	0,01	0,37	<0,01	<0,01
Micro ⁴	0,03	0,11	0,04	0,30	0,71
Quim*Micro	0,07	0,01	0,04	0,18	0,32
Dia ⁵	<0,01	0,08	0,63	<0,01	<0,01
Dia*Quim	<0,01	0,62	0,63	<0,01	<0,01
Dia*Micro	0,33	0,34	0,37	0,68	0,70
Dia*Quim*Micro	0,04	0,88	0,68	0,34	0,32
P para os contrastes					
Cont Q vs Sorb	<0,01	0,01	0,09	<0,01	0,61
Cont Q vs Uréia	0,48	0,53	0,65	0,13	<0,01
Cont Q vs Cal	<0,01	<0,01	0,33	<0,01	<0,01
Cont M vs Buch	0,02	0,11	0,03	0,93	0,41
Cont M vs Plant	0,02	0,73	0,89	0,19	0,80

¹ Cont Q = Controle Químico. Cont M = Controle Microbiológico. Sorb = Sorbato de potássio. Buch = *L. buchneri*. Plant = *L. plantarum*. ² EPM = Erro padrão da média. ³ Quim = Efeito de aditivo químico (Cont Q vs Cal vs Sorb vs Uréia). ⁴ Micro = Efeito de aditivo microbiológico (Cont M vs *L. buchneri* vs *L. plantarum*).

⁵ Dia = Efeito de dia de abertura dos silos (7, 14, 28 e 77 dias após a ensilagem).

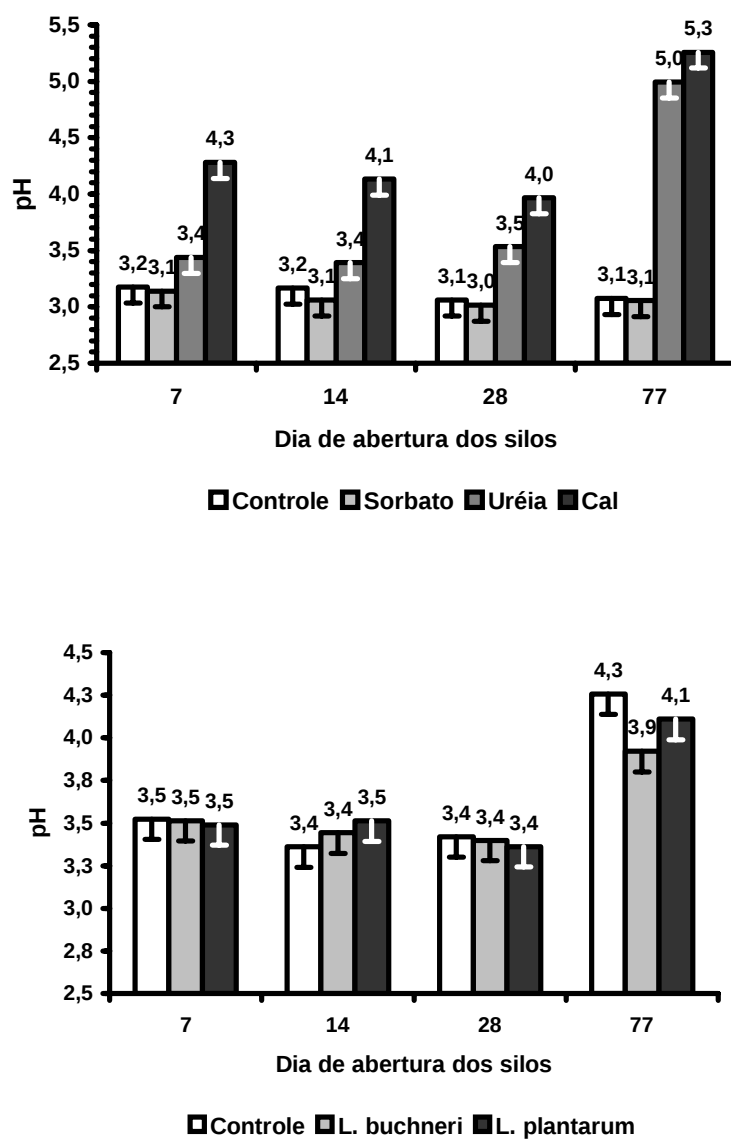


FIGURA 1: Efeito de aditivos químicos e aditivos microbiológicos sobre o pH de silagens de cana-de-açúcar após 7, 14, 28 e 77 dias de ensilagem. $P < 0,01$ para a interação entre o efeito de aditivo químico e o efeito do dia de abertura. $P > 0,70$ para o efeito de aditivo microbiológico e para a interação entre este efeito e o efeito do dia de abertura. Experimento 1.

TABELA 3: Frequência de silagens de cana-de-açúcar anormais 77 dias após o enchimento e submetidas a um arranjo fatorial de quatro tratamentos químicos (Controle Químico, Cal, Sorbato e Uréia) com três microbiológicos (Controle Microbiológico, *L. buchneri* e *L. plantarum*). Experimento 1.

	Observações	% de anormais
Controle Químico	18	0
Sorbato de potássio	18	0
Uréia	18	38,9
Cal	18	55,6
Chi-Quadrado para o efeito de aditivo químico		$P < 0,01$
Controle Microbiológico	24	27,3
<i>L. buchneri</i>	24	21,7
<i>L. plantarum</i>	24	25,0
Chi-Quadrado para o efeito de aditivo microbiológico		$P = 0,91$

Questões ligadas à armazenagem ou à vedação das silagens não explicam a alta incidência de silagens anormais. Todos os silos estavam adequadamente vedados e alocados em um galpão coberto durante o experimento. A incidência zero de anormalidade nos tratamentos Controle Químico e Sorbato, também evidência que este foi um problema apenas nas silagens aditivadas com Cal e Uréia (Tabela 3). A queda no pH destas silagens pode não ter sido rápida ou de magnitude suficiente para controlar o crescimento de Clostrídios (Tetlow & Mason, 1987). O crescimento destes microorganismos pode se acentuar em ensilagens feitas por tempo prolongado (Singh et al, 1996), o que explicaria a ocorrência apenas nas silagens abertas aos 77 dias.

A adição de sorbato de potássio, um inibidor de clostrídios (Woolford, 1975), não foi o fator determinante do não aparecimento de fermentação clostrídica nas silagens, já que a incidência de silagens anormais também foi nula no Controle Químico (Tabela 3). A composição das silagens anormais diferiu da composição das silagens normais, mas a diferença não foi tão grande a

se julgar pela disparidade no odor e cor. No tratamento Cal, a composição das 10 silagens anormais e das 8 normais foram, respectivamente: 21,9 e 23,5% da MN para a MS100; 29,4 e 29,0% da MN para a MStol e 74,1 e 70,1% da MS100 para a FDN. No tratamento Uréia, a composição das 7 silagens anormais e das 11 normais foram, respectivamente: 19,0 e 22,0% da MN para a MS100; 22,8 e 26,0% da MN para a MStol e 83,4 e 81,5% da MS100 para a FDN. As silagens anormais não foram removidas do banco de dados, já que a ocorrência de fermentação clostrídica aos 77 dias de ensilagem foi uma resposta aos tratamentos.

Duas medições de teor de matéria seca foram adotadas nesta pesquisa, a MS100 e a MStol. Apesar de a MStol ser teoricamente mais correta, por incluir os ácidos orgânicos e o etanol presentes na silagem na determinação da MS, o erro padrão da média para esta variável foi 5,5 vezes superior ao observado para a MS100 (Tabela 2), demonstrando que a técnica de medição da MS determinou a variabilidade na característica. A técnica de tolueno envolveu a amostragem de cerca 30 g de amostra fresca da silagem, o que pode ter colaborado para reduzir a precisão nos valores medidos, provavelmente pela dificuldade de amostragem. A utilização da técnica de tolueno, comparativamente a métodos de determinação da MS em amostras moídas e desidratadas em estufa, parece exigir maior número de unidades experimentais para que uma mesma diferença numérica obtenha suporte estatístico.

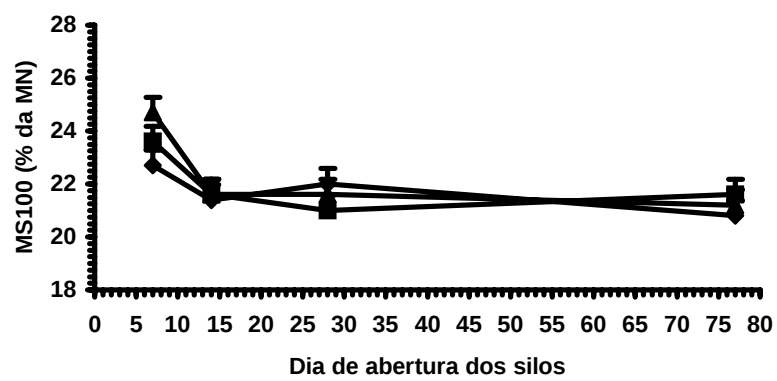
A resposta em MStol aos aditivos químicos foi semelhante à resposta em MS100 e a variação decrescente nestas duas variáveis ao longo dos dias de ensilagem também foi similar (Tabela 2). Uma vez que não foi observada perda de umidade por efluente, o maior teor de MS pode ter sido resultado do menor catabolismo de MS durante a ensilagem, ou menor formação de água como subproduto da fermentação de carboidratos (McDonald et al, 1991). A queda no teor de MS com o avançar dos dias de ensilagem, (Tabela 2), parece refletir a

correlação negativa entre a perda de MS e o teor de MS na planta (Pedroso et al, 2005). Assumindo que o teor de MS seria um indicador razoável da perda de MS, tanto o Sorbato quanto a Cal parecem ter afetado positivamente esta variável, enquanto a Uréia não surtiu efeito detectável.

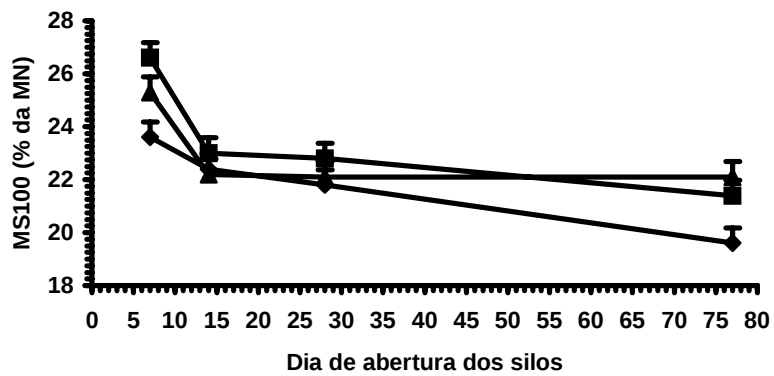
Distintamente do observado para os aditivos químicos, o efeito dos aditivos microbiológicos sobre as duas variáveis descrevendo o teor de MS das silagens não ocorreu de forma a demonstrar uma tendência similar (Tabela 2). Não houve poder estatístico para detectar diferenças significativas na MS₁₀₀ em resposta ao uso de aditivos microbiológicos. Entretanto, os dois contrastes foram significativos quando o efeito dos aditivos microbiológicos sobre a MS₁₀₀ foram testados. A julgar pela resposta em MS₁₀₀, os dois inóculos microbianos foram ativos e aparentemente tiveram efeito benéfico sobre a silagem de cana por aumentar o teor de nutrientes não voláteis no alimento.

A interação de três termos (Dia x Aditivo Químico x Aditivo Microbiológico) para a variável MS₁₀₀ foi significativa (Tabela 2). Os tratamentos Uréia e Cal resultaram em teor de MS mais constante ao longo do período de ensilagem (Figura 2), apesar de o teor médio ter sido maior com a Cal (Tabela 2). Nos tratamentos Sorbato e Cal a MS₁₀₀ foi semelhante no 7º dia após a ensilagem, mas no tratamento Sorbato seguiu-se uma queda proporcionalmente maior na MS₁₀₀ entre os dias 7 e 14 (Figura 2). A associação de Sorbato com inóculos microbianos resultou em MS₁₀₀ aos 7 e aos 77 dias de ensilagem maior que o Controle Microbiológico, o mesmo ocorrendo para a associação entre Uréia e aditivos microbiológicos aos 77 dias de ensilagem.

Controle Químico



Sorbato



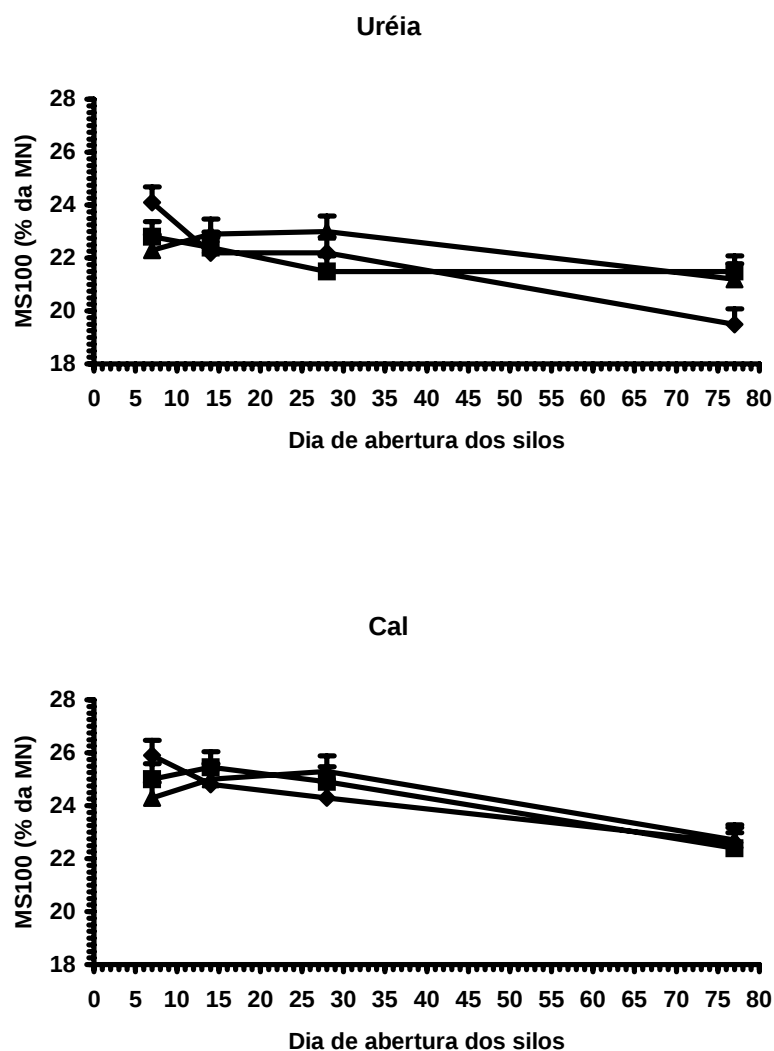


FIGURA 2: Teor de matéria seca determinada por secagem a 100°C (MS100) de silagens de cana-de-açúcar ensiladas por 7, 14, 28 e 77 dias e submetidas a quatro aditivos químicos (Controle Químico, Sorbato, Uréia e Cal) em arranjo fatorial de tratamentos com três aditivos microbiológicos (Controle Microbiológico ◆, *L. buchneri* ■, *L. plantarum* ▲). $P=0,04$ para a interação entre aditivo químico, aditivo microbiológico e dia de abertura dos silos. Experimento 1.

A associação de inóculos microbianos com Uréia e Sorbato, agentes químicos capazes de atuarem como inibidores de leveduras em silagens (Alli et al, 1983; Woolford, 1975), induziu a um ganho em MS100 (Figura 2). Para a associação entre os aditivos microbiológicos e Uréia, o efeito observado apenas aos 77 dias de ensilagem pode ter ocorrido em função do tempo necessário para a conversão de uréia em amônia, já que a última é responsável pela ação antimicrobiana da uréia (Britt et al, 1975). No tratamento Uréia, o teor de MS100 no 7º dia foi levemente inferior ao Controle Químico (Figura 2), evidenciando o efeito agudo indesejável deste aditivo químico, provavelmente mediado pelo maior valor do pH (Figura 1). Algum produto fermentativo dos aditivos microbiológicos (Ranjit & Kung Jr., 2000) pode ter interagido com a presença da amônia, sendo também capaz de aumentar a MS100 aos 77 dias de ensilagem no tratamento Uréia, mesmo sem ter afetado a MS100 no início do processo fermentativo.

Mecanismo semelhante ao observado para a associação entre Uréia e os dois aditivos microbiológicos, seria uma explicação plausível para a resposta similar em MS100 aos 77 dias à associação entre Sorbato e estes inóculos microbianos (Figura 2). O uso de aditivos microbiológicos no Controle Químico não exerceu efeito sobre a MS100, sugerindo que o uso simultâneo de agentes químicos capazes de inibir o crescimento de leveduras pode ser necessário para que aditivos microbiológicos atuem na ensilagem da cana-de-açúcar. Existem relatos sobre a incapacidade de inóculos microbianos, usados como aditivo único, de alterar características fermentativas e composição química de silagens de cana (Freitas et al, 2006a; Freitas et al, 2006b).

Pedroso et al (2003) observaram que a perda de MS na forma de gases em silagem de cana foi crescente até 15 dias da ensilagem e foi maior, mas estável, em amostras obtidas entre 45 e 180 dias. Neste trabalho, a atividade microbiana foi baixa após 45 dias de ensilagem, mas não foi definido o

momento entre 15 e 45 dias no qual teria sido atingida a estabilidade na perda de nutrientes. Em geral, assume-se que o desenvolvimento de leveduras pode ser prolongado devido à baixa inibição destes microorganismos pelo baixo pH das silagens (McDonald et al, 1991). A abertura do silo aos 77 dias representou eventos ocorridos desde o 28º dia da ensilagem, podendo ser esperada a ocorrência de metabolismo microbiano anaeróbico no intervalo entre as duas últimas amostragens experimentais.

Em presença de Sorbato e no Controle Químico, o uso dos aditivos microbianos atuou positivamente sobre a MS100 sete dias após a ensilagem (Figura 2). Entretanto, neste dia, a associação de Sorbato com os inoculantes parece ter amplificado a ação dos últimos, comparativamente ao uso isolado do inóculo microbiano. A presença de Cal na silagem resultou em ausência de efeito dos inoculantes sobre a MS100 (Figura 2). Os inoculantes microbianos também não atuaram sobre a MS100 até 28 dias após a ensilagem, quando esta continha Uréia. Estes dados sugerem que o efeito de curto prazo dos inoculantes pode ser dependente da redução do pH, mais alto nos tratamentos com Uréia e Cal (Tabela 2, Figura 2).

Woolford (1975) observou que o efeito inibitório de alguns ácidos graxos voláteis sobre o crescimento de leveduras foi maior quando o valor do pH foi mais baixo. Entretanto, o maior valor de pH no tratamento com Cal foi associado a um maior valor de MS100, mostrando a ação benéfica deste aditivo sobre o teor de MS, independentemente do pH da silagem. Pedroso (2003) observou que, apesar do pH mais alto da silagem relativamente ao controle não tratado, a incorporação de NaOH à silagem de cana reduziu a perda de MS. Argumenta-se que o hidróxido de cálcio poderia inibir a atividade enzimática dos tecidos da planta e também coibir a atividade microbiana (Estela et al, 1995).

Um mecanismo para a ação positiva sobre a MS100 do Sorbato associado a inóculos microbianos será especulativamente proposto, já que análises detalhadas dos produtos fermentativos e de populações microbianas nas silagens não foram executadas neste experimento. As curvas de variação no teor de FDN das silagens (Figura 3) indicam que a adição de Sorbato à silagem foi tão eficiente na manutenção de baixo teor de FDN sete dias após a ensilagem quanto a solubilização da parede celular por álcali no tratamento Cal (Jackson, 1977). Entretanto, o efeito do Sorbato sobre o teor de FDN não permaneceu a partir de 14 dias da ensilagem, sugerindo que pode ter ocorrido efeito rápido e de curta duração deste aditivo sobre a população microbiana na silagem (Woolford, 1975). Uma possível inibição da população ou do metabolismo de leveduras (Pedroso, 2003; Weinberg et al, 1989) no início do processo fermentativo, pode ter favorecido o crescimento ou o metabolismo dos microorganismos nos inóculos microbianos. Este fato pode ter resultado em menor catabolismo de carboidratos solúveis no início do processo fermentativo, provavelmente decorrente de um favorecimento à produção de ácidos graxos voláteis em detrimento da produção de etanol (Alli et al, 1982), reduzindo a queda no teor de MS100 (Figura 2) e retardando o aumento pós-ensilagem do teor de FDN (Figura 3).

Considerando que tanto o *L. buchneri* quanto o *L. plantarum* foram igualmente efetivos na manutenção da MS100 77 dias após a ensilagem nos tratamentos Sorbato e Uréia (Figura 2), o fato de o produto metabólico comum a estes microorganismos ser o lactato (Ranjit & Kung Jr., 2000) sugere que uma maior concentração deste ácido orgânico, produzido no início do processo fermentativo, pode ter inibido o crescimento de microorganismos indesejáveis na fase final da ensilagem. Moon (1983) observou que todos os ácidos graxos voláteis podem inibir o crescimento de bactérias e leveduras, apesar de bactérias homofermentativas produtoras de ácido lático serem pouco efetivas para reduzir

a população de leveduras em silagens (Bolsen et al, 1992; Pedroso, 2003; Ranjit & Kung Jr., 2000). Os inoculantes microbianos foram efetivos apenas quando associados aos inibidores de leveduras uréia e sorbato de potássio, e tiveram efeito mais marcado no período de ensilagem mais prolongado, aquele de menor disponibilidade de carboidratos não fibrosos, fatores que podem ter atuado sinergicamente à presença de algum produto fermentativo microbiano.

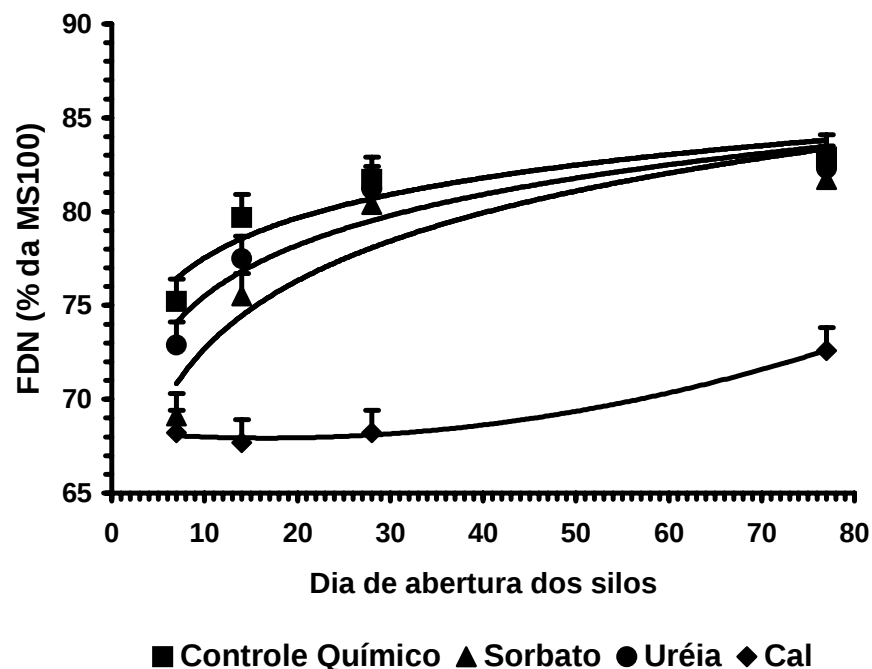


FIGURA 3: Efeito de aditivos químicos sobre o teor de FDN de silagens de cana-de-açúcar após 7, 14, 28 e 77 dias de ensilagem. $P < 0,01$ para a interação entre o efeito de aditivo químico e o efeito do dia de abertura. FDN no Controle Químico (% da MS100) = $70,444 + 3,0767 (\ln \text{ dia})$, $r^2 = 0,87$. FDN no Sorbato (% da MS100) = $60,669 + 5,22217 (\ln \text{ dia})$, $r^2 = 0,87$. FDN na Uréia (% da MS100) = $66,495 + 3,9082 (\ln \text{ dia})$, $r^2 = 0,89$. FDN na Cal (% da MS100) = $68,293 - 0,0431 \text{ dia} + 0,0013 \text{ dia}^2$, $r^2 = 0,99$. Experimento 1.

Cerca de 80% da MS total nas silagens (MStol) foi composta por nutrientes não voláteis (MS100) (Tabela 2). Assumindo que estimativas máximas do conteúdo de etanol em silagens de cana variam de 7 a 15% da MS (Alli et al, 1982; Kung Jr. & Stanley, 1982; Pedroso et al, 2003), algum conteúdo de ácido orgânico parece estar presente nestas silagens, sugerindo que outras rotas metabólicas não produtoras de etanol ocorrem durante o processo fermentativo da sacarose no silo. Este fator deve ser considerado quando se avalia o potencial de uso de inoculantes microbianos em silagens de cana, mesmo sabendo que o efeito destes aditivos sobre a composição das mesmas não tem sido marcado (Freitas et al, 2006a; Freitas et al, 2006b; Pedroso, 2003). Estratégias capazes de favorecer estes microorganismos podem ser necessárias para efetivamente atuar sobre o perfil fermentativo de silagens de cana aditivadas com inóculos microbianos homo ou heterofermentativos (Ranjit & Kung Jr., 2000).

Houve tendência ($P=0,09$) de aumento na DIF no tratamento Sorbato (Tabela 2), um indicador do teor de compostos voláteis na silagem. Este efeito foi decorrente da resposta positiva em DIF quando este aditivo químico foi associado a *L. plantarum* (Figura 4). O teor de MStol nas silagens (Figura 5) refletiu a variação observada em seus componentes voláteis (Figura 4). Este fato pode ser reflexo da maior atividade fermentativa do inóculo com *L. plantarum* quando leveduras foram concomitantemente inibidas pelo aditivo químico. Resposta similar não foi observada para o *L. buchneri*. É curiosa a alta produção de compostos voláteis quando uréia e cal aditivaram as silagens não aditivadas com inóculo microbiano. Discorrer sobre os mecanismos envolvendo estas observações seria pura especulação não fundamentável pelos dados aqui obtidos.

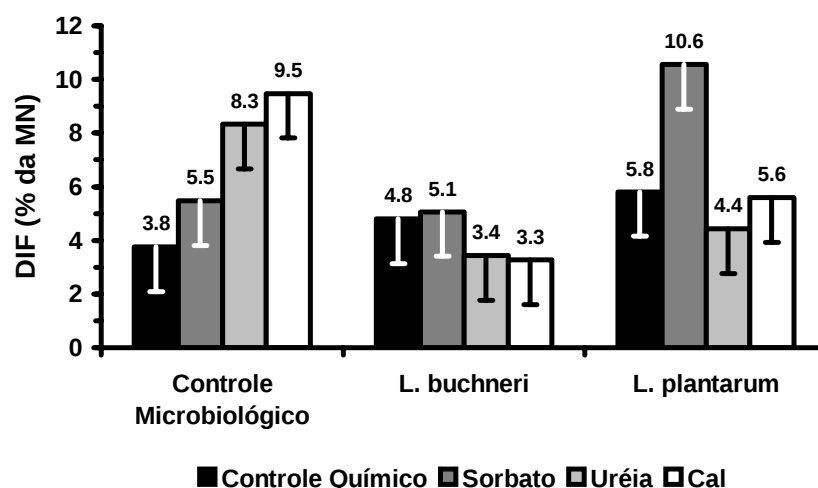


FIGURA 4: Teor de MS determinado por destilação em tolueno subtraída da MS determinada por desidratação em estufa (DIF) em silagens de cana-de-açúcar. As forragens foram ensiladas por 7, 14, 28 e 77 dias e submetidas a quatro aditivos químicos (Controle Químico, Sorbato, Uréia e Cal) em arranjo fatorial de tratamentos com três aditivos microbiológicos (Controle Microbiológico, *L. buchneri*, *L. plantarum*). $P=0,04$ para a interação entre o efeito de aditivo químico e o efeito de aditivo microbiológico. Experimento 1.

A queda induzida pelo tratamento Cal no teor de FDN das silagens (Tabela 2) pode ser interessante nutricionalmente. O teor de fibra, um nutriente de baixa digestibilidade na cana (Andrade, 1999; Corrêa et al, 2003), é o maior determinante químico da digestibilidade neste alimento (Teixeira, 2004). O Sorbato também induziu a uma queda no teor de FDN (Tabela 2), mas esta queda foi determinada pelo baixo teor de FDN sete dias após a ensilagem (Figura 3). Portanto, este é um tratamento pouco promissor para atuar sobre o teor deste nutriente em ensilagens comerciais. O menor teor de fibra observado sete dias após a ensilagem evidencia a ação rápida do álcali sobre este nutriente (Figura 3).

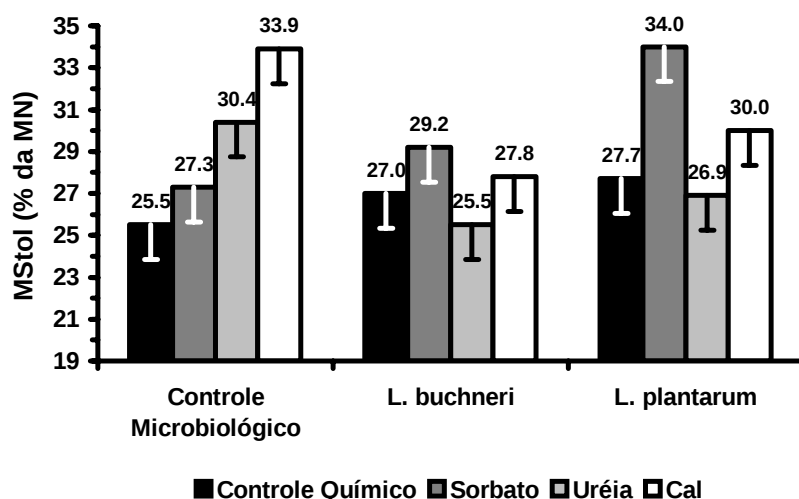


FIGURA 5: Teor de MS determinado por destilação em tolueno (MStol) em silagens de cana-de-açúcar. As forragens foram ensiladas por 7, 14, 28 e 77 dias e submetidas a quatro aditivos químicos (Controle Químico, Sorbato, Uréia e Cal) em arranjo fatorial de tratamentos com três aditivos microbiológicos (Controle Microbiológico, *L. buchneri*, *L. plantarum*). $P=0,01$ para a interação entre o efeito de aditivo químico e o efeito de aditivo microbiológico. Experimento 1.

A aditivação da silagem de cana com cal pode ser interessante para períodos de ensilagem inferiores a 28 dias, uma vez que a ocorrência de fermentação clostrídica parece não estar associada a esse período de armazenamento da forragem. Assumindo que o período de utilização do alimento ocorrerá entre 7 e 28 dias após a ensilagem, esta estratégia pode propiciar o corte concentrado da forragem a cada três semanas, o que pode ser operacionalmente interessante em fazendas leiteiras. Entretanto, o teor de FDN das silagens é superior ao teor da cana *in natura*, ao redor de 50% da MS (Andrade et al, 2004; Teixeira, 2004), mesmo nas silagens aditivadas com cal (Tabela 2, Figura 3). O aumento acentuado no teor de FDN da cana em resposta à ensilagem é consenso na literatura (Castro Neto, 2003; Pedroso et al, 2003).

O aumento no teor de FDN foi aparentemente atingiu um platô após 28 dias de ensilagem nos tratamentos Uréia, Sorbato e Controle Químico, enquanto que nas silagens com Cal ocorreu aumento no teor de fibra entre os dias 28 e 77 de ensilagem (Figura 3). Como o teor de FDN das silagens acometidas pela fermentação clostrídica foi semelhante ao teor de FDN das silagens normais na Cal (74,1 e 70,1% da MS100), o aumento no teor de fibra parece ser decorrente do período de estocagem, coerente com a queda observada na MS100 aos 77 dias de ensilagem neste tratamento (Figura 2). A aditivação com este álcali parece não ter sido capaz de evitar a ocorrência de atividade microbiana na cana ensilada pelo período mais longo adotado neste trabalho.

TABELA 4: Características de nove mini-silos de PVC preenchidos com $1,900 \pm 0,093$ kg (média $\pm$ desvio padrão) de cana-de-açúcar *in natura* e ensilados por 767 dias. Experimento 2.

Variáveis ¹	Original	Silagens			
		Média	DP	Mínimo	Máximo
		% da MN			
MS100	41,4	24,2	0,64	23,3	25,3
Mstol	43,8	30,8	1,05	29,2	32,1
DIF		6,6	1,40	4,6	8,3
		% da MS100			
FDN	47,0	68,7	1,87	65,4	71,2
MSnFDN	53,0	31,3	1,87	28,8	34,6
		% do ensilado			
Perda de MS100		44,1	1,23	42,8	46,1
Perda de MStol		32,8	2,12	29,5	36,2
Perda de FDN		18,3	2,75	13,3	22,6
Perda de MSnFDN		67,0	2,16	63,7	70,2
pH		3,4	0,14	3,2	3,6

¹ MS100 = Matéria seca determinada por secagem em estufa a 58°C por 72 horas e posterior secagem a 100°C por 24 horas. MStol = Matéria seca determinada por destilação em tolueno. DIF = MStol – MS100. FDN = Fibra em Detergente Neutro. MSnFDN = Matéria seca não fibrosa = 100 – FDN.

Um pequeno ensaio (Experimento 2) foi executado para avaliar as perdas de nutrientes em cana ensilada *in natura* por período longo de tempo (767 dias). O teor de MS no material original foi cerca de 40% da MN (Tabela 4), um teor alto, considerando que o teor na cana colhida fresca é usualmente ao redor de 30% (Teixeira, 2004). Este fato pode ser explicado pela obtenção do material a ser ensilado em uma ensilagem rotineira de fazenda. Antes da moagem, a cana colhida era empilhada para introdução manual na picadeira de forragem acoplada a um trator, para, em seguida, já triturada, ser transportada até os silos. Não interferimos neste processo, sendo assim, o alto teor de MS pode ter decorrido de desidratação do material ao longo da colheita, empilhamento, moagem e transporte até os silos, local da amostragem.

A queda no teor de MS100 foi de 41,5% relativamente ao material fresco e a queda no teor de MStol foi de 29,7% (Tabela 4). A magnitude das perdas nos teores de MS foram numericamente semelhantes à proporção de perda nas massas de MS100 e MStol ao longo da ensilagem. A forragem ensilada apresentou 78,6% da MS total como nutrientes não voláteis, valor semelhante ao observado no Experimento 1 (Tabela 2). O teor de FDN na cana ensilada aumentou cerca de 20 unidades percentuais proporcionalmente à cana fresca (Tabela 4).

A perda de MSnFDN durante a estocagem, representado majoritariamente por sacarose na cana, foi 3,7 vezes superior à perda de FDN, refletindo a predileção da respiração pelos tecidos da planta durante a fase aeróbica da ensilagem e da fermentação anaeróbica conduzida por microorganismos, por açúcares de rápida metabolização. A perda de MSnFDN foi praticamente o dobro da perda de açúcares relatada por Preston et al (1977), ao redor de 30%. A perda de MS100 também foi superior aos 31,4% relatados por Pedroso et al (2005) em ensilagem por 180 dias. Os valores de pH indicam que o padrão fermentativo dos silos foi similar ao de silagens normais de cana-

de-açúcar, sugerindo que esta magnitude de perdas representa valores obtíveis em ensilagens prolongadas e bem conduzidas desta forrageira (Castro Neto, 2003; Pedroso et al, 2005).

Em uma outra seqüência de trabalhos, foi avaliada a perda de nutrientes em canas ensiladas por 40 dias após receberem aditivos microbiológicos em dosagens recomendadas pelo fabricante (Experimento 3). As canas tinham cerca de 32% de MS100 e cerca de 47% de FDN à ensilagem (Tabela 5) e estes teores mudaram para 22% e 70% respectivamente após a ensilagem (Tabela 6).

TABELA 5: Características de sessenta amostras de cana-de-açúcar no momento da ensilagem. As amostras foram ensiladas sem uso de aditivo (Cont), ou usando inóculos microbiológicos contendo *L. buchneri* (Buch) ou *L. plantarum* (Plant). Experimento 3.

	<i>P</i> contrastes						
	Cont	Buch	Plant	EPM ¹	<i>P</i> Trat	Cont vs. Buch	Cont vs. Plant
	g/silo						
MN ² ensilada	8002	7705	7896	137,9	0,31	0,13	0,59
	% da MN						
MS100 ²	32,1	32,6	32,0	0,15	0,02	0,03	0,56
MStol ²	34,4	35,2	35,7	0,53	0,24	0,30	0,10
	% da MS100						
FDN ²	46,3	48,5	47,6	0,33	<0,01	<0,01	0,01
MSnFDN ²	53,7	51,5	52,4	0,33	<0,01	<0,01	0,01

¹ EPM = Erro padrão da média.

² MN = Matéria natural. MS100 = Matéria seca determinada por secagem em estufa a 58°C por 72 horas e posterior secagem a 100°C por 24 horas. MStol = Matéria seca determinada por destilação em tolueno. FDN = Fibra em Detergente Neutro. MSnFDN = Matéria seca não-FDN = 100 – FDN.

Como anteriormente observado, a queda proporcional no teor de MS100 (31%) e de MStol (20%) foi semelhante numericamente à perda proporcional nas massas de MS (Tabela 5). A perda de massa de FDN foi baixa na ensilagem

por 40 dias, relativamente à perda observada após 767 dias de ensilagem (Tabela 4), enquanto a perda de MSnFDN foi similar. Uma vez que carboidratos fibrosos apresentam lenta taxa de fermentação anaeróbica (Van Soest, 1994), é coerente supor que estocagens de longo prazo exerçam maior efeito sobre a perda de fibra do que sobre a perda de carboidratos não fibrosos. Apesar de os Experimentos 2 e 3 não terem sido conduzidos simultaneamente, o que exige cautela nas comparações entre trabalhos, a diferença na proporção de perdas de MS, relativamente ao originalmente ensilado, sugere que silagens de cana devem ser consumidas o mais rapidamente possível após a ensilagem.

TABELA 6: Características de sessenta amostras de cana-de-açúcar ensiladas por 40 dias. As amostras foram ensiladas sem uso de aditivo (Cont), ou usando inóculos microbiológicos contendo *L. buchneri* (Buch) ou *L. plantarum* (Plant). Experimento 3.

<i>P</i> contrastes							
	Cont	Buch	Plant	EPM ¹	<i>P</i> Trat	Cont vs. Buch	Cont vs. Plant
g/silo							
MN ² residual	7661	7270	7525	134,6	0,12	0,04	0,48
% da MN							
MS100 ²	22,1	22,2	22,7	0,15	0,03	0,71	0,01
MStol ²	28,2	28,3	27,3	0,65	0,48	0,84	0,35
DIF	6,0	6,1	4,6	0,65	0,19	0,91	0,13
% da MS100							
FDN ²	69,4	71,8	70,2	0,54	<0,01	<0,01	0,34
MSnFDN ²	30,6	28,1	29,8	0,54	<0,01	<0,01	0,34
% do ensilado							
Perda MS100	34,0	35,6	32,4	0,57	<0,01	0,04	0,05
Perda MStol	21,0	23,7	27,1	2,17	0,15	0,40	0,05
Perda FDN	0,9	4,5	0,2	1,24	0,04	0,04	0,71
Perda MSnFDN	62,4	64,8	61,5	0,76	<0,01	0,03	0,40
pH	2,75	2,91	2,91	0,02	<0,01	<0,01	<0,01

¹ EPM = Erro padrão da média.

² MN = Matéria natural. MS100 = Matéria seca determinada por secagem em estufa a 58°C por 72 horas e posterior secagem a 100°C por 24 horas. MStol = Matéria seca determinada por destilação em tolueno. DIF = MStol – MS100. FDN = Fibra em Detergente Neutro. MSnFDN = Matéria seca não fibrosa = 100 – FDN.

Enquanto o uso de *L. plantarum* reduziu, o uso de *L. buchneri* aumentou a perda de MS100 (Tabela 6), apesar de a magnitude do efeito ter sido biologicamente pequena. Filya (2003) também encontrou maiores perdas de MS em silagens de sorgo inoculadas com *L. buchneri* quando comparadas com silagens inoculadas com *L. plantarum*. Trabalhando com silagens de cana-de-açúcar, Pedroso (2003) observou menor perda de matéria seca para silagens

inoculadas com *L. buchneri* do que para silagens inoculadas com *L. Plantarum*, e não detectou efeito dos inoculantes em outra pesquisa conduzida na mesma sequência de trabalhos, evidenciando a variabilidade na resposta ao uso de inoculantes microbianos em silagens. A relação entre o custo e o benefício não é facilmente estimável para o uso de aditivos microbiológicos em silagem de cana, como forma de alterar variáveis químicas e a perda de nutrientes. É possível, todavia, que diferenças aparentemente pequenas na composição das silagens resultem em respostas em consumo e desempenho animal capazes de justificar o uso da tecnologia (Pedroso, 2003).

A temperatura das silagens após a exposição ao ambiente foi monitorada nos Experimentos 1 e 3 para indicar o efeito dos tratamentos sobre a deterioração aeróbica das silagens. No Experimento 1, o tratamento com o inoculante *L. buchneri* (Tabela 7) foi o que mais se aproximou de obter significância estatística. Este tratamento reduziu numericamente a diferença entre a temperatura das silagens e a temperatura ambiente, indicativo de maior aquecimento das silagens. Entretanto, os valores de *P* para o contraste deste tratamento comparativamente ao Controle Microbiológico foram maiores que 0,13 (Tabela 7), demasiadamente elevados para dar suporte estatístico à diferença numérica observada.

TABELA 7: Aquecimento pós-abertura de silagens de cana-de-açúcar ensiladas por 77 dias e submetidas a quatro aditivos químicos (Controle Químico, Sorbato, Uréia e Cal) em arranjo fatorial de tratamentos com três aditivos microbiológicos (Controle Microbiológico, *L. buchneri*, *L. plantarum*). A temperatura das silagens foi mensurada 25 vezes a cada 6 horas e a temperatura ambiente foi mensurada a cada três silos. Experimento 1.

	TS3600 ⁶	DIF3600 ⁷	TStotal ⁶	DIFtotal ⁷	Período total ⁵
Efeito de aditivo químico					
	°C				Min
Cont Q ¹	16,1	-8,0	14,8	-4,4	7620
Sorb ¹	16,3	-7,6	15,0	-4,2	7567
Uréia	15,2	-8,7	14,0	-5,2	7609
Cal	17,7	-6,4	15,4	-2,8	7609
EPM ²	0,76	0,76	0,45	0,68	34,8
Efeito de aditivo microbiológico					
	°C				Min
Cont M ¹	15,7	-8,3	14,8	-4,8	7610
Buch ¹	17,1	-6,9	14,9	-3,3	7616
Plant ¹	16,2	-7,9	14,8	-4,3	7577
EPM	0,67	0,67	0,40	0,66	38,5
P para os efeitos e suas interações					
Quim ³	0,27	0,36	0,29	0,29	0,74
Micro ⁴	0,36	0,31	0,97	0,29	0,74
Quim*Micro	0,86	0,86	0,92	0,82	0,69
P para os contrastes					
Cont Q vs Sorb	0,83	0,67	0,72	0,77	0,30
Cont Q vs Uréia	0,40	0,54	0,20	0,46	0,86
Cont Q vs. Cal	0,16	0,18	0,41	0,15	0,88
Cont M vs. Buch	0,17	0,15	0,87	0,13	0,92
Cont M vs. Plant	0,65	0,74	0,94	0,64	0,55

¹ Cont Q = Controle Químico. Cont M = Controle Microbiológico. Sorb = Sorbato. Buch = *L. buchneri*. Plant = *L. plantarum*. ² EPM = Erro padrão da média. ³ Quim = Efeito de aditivo químico (Cont Q vs Cal vs Sorb vs Uréia). ⁴ Micro = Efeito de aditivo microbiológico (Cont M vs *L. buchneri* vs *L. plantarum*). ⁵ Período Total = Duração da mensuração da temperatura. Período de t1 a t25. ⁶ TS3600, TStotal = Temperatura dos silos acumulada em 3600 minutos e no Período Total, cada uma dividida pela respectiva duração de cada período em minutos. Este cálculo assume que a temperatura de cada intervalo mudou linearmente entre a temperatura anterior e a temperatura posterior do intervalo. ⁷ DIF3600, DIFtotal = TS – TA. TA3600, TAtotal = Temperatura ambiente acumulada em 3600 minutos e no Período Total, cada uma dividida pela respectiva duração de cada período em minutos. Este cálculo assume que a temperatura de cada intervalo mudou linearmente entre a temperatura anterior e a temperatura posterior do intervalo.

No Experimento 3, também não foi detectado efeito de tratamento sobre a DIF3600 e DIFtotal (Tabela 8). Rodrigues et al (2002) também não encontraram efeito de inóculos microbianos sobre a temperatura máxima alcançada e a taxa de elevação da temperatura em silagens de sorgo. Distintamente, Pedroso (2003) observou que, com o uso de *L. buchneri*, a temperatura da massa de silagem de cana, medida duas vezes por dia, atingiu 2°C acima da temperatura ambiente mais tardiamente que o controle e teve menor acúmulo em cinco e dez dias da diferença média diária entre a temperatura das silagens expostas ao ar e a temperatura ambiente. Ranjit & Kung Jr. (2000) também observaram efeito positivo de *L. buchneri* sobre a estabilidade aeróbica de silagem de milho.

As diferenças metodológicas na medição da estabilidade aeróbica dificultam a interpretação dos resultados. A metodologia utilizada neste trabalho não detectou efeito de tratamentos sobre o aquecimento das silagens expostas à temperatura ambiente. A medição contínua da temperatura das silagens mantidas em um ambiente com temperatura controlada talvez seja uma melhor metodologia que a utilizada nesta pesquisa, mas requer um aparato científico mais requintado.

Apesar do corte concentrado da cana para ensilagem ser uma possibilidade para reduzir o custo de colheita e moagem da cana em alta frequência, para fornecimento *in natura* ao longo do período seco do ano, ou ser uma opção para facilitar o manejo alimentar de rebanhos e maximizar a eficiência nos tratos culturais da lavoura, a perda de carboidratos não fibrosos durante a ensilagem requer uma maior inclusão dietética de alimentos concentrados energéticos, para que a mesma densidade nutricional seja mantida em dietas onde cana ensilada substitui cana fresca. O maior custo de dietas com cana ensilada, decorrente da maior necessidade de alimentos concentrados por unidade de desempenho animal, pode ser compensado pelo menor custo que o

de colheita da cana fresca, ou mesmo pela viabilização da utilização da forrageira em fazendas onde é difícil a adoção do corte da cana em alta frequência, mesmo que o custo alimentar por unidade de desempenho seja superior ao obtível com a utilização da cana *in natura*. A adequação ou não da ensilagem da cana em sistemas de produção de bovinos tem caráter específico e envolve questões muito mais amplas que o mero valor nutritivo do alimento.

TABELA 8: Aquecimento pós-abertura de sessenta amostras de cana-de-açúcar ensiladas por 40 dias. As amostras foram ensiladas sem uso de aditivo (Cont), ou usando inóculos microbiológicos contendo *L. buchneri* (Buch) ou *L. plantarum* (Plant). A temperatura das silagens foi mensurada 14 vezes a cada 6 horas e a temperatura ambiente foi mensurada a cada três silos.

	<i>P</i> contrastes						
	Cont	Buch	Plant	EPM ¹	<i>P</i> Trat	Cont vs. Buch	Cont vs. Plant
	min						
Período							
Total ²	4511	4734	4667	27,7	<0,01	<0,01	<0,01
		°C					
TA3600 ⁴	23,2	23,9	23,5	0,14	<0,01	<0,01	0,11
Tatotal ⁴	22,2	22,7	22,3	0,14	0,07	0,04	0,79
		°C					
TS3600 ⁵	27,6	29,0	28,1	0,35	0,02	<0,01	0,28
TStotal ⁵	26,3	27,6	26,6	0,33	0,02	<0,01	0,49
		°C					
DIF3600 ⁶	4,4	5,1	4,6	0,38	0,43	0,21	0,70
DIFtotal ⁶	4,0	4,9	4,3	0,36	0,25	0,10	0,60

¹ EPM = Erro padrão da média.

² Período Total = Duração da mensuração da temperatura. Período de t1 a t14.

³ Intervalo = Intervalo médio de tempo entre duas mensurações de temperatura ao longo do Período Total (média de 13 Intervalos).

⁴ TA3600, TAtotal = Temperatura ambiente acumulada em 3600 minutos e no Período Total, cada uma dividida pela respectiva duração de cada período em minutos. Este cálculo assume que a temperatura de cada Intervalo mudou linearmente entre a temperatura anterior e a temperatura posterior do Intervalo.

⁵ TS3600, TStotal = Temperatura dos silos acumulada em 3600 minutos e no Período Total, cada uma dividida pela respectiva duração de cada período em minutos. Este cálculo assume que a temperatura de cada Intervalo mudou linearmente entre a temperatura anterior e a temperatura posterior do Intervalo.

⁶ DIF3600, DIFtotal = TS – TA.

5 CONCLUSÕES

1) A ensilagem da cana induziu a um aumento significativo no teor de FDN do alimento fresco e alta perda na massa de matéria seca.

2) A associação entre sorbato de potássio e inoculantes microbianos melhorou a ação de microorganismos tanto homo quanto heterofermentativos na ensilagem da cana. Entretanto, o efeito dos inoculantes microbianos sobre a perda e o teor de matéria seca foi pequeno.

3) O uso de aditivos capazes de aumentar o pH, ao longo de períodos prolongados de ensilagem, pode induzir a ocorrência de fermentação clostrídica da cana.

4) Justifica-se o uso de cal em ensilagens de cana por períodos inferiores a 28 dias, como forma de reduzir o teor de fibra neste alimento.

5) O uso da uréia não se mostrou promissor.

6) Não se detectou o efeito dos tratamentos sobre o aquecimento da cana desensilada e mantida em temperatura ambiente.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIN, D.E.; ROBISON, E.L. Structure of leaves and stems of arrow leaf and crimson clovers as related to in vitro digestibility. **Crop Science, Madison**, v.22, n.1, p.24-29, 1982.

ALCÂNTARA, E.; AGUILERA, A.; ELLIOTT, R. et al Fermentation and utilization by lambs of sugarcane harvest fresh and ensiled with and without NaOH: ruminal kinetics. **Animal Feed Science and Technology**, v.23, p.323-331, 1989.

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

ALLI, I.; FAIRBAIRN, R.; BAKER, B.E. The effect of ammonia on fermentation of chopped sugarcane. **Animal Feed Science and Technology**, v.9, p.291-299, 1983.

ANDRADE, J.B.; FERRARI Jr., E.; POSSENTI, R.A.; OTSUK, I.P.; ZIMBACK, L.; LANDELL, M.G.A. Composição química de genótipos de cana-de-açúcar em duas idades, para fins de nutrição animal. **Bragantia**, v.63, n.3, p.314-349, 2004.

ANDRADE, M.A.F; PEREIRA, M.N. Performance of holstein heifers on fresh sugarcane as the only dietary forrage. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.91, 1999. Supplement 1.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G.; HEN, Y.; FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. **J. Ind. Microbial. Biotechnology**. 28: 261-263, 2002.

BALIEIRO NETO, G.; SIQUEIRA, G.R.; NOGUEIRA, J.R.; REIS, R.A.; SILVA, D.N.; ROTH, A.P.T.P.; ROTH, M.T.P. Perdas na ensilagem da cana-de-açúcar cv iac 86/2480 (saccharum officinarum l.) com doses de óxido de cálcio. **Revista Brasileira de Zootecnia, Goiânia, GO**, 2005, Anais... CD-Rom.

BARNES, A.C. The sugar cane. London: Leonard Hills Books, 1974. 572p.

BOLSEN, K.K.; WILKINSON, M.; LIN, C.J. Biotechnology in the feed industry: evolution of silage and silage inoculants. In: **Alltech's Annual**

Symposium, 16, 2000. Nottingham, UK. Proceedings... Nottingham: Nottingham University Press, 2000.

BOODOO, A.N.; DELAITRE, J.C.; PRESTON, T.R. Ensiling sugar cane tops with different additives. **Tropical Animal Production**, v.2, n.2, p.185-188, 1977.

BRITT, D.G.; HUBER, J.T.; ROGERS, A.L. Fungal growth and acid production during fermentation and re-fermentation of organic acid treated corn silages. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p. 532-539, 1975.

CARVALHO, G.G.P.; PIRES, A.J.V.; VELOSO, C.M.; SILVA, R.R.; SILVA, F.F.; MENDES, F.B.L.; SOUZA, D.R.; PINHEIRO, A.A.; OLIVEIRA, A.B.; SANTOS, M.M. Degradabilidade "in situ" da fração fibrosa do bagaço de cana-de-açúcar tratado com uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Goiânia, GO, 2005, Anais... CD-Rom.

CASTRO NETO, A.G. **Avaliação de silagens de cana-de-açúcar submetidas a diferentes tratamentos**. Belo Horizonte, 2003. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.

CORREA, C.E.S.; PEREIRA, M.N.; OLIVEIRA, S.G.; RAMOS, M.H. Performance of holstein cows fed sugarcane or corn silage of different grain textures. **Scientia Agrícola**, v.60, n.4, p.621-629, 2003.

COSTA, H.N. **Efeito do ambiente ruminal sobre a degradabilidade in situ da cana-de-açúcar**. 2002. 51 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ESCOBAR, A.; PARRA O.; PARRA R. Effect of alkali treatment on the in-vitro digestibility and chemical composition of fibrous agricultural residues. **Tropical Animal Production**, v.10, n.1, p.58-67, 1985.

ESTELA, C.; SYDNEY, G.B.; BAMMANN, L.L.; FELIPPE JUNIOR, O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. **Brazilian Dental Journal**, v.6, n.2, p.85-90, 1995.

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**, v.34, n.5, p.1704-1710, 2005.

FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3575-3581, 2003.

FONSECA, A.H.; VON PINHO, R.G.; PEREIRA, M.N.; BRUNO, R.G.S.; CARVALHO, G.S. Características agronômicas, químicas e nutricionais de híbridos de milho, visando à produção de silagem de alto valor nutritivo. **Revista Ceres** 49: 41-54, 2002.

FREITAS, A.W.P.; PEREIRA, J.C.; ROCHA, F.C.; COSTA, M.G.; LEONEL, F.P.; RIBEIRO, M.D. Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo de colheita de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.38-47, 2006.

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 de colheita de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.48-59, 2006.

GALLO, P.C.S. **Desempenho de novilhas holandesas alimentadas com teores dietéticos crescentes de cana-de-açúcar**. 2001. 40p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GORDON, C.H. Storage losses in silage as affected by moisture content and structure. **Journal of Dairy Science**, v. 50, n.3, p.397-403, 1967.

HENDERSON, N. Silage Additives. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, p.35-56, 1993.

HENDERSON, A.R.; EWART, M.J.; ROBERTSON G.M. Studies on the aerobic stability of commercial silages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.30, p.223-228, 1979.

JACKSON, M.G. Review article: The alkali treatment of straws. **Animal Feed Science and Technology**, v.2, p.105-130, 1977.

JONES, B.A.; HATFIELD, R.D.; MUCK, R.E. Effect of fermentation and bacterial inoculation on Lucerne cell walls. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.60, p. 147-153, 1992.

KUNG Jr., L.; ROBINSON, J.R.; RANJIT, N.K.; CHEN, J.H.; GOLD, C.M.; PESEK, J.D. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1479-1486, 2000.

KUNG Jr., L.; MYERS, C.L.; NEYLON, J.M.; TAYLOR, C.C.; LAZARTIC, J.; MILLS, J.A.; WHITER, A.G. The effects of buffered propionic acid-based additives alone or combined with microbial inoculation on the fermentation of high moisture corn and whole-crop barley. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1310-1316, 2004.

LANDELL, M.G.A.; CAMPANA M.P.; RODRIGUES, A.A. et al A variedade IAC86-2480 como nova opção de cana-de-açúcar para fins forrageiros: manejo de produção e uso na alimentação animal. Boletim Técnico IAC 193, Campinas: **Instituto Agrônomo de Campinas**, 2002. 36p.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Principles of biochemistry**. 2nd Edition, New York: Worth Publishers, 1993, 1013p.

MARTE, J. A., OLIVO, F., DEB HOVELL, F.D. The digestibility of chopped sugar cane supplemented with molasses or wheat bran. **Trop. Anim. Prod., Santo Domingo**, v.3, n.1, p 56-61, 1978.

McDONALD, P.; DEWAR, W.A. Determination of dry matter and volatiles in silage. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.11, p.566-570, 1960.

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

MEESKE, R.; BASSON, H.M. The effect of lactic acid bacterial inoculants on maize silage. **Animal Feed Science Technology**, v.70, p.239-247, 1998.

MOON, N.J. Inhibition of the growth of acid-tolerant yeasts by acetate, lactate, propionate, and their synergistic mixtures. **J. Appl. Bacteriol.** 55:453-460, 1983.

MUCK, R.E. The role of silages additives in making high quality silage. **In: Silage Production from Seed to Animal, NRAES – 67**, Northeast Regional Agriculture Engng. Service, p.106-116, Syracuse, NY, 1993.

MUCK, R.E. & KUNG JR., L. **Effects of silage additives on ensiling. Northeast Regional Agricultural Engineering Service.** Proceedings of the Silage: Field to Feedbunk North American Conference, Hershey, Pennsylvania. NRAES-99. p.187-199, 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7.ed. Washington: National Academy Press, 2001.

O'KIELY, P; MUCK, R.E. Aerobic deterioration of lucerne (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mais*) silages: effects of yeasts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.59, n.2, p.139-144, 1992.

OLIVEIRA, A.L.F; ZERVOUDAKIS, J.T.; MIRANDA, L.; OLIVEIRA, E.F., CABRAL, L.S.; SOUZA, A.L. Efeito da adição de inoculante microbiano sobre as características fermentativas da silagem de cana-de-açúcar: etanol e ph. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Goiânia, GO, 2005, Anais... CD-Rom.

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

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. **Sci. Agric.** (Piracicaba, Braz.), v.62, n.5, p.427-432, Sept. /Oct. 2005.

PEREIRA, O.G.; CAMPOS, P.R.S.S.; CARVALHO, I.P.C.; PACHECO, L.B.B. Degradabilidade ruminal de silagens de cana-de-açúcar produzidas com inoculantes enzimo-bacteriano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Goiânia, GO, 2005, Anais... CD-Rom.

POLAN, C.E.; STIEVE, D.E.; GARRETT, J.L. Protein Preservation and ruminal degradation of ensiled forage treated with heat, formic acid, ammonia, or microbial inoculants. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.3, p.765-776, 1998.

PRESTON, T.R. Nutritive value of sugar cane for ruminants. **Trop. Anim. Prod.**, v.2, n.2, p. 125-142, 1977.

RANDBY, A.T.; SELMER-OLSEN, I.; BAEVRE, L. Effect of ethanol in feed on milk flavor and chemical composition. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.420-428, 1999.

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

RESENDE, J.A.; PEREIRA, M.N.; VON PINHO, R.G.; FONSECA, A.H.; SILVA, A.R.P. Ruminant silage degradability and productive of forage and grain-type sorghum cultivars. **Scientia Agrícola**, 60(3): 457-463, 2003.
RODRIGUES, P.H.M.; SENATORE, A.L.; ANDRADE, S.J.T.; RUZANTE, J.M.; LUCCI, C.S.; LIMA, F.R. Efeitos da adição de inoculantes microbianos sobre a composição bromatológica e perfil fermentativo da silagem de sorgo produzida em silos experimentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2373-2379, 2002.

ROTH, M.T.P.; SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; BERNARDES, T.F.; PIRES, A.J.V.; ROTH, A.P.T.P.; AMARAL, R.C. Ensilagem da cana-de-açúcar (“saccharum officinarum” L.) tratada com doses de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia, Goiânia, GO**, 2005, Anais... CD-Rom.

RUXTON, I.B.; CLARK, B.J.; McDONALD, P. A review of the effects of oxygen on ensilage. **Journal Br. Grassld Soc**, v.30, p.23-30, 1975.

SANDERSON, M.A. Aerobic stability and in vitro fiber digestibility of microbially inoculated corn and sorghum silages. **Journal of Animal Science**, v.71, p.505-514, 1993.

SANTOS, R.V. **Silagem de cana-de-açúcar em duas idades de corte com diferentes aditivos**. Lavras, 2004. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SAS User's Guide: **Statistics**. SAS Institute, Inc., Cary, NC. 1985.

SEGLAR, B. Fermentation Analysis and Silage Quality Testing. **Proceedings of the Minnesota Dairy Health Conference College of Veterinary Medicine**, University of Minnesota, May 2003.

SINGH, K.; HONING, H.; WERMKE, M.; ZIMMER, E. Fermentation pattern and changes in cell wall constituents of straw-forage silages, straws and partners during storage. **Animal Feed Science Technology**, v.61, p.137-153, 1996.

SIQUEIRA, G.R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; PIRES, A.J.V.; AMARAL, R.C.; ROTH, M.T.P.; ROTH, A.P.T.P. Valor nutritivo das silagens de cana-de-açúcar “*saccharum officinarum* L.” ensilada com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Goiânia, GO, 2005, Anais... CD-Rom.

SOUSA, D.P.; MATTOS, W.R.S.; NUSSIO, L.G.; MARI, L.J.; SANTOS, M.C.; ZOPPELLATTO, M.; SHIMDT, P.; RIBEIRO, J.L.; QUEIROZ, O.C.M.; JUNQUEIRA, M.C.; CAMARGO, M.S.; TOLEDO FILHO, S.G.; FIGUEIRÓ, R.N. Avaliação das perdas por efluentes e gases em silagens de cana-de-açúcar aditivadas com inoculantes químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Goiânia, GO, 2005, Anais... CD-Rom.

TAYLOR, C.C.; KUNG Jr., L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1526-1532, 2002.

TEIXEIRA, C.B. **Determinantes da degradabilidade entre clones de cana-de-açúcar no rúmen de bovinos**. Lavras, 2004. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

TETLOW, R.M.; MASON, V.C. Treatment of whole-crop cereals with alkali. 2. Voluntary intake and digestibility by sheep of rye, barley and wheat crops ensiled with sodium hydroxide. **Animal Feed Science and technology**, v.18, p.257-269, 1987.

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

UMAÑA, R.; STAPLES, C.R.; BATES, D.B.; WILCOX, C.J.; MAHANNA, W.C. Effects of a microbial inoculants and (or) sugarcane molasses on the fermentation, aerobic stability, and digestibility of Bermuda grass ensiled at two moisture contents. **Journal of Animal Science**, v.69, p.4588-4601, 1991.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VASANTHI, S.; BHAT, R.V. Mycotoxins in foods-occurrence, health & economic significance & food control measures. **Indian Journal of Medical Research, Jodpur**, v.108, p.212-224, 1998.

WEINBERG, Z.G.; ASHBELL, G.; HOREY, B. The effect of sorbic acid on loss reduction during storage of orange peels. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.46, p.253-258, 1989.

WEINBERG, Z.G.; MUCK, R.E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v.19, p.53-68, 1996.

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.

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