# UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS

# ADITIVOS MICROBIANOS COMERCIAIS NA SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR

Autor: Wilma Cristina Cavalcante dos Santos Orientador: Prof. Dr. Willian Gonçalves do Nascimento

> GARANHUNS Estado de Pernambuco 2014

# UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS

# ADITIVOS MICROBIANOS COMERCIAIS NA SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR

Autor: Wilma Cristina Cavalcante dos Santos Orientador: Prof. Dr. Willian Gonçalves do Nascimento Co-Orientador: Prof. Dr. André Luiz Rodrigues Magalhães

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS, no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens da Universidade Federal Rural de Pernambuco - Área de Concentração: Produção de Ruminantes.

GARANHUNS Estado de Pernambuco 2014

# Ficha catalográfica Processos Técnicos da Biblioteca Setorial UFRPE/UAG

S237a Santos, Wilma Cristina Cavalcante dos Aditivos microbianos comerciais na silagem de

cana-de-açúcar / Wilma Cristina Cavalcante dos Santos. -

Garanhuns, 2014.

65f.

Orientador: Willian Gonçalves do Nascimento Dissertação (Mestrado em Ciência animal e Pastagens) -Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade Acadêmica de Garanhuns, 2014.

Inclui Anexo e Bibliografias

CDD: 636.08552

- 1. Silagem Cana-de-açúcar
- 2. Fermentação Carboidratos solúveis
- 3. Leveduras
- 4. Digestibilidade
- 5. Bactérias homo e heteroláticas
- I. Nascimento, Willian Gonçalves do
- II. Título

# UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS

# ADITIVOS MICROBIANOS COMERCIAIS NA SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR

Autor: Wilma Cristina Cavalcante dos Santos Orientador: Prof. Dr. Willian Gonçalves do Nascimento Co-Orientador: Prof. Dr. André Luiz Rodrigues Magalhães

TITULAÇÃO: Mestre em Ciência Animal e Pastagens Área de Concentração: Produção de ruminantes

APROVADO em 19 de fevereiro de 2014.

Prof. Dr. André I uiz Rodrigues
Magalhães - PPGCAP/UFRPE

Prof. Dr. Omer Cavalcanti de Almeida - UAG/UFRPE Prof<sup>a</sup>. Dr. Dulciene Karla de Andrade Silva - PPGCAP/UFRPE

Prof. Dr. Willian Gonçalves do Nascimento - PPGCAPA FRPE

"Agrada-te do Senhor, e ele satisfará os desejos do teu coração.

Entrega o teu caminho ao Senhor, confia nele, e o mais ele fará."

Salmos 37: 4 e 5

À minha mãe Edvalda dos Santos,

pelo exemplo de vida e por toda dedicação ao guiar os meus passos.

Aos meus irmãos Wilkinson dos Santos, Wilka dos Santos e Paola dos Santos, **por todo incentivo e companheirismo.** 

Ao meu noivo Fábio de Sá

por toda paciência e força.

### **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus pela vida, saúde, proteção, bênçãos, família, pelos planos reservados para minha vida, pelos poucos amigos, porém sinceros, pelo noivo maravilhoso e a nova família que ganhei, pelos orientadores dedicados que tive a oportunidade de trabalhar, pelas dificuldades e provações, pois com elas aprendi a ser perseverante. Enfim, por tudo, pois Deus mantém o mundo em suas mãos e nada se faz sem que seja por Sua vontade.

À minha mãe Edvalda dos Santos pelo exemplo de vida, pelo cuidado e dedicação em guiar os meus passos no caminho do Senhor. Foi quem primeiramente acreditou em mim e me deu a maior herança que os pais podem deixar para um filho que é a educação.

Aos meus irmãos, Wilkinson dos Santos, Wilka dos Santos e Paola dos Santos pelo incentivo, companheirismo, paciência, ajuda de todas as formas e compreensão.

Ao meu querido noivo Fábio de Sá por toda força e paciência. Não tenho palavras para descrever o quanto é bom e maravilhoso comigo.

À minha amiga Auxiliadora de Melo pelo incentivo, pela fé em mim e pela disposição em me ajudar.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens, por abrir-me as portas e possibilitar-se desenvolver este trabalho.

Ao meu orientador, professor Willian Gonçalves do Nascimento, pela valiosa orientação, dedicação, paciência, ensinamentos e apoio.

À professora Geane Dias Gonçalves Ferreira por ter acreditado em minha capacidade e ajudar a ingressar neste programa.

Ao meu co-orientador, professor André Luiz Rodrigues Magalhães pelos ensinamentos e apoio.

Aos professores Airon Melo, Dulciene Karla, Carlos Ribeiro, Omer Cavalcanti, Álvaro Bicudo e aos demais professores que fazem o PPGCAP, que contribuíram para o meu crescimento profissional.

Aos amigos Wilka dos Santos, Géssica Solanna, Italvan Milfont, Angélica Valsoní, Diana Rocha, Janieire Dorlamis, José Ribamar, Hélio Arcanjo, Leones Costa, Daurivane Sousa, Erickson Feitosa, Ana Gisele, Samuel, Cléia, Suellen, Edmário, Camila, Juliana, Leandro, Hiana e Jarbas que contribuíram para realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo auxílio.

**MUITO OBRIGADA!!** 

## **BIOGRAFIA DA AUTORA**

WILMA CRISTINA CAVALCANTE DOS SANTOS, filha de Adauto Manoel Francisco dos Santos e Edvalda Cavalcante Laranjeira dos Santos, nasceu em 24 de agosto de 1987 em Garanhuns, PE.

No ano de 2006 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE/UAG, obtendo o título de Zootecnista em fevereiro de 2011.

Em agosto de 2011 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens, nível de mestrado, da Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE/UAG, concentrando seus estudos na área de Produção de Ruminantes.

Em 19 de fevereiro de 2014, submeteu-se à defesa da presente dissertação.

# SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	vii
TABELAS DO APÊNDICE	viii
FIGURAS DO APÊNDICE	ix
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Microbiologia na ensilagem de cana-de-açúcar	14
2.2 Perdas na ensilagem de cana-de-açúcar	16
2.3 Deterioração aeróbia da silagem de cana-de-açúcar	18
2.4 Valor nutritivo da silagem de cana-de-açúcar	
2.5 Aditivos microbianos na ensilagem de cana-de-açúcar	20
REFERÊNCIAS	22
Aditivos microbianos comerciais na silagem de cana-de-açúcar	28
RESUMO	28
ABSTRACT	28
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
CONCLUSÕES	36
REFERÊNCIAS	36
ANEVO	15

# LISTA DE TABELAS

# Página

Tabela 1 –	Composição química-bromatológica das variedades de cana-de-açúcar antes da ensilagem40
Tabela 2 –	Médias dos valores de pH, nitrogênio amoniacal, capacidade tampão, perdas fermentativas e estabilidade aeróbia das silagens de cana-de-açúcar
Tabela 3 –	Decomposição de interação entre tratamentos e variedades para pH, nitrogênio amoniacal e produção de efluentes das silagens de cana-de-açúcar
Tabela 4 –	Composição química-bromatológica das silagens de cana-de-açúcar43
Tabela 5 –	Decomposição de interação entre tratamentos e variedades para composição química-bromatológica das silagens de cana-de-açúcar44

# TABELAS DO APÊNDICE

	Pá	gina
Tabela 1 -	Composição química-bromatológica das variedades de cana-de-açúc antes e após a ensilagem	
Tabela 2 -	Perdas fermentativas, estabilidade aeróbia e pH das silagens de cana-d acúcar	

# FIGURAS DO APÊNDICE

IJΩ	A1	no
-1	vι	na
1 u	∽-	114
	$\boldsymbol{\circ}$	

<b>Figura 1</b> – Variedades de cana-de-açúcar utilizadas no experimento, RB8 (Variedade 1), SP784764 (Variedade 2) e RB92579 (Variedade 3).	
Figura 2 – Sacos confeccionados para captação dos efluentes	62
Figura 3 – Silos laboratoriais utilizados no experimento	63
Figura 4 – Avaliação da estabilidade aeróbia	63
<b>Figura 5</b> – Especificações do inoculante Lalsil <sup>®</sup> cana	64
<b>Figura 4</b> – Especificações do inoculante Silobac <sup>®</sup> 5	64

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar tem atraído a atenção dos pecuaristas como alimento volumoso devido a sua alta produtividade de massa natural (120 t/ha), manutenção do valor nutritivo após a maturação e o período de colheita simultâneo com o período de escassez de forragem nas pastagens.

Entretanto, seu uso *in natura* apresenta alguns inconvenientes, em especial a dificuldade em prover o corte diário. Diante disso, a ensilagem surge como alternativa de utilização desta forrageira.

Todavia, a produção de silagem de cana-de-açúcar apresenta intensa fermentação alcoólica devido à grande população de leveduras presente naturalmente na planta, bem como ao alto teor de carboidratos solúveis rapidamente fermentados por esses microrganismos, aumentando, assim, os componentes da parede celular e as perdas de matéria seca (MS), prejudicando a qualidade e o valor nutritivo da silagem. Deste modo, é recomendável a utilização de aditivos que melhore as condições de fermentação e iniba o crescimento das leveduras.

O uso de aditivos microbianos a base de bactérias ácido-láticas (BAL) homofermentativas e heterofermentativas têm sido extensivamente avaliados em silagem de cana-de-açúcar, objetivando inibir o crescimento das leveduras, reduzir a produção de etanol e, consequentemente, as perdas de MS.

No entanto, é questionável a eficiência dos inoculantes disponíveis atualmente no mercado, estando condicionadas a fatores, tais como, as características da planta.

Assim, objetivou-se avaliar o efeito da utilização de dois inoculantes comerciais durante o processo fermentativo de três variedades de cana-de-açúcar sobre o valor nutritivo, as perdas fermentativas e a estabilidade aeróbia das silagens.

# 2 REVISÃO DE LITERATURA

## 2.1 Microbiologia na ensilagem de cana-de-açúcar

A ensilagem é um método de conservação de forragem amplamente utilizado e baseia-se no princípio da fermentação por BAL que convertem os carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, principalmente o ácido lático, sob condições anaeróbias, resultando em queda do pH e consequentemente o controle do desenvolvimento dos microrganismos indesejáveis (Filya et al., 2000).

Os microrganismos da silagem estão naturalmente presentes nas plantas forrageiras e podem ser divididos em dois grupos distintos: os microrganismos desejáveis e os indesejáveis. Os microrganismos desejáveis são as BAL capazes de acidificar o meio, já os indesejáveis são aqueles que são ineficientes na conservação da forragem por sua baixa capacidade em acidificar o meio, apresentando alto consumo dos nutrientes (leveduras, clostrídios e enterobactérias) ou deterioração aeróbia (leveduras, fungos, *bacillus* e *Listeria*) (Miranda, 2006).

É variável o número de microrganismos nas plantas, podendo ser influenciado pelos teores de carboidratos solúveis, pois de acordo com Kung Jr. (2005), culturas que possuem elevada concentração de açúcares tenderão a apresentar maior número de leveduras. Nesse contexto, a cana-de-açúcar destaca-se por ser uma cultura que apresenta alto teor de carboidratos não fibrosos (CNF), especialmente na forma de sacarose, o qual favorece o desenvolvimento das leveduras durante a ensilagem. Por estas razões, a produção de silagem desta forrageira apresenta intensa fermentação alcoólica (Lopes & Evangelista, 2010). O alto teor de carboidratos solúveis rapidamente fermentados por esses microrganismos (Evangelista et al., 2009), leva ao aumento na produção dos componentes da parede celular e nas perdas de MS.

As BAL têm sido extensivamente avaliadas como inoculantes em silagens, objetivando aumentar o número e a competitividade desses microrganismos na massa ensilada, aumentando a produção do ácido lático e inibindo o crescimento dos microrganismos indesejáveis (Ávila et al., 2010). De acordo com Zopollatto et al. (2009), uma grande diversidade de BAL é utilizada na inoculação, dentre elas, bactérias homofermentativas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus faecium*, *Pediococcus pentosaceus* e *Pediococcus acidilactici*), bactérias heterofermentativas (*Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus brevis* e *Propionibacterium*) ou a mistura de hetero e homofermentativas, sendo que em alguns produtos comerciais há ainda a inclusão de enzimas (amilases, celulases, hemicelulases).

A fermentação do tipo homofermentativa é considerada ideal para conservação de silagens, uma vez que produz o ácido lático em grandes quantidades, o qual reduz o pH de forma mais eficaz do que o ácido acético e evita a perda de MS associada à produção de gás pela fermentação do tipo heterofermentativa. Entretanto, estudos têm demonstrado que a utilização de bactérias homofermentativas pode comprometer a estabilidade aeróbia das silagens (Ranjit & Kung Jr., 2000; Filya, 2003; Kleinschmit et al., 2005; Hu et al., 2009). De acordo com Miranda (2006), isso foi relacionado ao fato de as silagens inoculadas apresentarem altos teores dos carboidratos solúveis residuais combinados com a alta concentração do ácido lático e baixa concentração dos ácidos acético, propiônico e butírico.

Embora a fermentação heterolática seja menos eficiente na conservação dos nutrientes, esta produz o ácido acético, que é considerada uma forma potente de prevenir ou reduzir a atividade dos microrganismos indesejáveis (Ranjit & Kung Jr., 2000). Recentemente, maior atenção tem sido dada à utilização de bactérias heterofermentativas, mostrando resultados promissores, principalmente, na inibição do crescimento dos fungos e no aumento da estabilidade aeróbia nas silagens. Estes resultados motivaram pesquisadores a avaliar a adição destes microrganismos à silagem de cana-de-açúcar com o objetivo de inibir o crescimento das leveduras e reduzir a fermentação alcoólica (Ávila et al., 2010). Vários estudos foram desenvolvidos buscando avaliar os efeitos da inoculação com as bactérias heterofermentativas (Kung Jr. et al., 2003; Kleinschmit et al., 2005; Huisden et al., 2009; Keles & Demirci, 2011; Carvalho et al., 2012). De acordo com Ávila et al. (2010) e Ávila et al. (2012), o uso de bactérias heterofermentativas foi mais eficiente em reduzir a população das leveduras e

a produção de etanol, resultado do aumento na produção do ácido acético e propiônico, melhorando assim, a estabilidade aeróbia das silagens.

Pedroso et al. (2011), estudando o efeito da inoculação com o *Lactobacillus buchneri*, constataram redução de 41% na concentração alcoólica e menores perdas gasosas, representando uma redução de 22% em comparação com a silagem sem o aditivo.

Avaliando os efeitos dos aditivos químicos e inoculantes bacterianos na fermentação e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar, Pedroso et al. (2008) observaram que a silagem tratada com *L. buchneri* apresentou menor contagem de leveduras e redução de 50% na produção de etanol.

Em estudo sobre o valor nutritivo e estabilidade aeróbia da silagem de cana-de-açúcar sem aditivo ou inoculada com cepas de *L. buchneri*, Mendes et al. (2008) observaram menor teor de MS na silagem sem o aditivo, apresentando redução de 6,4 unidades percentuais no teor de MS, enquanto na silagem aditivada não houve alteração. A silagem aditivada com *L. buchneri* apresentou maior estabilidade aeróbia em relação à silagem sem o aditivo. Igualmente, Pedroso et al. (2005) observaram redução de 9,0 unidades percentuais no teor de MS da silagem de cana-de-açúcar sem aditivo, o qual passou de 34,5% para 25,5% após 180 dias de ensilagem.

A capacidade de produzir ácido acético a partir do ácido lático aliado ao maior poder de inibir o crescimento dos fungos e leveduras apresentado pelo ácido acético confere as bactérias heterofermentativas características favoráveis que resultam em melhora na estabilidade aeróbia de materiais conservados durante a exposição ao ar (Nussio et al., 2009).

### 2.2 Perdas na ensilagem de cana-de-açúcar

A produção de forragens conservadas consiste em tentar maximizar a preservação original dos nutrientes encontrados na forragem fresca (Pereira et al., 2007). Entretanto, durante o processo de ensilagem ocorre uma redução inevitável no teor de carboidratos solúveis com consequente aumento dos componentes fibrosos, resultando em alguma perda de MS tanto por respiração celular quanto por metabolismo microbiano (McDonald et al., 1991).

Apesar de consideráveis mudanças bioquímicas ocorrerem durante a fermentação, especialmente para os carboidratos solúveis e proteínas, as perdas totais de MS e

energia decorrentes da atividade das BAL são baixas. É esperada perda de MS inferior a 5%, e as perdas de energia bruta, devido à formação de compostos de alta energia, tais como o etanol, são ainda menores. Em fermentações promovidas por clostrídios e enterobactérias, as perdas dos nutrientes serão muito maiores do que em fermentações por bactérias ácido-láticas. Tais perdas resultam da grande produção de CO<sub>2</sub> e hidrogênio a partir da fermentação de hexoses ou lactato, e a partir da desaminação e descarboxilação dos aminoácidos (McDonald et al., 2010). As reações mencionadas podem ser resumidas como segue (McDonald et al., 1991):

#### Clostrídios

2 Lactato + ADP + Pi 
$$\rightarrow$$
 Butirato + 2 CO<sub>2</sub> + 2 H<sub>2</sub> + ATP + H<sub>2</sub>O

#### Enterobactérias

Glicose + 3 ADP + 3 Pi 
$$\rightarrow$$
 Acetato + Etanol + 2 CO<sub>2</sub> + 2 H<sub>2</sub> + 3 ATP + 2 H<sub>2</sub>O

Se a atividade das leveduras for muito intensa, a produção do etanol pode resultar em elevadas perdas de matéria seca. No entanto, a produção do etanol por estes organismos resulta em perda de energia muito pequena (0,2%) (McDonald et al., 1991).

Em silagens de cana-de-açúcar, a fermentação alcoólica, medida pela população de leveduras epífitas característica da planta, pode representar perdas de MS da ordem de 48,9%, em decorrência da produção de duas moléculas de CO<sub>2</sub> e duas de etanol para cada molécula de glicose metabolizada (McDonald et al., 1991; Schmidt et al., 2007).

Avaliando as perdas ao longo de 180 dias de ensilagem de cana-de-açúcar, Pedroso et al. (2005) observaram crescimento gradativo na perda total de MS desde os primeiros dias de ensilagem, atingindo 31,4% aos 180 dias. Esta perda contínua pode ser atribuída à atividade das leveduras cuja presença foi detectada a partir de 5,05 log<sub>10</sub> UFC/g de forragem no segundo dia de ensilagem. Contudo, a presença das leveduras decresceu de 5,05 a 2,0 log<sub>10</sub> UFC/g de forragem ao final do período de 120 dias e, ao final de 180 dias, sua presença não mais foi detectada. À medida que diminuiu o teor de carboidratos solúveis da silagem de 23% a 5,98% da MS, houve queda na atividade das leveduras. Essa característica do processo fermentativo da cana-de-açúcar 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 (Miranda, 2006).

#### 2.3 Deterioração aeróbia da silagem de cana-de-açúcar

Manter a anaerobiose durante a fase de fermentação e armazenamento, bem como a estabilidade aeróbia pós-abertura, são fatores importantes para a preservação do valor nutritivo da forragem ensilada (Gimenes et al., 2006).

Quando a silagem é exposta ao oxigênio a deterioração aeróbia é inevitável, podendo ocorrer uma perda significativa da matéria seca, promovendo efeitos negativos sobre a qualidade da silagem (Woolford, 1990).

O oxigênio pode reativar leveduras presentes na silagem, e muitos destes microrganismos utilizam o ácido lático como fonte de energia. Com a diminuição das concentrações do ácido lático e o consequente aumento do pH, bactérias que foram inibidas pelo baixo pH começam a proliferar e degradar os nutrientes da silagem. A perda dos nutrientes e a produção excessiva de calor resultante do metabolismo microbiano reduz a qualidade da silagem (Taylor & Kung Jr., 2002).

De acordo com Kung Jr. (2005), há algumas relações entre variáveis que tornam uma cultura mais ou menos propensas a instabilidade aeróbia. Por exemplo, culturas que possuem uma elevada concentração de açúcares tem tendência a apresentar maior quantidade de leveduras. Nesse sentido, a cana-de-açúcar destaca-se por ser uma cultura que apresenta um alto teor de carboidratos solúveis. Por esta razão, a silagem desta forrageira apresenta intensa fermentação alcoólica por leveduras.

Vários estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de avaliar o efeito dos inoculantes bacterianos sobre a estabilidade aeróbia das silagens de cana-de-açúcar. As bactérias ácido-láticas homo e heterofermentativas, muitas vezes são adicionadas a esta cultura no momento da ensilagem para melhorar a fermentação. Estes microrganismos produzem o ácido lático, o qual reduz o pH da silagem e ajuda na preservação da massa de forragem. Entretanto, vários foram os resultados obtidos quando da utilização dessas bactérias.

Foram relatados resultados positivos (Valeriano et al., 2009; Ávila et al., 2012), resultados negativos (Pedroso et al., 2008) e nenhum resultado significativo (Schmidt et al., 2011) sobre a estabilidade aeróbia das silagens de cana-de-açúcar.

Entretanto, sabe-se que bactérias heterofermentativas são produtoras de ácidos com efeito antifúngico (ácido acético e propiônico). Balieiro Neto et al. (2009) avaliaram a influência da adição de *L. buchneri* na estabilidade aeróbia da silagem de cana-de-açúcar e constataram haver acréscimo no número de dias necessários para

aumento de 2°C na temperatura da silagem no tratamento com o aditivo. A deterioração da silagem pode ser medida pelo aumento da temperatura devido à produção de CO<sub>2</sub>, água e calor a partir do consumo dos açúcares e dos ácidos orgânicos pelas leveduras.

A baixa estabilidade de silagens não está apenas associada à alta perda de MS, mas também pode constituir risco à saúde do animal e mesmo para àqueles que manuseiam a silagem. Um exemplo comum é a produção de micotoxinas. As micotoxinas produzidas durante a esporulação dos fungos contaminam os animais que consomem tais alimentos, e deste modo são transferidas para os seus produtos. Os efeitos das micotoxinas no organismo do animal são diversos, podendo ocorrer desde depressão do sistema imunitário, reações alérgicas, desordens reprodutivas, problemas no sistema nervoso e respiratório até a redução da conversão e utilização dos alimentos.

A presença do oxigênio aumenta a atividade dos microrganismos aeróbios, com consequente atraso do abaixamento do pH da silagem. De acordo com McDonald et al. (1991), o pH inicial alto favorece o desenvolvimento de *Listeria monocytogenes*. Tal bactéria é capaz de causar meningite, encefalite, septicemia, endocardite, aborto, abscessos e lesões purulentas.

#### 2.4 Valor nutritivo da silagem de cana-de-açúcar

Dentre as características da cana-de-açúcar, as mais desejáveis em sistemas de produção animal são a alta capacidade de produção de MS por hectare, o alto conteúdo de sacarose, carboidrato de alta digestibilidade, e o baixo teor de fibra em detergente neutro (FDN), sinônimo de alto conteúdo de CNF (Miranda, 2006).

Apesar do teor de fibra na cana-de-açúcar ser baixo, esta é de baixa digestibilidade, apresentando em torno de 23% de digestibilidade da FDN (Corrêa et al., 2003). A baixa qualidade da fibra pode limitar o consumo (Allen, 2000; Corrêa et al., 2003) e, consequentemente, o desempenho dos animais alimentados com esta forrageira.

De acordo com Gentil et al. (2007), a ensilagem da cana-de-açúcar melhora a digestibilidade da FDN. Esses autores avaliaram a digestibilidade aparente no trato digestório de cordeiros recebendo rações com cana-de-açúcar *in natura* ou ensilada tratada com aditivos químicos ou microbianos (1,0 % de ureia; 1,5 % de ureia ou *L. buchneri*), o coeficiente de digestibilidade da FDN foi menor para *in natura* quando

comparada com as silagens tratadas, apresentando 48,16 % (*in natura*), 51,83 % (*L. buchneri*), 52,66 % (1,0 % de ureia) e 52,50 % (1,5 % de ureia).

Han et al. (1983) sugeriram que a baixa digestibilidade da cana-de-açúcar *in natura* está relacionada ao complexo lignina-celulose e a cristalinidade da celulose que dificulta a digestão da FDN. Adicionalmente, os carboidratos solúveis podem dificultar a digestão da celulose, uma vez que as bactérias do rúmen dão preferência aos açúcares do que a fibra (Nussio et al., 2006).

Neste contexto, tratamentos químicos ou biológicos na ensilagem podem melhorar o aproveitamento desta forrageira. Siqueira et al. (2007) avaliaram a silagem de canade-açúcar sem aditivo (controle) ou tratada com três aditivos químicos (1,5% de ureia; 0,1% de benzoato de sódio e 1% de hidróxido de sódio) e duas inoculações (*Propionibacterium acidipropionici* + *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus buchneri*). Os autores observaram que as associações de *P. acidipropionici* ou *L. buchneri* com NaOH, em comparação ao grupo controle, possibilitaram melhor preservação dos teores da MS (32,2 e 33,5 vs 27,4%, respectivamente) e CNF (33,8; 31,7 vs 14,9%) e, consequentemente, propiciaram os maiores valores da DIVMS (60,3; 63,2 vs 35,1%).

#### 2.5 Aditivos microbianos na ensilagem de cana-de-açúcar

Quando a forrageira não apresenta condições ideais para ser ensilada, pode-se fazer uso de aditivos que favoreçam o processo fermentativo. Os aditivos têm dois principais propósitos na silagem: influenciar o processo fermentativo favorecendo a conservação, e melhorar o valor nutritivo (Jobim, 2002).

De acordo com McDonald et al. (1991), os aditivos da silagem podem ser classificados em cinco principais categorias. Os dois primeiros grupos estão relacionados com o controle da fermentação, atuando quer estimulando a fermentação lática (estimulantes) ou inibindo parcialmente, ou completamente, o crescimento microbiano (inibidores). O terceiro grupo (inibidores da deterioração aeróbia) atua principalmente no controle da deterioração da silagem quando exposta ao ar. A quarta categoria (nutrientes) são aqueles adicionados às culturas no momento da ensilagem, a fim de melhorar o valor nutritivo da silagem, e o quinto grupo (absorventes) são adicionados às culturas de baixo teor de matéria seca para reduzir a perda dos

nutrientes, tanto pela fermentação por microrganismos indesejáveis como pela produção de efluentes.

No grupo dos aditivos estimulantes e inibidores da deterioração aeróbia, encontram-se os aditivos microbianos. Esses aditivos são compostos por bactérias ácido-láticas, adicionados ou não de enzimas (celulases, amilases e hemicelulases), e abrangem a classe dos aditivos com mais rápido desenvolvimento em todo o mundo (Coan et al., 2005). Apresentam as seguintes vantagens: facilidade de uso, não oferecem riscos à saúde humana e dos animais domésticos, não são corrosivos, não poluem o meio ambiente e são facilmente conservados, visando à comercialização (Filya et al., 2000; Pinheiro, 2008).

O sucesso do uso dos aditivos microbianos está vinculado a três fatores: a população natural de bactérias ácido-láticas, ao conteúdo dos carboidratos solúveis da planta, e a cepa da bactéria presente no aditivo. Este último, diz respeito à compatibilidade entre a planta e os microrganismos, visto que as bactérias constituintes dos aditivos devem ser eficientes na competição com a flora microbiana natural da planta, devendo ainda mostrar-se efetivas junto ao processo fermentativo (Muck, 1993 citado por Pinheiro, 2008).

Segundo Miranda (2006), 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 aeróbia, fermentações secundárias, entre outros. Assim, para o uso do inoculante em silagem da cana-de-açúcar, deve-se buscar uma espécie de bactéria que seja capaz de solucionar os problemas dessa silagem tais como a alta perda de MS e a baixa estabilidade aeróbia. Para isso, talvez seja necessário isolar uma cepa de bactéria da própria cana-de-açúcar.

Sendo assim, Ávila et al. (2010) avaliaram o efeito de aditivos microbianos contendo bactérias heteroláticas ou homoláticas, previamente isoladas de silagens de cana-de-açúcar ou de inoculantes comerciais, sobre as características químicas e microbiológicas de silagens de cana-de-açúcar. Esses autores concluíram que a adição dos inoculantes melhorou o perfil microbiológico e reduziu a produção do etanol. Porém, as bactérias heteroláticas foram mais eficientes do que as homoláticas, mas as diferentes cepas de uma mesma espécie de bactéria agiram de forma diferente durante o

processo fermentativo, indicando que o uso de inoculantes para silagem deve ser avaliado considerando-se as cepas, a planta forrageira a ser ensilada e as condições de ensilagem.

Foi elaborado um artigo científico intitulado: "Aditivos microbianos comerciais na silagem de cana-de-açúcar" com base nas normas da Revista de Pesquisa Agropecuária Brasileira.

## REFERÊNCIAS

ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1598–1624, 2000.

ÁVILA, C.L.S.; PINTO, J.C.; OLIVEIRA, D.P.; SCHWAN, R.F. Aerobic stability of sugar cane silages with a novel strain of *Lactobacillus* sp. isolated from sugar cane. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.2, p.249-255, 2012.

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

BALIEIRO NETO, G.; FERRARI JUNIOR, E.; NOGUEIRA, J.R.; POSSENTI, R.; PAULINO, V.T.; BUENO, M.S. Perdas fermentativas, composição química, estabilidade aeróbia e digestibilidade aparente de silagem de cana-de-açúcar com aditivos químico e microbiano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.6, p.621-630, 2009.

CARVALHO, B.F.; ÁVILA, C.L.S.; PINTO, J.C.; PEREIRA, M.N.; SCHWAN, R.F. Effects of propionic acid and *Lactobacillus buchneri* (UFLA SIL 72) addition on fermentative and microbiological characteristics of sugar cane silage treated with and without calcium oxide. **Grass and Forage Science**, v.67, p.462-471, 2012.

COAN, R.M.; VIEIRA, P.F.; SILVEIRA, R.N.; REIS, R.A.; MALHEIROS, E.B.; PEDREIRA, M.S. Inoculante enzimático-bacteriano, composição química e parâmetros

fermentativos das silagens dos capins Tanzânia e Mombaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.416-424, 2005.

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

EVANGELISTA, A.R.; SIQUEIRA, G.R.; LIMA, J.A.; LOPEZ, J.; REZENDE, A.V. Alterações bromatológicas e fermentativas durante o armazenamento de silagens de cana-de-açúcar com e sem milho desintegrado com palha e sabugo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.1, p.20-26, 2009.

FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. **Journal of Applied Microbiology**, v.95, p.1080-1086, 2003.

FILYA, I.; ASHBELL, G.; HEN, Y.; WEINBERG, Z.G. The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.88, p.39-46, 2000.

GENTIL, R.S.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; NUSSIO, L.G.; MENDES, C.Q.; MOURÃO, G.B. Digestibilidade aparente de dietas contendo silagem de cana-de-açúcar tratada com aditivo químico ou microbiano para cordeiros. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.29, n.1, p.63-69, 2007.

GIMENES, A.L.G.; MIZUBUTI, I.Y.; MOREIRA, F.B.; PEREIRA, E.S.; RIBEIRO, E.L.A.; MORI, R.M. Composição química e estabilidade aeróbia em silagens de milho preparadas com inoculantes bacteriano e/ou enzimático. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.28, n.2, p.153-158, 2006.

HAN, Y.W.; CATALANO, E.A.; CIEGLER, A. Chemical and physical properties of sugarcane bagasse irradiates with y rays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.31, n.1, p.34-38, 1983.

HU, W.; SCHMIDT, R.J.; MCDONELL, E.E.; KLINGERMAN, C.M.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the

fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3907-3914, 2009.

HUISDEN, C.M.; ADESOGAN, A.T.; KIM, S.C.; OSOSANYA, T. Effect of applying molasses or inoculants containing homofermentative or heterofermentative bacteria at two rates on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.690-697, 2009.

JOBIM, C.C. Produção e conservação de forragens. In: I *Curso de Atualização por Tutoria à Distância*. Atualização da produção de bovinos de corte, 2002, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá/UEM, 2002. p.427-485.

KELES, G.; DEMIRCI, U. The effect of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria on conservation characteristics of baled triticale—Hungarian vetch silage and lamb performance. **Animal Feed Science and Technology**, v.164, p.21-28, 2011.

KLEINSCHMIT, D.H.; SCHMIDT, R.J.; KUNG JR., L. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2130-2139, 2005.

KUNG JR, L.; TAYLOR, C.C.; LYNCH, M.P.; NEYLON, J.M. The effect of treating alfalfa with *lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.336-343, 2003.

KUNG JR., L. **Aerobic stability of silages**. University of Delaware: *Department of Animal & Food Sciences*. p.01-13, 2005. Disponível em: < <a href="http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/documents/05AerobicStability.pdf">http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/documents/05AerobicStability.pdf</a> > Acessado em: 23/10/2012.

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

McDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; Greenhalgh, J.F.D.; Morgan, C.A.; Sinclair, L.A.; Wilkinson, R.G. **Animal Nutrition**. 7.ed. Pearson, 2010. 714p.

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

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

MIRANDA, D.C.L. **Perda 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, Minas Gerais.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. **Metabolismo de carboidratos estruturais**. In: BERCHIELLI, T.T. et al. (Ed.). Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2006. p.183-228.

NUSSIO, L.G.; SUSIN, I.; MENDES, C.Q.; AMARAL, R.C. Estratégias para garantir eficiência na utilização de cana-de-açúcar para ruminantes. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.3, n.4, p.27-33, 2009.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; LOURES, D.R.S.; PAZIANI, S.F.; RIBEIRO, J.L.; MARI, L.J.; ZOPOLLATTO, M.; SCHMIDT, P.; MATTOS, W.R.S.; HORII, J. Fermentation, losses, and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical or bacterial additives. **Scientia Agricola**, v.65, n.6, p.589-594, 2008.

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

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

PEREIRA, O.G.; ROCHA, K.D.; FERREIRA, C.L.L.F. Composição química, caracterização e quantificação da população de microrganismos em capim-elefante cv.

Cameroon (*Pennisetum purpureum*, Schum.) e suas silagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.1742-1750, 2007.

PINHEIRO, G.E.V. **Efeito do uso de diferentes inoculantes microbianos a fresco e liofilizados sobre a silagem de sorgo**. 2008. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Pará, Pará.

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.

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

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

SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; BERNARDES, T.F.; PIRES, A.J.V.; ROTH, M.T.P.; ROTH, A.P.T.P. Associação entre aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.789-798, 2007.

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.

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

WOOLFORD, M.K. A Review: The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v.68, p.101-116, 1990.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J.L.P.; NUSSIO, L.G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.170-189, 2009 (supl. especial).

#### Aditivos microbianos comerciais na silagem de cana-de-açúcar

**RESUMO** – A prática da ensilagem da cana-de-açúcar sem aditivos tem ocasionado redução acentuada no seu valor nutritivo, em decorrência da rápida fermentação dos carboidratos solúveis pelas leveduras. A utilização de inoculantes comerciais contendo bactérias homo e heteroláticas no processo de ensilagem torna-se uma importante alternativa, porém, a eficiência de tais inoculantes é questionável. Assim, objetivou-se avaliar o efeito da utilização de dois inoculantes comerciais durante o processo fermentativo de três variedades de cana-de-açúcar sobre o valor nutritivo, as perdas fermentativas e a estabilidade aeróbia das silagens. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3 (três variedades e três tratamentos) com cinco repetições. Os tratamentos foram: Sem inoculante, Inoculante A (Lalsil® cana, L. buchneri, Cepa NCIMB 40788, 2,5 x 10<sup>10</sup> UFC/g) e Inoculante B (Silobac<sup>®</sup> 5, L. plantarum, Cepas CH 6072 e L286, 1x10<sup>5</sup> UFC/g). Em todos os tratamentos, as silagens apresentaram aumento nas concentrações de FDN e FDA, e redução nos teores de MS em relação ao material antes da ensilagem. O tratamento com o inoculante B proporcionou as maiores perdas por gases, perda total de MS e frações do nitrogênio amoniacal, bem como os menores teores dos NDT e DIVMS, especialmente para variedade RB92579. O Inoculante A melhorou a estabilidade aeróbia das silagens. A elevada concentração de açúcares (grau Brix) apresentada pela variedade RB92579 pareceu favorecer a atividade das leveduras e, consequentemente, as perdas fermentativas.

Termos para indexação: composição química, digestibilidade, L. buchneri, L. plantarum

### Commercial microbial additives in sugarcane silage

**ABSTRACT** – The practice of ensiling of sugarcane without additives has caused marked reduction in the silage nutritional value, due to the rapid fermentation of soluble carbohydrate by yeasts. The use of commercial inoculants containing homo and heterolactic bacteria in the ensilage process becomes an important alternative, however, the efficiency of these inoculants is questionable. Thus, we aimed to evaluate the effect of using two commercial inoculants during the fermentative process of three varieties of sugarcane on the nutritive value, fermentative losses and aerobic stability of the silages.

We used a completely randomized design in a 3x3 factorial scheme (three varieties and three treatments) with five repetitions. The treatments were: no inoculant; A Inoculant (Lalsil® sugarcane, *L. buchneri*, strain NCIMB 40788, 2.5 x 10<sup>10</sup> CFU/g) and B Inoculant (Silobac® 5, *L. plantarum*, strains CH 6072 and L286, 1 x 10<sup>5</sup> CFU/g). In all treatments, silages showed increased concentrations of NDF and ADF, and reduction in content DM in relative to material before ensiling. Treatment with B inoculant provided higher losses gases, total loss of DM and fractions of ammonia nitrogen, as well as lower levels of IVDMD and TDN, especially for variety RB92579. The A Inoculant improved aerobic stability of silages. The high concentration of sugars (Brix degree) presented by RB92579 seemed to favor the activity of the yeast and, consequently, the fermentative losses.

Index terms: chemical composition, digestibility, L. buchneri, L. plantarum

## Introdução

A alta concentração dos carboidratos solúveis aliada à elevada população das leveduras presentes naturalmente na planta favorecem a fermentação alcoólica na ensilagem da cana-de-açúcar. Tal fermentação pode ocasionar consideráveis perdas de matéria seca da ordem de 48,9% (McDonald et al., 1991). Diante disto, bactérias ácidoláticas têm sido extensivamente avaliadas como inoculantes em silagens, objetivando aumentar o número e a competitividade desses microrganismos na massa ensilada, aumentando a produção do ácido lático e inibindo o crescimento dos microrganismos indesejáveis (Ávila et al., 2010).

Normalmente, os inoculantes comerciais contêm cepas de bactérias homofermentativas, como o *Lactobacillus plantarum*. O principal efeito da adição dessas bactérias na ensilagem é a rápida diminuição do pH, uma vez que produz o ácido lático em grandes quantidades, o que ajuda a preservar a forragem durante o processo de armazenamento no silo. Entretanto, estudos têm demonstrado que a utilização dessas bactérias pode comprometer a estabilidade aeróbia das silagens (Kleinschmit et al., 2005; Hu et al., 2009). Assim, inoculantes contendo bactérias heterofermentativas, como o *Lactobacillus buchneri*, têm sido avaliados buscando melhorar a estabilidade aeróbia das silagens. Essas bactérias auxiliam no controle da população das leveduras através da produção dos ácidos graxos voláteis, tóxicos ao desenvolvimento destes

microrganismos (Miranda, 2006). Portanto, espera-se com o uso dos inoculantes melhora na fermentação do material ensilado, mantendo suas características nutricionais e aumentando sua estabilidade aeróbia.

No entanto, é questionável a eficiência dos inoculantes disponíveis atualmente no mercado, estando condicionadas a fatores, tais como, as características da planta.

Ferreira et al. (2007), estudando as características de fermentação da cana-deaçúcar submetida aos tratamentos com inoculante bacteriano comercial e inoculante bacteriano/enzimático comercial, não observaram diferenças significativas nos teores de matéria seca, carboidratos solúveis e nitrogênio amoniacal entre a silagem testemunha e aquelas submetidas aos diferentes inoculantes, e concluíram que os aditivos avaliados não foram eficientes em evitar as perdas durante a fermentação. Dessa forma, o valor nutritivo da cana-de-açúcar não foi preservado.

Assim, objetivou-se avaliar o efeito da utilização de dois inoculantes comerciais durante o processo fermentativo de três variedades de cana-de-açúcar sobre o valor nutritivo, as perdas fermentativas e a estabilidade aeróbia das silagens.

#### Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências da Unidade Acadêmica de Garanhuns – UAG/UFRPE e as análises nos laboratórios da Central de Laboratórios de Garanhuns (CENLAG) e Laboratórios de Nutrição Animal (LANA) – UAG/UFRPE.

Foram utilizadas três variedades de cana-de-açúcar: RB867515, SP784764 e RB92579 colhidas e ensiladas quando a maturidade atingiu grau Brix >18,0° (18,8, 19,4 e 22,0° Brix respectivamente), com 14 meses de idade, já estabelecidas em área experimental da Unidade Acadêmica de Garanhuns – UAG/UFRPE. As gemas foram provenientes da Usina Estreliana (Ribeirão – PE), plantadas em suco com 18 cm de profundidade, com 18 gemas por metro linear. Após 20 dias do plantio, foi realizada a aplicação do herbicida Diuron®, na dosagem de 3,2 kg/ha com pulverizador costal. A adubação com aplicação de NPK foi realizada a partir da análise de solo e segundo a recomendação de Cavalcanti et al. (1998) para a cultura.

As variedades foram colhidas manualmente e depois de retiradas as folhas senescentes, foram picadas em máquina forrageira estacionária, proporcionando partículas de tamanho médio aproximado de 2,0 cm. Adotaram-se três tratamentos: Sem inoculante; Inoculante A, contendo bactéria heterolática (Lalsil<sup>®</sup> cana, *Lactobacillus* 

*buchneri*, Cepa NCIMB 40788, 2,5 x 10<sup>10</sup> UFC/g) e Inoculante B, contendo bactérias homoláticas (Silobac<sup>®</sup> 5, *Lactobacillus plantarum*, Cepas CH 6072 e L286, 1 x 10<sup>5</sup> UFC/g). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3 (três variedades e três tratamentos) com cinco repetições.

As silagens foram produzidas em minisilos experimentais de PVC (50 cm de altura e 10 cm de diâmetro), adotando-se uma densidade de compactação de 600 kg de forragem/m³, sendo ensilados 2,2 kg na matéria natural de forragem por minisilo.

Os inoculantes foram previamente diluídos em laboratório seguindo indicações contidas nos rótulos dos produtos (Lalsil<sup>®</sup> cana, 100 g/50 toneladas de forragem fresca; Silobac<sup>®</sup> 5, 50 g/50 toneladas de forragem fresca) e misturados manualmente às forragens picadas no momento da ensilagem, com o auxílio de um borrifador. Em seguida, foi realizada a compactação manual do material com soquetes de madeira. Os minisilos foram vedados com tampas de PVC, adaptadas com válvula tipo *Bunsen* para eliminação dos gases resultantes da fermentação, e silicone. Ao final deste processo, os minisilos foram pesados e armazenados à temperatura ambiente em local coberto até o momento da abertura, sendo pesados semanalmente.

Para avaliação das perdas por efluentes, foram confeccionados 45 sacos do tecido bemberg liso 100% poliéster nas dimensões: 4,0 cm de altura e 10,0 cm de diâmetro. Foram preenchidos com 500 g de areia lavada e seca em estufa de ventilação forçada de ar (55°C) e acomodados no fundo de cada silo antes da ensilagem.

Após um período de 30 dias, os minisilos foram pesados, abertos e tomadas as medidas de temperaturas no interior das silagens, bem como foram determinados os valores de pH segundo a metodologia descrita em Silva & Queiroz (2002).

Coletaram-se amostras de 100 g e 300 g das silagens para avaliação do nitrogênio amoniacal (Preston, 1986) e estabilidade aeróbia, respectivamente. O restante das amostras foi seco em estufa de ventilação forçada de ar (55°C por 72 horas), processadas em moinho tipo *Willey* com peneira de 1,0 e 2,0 mm de crivo e analisadas segundo protocolos da AOAC (1990), para a determinação dos teores de matéria seca (MS) (ID 930.15), matéria orgânica (MO) (ID 942.05) e proteína bruta (PB) (ID 954.01).

As metodologias descritas por Van Soest et al. (1991) foram utilizadas para determinação dos teores de fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN). O nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) foram quantificados segundo metodologia

descrita em Licitra et al. (1996). A proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e em detergente ácido (PIDA) pela multiplicação do valor de NIDN e NIDA por 6,25. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) segundo Tilley & Terry (1963), seguindo as modificações descritas por Holden (1999), com o uso do rúmen artificial desenvolvido pela TECNAL<sup>®</sup>. A capacidade tampão (CAPT) segundo Palyne & McDonald (1966).

O teor dos carboidratos totais (CT) foi estimado por meio da equação proposta por Sniffen et al. (1992), onde CT = 100 % - (% PB + % EE + % MM) e o dos carboidratos não fibrosos (CNF), pela equação recomendada por Hall (2001), em que CNF = 100 % - (% PB + % FDNcp + % EE + % MM) com a FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp).

Os teores dos nutrientes digestíveis totais (NDT) das amostras foram estimados segundo Cappelle et al. (2001) pelas equações NDT = 6,12 + 0,851 \* Digestibilidade da MS (para forragens verdes) e NDT = - 8,0412 + 1,1725 \* Digestibilidade da MS (para silagens sem aditivos), geradas a partir de um banco de dados de acordo com as características do alimento. Como os inoculantes não são considerados aditivos nutritivos, optou-se por utilizar a equação para silagens sem aditivo.

Na avaliação das perdas, a produção de efluentes (E) foi estimada pelo acréscimo na massa do conjunto silo + saco de areia, pela equação descrita por Jobim et al. (2007): E = [100 \* (Pab - Pen)] / (MVfe)

Em que, E = Produção de efluente (kg/t de massa de matéria verde); Pab = Massa (kg) do conjunto (silo + saco de areia) por ocasião da abertura; Pen = Massa (kg) do conjunto (silo + saco de areia) por ocasião da ensilagem; MVfe = Massa de matéria verde de forragem ensilada (kg).

A determinação das perdas totais de matéria seca foi calculada pela diferença entre o peso bruto de MS inicial e final dos silos, em relação à quantidade de forragem ensilada (MS), devendo ser descontado o peso do silo na ensilagem e na abertura, conforme equação descrita por Jobim et al. (2007):

 $PMS = [(MSi - MSf)] / MSi \times 100$ 

Onde, PMS = Perda total de matéria seca; MSi = Quantidade de MS inicial. Peso do silo após enchimento - peso do conjunto vazio, sem a forragem, antes do enchimento (tara seca) x teor de MS da forragem na ensilagem; MSf = Quantidade de MS final. Peso do silo cheio antes da abertura - peso do conjunto vazio, sem a forragem, após a abertura dos silos (tara úmida) x teor de MS da forragem na abertura.

A perda por gases no processo de ensilagem foi calculada com base na pesagem dos silos no fechamento e na abertura em relação à massa de forragem armazenada, descontada a tara do silo (Jobim et al., 2007):

G = [(PCen - Pen) \* MSen] - [(PCab - Pen) \* MSab] / [(PCen - Pen) \* MSen] x 100 Em que, G = Perdas por gases em % da MS; PCen = Peso do silo cheio na ensilagem (kg); Pen = Peso do conjunto (silo + saco de areia + tampa) na ensilagem (kg); MSen = Teor de MS da forragem na ensilagem (%); PCab = Peso do silo cheio na abertura (kg); MSab = Teor de MS da forragem na abertura (%).

A estabilidade aeróbia das silagens (expressa em horas) foi avaliada por meio do monitoramento da temperatura das silagens expostas ao ar. As amostras foram colocadas sem compactação em depósitos plásticos sem tampa e mantidas em ambiente fechado com temperatura controlada (25°C). As temperaturas foram verificadas a cada 12 horas por meio de termômetros posicionados no centro da massa de silagem. Foi considerado o início da deterioração quando a temperatura das silagens atingiram 2,0°C acima da temperatura ambiente (Kung Jr. et al., 2000).

Os dados foram analisados estatisticamente pelos procedimentos da análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizandose o programa SAS (SAS, 2001).

#### Resultados e Discussão

As características de uma cultura que garantem boa fermentação e qualidade da silagem dependem, principalmente, do teor de MS, do adequado suprimento de carboidratos solúveis e da capacidade tampão relativamente baixa (McDonald et al., 1991). Assim, os teores de MS das variedades de cana-de-açúcar encontraram-se na faixa ideal para ensilar de 25-30% relatada por Freitas et al. (2006b). Tomando como referência os valores do grau Brix (teor de açúcares) e considerando que os CNF na cana-de-açúcar são representados quase que exclusivamente por sacarose, observa-se que as variedades apresentaram adequado suprimento dos carboidratos solúveis para garantir boa fermentação, bem como baixa capacidade tampão (Tabela 1).

Após a abertura, todas as silagens apresentaram valores de pH indicativo de fermentação normal, contudo, as inoculações promoveram os menores valores de pH (P<0,05), mas sem diferença entre eles (P>0,05). O menor pH observado para variedade

RB92579 sugere maior eficiência de utilização dos açúcares pelos microrganismos (Tabela 2).

O tratamento com o inoculante B promoveu as maiores frações do nitrogênio amoniacal (P<0,05). Porém, não houve diferença significativa em relação à silagem sem inoculante para variedade RB867515 (P>0,05; Tabela 3). A menor fração apresentada pela RB92579 (P<0,05) pode estar relacionada à maior disponibilidade de açúcares para fermentação (Tabela 2). A presença do nitrogênio amoniacal na silagem indica a extensão da atividade dos clostrídios, uma vez que este é produzido em pequenas quantidades por outros microrganismos da silagem e pelas enzimas da planta (Jobim, 2002). Todavia, segundo McDonald et al. (1991), bactérias ácido-láticas, como o *L. plantarum*, podem descarboxilar aminoácidos formando CO<sub>2</sub> e amônia.

A maior capacidade tampão (P<0,05) observada na silagem da variedade SP784764 está relacionada com a maior capacidade tampão apresentada por esta variedade na ensilagem. Quando uma forrageira apresenta alta capacidade tampão inicial, aumenta-se o tempo de atuação das bactérias ácido-láticas, permitindo maior produção de ácidos orgânicos. Tais ácidos elevam a capacidade tampão da silagem (Tabela 2).

De acordo com McDonald et al. (1991), a elevação artificial no número de bactérias homoláticas, como o *L. plantarum*, pode diminuir a produção de efluentes e a perda de MS durante a conservação das silagens. No entanto, a diferença nas perdas por efluentes neste estudo não foram significativas (P>0,05) entre os tratamentos com os inoculantes em relação ao tratamento sem inoculante, porém, para a variedade RB867515 foi observada menor produção de efluentes com o inoculante B em relação ao inoculante A (P<0,05; Tabela 3). Contudo, as maiores perdas por gases e perda total de MS foram observadas na silagem tratada com o inoculante B, constituído de bactérias homoláticas. A maior produção de efluentes apresentada pela variedade RB92579 (P<0,05) sugere intensa fermentação dos carboidratos solúveis por leveduras, resultando em elevação no teor de umidade dessa silagem, perdida na forma de efluentes (Tabela 2).

A maior estabilidade aeróbia foi observada nas silagens tratadas com o inoculante A (P<0,05). Tais silagens permaneceram estáveis por 113,6 e 104 horas a mais em relação à silagem sem inoculante ou com o inoculante B, respectivamente. A maior estabilidade aeróbia (P<0,05) apresentada pela variedade RB867515 está relacionada à menor concentração de CNF residuais, pois os altos teores de carboidratos solúveis

residuais, além da alta concentração do ácido lático, podem servir como substrato para as leveduras após a exposição aeróbia (Tabela 2).

O teor de MS manteve-se mais elevado no tratamento com o inoculante A, especialmente para as variedades RB867515 e SP784764 (P<0,05; Tabela 5). O menor teor de MS observado na silagem com o inoculante B (P<0,05; Tabela 4) sugere maior atividade fermentativa por leveduras, uma vez que o ácido lático apresenta baixo poder fungicida e apenas o abaixamento do pH não seria suficiente para impedir o desenvolvimento destes microrganismos (McDonald et al., 1991). De fato, Pedroso et al. (2008) trabalharam com inoculante comercial contendo a bactéria homolática L. plantarum e observaram que a inoculação não reduziu a contagem das leveduras. Concluíram que espécies de bactérias que normalmente melhoram a conservação de silagens de culturas tradicionais (milho e sorgo), como o L. plantarum, são deletérias à fermentação e conservação das silagens de cana-de-açúcar. Independente do tratamento, o maior teor de MS observado para a variedade RB867515 (P<0,05; Tabela 4), o que refletiu no teor de matéria orgânica, sugere menor atividade das leveduras em virtude da menor concentração dos açúcares (°Brix) apresentada por esta variedade, pois culturas que possuem alta concentração de açúcares tendem a apresentar maior número de leveduras (Kung Jr., 2005).

A diferença entre os tratamentos em cada variedade não foi significativa (P>0,05) para variável PB, entretanto, os teores de PB das variedades aumentaram após a ensilagem, o que pode ser atribuído ao consumo dos carboidratos solúveis. Contudo, parte desta proteína apresentou-se indisponível pela associação com os componentes da fração fibrosa (PIDN e PIDA). As concentrações da FDN e da FDA também aumentaram após a ensilagem, especialmente para as variedades RB867515 e SP784764 (P<0,05; Tabela 4). Embora estas variedades tratadas com o inoculante B ou sem inoculante tenham apresentado as maiores concentrações de FDA, os tratamentos não diferiram entre si (P>0,05) (Tabela 5). O acréscimo no teor de FDN e FDA de 212,13 g/kg MS e 132,4 g/kg MS (em média), respectivamente, podem ser considerados baixo quando comparados àqueles obtidos por Freitas et al. (2006a), que constataram aumento de 270,0 g/kg MS e 180,0 g/kg MS na FDN e FDA, respectivamente, durante a ensilagem da cana-de-açúcar. Assim como a PB, as concentrações de FDN e FDA podem aumentar em relação aos teores originais como consequência da perda de carboidratos solúveis por respiração. Considerando a ocorrência da fermentação

alcoólica, a perda dos carboidratos solúveis é maior, sugerindo que pode ocorrer maior concentração desses componentes na MS.

A diferença nos teores dos CT não foi significativa (P>0,05) entre os tratamentos, exceto para variedade RB867515, que apresentou teor de CT mais elevado na silagem sem inoculante em relação ao tratamento com o inoculante A (P<0,05; Tabela 5). Os maiores teores dos CT foram observados para as variedades RB867515 e SP784764 (P<0,05), porém, apresentaram os menores teores dos CNF (P<0,05), refletindo significativamente (P<0,05) nos teores do NDT e na DIVMS (Tabela 4). O tratamento com o inoculante B proporcionou os menores teores de NDT e a menor DIVMS, especialmente para variedade RB92579 (P<0,05; Tabela 5), indicando alto consumo dos carboidratos solúveis pelas leveduras, uma vez que o maior teor de açúcares (°Brix) apresentado por esta variedade favoreceu o desenvolvimento das leveduras e a bactéria proposta pelo inoculante B não possui características que inibam o desenvolvimento desses microrganismos.

### Conclusões

Os inoculantes comerciais utilizados na ensilagem da cana-de-açúcar não promoveram melhoria no valor nutritivo, nem nas perdas fermentativas, em comparação à silagem produzida sem inoculante.

A adição do inoculante A promoveu aumento na estabilidade aeróbia das silagens.

Variedades de cana-de-açúcar com altas concentrações de açúcares (°Brix), como a RB92579, parecem favorecer a atividade das leveduras, promovendo maiores perdas fermentativas.

### Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed. Arlington: AOAC International, 1990. 684p.

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

CAPPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; CECON, P.R. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1837-1856, 2001.

CAVALCANTI, F.J.A.C. (Coord.). Recomendação de adubação para o Estado de Pernambuco 2ª aproximação. Recife: IPA, 1998. 198p.

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 da colheita de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.38-47, 2006a.

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

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

HALL, M.B. Recentes avanços em carboidratos não fibrosos na nutrição de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE: Novos conceitos em nutrição, v.2, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. p.149-159.

HU, W.; SCHMIDT, R.J.; MCDONELL, E.E.; KLINGERMAN, C.M.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3907-3914, 2009.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.8, p.1791-1794, 1999.

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

JOBIM, C.C. Produção e conservação de forragens. In: I *Curso de Atualização por Tutoria à Distância*. Atualização da produção de bovinos de corte, 2002, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá/UEM, 2002. p.427-485.

KUNG JR., L.; ROBINSON, J.R.; RANJIT, N.K.; CHEN, J.H.; GOLT, 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. **Aerobic stability of silages**. University of Delaware: *Department of Animal & Food Sciences*. p.01-13, 2005. Disponível em: < <a href="http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/documents/05AerobicStability.pdf">http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/documents/05AerobicStability.pdf</a> > Acessado em: 23/10/2012.

KLEINSCHMIT, D.H.; SCHMIDT, R.J.; KUNG JR., L. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2130-2139, 2005.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technolog**y, v.57, n.4, p.347-358, 1996.

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

MIRANDA, D.C.L. **Perda 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, Minas Gerais.

PALYNE, M.J.; McDONALD, P. The buffering constituents of herbage and silage. **Journal Science of Food and Agriculture**, v.17, p.264-268, 1966.

PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; LOURES, D.R.S.; PAZIANI, S.F.; RIBEIRO, J.L.; MARI, L.J.; ZOPOLLATTO, M.; SCHMIDT, P.; MATTOS, W.R.S.; HORII, J. Fermentation, losses, and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical or bacterial additives. **Scientia Agricola**, v.65, n.6, p.589-594, 2008.

PRESTON, T.R. Better utilization of crop residues and by products in animal feeding: research guidelines. **A practical manual for research workers**. Rome: FAO, 1986, 154p.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3. ed. Viçosa, MG, UFV, Editora UFV, 2002, 235p.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-state technique for *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v.18, p.104-111, 1963.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and no starch polysaccharides in relation to animal nutrition. In: Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

Tabela 1 – Composição química-bromatológica das variedades de cana-de-açúcar antes da ensilagem.

Variáveis <sup>(1)</sup>		Variedades			
variaveis	RB867515	SP784764	RB92579	$CV^{(2)}(\%)$	$P > F^{(3)}$
MS (g/kg MN)	284,0a	258,9c	275,6ь	0,23	< 0.0001
MO (g/kg MS)	972,5a	971,4c	972,0ь	0,01	0.0012
PB (g/kg MS)	39,4a	37,1a	52,5ь	9,06	0.0094
FDN (g/kg MS)	445,3a	429,0ь	371,1c	0,56	0.0001
FDA (g/kg MS)	341,7a	299,0ь	272,2c	0,45	< 0.0001
PIDN (g/kg MS)	16,8a	11,2c	12,9ь	0,52	< 0.0001
PIDA (g/kg MS)	9,7a	9,6a	9,6a	0,42	0.0741
CT (g/kg MS)	921,4b	925,5a	910,1c	0,07	0.0004
CNF (g/kg MS)	476,1c	496,5b	539,0a	0,46	0.0002
NDT (g/kg MS)	618,8c	665,9a	658,0ь	0,31	0.0002
DIVMS (g/kg)	655,3ь	701,3a	710,6a	1,16	0.0117
CAPT (e.mg NaOH/100g MS)	6,70b	11,0a	7,1b	6,09	0.0059

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (¹)Variáveis: MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido; CT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não fibrosos; NDT = nutrientes digestíveis totais; DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; CAPT = capacidade tampão. (²)CV = coeficiente de variação. (³)P>F = probabilidade de efeito significativo do tratamento.

**Tabela 2 –** Médias dos valores de pH, nitrogênio amoniacal, capacidade tampão, perdas fermentativas e

estabilidade aeróbia das silagens de cana-de-açúcar.

	Variáveis <sup>(1)</sup>									
Fontes	pН	N-NH <sub>3</sub>	CAPT	PE	PG	PTMS	EA			
	Silagem	(% NT)	(e.mgNaOH/100gMS)	(kg/t de MV)	(g/kg MS)	(g/kg)	(horas)			
Sem inoculante	3,63A	3,56в	23,11	3,36ав	278,5в	304,3в	97,60в			
Inoculante A	3,47в	2,97C	24,87	3,48A	239,4B	269,0в	211,20A			
Inoculante B	3,44в	4,14A	23,34	2,78в	323,5A	343,7A	107,20в			
RB867515	3,58A	3,88A	22,10B	2,52в	271,9	292,4	177,60a			
SP784764	3,53в	3,68в	26,46A	2,71в	278,4	297,0	112,00в			
RB92579	3,42C	3,19C	22,76в	4,38A	294,8	327,6	126,40в			
ANOVA										
Tratamento	< 0.0001	< 0.0001	0.0547	0.0138	0.0002	0.0004	< 0.0001			
Variedade	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.3271	0.0606	< 0.0001			
Trat x Var <sup>(2)</sup>	< 0.0001	< 0.0001	0.6575	0.0011	0.0555	0.1281	0.1125			
$CV^{(3)}(\%)$	1,17	18,89	8,78	27,54	14,93	13,50	19,88			

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 
(1) Variáveis: N-NH<sub>3</sub> = nitrogênio amoniacal; CAPT = capacidade tampão; PE = perdas por efluentes; PG = perdas por gases; PTMS = perda total de matéria seca; EA = estabilidade aeróbia. (2) Trat x Var = Interação entre tratamentos e variedades. (3) CV = Coeficiente de variação.

**Tabela 3 –** Decomposição de interação entre tratamentos e variedades para pH, nitrogênio amoniacal e

produção de efluentes das silagens de cana-de-açúcar.

Variadadas		Tratamentos					
Variedades	Sem inoculante	Inoculante A	Inoculante B				
		pH da silagem					
RB867515	3,75Aa	3,50Ab	3,47Ab				
SP784764	3,63Ba	3,52Ab	3,45Ab				
RB92579	3,48Ca	3,37вь	3,42Aab				
	Nitrogênio amoniacal (% NT)						
RB867515	4,39Aa	2,59Ab	4,14Aa				
SP784764	3,66вь	3,05Ac	4,35Aa				
RB92579	2,64Сь	3,15Ab	3,89Aa				
	Per	da por efluentes (kg/t de M	IV)				
RB867515	2,36Bab	3,73ABa	1,19Bb				
SP784764	3,41ABa	2,32Ba	2,41Ba				
RB92579	4,32Aa	4,41Aa	4,41Aa				

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 4 –** Composição química-bromatológica das silagens de cana-de-açúcar.

						Variáveis <sup>(1)</sup>					
Fontes	MS (g/kg MN)	MO (g/kg MS)	PB (g/kg MS)	FDN (g/kg MS)	FDA (g/kg MS)	PIDN (g/kg MS)	PIDA (g/kg MS)	CT (g/kg MS)	CNF (g/kg MS)	NDT (g/kg MS)	DIVMS (g/kg)
Sem inoculante	207,1в	973,4	63,3	628,2	437,5	14,9ab	15,0	886,2	258,0	572,8A	557,1A
Inoculante A	229,5A	972,1	63,2	619,2	435,5	17,9A	13,7	882,6	263,4	574,5A	558,6A
Inoculante B	194,8C	972,2	60,5	634,4	437,2	13,6в	14,7	885,1	250,7	517,5в	510,0в
RB867515	218,5A	975,4A	65,0	642,1A	449,9A	13,4в	14,7	888,0A	245,9в	538,7в	528,1B
SP784764	207,6в	971,7в	60,9	637,5A	444,0A	16,2A	14,1	886,3A	248,8в	544,2в	532,7в
RB92579	205,3в	970,5в	61,0	602,2B	416,3в	16,8A	14,5	879,7в	277,5A	582,0A	564,9A
ANOVA											
Tratamento	< 0.0001	0.4945	0.3462	0.3607	0.9770	0.0145	0.0708	0.2841	0.0752	< 0.0001	< 0.0001
Variedade	0.0027	0.0007	0.0526	< 0.0001	< 0.0001	0.0003	0.2990	0.0015	< 0.0001	0.0013	< 0.0001
Trat x Var <sup>(2)</sup>	0.0014	0.3876	0.0214	0.3314	0.0477	0.0856	0.0418	0.0255	0.5085	0.0016	< 0.0001
$CV^{(3)}(\%)$	7,25	0,34	16,00	3,49	1,44	23,76	18,33	1,02	8,31	5,80	9,73

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (1) Variáveis: MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido; CT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não fibrosos; NDT = nutrientes digestíveis totais; DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca. (2) Trat x Var = Interação entre tratamentos e variedades. (3) CV = Coeficiente de variação.

Tabela 5 - Decomposição de interação entre tratamentos e variedades para composição química-

bromatológica das silagens de cana-de-açúcar.

Variadadas		Tratamentos		
Variedades	Sem inoculante	Inoculante A	Inoculante B	
		Matéria seca (g/kg MN)		
RB867515	207,3Ab	239,6Aa	208,6Аь	
SP784764	204,0Ab	235,6Aa	183,1Bb	
RB92579	210,0Aa	213,2ва	192,8ABa	
		Proteína bruta (g/kg MS)		
RB867515	61,2Aa	71,6Aa	62,3Aa	
SP784764	61,6Aa	59,2ABa	61,8Aa	
RB92579	67,0Aa	58,7Ba	57,4Aa	
	Fibra	em detergente ácido (g/kg	(MS)	
RB867515	451,6Aa	441,5Aa	456,5Aa	
SP784764	449,5Aa	434,4Aa	448,0Aa	
RB92579	411,4Ba	430,5Aa	407,1Ba	
	Proteína ins	olúvel em detergente ácido	o (g/kg MS)	
RB867515	16,4Aa	14,3Aa	13,5Aa	
SP784764	14,3Aa	14,9Aa	13,2Aa	
RB92579	14,2Aa	11,9Aa	17,4Aa	
	C	arboidratos totais (g/kg MS	S)	
RB867515	895,5Aa	881,8Ab	886,5Aab	
SP784764	886,3ABa	884,2Aa	888,3Aa	
RB92579	876,9Ba	881,7Aa	880,6Aa	
	Nutrie	ntes digestíveis totais (g/kg	g MS)	
RB867515	542,7Aa	541,1Ba	532,5Aa	
SP784764	559,3Aa	554,8ABa	518,4Aa	
RB92579	616,5Aa	627,7Aa	501,7Ab	
	Digestibil	idade in vitro da matéria so	eca (g/kg)	
RB867515	531,4Ba	530,0Ba	522,8Aa	
SP784764	545,6Ba	541,7Ba	510,8Aa	
RB92579	594,4Aa	603,9Aa	496,4Ab	

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

# **ANEXO**

# ANEXO – DIRETRIZES PARA AUTORES DA "REVISTA PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA"

# Organização do artigo científico

- O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas;
- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

# A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em português Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras;
- Artigos em inglês Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures;
- Artigos em espanhol Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras;
- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

# **Título**

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções;
- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito;
- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como "efeito" ou "influência";

- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário;
- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos;
- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

#### Nomes dos autores

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção "e", "y" ou "and", no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente;
- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

# Endereço dos autores

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente;
- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição;
- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

# Resumo

- O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão;
- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos;
- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão;
- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas;
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

### Termos para indexação

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial;
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula;
- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras;
- Não devem conter palavras que componham o título;
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada;
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no <u>AGROVOC: Multilingual</u> Agricultural Thesaurus ou no Índice de Assuntos da base SciELO.

# Introdução

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito;
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto;
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

#### Material e Métodos

- A expressão "Material e Métodos" deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais;
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica;
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental;
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis;
- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas;
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento;
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente;

- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados;
- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

### Resultados e Discussão

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial;
- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos;
- As tabelas e figuras são citadas sequencialmente;
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores;
- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados;
- Dados não apresentados não podem ser discutidos;
- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados;
- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada;
- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras;
- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

#### Conclusões

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial;
- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo;
- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho;
- Não podem consistir no resumo dos resultados;
- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa;
- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

# Agradecimentos

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial;
- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com "Ao, Aos, À ou Às" (pessoas ou instituições);
- Devem conter o motivo do agradecimento.

#### Referências

- A palavra Referências deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial;
- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos;
- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir;
- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração;
- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra;
- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito;
- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação;
- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada;
- Devem ser trinta, no máximo.

### Exemplos:

- Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

Artigos de periódicos

SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre Bradyrhizobium japonicum, B. elkanii e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.

- Capítulos de livros

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O** agronegócio da mamona no Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

# - Livros

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).

Teses

HAMADA, E. Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Fontes eletrônicas

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste: relatório do ano de 2003. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: Acesso em: 18 abr. 2006.

# Citações

Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. - A autocitação deve ser evitada. - Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir;

Redação das citações dentro de parênteses;

- Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação;
- Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula,
   separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação;
- Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação;
- Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores;
- Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula;
- Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original,
   seguido da expressão "citado por" e da citação da obra consultada;

Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.

# Redação das citações fora de parênteses

 Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

# Fórmulas, expressões e equações matemáticas

- Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman;
- Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

#### **Tabelas**

- As tabelas devem ser numeradas sequencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências;
- Devem ser autoexplicativas;
- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis;
- Os elementos complementares são: notas de rodapé e fontes bibliográficas;
- O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes;
- No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas de rodapé;
- Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades;
- Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo;
- Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota de rodapé explicativa;

- Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota de rodapé do teste utilizado e a probabilidade;
- Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais;
- As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.

# Notas de rodapé das tabelas

- Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências;
- Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto;
- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não significativo); \* e \*\* (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

# **Figuras**

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto;
- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos;
- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito;
- Devem ser autoexplicativas;
- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título;

- Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses;
- Figuras não originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas;
- O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados;
- Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios);
- Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante;
- As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico;
- Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura;
- Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções;
- Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura;
- No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis);
- Não usar negrito nas figuras;
- As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto;
- Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

### **Notas Científicas**

Notas científicas são breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico completo.

### Apresentação de Notas Científicas

A ordenação da Nota Científica deve ser feita da seguinte forma: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, Termos para indexação,

título em inglês, Abstract, Index terms, texto propriamente dito (incluindo introdução, material e métodos, resultados e discussão, e conclusão, sem divisão), Referências, tabelas e figuras;

- As normas de apresentação da Nota Científica são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:
  - Resumo com 100 palavras, no máximo;
  - Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras;
  - Deve apresentar, no máximo, 15 referências e duas ilustrações (tabelas e figuras).

# **APÊNDICE**

# APÊNDICE A – TABELAS

TRA	VAR	REP	MS	MO	PB	FDN	FDA	PIDN	N-NH <sub>3</sub>
SIN	RB86	1	20,62	98,18	6,13	73,96	47,35	1,11	4,00
SIN	RB86	1	20,76	98,20	5,94	71,76	47,25	1,11	4,07
SIN	RB86	2	20,60	97,91	6,19	67,33	42,51	2,42	4,73
SIN	RB86	2	20,55	97,92	6,35	68,30	43,85	2,44	4,63
SIN	RB86	3	21,83	98,31	6,30	72,05	47,39	1,48	4,82
SIN	RB86	3	21,79	98,23	6,35	72,71	49,55	1,49	4,80
SIN	RB86	4	20,43	97,39	6,00	69,11	43,20	1,30	4,15
SIN	RB86	4	20,49	97,36	5,95	69,37	45,05	1,30	4,16
SIN	RB86	5	20,13	97,31	5,97	68,12	43,01	1,30	4,26
SIN	RB86	5	20,08	97,24	6,00	67,69	42,50	1,29	4,26
SIN	SP78	1	20,25	97,24	5,75	69,31	41,01	2,23	4,04
SIN	SP78	1	20,23	97,24	5,75	69,28	42,52	2,23	4,04
SIN	SP78	2	20,27	97,22	5,78	72,61	51,29	1,11	3,73
SIN	SP78	2	20,22	97,13	5,73	72,36	50,29	1,11	3,72
SIN	SP78	3	21,44	97,46	5,94	70,88	45,45	1,30	3,19
SIN	SP78	3	21,48	97,46	5,91	69,66	45,83	1,30	3,20
SIN	SP78	4	19,14	96,95	6,61	68,13	45,41	1,49	3,63
SIN	SP78	4	19,11	96,92	6,79	67,76	46,36	1,49	3,54
SIN	SP78	5	20,95	96,76	6,57	69,00	40,64	1,30	3,79
SIN	SP78	5	20,97	96,77	6,74	69,40	40,71	1,30	3,69
SIN	RB92	1	20,98	97,08	6,79	67,83	45,06	1,49	2,37
SIN	RB92	1	21,06	97,09	7,09	66,83	44,30	1,49	2,25
SIN	RB92	2	20,98	96,42	5,44	60,36	38,22	1,51	2,98
SIN	RB92	2	20,99	96,51	5,45	60,53	38,72	1,51	2,96
SIN	RB92	3	20,65	97,09	7,17	69,19	42,16	1,67	2,89
SIN	RB92	3	20,66	97,12	7,20	68,35	41,27	1,66	2,87
SIN	RB92	4	20,69	97,53	8,08	64,29	40,35	1,31	2,59
SIN	RB92	4	20,73	97,54	8,07	63,80	40,04	1,31	2,58
SIN	RB92	5	21,62	97,34	5,97	63,97	41,19	1,30	2,43
SIN	RB92	5	21,65	97,38	5,76	62,69	40,10	1,30	2,51
INA	RB86	1	21,34	97,25	6,28	68,49	45,08	1,30	4,69
INA	RB86	1	21,22	97,31	6,34	67,77	45,27	1,31	4,70
INA	RB86	2	23,39	97,51	8,25	67,76	43,97	1,13	2,84
INA	RB86	2	23,37	97,31	8,42	66,18	43,37	1,13	2,78
	RB86	3	25,17	97,47		69,59	42,26		2,78
INA		3	25,17	,	7,41			1,12	
INA	RB86		,	97,12	7,57	69,95	41,95	1,12	2,70
INA	RB86	4	23,38	97,60	6,76		45,31	0,93	1,50
INA	RB86	4	23,45	97,61	6,53	68,76	45,31	0,93	1,54
INA	RB86	5	26,56	97,55	6,94	69,46	44,74	2,61	2,27
INA	RB86	5	26,54	97,60	7,11	69,75	44,21	2,63	2,22
INA	SP78	1	26,99	97,56	6,18	65,98	39,87	1,12	2,59
INA	SP78	1	27,01	97,52	6,32	65,93	40,46	1,12	2,53
INA	SP78	2	23,63	97,53	6,00	68,72	42,91	1,31	3,21
INA	SP78	2	23,63	97,56	6,19	67,80	42,20	1,32	3,12
INA	SP78	3	26,81	97,37	5,94	70,48	47,08	2,61	2,82
INA	SP78	3	26,71	97,35	6,00	70,06	46,00	2,62	2,82
INA	SP78	4	21,18	96,54	5,44	68,46	44,50	3,00	3,58
INA	SP78	4	21,18	96,59	5,62	69,21	43,90	3,17	3,62
INA	SP78	5	19,21	96,80	5,76	66,42	42,83	1,48	3,11
INA	SP78	5	19,23	96,79	5,77	66,43	44,67	1,49	3,10
INA	RB92	1	21,74	96,92	5,82	63,67	41,30	2,25	1,92
INA	RB92	1	21,78	96,98	5,63	64,87	41,01	2,25	1,97

# Continuação...

TD A	VAR	REP	MS	MO	PB	FDN	EDA	PIDN	NI NITT
TRA INA		2 REP		96,95	5,99		<b>FDA</b> 43,79	2,24	N-NH <sub>3</sub> 2,22
	RB92		18,85			66,37		2,24 2,25	2,22
INA	RB92	2 3	18,85	96,85	5,80	65,53	45,94		
INA	RB92		23,54	96,71	6,27	65,59	42,25	2,24	2,69
INA	RB92	3	23,43	96,72	6,17	66,66	43,51	2,25	2,77
INA	RB92	4	19,42	97,31	5,54	70,18	45,55	2,22	4,05
INA	RB92	4	19,39	97,31	5,37	71,52	44,68	2,22	4,19
INA	RB92	5	23,13	97,36	6,11	65,36	41,66	1,12	3,47
INA	RB92	5	23,10	97,32	5,97	63,79	40,77	1,12	3,57
INB	RB86	1	20,18	97,58	6,88	67,77	43,32	1,11	3,91
INB	RB86	1	20,13	97,57	6,67	68,46	43,06	1,11	4,06
INB	RB86	2	19,99	97,58	6,10	70,02	44,86	0,92	4,01
INB	RB86	2	19,95	97,50	5,97	72,04	46,27	0,93	4,12
INB	RB86	3	20,76	97,21	6,16	69,13	42,35	1,12	4,12
INB	RB86	3	20,64	97,14	6,39	67,69	44,32	1,13	4,02
INB	RB86	4	21,10	97,40	6,12	67,24	44,76	1,11	3,88
INB	RB86	4	21,08	97,46	6,12	70,09	45,16	1,11	3,88
INB	RB86	5	22,38	97,32	5,95	71,67	50,05	1,11	4,67
INB	RB86	5	22,34	97,28	5,93	72,61	52,38	1,12	4,70
INB	SP78	1	19,16	97,41	6,09	73,16	47,53	1,29	4,22
INB	SP78	1	19,11	97,42	5,91	73,43	47,82	1,30	4,37
INB	SP78	2	18,83	97,27	5,37	68,85	43,26	1,10	4,51
INB	SP78	2	18,80	97,36	5,34	69,34	43,60	1,10	4,54
INB	SP78	3	17,85	97,56	6,89	69,09	44,18	1,30	4,25
INB	SP78	3	17,85	97,50	6,73	67,26	44,51	1,30	4,20
INB	SP78	4	18,36	97,06	5,57	66,32	43,67	2,23	4,71
INB	SP78	4	18,36	97,11	5,76	66,01	44,21	2,24	4,55
INB	SP78	5	17,42	96,95	7,22	68,99	44,53	1,33	3,95
INB	SP78	5	17,40	96,98	6,91	68,90	44,72	1,34	4,14
INB	RB92	1	19,88	96,81	5,69	68,77	41,71	1,32	3,74
INB	RB92	1	19,81	96,80	5,72	69,18	43,50	1,33	3,93
INB	RB92	2	19,98	96,76	5,70	66,38	41,48	1,52	4,06
INB	RB92	2	19,90	96,81	5,53	67,93	42,33	1,53	4,22
INB	RB92	3	18,07	96,69	5,50	62,62	38,28	1,35	5,05
INB	RB92	3	18,14	96,72	5,32	62,31	37,27	1,35	5,18
INB	RB92	4	18,66	97,26	5,92	66,02	39,06	1,33	3,92
INB	RB92	4	18,59	97,32	5,93	65,72	40,01	1,34	3,94
INB	RB92	5	19,92	97,46	6,04	68,13	41,72	2,26	3,67
INB	RB92	5	19,87	97,44	6,08	66,17	41,70	2,28	3,67
ANT	RB86	1	28,33	97,24	3,94	49,44	34,08	1,68	
ANT	RB86	2	28,46	97,25	3,93	48,83	34,25	1,67	
ANT	SP78	1	25,89	97,13	3,72	48,07	30,03	1,11	
ANT	SP78	2	25,88	97,14	3,70	47,39	29,76	1,12	
ANT	RB92	1	27,60	97,20	5,34	41,91	27,17	1,28	
ANT	RB92	2	27,52	97,19	5,15	41,96	27,27	1,29	

\*TRA = tratamentos; SIN = sem inoculante; INA = inoculante A (Lalsil® cana); INB = inoculante B (Silobac® 5); ANT = antes da ensilagem; VAR = variedades; REP = repetição; MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro; N-NH<sub>3</sub> = nitrogênio amoniacal (% NT).

Tabela 1 - Composição química-bromatológica das variedades de cana-de-açúcar antes e após a ensilagem (% MS)\*

TRA	VAR	REP	PIDA	CT	CNF	NDT	DIVMS	CAPT
SIN	RB86	1	2,08	90,38	25,00	53,62	52,59	16,80
SIN	RB86	1	2,03	90,65	25,72	53,19	52,22	22,00
SIN	RB86	2	1,46	89,70	28,78	56,04	54,66	22,60
SIN	RB86	2	1,46	89,52	27,46	56,54	55,08	22,00
SIN	RB86	3	1,76	90,35	21,65	58,53	56,77	23,20
SIN	RB86	3	1,76	90,26	23,59	55,22	53,95	21,20
SIN	RB86	4	1,45	89,13	22,94	55,04	53,80	20,40
SIN	RB86	4	1,45	89,39	23,67	54,57	53,40	19,40
SIN	RB86	5	1,45	87,86	24,96	49,54	49,11	23,60
SIN	RB86	5	1,46	88,27	25,94	50,37	49,82	22,60
SIN	SP78	1	1,29	89,42	27,16	53,41	52,41	29,40
SIN	SP78	1	1,29	89,54	26,93	53,81	52,75	29,40
SIN	SP78	2	1,68	88,88	23,88	57,71	56,08	29,60
SIN	SP78	2	1,61	89,43	22,50	60,35	58,33	29,40
SIN	SP78	3	1,12	88,62	23,19	61,65	59,44	21,40
SIN	SP78	3	1,12	89,29	25,14	60,73	58,66	22,60
SIN	SP78	4	1,67	87,67	23,35	50,66	50,07	28,00
SIN	SP78	4	1,67	87,56	24,91	50,22	49,69	27,00
SIN	SP78	5	1,44	87,90	23,88	55,82	54,46	24,40
SIN	SP78	5	1,44	88,01	23,49	54,94	53,72	24,80
SIN	RB92	1	1,44	87,07	24,00	58,09	56,40	21,20
SIN	RB92	1						
		2	1,61	85,53	23,94	59,55	57,65	14,80
SIN	RB92	2	1,62	87,85	31,81	65,22	62,49	22,60
SIN	RB92	2	1,63	87,80	31,93	65,47	62,70	22,60
SIN	RB92	3	1,48	89,14	25,36	55,32	54,04	23,80
SIN	RB92	3	1,47	89,56	27,30	58,60	56,84	9,60
SIN	RB92	4	1,29	86,54	27,83	62,80	60,42	23,60
SIN	RB92	4	1,29	85,97	27,39	63,54	61,05	23,80
SIN	RB92	5	1,12	88,49	30,75	62,97	60,57	27,00
SIN	RB92	5	1,12	88,93	29,67	64,95	62,25	24,60
INA	RB86	1	1,28	88,30	24,76	55,86	54,50	28,60
INA	RB86	1	1,28	88,28	25,61	53,44	52,43	22,60
INA	RB86	2	1,62	87,33	24,90	54,09	52,99	21,80
INA	RB86	2	1,62	86,86	25,90	55,07	53,82	23,00
INA	RB86	3	1,45	88,21	23,07	53,02	52,08	21,80
INA	RB86	3	1,46	87,75	22,30	50,72	50,12	22,20
INA	RB86	4	1,50	88,51	25,05	54,35	53,22	24,20
INA	RB86	4	1,50	88,45	24,47	54,11	53,01	24,40
INA	RB86	5	1,29	89,20	26,22	54,93	53,71	20,80
INA	RB86	5	1,30	88,99	25,64	55,48	54,17	20,20
INA	SP78	1	2,59	87,95	27,42	56,10	54,70	26,00
INA	SP78	1	2,59	87,97	25,33	54,60	53,42	27,20
INA	SP78	2	1,13	88,10	25,11	57,98	56,31	26,80
INA	SP78	2	1,14	88,30	25,22	56,82	55,32	25,40
INA	SP78	3	1,28	89,06	25,50	55,76	54,41	29,40
INA	SP78	3	1,29	88,99	25,77	55,37	54,08	28,60
INA	SP78	4	1,29	88,82	27,40	56,71	55,22	25,60
INA	SP78	4	1,30	88,93	26,84	55,50	54,19	27,80
INA	SP78	5	1,13	88,36	27,44	52,92	51,99	28,00
INA	SP78	5	1,13	87,74	26,86	53,03	52,08	26,40
		3 1	0,97					
INA	RB92			86,77	29,57	61,05	58,93	25,00
INA	RB92	1	0,97	87,64	29,39	59,34	57,47	24,20
INA	RB92	2	1,30	87,92	27,93	62,74	60,37	24,00
INA	RB92	2	1,29	87,94	28,89	62,42	60,10	24,80

# Continuação...

TRA	VAR	REP	PIDA	CT	CNF	NDT	DIVMS	CAPT
INA	RB92	3	1,28	87,87	27,79	62,77	60,39	23,00
INA	RB92	3	1,30	88,04	28,58	63,85	61,32	25,80
INA	RB92	4	1,28	90,08	25,94	65,17	62,44	22,60
INA	RB92	4	1,29	89,12	23,68	64,72	62,06	24,40
INA	RB92	5	1,12	87,99	28,55	62,49	60,16	25,40
INA	RB92	5	1,13	88,32	29,10	63,14	60,71	26,20
INB	RB86	1	1,27	88,27	21,70	56,17	54,76	21,80
INB	RB86	1	1,28	88,07	21,39	54,02	52,93	24,20
INB	RB86	2	1,28	87,99	24,16	54,49	53,33	21,00
INB	RB86	2 3	1,28	89,89	24,48	54,43	53,28	23,00
INB	RB86		1,61	88,49	27,82	55,44	54,14	20,80
INB	RB86	3	1,62	87,76	25,61	52,73	51,83	22,40
INB	RB86	4	1,12	88,88	26,73	52,25	51,42	21,00
INB	RB86	4	1,13	88,75	23,64	51,88	51,11	20,60
INB	RB86	5	1,44	89,00	22,44	50,94	50,31	22,00
INB	RB86	5	1,44	89,47	21,96	50,16	49,64	22,80
INB	SP78	1	1,28	89,45	21,71	57,36	55,78	24,20
INB	SP78	1	1,28	89,71	22,09	55,34	54,05	25,40
INB	SP78	2	1,27	90,13	25,65	51,71	50,96	25,00
INB	SP78	2	1,28	90,32	26,02	51,34	50,64	24,60
INB	SP78	3	1,29	88,65	22,92	51,66	50,92	26,60
INB	SP78	3	1,28	88,57	21,52	54,97	53,74	28,20
INB	SP78	4	1,45	89,60	30,27	48,56	48,27	27,20
INB	SP78	4	1,45	88,47	26,01	49,85	49,37	24,00
INB	SP78	5	1,31	87,11	22,20	50,12	49,60	26,00
INB	SP78	5	1,32	86,27	20,58	47,55	47,42	25,40
INB	RB92	1	1,31	88,28	25,37	59,31	57,44	21,60
INB	RB92	1	1,31	88,35	24,75	56,24	54,83	22,40
INB	RB92	2	2,79	87,71	26,02	43,45	43,92	18,00
INB	RB92	2	2,80	87,81	24,75	45,77	45,89	20,80
INB	RB92	3	1,00	88,33	31,01	47,85	47,67	22,60
INB	RB92	3	1,00	88,06	31,16	46,17	46,24	25,00
INB	RB92	4	1,32	86,81	27,10	47,02	46,96	22,60
INB	RB92	4	1,32	88,53	26,64	45,76	45,88	23,60
INB	RB92	5	2,29	88,17	28,27	54,10	52,99	24,00
INB	RB92	5	2,30	88,48	28,10	55,98	54,60	23,40
ANT	RB86	1	0,97	92,20	47,70	61,94	65,60	7,20
ANT	RB86	2	0,97	92,08	47,52	61,82	65,45	6,20
ANT	SP78	1	0,96	92,55	49,38	65,87	70,21	11,20
ANT	SP78	2	0,96	92,55	49,91	65,73	70,05	10,80
ANT	RB92	1	0,95	90,95	53,95	67,42	72,03	7,40
ANT	RB92	2	0,96	91,06	53,85	65,76	70,09	6,80

\*TRA = tratamentos; SIN = sem inoculante; INA = inoculante A (Lalsil® cana); INB = inoculante B (Silobac® 5); ANT = antes da ensilagem; VAR = variedades; REP = repetição; PIDA = proteína insolúvel em detergente neutro; CT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não fibrosos; NDT = nutrientes digestíveis totais; DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Tabela 2 – Perdas fermentativas, estabilidade aeróbia e pH das silagens de cana-de-açúcar\*

TRA	VAR	REP	PE	PTMS	PG	EA	pН
SIN	RB86	1	1,36	31,94	30,94	108,00	3,80
SIN	RB86	2	3,64	33,97	31,33	84,00	3,74
SIN	RB86	3	1,82	28,42	27,02	84,00	3,77
SIN	RB86	4	2,05	33,22	31,73	156,00	3,73
SIN	RB86	5	2,95	35,15	33,05	156,00	3,73
SIN	SP78	1	3,18	27,99	25,48	84,00	3,71
SIN	SP78	2	4,09	28,81	25,61	48,00	3,70
SIN	SP78	3	2,50	23,15	21,07	72,00	3,56
SIN	SP78	4	2,27	31,17	29,48	84,00	3,57
SIN	SP78	5	5,00	26,79	22,73	60,00	3,60
SIN	RB92	1	4,32	31,40	28,10	168,00	3,48
SIN	RB92	2	4,77	31,33	27,68	84,00	3,44
SIN	RB92	3	4,09	31,95	28,84	60,00	3,68
SIN	RB92	4	4,09	31,90	28,81	132,00	3,46
SIN	RB92	5	4,32	29,25	25,82	84,00	3,52
INA	RB86	1	4,09	32,34	29,06	240,00	3,51
INA	RB86	2	3,64	25,38	22,36	276,00	3,56
INA	RB86	3	4,09	19,49	15,83	252,00	3,50
INA	RB86	4	3,64	24,92	21,88	276,00	3,48
INA	RB86	5	3,18	15,32	12,31	276,00	3,45
INA	SP78	1	3,64	4,66	0,77	204,00	3,58
INA	SP78	2	3,86	11,49	7,74	168,00	3,53
INA	SP78	3	1,14	3,42	2,23	168,00	3,50
INA	SP78	4	1,14	23,75	22,25	216,00	3,46
INA	SP78	5	1,02	30,16	29,31	168,00	3,55
INA	RB92	1	4,55	28,99	25,38	240,00	3,33
INA	RB92	2	4,09	38,16	35,35	168,00	3,40
INA	RB92 RB92	3	4,09	22,77	19,26	192,00	3,35
INA	RB92	4	4,09	37,29	33,92	132,00	3,40
INA	RB92	5	4,77	24,19	20,35	192,00	3,40
INB	RB86	1	3,64	35,46	32,88	168,00	3,45
INB	RB86	2	1,14	34,32	33,51	156,00	3,46
INB	RB86	3	0,91	31,57	30,91	156,00	3,40
INB	RB86	4	1,36	30,80	29,78	168,00	3,50
INB	RB86	5	1,36	26,29	25,78	108,00	3,48
INB	SP78	1	1,59	30,96	29,78	84,00	3,42
INB	SP78	2	2,73	32,78	30,79	84,00	3,42
INB	SP78	3	2,73	36,21	34,64	72,00	3,43
INB	SP 78	3 4	3,18	35,28	32,99	84,00	3,44 3,45
	SP 78 SP 78			33,28 37,64			
INB		5	2,27		36,10	84,00	3,49
INB	RB92	1	4,32	34,90	31,78	108,00	3,39
INB	RB92	2	4,55	34,74	31,45	84,00	3,39
INB	RB92	3	4,55	40,74	37,75	108,00	3,39
INB	RB92	4	4,09	38,90	36,12	72,00	3,48
INB	RB92	5	4,55	34,92	31,61	72,00	3,43

\*TRA = tratamentos; SIN = sem inoculante; INA = inoculante A (Lalsil® cana); INB = inoculante B (Silobac® 5); VAR = variedades; REP = repetição; PE = perdas por efluentes; PTMS = perda total de matéria seca; PG = perdas por gases; EA = estabilidade aeróbia; pH = pH da silagem.

# APÊNDICE B – FIGURAS



**Figura 1 –** Variedades de cana-de-açúcar utilizadas no experimento, RB867515 (Variedade 1), SP784764 (Variedade 2) e RB92579 (Variedade 3).



Figura 2 – Sacos confeccionados para captação dos efluentes.



Figura 3 – Silos laboratoriais utilizados no experimento.



Figura 4 – Avaliação da estabilidade aeróbia.



**Figura 5** – Especificações do inoculante Lalsil<sup>®</sup> cana.

# Silobac<sup>®</sup> 5

# Inoculante de silagem de milho e cana-de-açúcar.

A preservação dos nutrientes das forragens é o objetivo da produção de silagens de alta qualidade. Este objetivo é atingido através do processo de fermentação, em que os inoculantes exercem papel fundamental, promovendo uma fermentação mais rápida e melhor, aumentando a estabilidade aeróbica e assegurando a qualidade da silagem. Desta forma, o inoculante para silagem é uma parte valiosa do manejo adequado de ensilagem. O Silobac<sup>®</sup> 5 é o inoculante para silagem de milho e cana-de-açúcar da Chr. Hansen que contém duas cepas únicas de *Lactobacillus plantarum* - PA28 e K270, que preservam o valor nutritivo da forragem ensilada.

#### Qualidade assegurada Chr. Hansen

Os produtos da Chr. Hansen atendem integralmente os mais altos padrões de produção de biotecnologias. A empresa possui Certificação ISO 9001, ISO 22000, FSSC 22000 e FAMI-QS e isto garante o fornecimento de produtos de alta qualidade e estabilidade na embalagem comercial.

O Silobac® 5 apresenta eficácia comprovada e documentada em diversos estudos a campo em diferentes sistemas de produção.

**Figura 6** – Especificações do inoculante Silobac<sup>®</sup> 5.