



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

JOÃO PAULO VIEIRA DE MELO FERNANDES DE LIMA

**UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES MICROBIANOS PRODUTORES DE ÁCIDO
ACÉTICO EM SILAGENS DE SORGO FORRAGEIRO**

**AREIA
2022**

JOÃO PAULO VIEIRA DE MELO FERNANDES DE LIMA

**UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES MICROBIANOS PRODUTORES DE ÁCIDO
ACÉTICO EM SILAGENS DE SORGO FORRAGEIRO**

Trabalho de graduação apresentado à
Coordenação do Curso de Agronomia, do Centro de
Ciências Agrárias, da Universidade Federal da
Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção
do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Edson Mauro Santos

AREIA

2022

ESPAÇO PARA FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na publicação Seção de Catalogação e Classificação

L732u Lima, Joao Paulo Vieira de Melo Fernandes de.
Utilização de inoculantes microbianos produtores de
ácido acético em silagens de sorgo forrageiro / Joao
Paulo Vieira de Melo Fernandes de Lima. -
Areia:UFPB/CCA, 2022.

42 f. : il.

Orientação: Edson Mauro Santos.
TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Agronomia. 2. Bactérias heterotáticas. 3.
Conservação de forragem. 4. Estabilidade aeróbia. 5.
Populações microbianas. I. Santos, Edson Mauro. II.
Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 631/635(02)

JOÃO PAULO VIEIRA DE MELO FERNANDES DE LIMA

**UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES MICROBIANOS PRODUTORES DE ÁCIDO
ACÉTICO EM SILAGENS DE SORGO FORRAGEIRO**

Trabalho de graduação apresentado à
Coordenação do Curso de Agronomia, do Centro de
Ciências Agrárias, da Universidade Federal da
Paraíba, em cumprimento às exigências para
obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado em: 15/06/2022

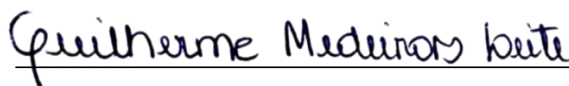
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Edson Mauro Santos (Orientador)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



MSc. Guilherme Medeiros Leite
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Profª. Drª. Juliana Silva de Oliveira
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Senhor Deus pelo privilégio da vida, por se fazer presente nessa grande jornada da minha vida, a Nossa Senhora por sempre interceder minhas orações, por sempre me guardar e me proteger como teu filho, e a minha Santa Catarina de Alexandria, por sempre me acompanhar em meus estudos, vestibulares, seminários, provas e neste trabalho de TCC.

À minha mãe Fátima Maria Vieira de Melo, por todo amor, carinho e educação que me deu, por sempre acreditar em seu filho que muitas vezes não acreditava em si mesmo, por ser minha melhor amiga e companheira, por todo esforço e dedicação de algo que parecia impossível ao fazer minha matrícula em tempo hábil, me colocando onde estou hoje, minha eterna gratidão a ti mainha.

Ao meu pai Ademar Fernandes de Lima, meu grande herói, por me ensinar desde pequeno que o trabalho dignifica o homem, por ter me ensinado a lida do campo, hoje a minha grande paixão, sempre foi um prazer trabalhar ao seu lado, meu companheiro e melhor amigo, mesmo distante se fez presente e cuidou do seu filho, a distância entre nós foi a parte mais difícil dessa jornada, e mesmo sofrendo com isso, nunca se deixou abalar para que eu me mantivesse firme e conquistasse meu sonho.

Aos meus padrinhos, Aurílio Fernandes de Lima e Karla Andrea Viera Fernandes, grato por todo amor, carinho, educação e conselhos como se fosse seu próprio filho, por acreditarem no meu sonho e se fazerem presentes, meus companheiros que nunca largaram minha mão, amo vocês.

Grato aos meus irmãos, Tibério Augusto e Mario Ângelo e aos meus primos que eu amo como meus irmãos, Lukas Vieira, Thiago Vieira e Maria Eugênia. Sou grato por todas as conversas, conselhos, risadas e companheirismo durante toda minha vida.

À minha família com origem dos estados do Amazonas e Acre, Daltro, Cesar, Sannye, Rogério, Evelyn, Gustavo, Rene, Sergiane, Theo, Amanda, Auremira, Alzenira, Suellem, Helton, Herlison, Aylana, Raimundo, Jucely que diversas vezes vieram me visitar aqui na Paraíba e sempre me recepcionaram de braços abertos todas as vezes que eu voltava para casa, sempre com alegria, comemorações e palavras de incentivo apoiando o meu sonho.

À família Melo, por me acolherem, me ampararem e se fazerem presentes nesses 5 anos de batalha, a vocês toda minha gratidão, Fabíola, Tania, Carlos, Solange, Isabelly, Raissa, Tatianne, Vanessa, Cinthia, Alexander, Renan e Renata.

Aos amigos e integrantes do grupo de WhatsApp “Agropecuários” Pedro Willian, Everson Fideles e Marcus Carvalho que acompanharam este sonho desde minha infância, sempre com muita alegria, parceria e companheirismo.

Aos meus amigos Waldomiro, Ruan, João Otavio, Anderson, Andrei, Victor, Nathália, Débora, Gilvânia, Thácylla, Wdson, Renato, Aianne, e Juliana, por tornarem meus dias mais alegres e saber que sempre tenho com quem contar.

Aos professores Dr Edson Mauro e Dr^a Juliana Oliveira por todo acolhimento e ensinamentos ao abrirem as portas do GEF, onde em momentos de trabalho e convivência pude aprender, crescer pessoalmente, profissionalmente e construir relações de amizades.

À Guilherme Medeiros Leite por todos momentos de trabalho, ensinamentos, conselhos, orientação e palavras de motivação, por acreditar em meu potencial quando muitas vezes eu mesmo não acreditava, sua amizade tornou os meus dias mais felizes e minha experiência junto ao GEF inesquecível, a você meu grande amigo, toda minha gratidão.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB), ao Centro de Ciências Agrárias – Campus II, e ao corpo de funcionários dessa instituição, em especial, à Coordenação do Curso de Agronomia e ao Departamento de Zootecnia, por todo o empenho e trabalho.

À turma de agronomia 2016.2 “a mais unida do CCA”, sem vocês essa grande jornada seria mais difícil, levo em meu coração todos os bons momentos durante esses 5 anos, que Deus abençoe e ilumine a trajetória de cada um de vocês meus “irmãos”.

UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES MICROBIANOS PRODUTORES DE ÁCIDO ACÉTICO EM SILAGENS DE SORGO FORRAGEIRO

RESUMO GERAL: Objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de bactérias lácticas produtoras de ácido acético sobre composição química, perdas durante a ensilagem, perfil fermentativo, populações microbianas e estabilidade aeróbia em silagem de sorgo forrageiro. Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, arranjado em esquema fatorial 7×2, sendo sete tratamentos e dois períodos de abertura (30 e 80 dias), com quatro repetições. Dos tratamentos, cinco são as estirpes de bactérias lácticas isoladas do sorgo forrageiro, bem como tratamento controle – sem inoculante, e *Weissella cibaria*. Observou-se efeito de interação entre os tratamentos e aberturas para os teores de perdas por efluente ($P=0,0004$), onde o tratamento controle obteve $4,73 \text{ kg t}^{-1}$ para a abertura de 80 dias, e perdas por gases ($P=0,0001$), onde o *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 51) se destacou com 0,48 % MS. Houve efeito de interação entre os tratamentos e aberturas para os teores de BAL ($P=0,0001$) e LEV ($P=0,0001$), com 5,37 Unidades formadoras de colônias por grama de silagem para *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 09) na abertura de 30 dias e 2,42 Unidades formadoras de colônias por grama de silagem para o tratamento controle na abertura de 80 dias. Já para estabilidade aeróbia, entre os tratamentos, se destacaram ($P=0,0001$) o *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 66) e *Weissella cibaria*, com 71,75 e 68,87 h, respectivamente. Assim, recomenda-se a utilização do *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 66) na ensilagem do sorgo forrageiro.

PALAVRAS-CHAVE: bactérias heterotáticas; conservação de forragem; estabilidade aeróbia; populações microbianas; *Sorghum bicolor* (L.) Moench.

USE OF ACETIC ACID PRODUCING MICROBIAL INOCULANTS IN FORAGE SORGHUM SILAGES

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the effect of inoculation with acetic acid-producing lactic acid bacteria on chemical composition, losses during ensiling, fermentative profile, microbial populations and aerobic stability in forage sorghum silage. A completely randomized experimental design was used, arranged in a 7×2 factorial scheme, with seven treatments and two opening periods (30 and 80 days), with four replications. Of the treatments, five are the strains of lactic acid bacteria isolated from forage sorghum, as well as a control treatment – without inoculant, and *Weissella cibaria*. There was an interaction effect between treatments and openings for the levels of losses by effluent ($P=0.0004$), where the control treatment obtained 4.73 kg t⁻¹ for the opening of 80 days, and losses by gases ($P=0.0001$), where *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 51) stood out with 0.48% MS. There was an interaction effect between treatments and openings for the levels of BAL ($P=0.0001$) and LEV ($P=0.0001$), with 5.37 colony forming units per gram of silage for *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 09) at 30 days opening and 2.42 colony forming units per gram of silage for the control treatment at 80 days opening. As for aerobic stability, among the treatments, *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 66) and *Weissella cibaria* stood out ($P=0.0001$), with 71.75 and 68.87 h, respectively. Thus, it is recommended to use *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 66) in forage sorghum silage.

KEYWORDS: aerobic stability; forage conservation; heterothallic bacteria; microbial populations; *Sorghum bicolor* (L.) Moench.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição química e contagens microbianas na ensilagem do sorgo aditivados com bactérias heterofermentativas.....	21
Tabela 2: Valores médios da composição química das silagens em dois tempos de abertura.....	25
Tabela 3: Recuperação de matéria seca (RMS) e perdas nas silagens em dois tempos de abertura.....	29
Tabela 4: Perfil fermentativo das silagens em dois tempos de abertura.....	30
Tabela 5: Populações microbianas nas silagens em dois tempos de abertura	32
Tabela 6: Estabilidade aeróbia (EA) e temperatura máxima (TM _{ax}) das silagens em dois tempos de abertura.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS

BDA	Batata dextrose ágar
BOD	Biochemical oxygen demand
CT	Capacidade tampão
CS	Carboidratos solúveis
EA	Estabilidade aeróbia
g	Grama
H	Hora
ha	Hectare
Kg	Kilograma
M	Metro
m ⁻³	Metro cúbico
MFa	Massa de forragem na abertura
MFf	Massa de forragem na ensilagem (kg)
MFSf	Matéria seca da forragem na ensilagem (%)
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MM	Matéria mineral
MRS	Man, Rogosa e Sharpe
MS	Matéria seca
MSa	Teor de matéria seca na abertura (%)
MSf	Teor de matéria seca na ensilagem (%)
N-NH ₃	Nitrogênio amoniacal
PB	Proteína bruta
PE	Perdas por efluentes
PG	Perdas por gases
pH	Potencial hidrogênio-iônico
PSA	Peso do silo na abertura (fechado)
PSF	Peso do silo na ensilagem (fechado)
RMS	Recuperação de matéria seca
rpm	Rotação por minuto
S	Peso do silo (kg)
SAa	Peso do silo vazio + areia na ensilagem (kg)
SAF	Peso do silo vazio + areia na abertura (kg)
T°	Temperatura
t	Tonelada
TMAX	Temperatura máxima
UFC	Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 A cultura do sorgo forrageiro	13
2.2 Problemas ao ensilar sorgo	14
2.3 Inoculantes microbianos na silagem de sorgo	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Local do experimento	19
3.2 Cultivo, colheita e ensilagem do sorgo forrageiro.....	19
3.3 Delineamento experimental.....	19
3.4 Procedimentos de ensilagem	21
3.5 Quantificação das populações microbianas	21
3.6 Perfil fermentativo.....	21
3.7 Perdas na ensilagem.....	22
3.8 Composição bromatológica	22
3.9 Estabilidade aeróbia.....	22
3.10 Análises estatísticas	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5. CONCLUSÃO	36
REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

Nas mais diversas possibilidades que o sorgo tem para a alimentação animal, a silagem chama a atenção por garantir a alimentação e a produtividade dos animais, mesmo em meio aos períodos em que há dificuldade de garantir alimento, mantendo um nivelamento produtivo para o mercado (Leite, 2019).

Contudo, é importante salientar que é necessário que as gramíneas apresentem algumas características, como o teor de matéria seca (MS) entre 30 e 35% e entre 6 e 12% no mínimo, de carboidratos solúveis (CS) com base na matéria seca (McDonald; Henderson; Heron, 1991). No entanto, os cultivares de sorgo forrageiro utilizados no Semiárido Brasileiro, podem apresentar teor de MS inferior a 30% e teor de CS superiores a 15 %, o que resulta em fermentação alcoólica. Santos *et al.* (2018) constatou valores de 35,12% e 31,82% para MS e CS do sorgo, respectivamente, e após abertura do silo, os carboidratos solúveis residuais e o excesso de ácido láctico produzido ficaram instantaneamente disponíveis para uso de microrganismos que deterioram a massa ensilada, promovendo uma fermentação secundária, além de afetar negativamente as perdas de matéria seca durante a fermentação.

O tamponamento da silagem promove o crescimento de bactérias produtoras de ácido láctico (BAL) heterofermentativas, e mantém o pH dentro da faixa ideal para o crescimento desses microrganismos, que produzem mais ácido acético para que o pH seja mantido na faixa ideal e reduzindo teores do ácido láctico, que poderia reduzir o pH, inibindo o crescimento de levedura na silagem, com uma menor fermentação alcoólica e maior estabilidade aeróbia da silagem (Neumann *et al.*, 2010).

Apesar do sorgo ser uma cultura que possua um perfil fermentativo considerado adequado para a realização da ensilagem, o grande desafio das pesquisas que envolvem as silagens de sorgo é após a abertura desses silos (Muck, 2010), já que o sorgo possui uma fermentação, intensa, direcionada a maior produção de ácido láctico, que serve de substrato após a exposição aeróbia da silagem para o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, que iniciarão o processo de fermentação secundária, levando a deterioração da silagem.

A fim de resolver determinadas problemáticas a respeito da armazenagem do sorgo forrageiro, estudos vêm sugerindo a utilização de aditivos que consigam garantir a conservação devida da planta ensilada. A utilização de inoculantes microbianos vem se mostrando uma aliada na de ampliar o tempo de estabilidade aeróbia das silagens. Nos

estudos de Filya e Sucu (2007), é por meio do uso das cepas bacterianas heterofermentativas que se tornou possível alcançar o maior tempo de estabilidade aeróbia e o controle da proliferação de leveduras.

De acordo com o trabalho de Silva *et al.* (2017), variados tipos de aditivos são utilizados nas silagens, fazendo com que eles sejam escolhidos a partir da sua ação, que podem ser de inibidores de fermentação ou absorventes, por exemplo. No que diz respeito à utilização de inoculantes na cultura do sorgo, é possível afirmar que estes vêm sendo usados a fim de melhorar o processo de fermentação e retardar ou inibir a degradação aeróbia (Michel, 2015).

Acredita-se que a utilização de cepas de bactérias lácticas heterofermentativas obrigatórias, ou de bactérias lácticas heterofermentativas facultativas, as quais possuem capacidade de produzir quantidades significativas de ácido acético, isoladas do sorgo forrageiro *in natura* e de diferentes tempos de abertura da silagem sejam mais eficientes na conversão do ácido láctico em ácido acético e ácido propiônico, de forma a serem mais competitivas do que as cepas microbianas comerciais. Porém, estudos dessa natureza ainda são escassos na literatura corrente.

Portanto, objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de bactérias lácticas produtoras de ácido acético sobre composição química, perdas durante a ensilagem, perfil fermentativo, populações microbianas e estabilidade aeróbia das silagens de sorgo forrageiro.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do sorgo forrageiro

O sorgo pertence à família Poaceae, gênero *Sorghum* e espécie *Sorghum bicolor* (L.) Moench, o sorgo é originário de regiões tropicais como Índia e África (Ribas, 2003). Sendo uma das forrageiras mais difundidas do Brasil, em função da sua praticidade de manejo e do seu armazenamento, além de possuir alto teor nutritivo e alta concentração de carboidratos solúveis (Moura *et al.*, 2016), o sorgo é uma excelente opção para produção, seja como pastejo direto, silagem, produção de rações ou para cobertura do solo (Buso *et al.*, 2011).

Para a safra 2017/2018 a Campanha Nacional de Abastecimento - CONAB (2019) estimou aproximadamente 653 mil hectares de sorgo cultivado em todo o Brasil, sendo a região Centro – Oeste o polo de maior produtividade. Gomes *et al.* (2006) laborando com 11 cultivares de sorgo forrageiro na região do Semiárido Brasileiro, alcançou produção de MS variando de 6,9 a 14,8 t ha⁻¹, com média entre os cultivares de 11,9 t ha⁻¹. A cultura do sorgo se estabeleceu no Brasil principalmente em função de suas características de rusticidade (Mendes *et al.*, 2014), sendo uma gramínea com alto teor de energia (50,2% de nutrientes digestíveis totais [NDT]) (Rodrigues *et al.*, 2002), alta digestibilidade, adaptação e produtividade em ambientes secos e quentes, considerados inóspitos para outras espécies (Buso *et al.*, 2011), sendo uma excelente alternativa para produção de silagem possuindo produtividade e valor nutricional semelhantes à cultura do milho (Skonieski *et al.*, 2010).

Por ser um dos fatores essenciais para a produção agropecuária, a disponibilidade e disposição de água podem afetar a viabilidade para produção de forrageiras (Faggion *et al.*, 2009). Um dos principais fatores responsáveis pelos baixos índices de produtividade na pecuária nacional é a estacionalidade na produção de forragem (Albuquerque *et al.*, 2013), no Semiárido Nordeste, em consórcio com a vegetação nativa, a efetividade das atividades pecuárias advém da elaboração de estratégias para produção e armazenamento de volumosos, em virtude da insuficiência na disponibilidade de forragem no período de estiagem. (Soares *et al.*, 2020).

O sorgo apresenta-se como uma excelente alternativa para produção de forragem, pois é adaptado as condições de restrições hídricas (Neumann *et al.*, 2002), especialmente para região Semiárida do Nordeste do Brasil, onde tem como principal característica

precipitações irregulares em um curto período de tempo (Perazzo *et al.*, 2017), de tal forma, neste cenário o sorgo se sobressai por ter uma produção de matéria seca (t MS ha ano⁻¹) superior ao do milho, levando vantagem, por ter como característica a capacidade de rebrote (Buso *et al.*, 2011), sendo mais adaptados a regiões de solos rasos, escassez de chuvas e solos pouco férteis (Rocha Júnior *et al.*, 2000).

A precocidade do sorgo forrageiro permite uma safra de quatro meses, adiantando assim a produção de forragem (Rodrigues, 2012), além da sua capacidade de rebrota após a colheita, especialmente em ocasiões com utilização de fertilizantes (Afzal *et al.*, 2012). Neumann *et al.* (2005) relataram que o cultivo do sorgo voltado para a produção de silagem, destaca-se principalmente em regiões que apresentam particularidades edafoclimáticas que limitam o cultivo ou o potencial produtivo da cultura do milho.

2.2 Problemas ao ensilar sorgo

O sorgo forrageiro é uma das culturas mais indicadas para a produção de silagem, devido as suas características desejáveis que promovem a fermentação, como teor de matéria seca (MS) adequado ou próximo ao recomendado, dependendo do estágio fisiológico ao realizar a colheita e da cultivar utilizada, além de substratos fermentescíveis (Mello, 2004) e da baixa capacidade tamponante (Fernandes *et al.*, 2009).

Muitos estudos mostram que a qualidade da silagem depende da espécie de planta utilizada, em termos de maturidade e teor de açúcares solúveis, bem como dos procedimentos realizados durante o armazenamento (rápido preenchimento do silo, expulsão do oxigênio da massa ensilada e correta vedação do silo ao longo de todo o período de conservação) (Loures *et al.*, 2003). Um fator muito importante na obtenção de silagem de alta qualidade é a determinação precisa do ponto de corte ou colheita (Pescumo *et al.*, 2013), no caso do sorgo, o recomendado é colher quando a lavoura estiver com teor de matéria seca (MS) entre 30 e 35% (Jobim *et al.*, 2007), onde há o acúmulo máximo de amido, estágio R4-grão pastoso (época mais recomendada de colheita do sorgo para silagem) possuindo bom valor energético (Dantas *et al.*, 2018).

As concentrações de carboidratos solúveis (CS) no sorgo, geralmente são maiores que a quantidade mínima recomendada (6 a 12%) (Neumann *et al.*, 2010; McDonald, Henderson, Heron, 1991), podendo assim, favorecer a fermentação alcoólica, e após abertura do silo, com a exposição ao oxigênio, os carboidratos solúveis residuais e o excesso de ácido lático produzido ficam instantaneamente disponíveis para uso de

microrganismos que deterioram a massa ensilada (Santos *et al.*, 2018), promovendo uma fermentação secundária.

Outro fator importante são as perdas por efluentes, que se deve principalmente pela quantidade de matéria seca da espécie forrageira. Loures *et al.*, (2003) afirmam que silagens de capim elefante com teores de MS de 25% produziram 45% do total do efluente, nos primeiros 20 dias, enquanto verifica-se aumento de 90% para materiais ensilados com um teor de MS de 16%.

Uma silagem pode ser considerada bem fermentada quando o valor de pH varia entre 3,8 e 4,2 (Mcdonald *et al.*, 1991), desfavorecendo a proliferação microbiana de microrganismos indesejáveis no silo, tais como os fungos e leveduras. No entanto, após a abertura dos silos e a exposição ao ar da massa ensilada, esses processos podem continuar causando aquecimento e alteração do pH, causando dessa forma a quebra da estabilidade aeróbia. Silagens com elevada estabilidade aeróbia são mais seguras para alimentação animal, pois a ausência de quebra da estabilidade aeróbia indica que a silagem é menos susceptível à deterioração aeróbia, devido ao menor crescimento de microrganismos e atividade enzimática. Sendo assim, essas duas características proporcionam uma silagem com menor perda nutricional e menos propensa à toxicidade (Parodes *et al.*, 2017).

Os fatores que interferem na estabilidade aeróbia da silagem estão relacionados ao perfil de fermentação e às características da silagem. Entre os fatores que afetam a qualidade da silagem estão umidade relativa e altura de maturação, trituração e compactação dos materiais, tempo de exposição ao ar antes da ensilagem e após abertura do silo e microrganismos presentes (Parodes *et al.*, 2017).

2.3 Inoculantes microbianos na silagem de sorgo

O principal objetivo dos produtores de silagem é maximizar a retenção inicial dos nutrientes presentes na forragem. No entanto, a fermentação dentro do silo é um processo complexo e difícil de controlar (Lourenço Júnior *et al.*, 2004) e por isso, os diversos aditivos existentes no mercado têm sido amplamente estudados pela comunidade científica através dos resultados obtidos com a sua utilização, em termos de conservação de silagem e fermentação, bem como das reações na produtividade animal (Rodrigues *et al.*, 2002).

Os aditivos de silagem geralmente são classificados em uma ou mais das categorias seguintes: Estimulantes da fermentação, inibidores da fermentação, inibidores da deterioração aeróbia, nutrientes e absorventes (McDonald *et al.*, 1991; Kung *et al.*, 2003). No entanto, Nussio e Schmid (2004) classificam os aditivos nas seguintes categorias: aditivos químicos, aditivos microbianos e sequestradores de umidade.

Os inoculantes microbianos aplicados como aditivos englobam bactérias homofermentativas, heterofermentativas ou a combinação destas. Os microrganismos homofermentativos caracterizam-se pela taxa de fermentação mais rápida, maior concentração de ácido láctico, menores teores de ácido acético e elevada recuperação de energia e matéria seca. As bactérias heterofermentativas utilizam ácido láctico e glicose como substratos para produzir ácido acético e ácido propiônico, que são eficientes no controle de fungos e leveduras em pH baixo (Zopollatto *et al.*, 2009).

O sucesso do uso de aditivos microbianos na silagem depende da capacidade das bactérias inoculadas crescerem rapidamente no silo, da presença de substrato adequado e da população de bactérias inoculadas em relação à população epífita da forragem. São necessárias, aproximadamente, 10^8 bactérias ácido lácticas por grama de forragem para que o pH caia rapidamente (Zopollatto *et al.*, 2009).

São denotadas algumas hipóteses sobre a falha de inoculantes em silagem, destacando-se a atividade competitiva de populações epífitas da planta originada a partir de cepas selvagens, o baixo teor de açúcar da forragem, influência dos antecedentes históricos de culturas agrícolas utilizadas como fonte de forragem, excesso de oxigênio, extremos de atividade de água na massa ensilada, problemas na aplicação do produto (Muck & Kung Jr., 1997; Kung Jr., *et al.*, 2003).

A inoculação de bactérias produtoras de ácido láctico possui efeito sobre a velocidade de redução e manutenção do pH, favorecendo a fermentação, um aumento na relação entre ácido láctico e acético e diminuição dos teores de nitrogênio amoniacal, permitindo assim a preservação da silagem, minimizando as perdas de nutrientes e inibindo o crescimento de clostrídios (Rodrigues *et al.*, 2002; Bolsen *et al.*, 1995).

Algumas bactérias lácticas heterofermentativas, tais como o *Lactobacillus Buchneri*, é capaz de produzir outros ácidos, como o ácido acético e 1,2-propanodiol, a partir do ácido láctico durante a fase fermentativa do processo de ensilagem (Muck *et al.*, 2018). Contudo, estudos realizados utilizando estirpes de *Lactobacillus*

heterofermentativas obrigatórias e facultativas como aditivo microbiano em silagens de sorgo forrageiro em condições tropicais e Semiáridas continuam inconclusivos (Abdelhadi e Tricarico, 2009; Tabacco *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2010; Lima *et al.*, 2011; Tabacco *et al.*, 2011; Thomas *et al.*, 2013).

É importante a utilização de cepas produtoras de ácidos com capacidade antifúngica em silagens com baixa estabilidade aeróbia, visando principalmente, além de aumentar a concentração desses ácidos, seus efeitos secundários em aumentar o tempo de estabilidade aeróbia das silagens e da redução das populações de microrganismos indesejáveis.

Rodrigues *et al.* (2002) trabalhando com valores nutritivos da silagem de sorgo tratada com inoculantes enzimo-microbianos, verificam que adição de inoculantes não alterou a digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, extrativos não nitrogenados, fibra bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e amido, bem como os nutrientes digestíveis totais. Observando uma tendência nas silagens inoculadas apresentarem menor digestibilidade do extrato etéreo, em relação à silagem controle.

Em contrapartida, Tavares *et al.* (2020) ao avaliarem nutricionalmente as silagens de milho e sorgo inoculadas com *Lactobacillus plantarum* observaram variação nos teores de MS da silagem de sorgo forrageiro aditivados com inoculantes microbianos, variando de 27,5 a 29,1% na primeira idade de corte a 29,2 a 29,7% na segunda idade de corte, sendo de 110 dias e 120 dias respectivamente.

Ferro *et al.* (2018) afirmam que a quantidade de leveduras e o tempo da quebra de estabilidade aeróbica da silagem são inversamente proporcionais, verificando também que uso de aditivos microbianos na silagem de sorgo forrageiro influenciam no perfil fermentativo, elevando o teor de ácido acético e diminuindo as quantidades de leveduras presentes, constatando que o uso de *Lactobacillus buchneri* em seu trabalho se apresentou como uma excelente alternativa para a estabilidade aeróbia nas silagens.

Bumbieris Junior *et al.* (2017) observaram diferenças significativas em silagens de milho tratadas com inoculantes microbianos em relação ao tratamento sem inoculantes, para valores de matéria seca, proteína bruta e nitrogênio amoniacal, indicando que os inoculantes microbianos utilizados foram eficazes no controle da atividade de microrganismos aeróbios após a abertura dos silos. O autor afirma que as silagens

preparadas com o uso de aditivos microbianos são eficazes na manutenção da estabilidade aeróbia sem comprometer a conservação do material.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no Setor de Forragicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, no município de Areia, PB, localizado na microrregião do Brejo Paraibano, posicionada pelas coordenadas geográficas 6° 58' 12" de latitude Sul, 35° 42' 15" de longitude Oeste de Greenwich e 619 m de altitude.

3.2 Cultivo, colheita e ensilagem do sorgo forrageiro

O plantio do sorgo forrageiro foi realizado em uma propriedade rural privada, localizado a 7° 23' 26" de latitude Sul e 36° 48' 30" de longitude Oeste, a 529 m de altitude, no município de São José dos Cordeiros – PB, mesorregião da Borborema, e na microrregião do Cariri Ocidental, denominado como Cariri paraibano. Possuindo clima Bsh (semiárido quente), conforme a classificação de Köppen, com chuvas de fevereiro a junho, com pluviosidade e temperatura média anuais em torno de 551,7 mm e 23 °C, respectivamente.

Após a análise química do solo, realizou-se correção e adubação para suprir às necessidades da cultura. A semeadura sucedeu no mês de novembro de 2021, manualmente em sucros com profundidade aproximada de 1,0 cm em uma área de aproximadamente 0,5 ha, com espaçamento entre as plantas de 0,7 m entre as linhas, com 10 plantas por metro linear, e a colheita ocorreu quando os grãos estiverem leitoso/pastoso.

Após a colheita (fevereiro de 2022), o sorgo foi processado em máquina picadeira estacionária (forrageira) com tamanhos de partículas entre dois a cinco centímetros, e em seguida ensilado em mini silos experimentais de policloreto de polivinila (PVC), com 15 cm de diâmetro x 30 cm de altura. Sendo o material compactado com auxílio de soquetes de madeira até atingir a densidade de aproximadamente 600 Kg m⁻³ de matéria natural (MN) em cada silo. A abertura dos silos experimentais aconteceu com 30 e 80 dias após a ensilagem.

3.3 Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, arranjado em esquema fatorial 7×2, sendo sete tratamentos e dois períodos de abertura (30 e 80 dias), com quatro repetições. Dos tratamentos, cinco são as estirpes de bactérias lácticas isoladas do sorgo forrageiro, selecionadas a partir da capacidade de produzir elevadas

quantidades de ácido acético e propiônico, além do ácido láctico, bem como tratamento controle – sem inoculante, e *Weissella cibaria*, essa última isolada da palma forrageira (Pereira *et al.*, 2020), sendo uma cepa heterofermentativa com capacidade de produzir elevadas concentrações de ácido acético.

Desta forma os tratamentos são:

- 1- Controle;
- 2- *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 09);
- 3- *Pediococcus pentosaceus* (GML 11);
- 4- *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 51);
- 5 – *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 66);
- 6 – *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 68);
- 7- *Weissella cibaria*.

Na Tabela 1, podem ser observadas a composição química e as contagens microbianas dos tratamentos no dia da ensilagem.

Tabela 1: Composição química e contagens microbianas na ensilagem do sorgo aditivados com bactérias heterofermentativas.

Inoculante	g kg ⁻¹					pH ⁶	CT ⁷
	MS ¹	MM ²	PB ³	EE ⁴	CS ⁵		
Controle	292,10	102,30	71,70	16,80	134,40	4,98	0,19
<i>L. p.</i> ⁸ (GML 09)	300,40	78,60	53,30	16,40	108,30	5,25	0,15
<i>P. p.</i> ⁹ (GML 11)	315,50	92,10	61,90	17,60	128,30	5,35	0,12
<i>L. p.</i> (GML 51)	296,00	79,40	64,50	19,90	141,00	5,30	0,16
<i>L. p.</i> (GML 66)	306,90	82,30	61,20	21,70	128,70	5,20	0,17
<i>L. p.</i> (GML 68)	304,40	76,20	59,80	19,20	118,50	4,76	0,17
<i>W. cibária</i>	292,80	79,70	68,30	15,20	150,20	5,26	0,17

Inoculante	UFC g ⁻¹ de silagem		
	BAL ¹⁰	MOFO	LEV ¹¹
Controle	6,20	5,84	6,44
<i>L. p.</i> (GML 09)	6,48	6,27	6,18
<i>P. p.</i> (GML 11)	6,59	6,09	6,28
<i>L. p.</i> (GML 51)	6,41	6,81	6,35
<i>L. p.</i> (GML 66)	6,25	6,10	6,23
<i>L. p.</i> (GML 68)	6,80	6,39	6,80
<i>W. cibária</i>	6,59	6,21	6,16

¹MS: matéria seca; ²MM: matéria mineral; ³PB: proteína bruta; ⁴EE: extrato etéreo; ⁵CS: carboidrato solúvel; ⁶pH: potencial hidrogeniônico; ⁷CT: capacidade tampão; ⁸*L.p.*: *Lactiplantibacillus plantarum*; ⁹*P.p.*: *Pediococcus pentosaceus*. ¹⁰BAL: bactéria produtora de ácido láctico; ¹¹LEV: levedura

3.4 Procedimentos de ensilagem

Antes das inoculações, foram incubados em caldo MRS a 37 °C em três ativações consecutivas a cada 24 h. Após a determinação da concentração de cada inoculante, ocorreram ajustes nas diluições objetivando-se aplicar 10^6 UFC g⁻¹ forragem ensilada. No tratamento sem inoculação, foi adicionada a mesma quantidade de água destilada referente à mistura dos inoculantes.

O procedimento de ensilagem efetuou-se em silos experimentais, dotados de válvula de Bunsen, para escape dos gases. No fundo do balde foi depositado um quilograma de areia fina seca, separada da massa de forragem por uma tela de tecido não tecido (TNT), com objetivo de capturar e quantificar o efluente produzido pela silagem.

3.5 Quantificação das populações microbianas

As populações microbianas foram quantificadas antes da ensilagem e nos períodos de abertura dos silos utilizando-se meios de cultura seletivos para cada grupo microbiano. Foram pesados 10g de silagem fresca e adicionados a 90 ml de água destilada agitando manualmente seguindo-se de diluições em série variando de 10^{-2} a 10^{-6} . Após isso, foi realizado o plaqueamento de cada repetição experimental em duplicata para cada meio de cultura.

Os meios de cultura utilizados foram seletivos, em que o Man, Rogosa e Sharpe (MRS ágar) é usado para contagem das bactérias lácticas (BAL) após 48 h de incubação em Biochemical oxygen demand (BOD) à 35° C e; BDA (batata dextrose ágar) acidificado com 1% de ácido tartárico a 10% para contagens de mofos (MOFO) e leveduras (LEV) após 72 h, ambos incubados em BOD à 30°C.

Após o período de incubação, as placas com unidades formadoras de colônia (UFC) variando de 30 a 300 foram contadas, com diferenciação das características morfológicas das colônias de mofos e leveduras (Kung Jr *et al.*, 1996).

3.6 Perfil fermentativo

Nas amostras dos tratamentos antes da ensilagem realizou-se a mensuração do pH, capacidade tamponante e carboidratos solúveis, enquanto para as amostras dos períodos de aberturas foram realizadas as demais análises descritas posteriormente.

Os valores de pH foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Bolsen *et al.* (1992), utilizando-se um pHmetro. Os teores de nitrogênio amoniacal das silagens (N-NH₃) foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Chaney e

Marbach (1962). A capacidade tamponante (CT) foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Playne e McDonald (1966), adaptada por Mizubuti (2009). Os teores de carboidratos solúveis foram determinados de acordo com a metodologia de Dubois *et al.* (1956).

3.7 Perdas na ensilagem

O peso dos silos experimentais foi contabilizado para determinação das perdas por gases, perdas por efluentes e recuperação de matéria seca, conforme Zanine *et al.* (2010):
 PG: $(PSF - PSA) / (MFf \times MFSf) \times 100$, onde PG = perda por gases (%MS); PSF = peso do silo na ensilagem (fechado) (kg); PSA = peso do silo na abertura (fechado); MFf = massa de forragem na ensilagem (kg); MFSf = matéria seca da forragem na ensilagem (%);
 PE: $(Saf - S) - (Saa - S) / MFf \times 100$, onde PE = perdas por efluentes; Saf = peso do silo vazio + areia na abertura (kg); Saa = peso do silo vazio + areia na ensilagem (kg); S = peso do silo (kg); MFf = massa de forragem na ensilagem (kg);
 RMS: $(Mfa \times Mas) / (MFf \times MSf) \times 100$, onde RMS = recuperação de matéria seca (%); Mfa = massa de forragem na abertura (kg); Mas = teor de MS na abertura (%); MFf = massa de forragem na ensilagem (kg); MSf = teor de MS na ensilagem (%).

3.8 Composição bromatológica

Realizou-se as determinações de matéria seca (MS) (método 934,01), matéria mineral (MM) (método 930,05), proteína bruta (PB) (método 920,87) e extrato etéreo (EE) (método 920,39) segundo metodologias descritas por AOAC (2012).

3.9 Estabilidade aeróbia

A estabilidade aeróbia foi determinada a partir de 2 kg de amostras representativas da silagem, as quais foram acondicionadas novamente nos silos experimentais (sem compactação). Um termômetro foi inserido no centro geométrico da massa de forragem para monitorar a temperatura a cada trinta minutos. A estabilidade aeróbia é definida como o tempo necessário para que a temperatura da silagem ultrapasse 2°C acima da temperatura ambiente (Kung e Ranjit., 2001).

3.10 Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram avaliados por meio de análise de variância para verificar a significância dos efeitos de inoculante, do período de abertura e da interação

entre os fatores, e as médias comparadas pelo teste de Tukey adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I. Os procedimentos foram realizados por intermédio do programa SAS (Statistical Analysis System). Os efeitos da inoculação das bactérias e do tempo de ensilagem foram avaliados de acordo com o modelo matemático:

$$Y_{kli} = m + N_k + G_l + (NGT)_{kli} + e_{klij}$$

Onde:

Y_{kli} = é o valor observado na parcela experimental que recebeu o nível k do fator inoculante microbiano e no nível l do fator tempo na repetição i;

M = média geral do experimento;

N_k = é o efeito do nível k do fator inoculante microbiano;

G_l = é o efeito do nível l do fator tempo (l= 30 e 80);

NG_{kli} = é o efeito da interação entre o nível k do fator inoculante microbiano e do nível l do fator tempo;

E_{kli} = erro experimental (variação devida a fatores não controlados);

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeito significativo entre os tratamentos para os teores de MS ($P=0,0001$), MM ($P=0,0001$) e PB ($P=0,0274$) porém não foi observado efeito significativo para EE ($P=0,2815$). Observou-se efeito significativo entre as aberturas para os teores de MS ($P=0,0070$) e PB ($P=0,0014$) mas, não foi observado efeito significativo para MM ($P=0,0759$) e EE ($P=0,6247$). Observou-se efeito de interação entre os tratamentos e aberturas para os teores de MS ($P=0,0001$) e PB ($P=0,0004$). Não foi observado efeito de interação para MM ($P=0,6727$) e EE ($P=0,3821$) (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios da composição química das silagens em dois tempos de abertura.

Tratamento	----- g kg ⁻¹ -----			
30 dias	MS ²	MM ³	PB ⁴	EE ⁵
Controle	277,0 ^{ab}	95,8	67,1 ^a	18,7
<i>L. p.</i> ⁶ . (GML 09)	278,1 ^{ab}	88,8	51,5 ^b	18,1
<i>P. p.</i> ⁷ . (GML 11)	287,9 ^a	92,5	70,8 ^a	18,3
<i>L. p.</i> (GML 51)	283,2 ^{ab}	90,6	73,2 ^a	20,7
<i>L. p.</i> (GML 66)	272,7 ^{bc}	84,3	64,2 ^{ab}	21,1
<i>L. p.</i> (GML 68)	271,8 ^{bc}	81,1	62,3 ^{ab}	19,2
<i>W. cibaria</i>	266,0 ^c	82,9	60,9 ^{ab}	19,5
80 dias				
Controle	278,7 ^a	91,6	62,7 ^b	20,7
<i>L. p.</i> (GML 09)	278,4 ^{ab}	87,1	72,9 ^a	18,4
<i>P. p.</i> (GML 11)	269,2 ^{ab}	92,4	72,2 ^a	18,5
<i>L. p.</i> (GML 51)	276,1 ^{ab}	88,1	69,3 ^a	19,2
<i>L. p.</i> (GML 66)	274,2 ^{ab}	83,4	64,5 ^{ab}	19,0
<i>L. p.</i> (GML 68)	267,6 ^b	82,4	71,8 ^a	19,0
<i>W. cibaria</i>	268,8 ^{ab}	77,2	74,9 ^a	19,2
EPM ¹	0,22	0,19	0,30	0,80
Efeito principal de tratamento				
Controle	277,9 ^a	93,7 ^a	64,9 ^b	19,7
<i>L. p.</i> (GML 09)	278,2 ^a	88,0 ^{ab}	62,2 ^b	18,3
<i>P. p.</i> (GML 11)	278,6 ^a	92,4 ^a	71,5 ^a	18,4
<i>L. p.</i> (GML 51)	279,7 ^a	89,4 ^{ab}	71,2 ^a	20,0
<i>L. p.</i> (GML 66)	273,5 ^{ab}	83,8 ^{bc}	64,3 ^b	20,1
<i>L. p.</i> (GML 68)	269,7 ^b	81,7 ^{cd}	67,1 ^b	19,1
<i>W. cibaria</i>	267,4 ^b	80,1 ^d	67,9 ^b	19,4
EPM	0,15	0,13	0,21	0,60
Efeito principal de abertura				
30 dias	27,67 ^a	88,0	6,42 ^b	19,4
80 dias	27,33 ^b	86,0	6,98 ^a	19,1
EPM	0,08	0,07	0,11	0,33
P-valor				
Tratamento	0,0001	0,0001	0,0274	0,2815
Abertura	0,0070	0,0759	0,0014	0,6247
Tratamento x Abertura	0,0001	0,6727	0,0004	0,3821

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($P<0,05$) de acordo com teste de Tukey; ¹EPM: erro-padrão da média; ²MS: matéria seca; ³MM: matéria mineral; ⁴PB: proteína bruta; ⁵EE: extrato etéreo; ⁶*L.p.*: *Lactiplantibacillus plantarum*; ⁷*P.p.*: *Pediococcus pentosaceus*

Naveena *et al.* (2005) relataram o efeito da suplementação da peptona, extrato de levedura, “Tween 80”, sulfato de magnésio, sulfato de manganês, fosfato de sódio monobásico e o acetato de sódio no meio de cultura modificado para seleção das bactérias correspondem na elevação dos níveis de ácido láctico. As alterações nos valores de MM podem ser justificadas devido ao meio de cultura modificado utilizado para seleção das bactérias produtoras de ácido acético. De acordo com Amrane (2000) além da suplementação de carboidratos, as bactérias necessitam de suplementação de alguns nutrientes como aminoácidos, vitaminas e sais minerais, utilizando esses nutrientes para produção dos ácidos.

Para produção do meio de cultura seletivo, foram utilizados as substâncias recomendadas por Naveena *et al.* (2005), selecionando bactérias mais eficientes na produção dos ácidos orgânicos, provavelmente acontecendo o que foi afirmado por Amrane (2000), utilizando a MM como fonte de substrato.

Os valores de MS, EE e PB observados são semelhantes aos valores encontrados por Rodrigues *et al.* (2002) em seu trabalho com valor nutritivo da silagem de sorgo tratada com inoculantes enzimo-microbianos.

Em relação aos teores de MS entre as silagens, o *L.p* (GML 68) e *W.cibaria*, diferiram estatisticamente dos demais tratamentos. Já em relação aos períodos de abertura, houve uma redução de 0,34 g kg⁻¹ para 80 dias, quando comparado aos 30 dias. Esse dado pode ser constatado quando comparado aos valores de RMS referente aos períodos de abertura encontrados na Tabela 3.

Dong *et al.* (2020) ao estudarem inoculantes comerciais a base de *Lactiplantibacillus plantarum* e *buchneri* na silagem de bagaço de sorgo sacarino, observaram que a utilização desse inoculante proporcionaram a silagem teor de MS superior ao tratamento sem inoculante. Corroborando com esses dados, as cepas *L.p.* (GML 09), *L.p.* (GML 11) e *L.p.* (GML 51) se mantiveram estatisticamente semelhantes a silagem controle para o período de abertura de 30 dias. Já as cepas *L.p.* (GML 66), *L.p.* (GML 68) e *W. cibaria* diferiram estatisticamente da silagem controle. Para a abertura realizada aos 80 dias, todas as silagens não diferiram entre si, com exceção do *L.p.* (GML 68), possuindo 11,1 g kg MS⁻¹ a menos quando comparado a silagem controle. Essa redução no teor de MS pode ser explicada pela menor RMS do *L.p.* (GML 68) para a

segunda abertura, com 3,26% à menos em relação ao controle, que obteve 89,80% de RMS para a mesma abertura.

Em relação aos teores PB, referente aos 30 dias, o *L.p. (GML09)* diferiu estatisticamente comparado as demais silagens. Isso pode ter ocorrido em função da maior concentração de N-NH_3 , sendo indicador da maior atividade proteolítica, consumindo a PB disponível e liberando nitrogênio amoniacal na silagem. Segundo Muck, (2010), o teor de N-NH_3 está relacionado à proteólise que ocorre durante a fermentação, devido ao crescimento de microrganismos indesejáveis, como Clostrídios e Enterobactérias. A hidrólise da proteína que ocorre durante a fermentação, gera moléculas como compostos nitrogenados solúveis, amônia, aminoácidos livres e peptídeos bioativos, que possuem funções relacionadas às características probióticas dos *L. plantarum* (Crowley *et al.*, 2013 Li *et al.*, 2018). Em condições de restrição de nutrientes, as BAL podem utilizar aminoácidos para derivar a energia necessária para o seu metabolismo, porém, ocorre variação entre as estirpes da mesma espécie (Shah *et al.*, 2017; Ke *et al.*, 2018).

Na abertura de 80 dias, a silagem controle diferiu dos demais, possuindo um menor teor de PB, podendo ter sofrido interferência direta da atividade proteolítica durante o período de fermentação, visto que seu pH (3,56) se manteve mais elevado para esse período de abertura. Apesar de não ser o pH ideal para a proliferação das bactérias do gênero *Clostridium*, ficando mais próximo do considerado adequado para o crescimento desses microrganismos. Essa redução no valor de PB pode ainda indicar a utilização de proteína pelas bactérias, conforme os estudos de Amrane (2000).

O comportamento instável observado para o tratamento *L.p. (GML09)* aos 30 dias corrobora com os dados de Silva *et al.* (2006) em seu estudo com silagens de milho e de sorgo, obtendo menores valores de PB em silagens com inoculantes (70,0 e 54,8 g kg MS^{-1} respectivamente) quando comparados as silagens sem inoculantes (72,2 e 55,8 g kg MS^{-1} respectivamente). Do mesmo modo para tratamento controle aos 80 dias, em que corroboram com resultados encontrados por Kristensen *et al.* (2010) e Michel *et al.* (2016) em seus estudos sobre inoculantes em silagem de milho e de sorgo, respectivamente, obtendo menores valores de PB nas Silagens sem inoculantes (72,1e 64,7 g kg MS^{-1} , respectivamente) quando comparado aos tratamentos inoculados com as bactérias (72,8; 76,3 e 67,7 g kg MS^{-1} , respectivamente).

Observou-se efeito significativo entre os inoculantes para RMS ($P= 0,0002$), PE ($P= 0,0058$) e PG ($P= 0,0001$) com valores médios de (90,62 %), (9,78 kg t⁻¹), (8,84 kg t⁻¹) respectivamente (Tabela 3). Observou-se efeito significativo entre as aberturas para os valores de RMS ($P= 0,0006$) PE ($P= 0,0001$) e PG ($P= 0,0001$) (Tabela 3).

Observou-se efeito de interação entre os tratamentos e aberturas para os teores de PE ($P= 0,0004$) e PG ($P= 0,0001$), não havendo interação para RMS ($P= 0,0799$) (Tabela 3).

Observou-se uma maior RMS para a abertura aos 30 dias, havendo uma diferença de 2,21% entre as aberturas. Entre os tratamentos o *L.p* (GML 51) obteve uma maior RMS, de 93,58%. Essas características de silagens com alto teor de RMS são atribuídas a fermentação homolática, ou seja, com alta produção de ácido lático.

Referente a PE, observou-se maiores perdas aos 30 dias, havendo uma diferença de 6,67 kg t⁻¹ entre as aberturas. Entre os tratamentos a *W. cibaria* obteve um menor valor de PE (10,13 kg t⁻¹). Para abertura aos 80 dias as silagens controle e *L.p* (GML 66) obtiveram menores valores de perdas por efluente (4,73 e 5,37 kg t⁻¹, respectivamente).

De acordo com Santos *et al.* (2020), ao estudarem silagens de milho, encontraram maiores valores de PE para o tratamento controle e para o inoculante liofilizado (16,00 kg t⁻¹), já para a silagem com inoculante ativado obteve menor valor de perda (0,45 kg t⁻¹). De forma geral os valores de PE se comportaram de maneira diferente, onde o *L. p.* (GML 68) diferiu estatisticamente do controle para abertura de 30 dias.

Para PG, observou-se maiores perdas aos 30 dias, havendo uma diferença de 1,57% MS entre as aberturas. Entre as silagens o *L. p.* (GML 51) obteve um menor valor de PG (1,41% MS). Para abertura aos 80 dias as silagens controle e *W. cibaria* obtiveram maiores valores de perdas por gases (6,28 e 7,59 % MS).

Ao avaliarem a silagem e a reensilagem de milho com e sem inoculante (*Lactobacillus plantarum* + *Propionibacterium acidipropionici*), Coelho *et al.* (2018) observaram que não houve diferença significativa para perdas por gases. Já Santos *et al.* (2020) ao avaliarem a silagem de milho, obtiveram maiores perdas por gases para a silagem com o inoculante ativado (5,5 % MS), sendo superior 2,88 e 2,38 % MS para a silagem controle e para a silagem com inoculante liofilizado, respectivamente.

Tabela 3. Recuperação de matéria seca (RMS) e perdas nas silagens em dois tempos de abertura

Tratamento	RMS ² (%)	PE ³ (kg t ⁻¹)	PG ⁴ (% MS)
30 dias			
Controle	89,74	12,45 ^b	6,44 ^a
<i>L. p.</i> ⁵ . (GML 09)	91,54	14,57 ^{ab}	5,78 ^a
<i>P. p.</i> ⁶ . (GML 11)	91,77	11,67 ^b	7,18 ^a
<i>L. p.</i> (GML 51)	93,85	11,23 ^b	1,41 ^b
<i>L. p.</i> (GML 66)	87,95	15,02 ^{ab}	6,78 ^a
<i>L. p.</i> (GML 68)	90,21	17,77 ^a	8,60 ^a
<i>W. cibaria</i>	90,41	10,13 ^b	7,59 ^a
80 dias			
Controle	89,80	4,73 ^b	6,28 ^a
<i>L. p.</i> (GML 09)	88,61	7,42 ^a	0,67 ^b
<i>P. p.</i> (GML 11)	85,61	7,67 ^a	0,50 ^b
<i>L. p.</i> (GML 51)	93,68	7,53 ^a	0,48 ^b
<i>L. p.</i> (GML 66)	87,05	5,37 ^{ab}	7,17 ^a
<i>L. p.</i> (GML 68)	86,54	6,40 ^a	7,21 ^a
<i>W. cibaria</i>	88,78	7,04 ^a	7,59 ^a
EPM ¹	1,02	0,92	0,61
Efeito principal de tratamento			
Controle	89,77 ^b	8,59 ^b	6,36 ^{bc}
<i>L. p.</i> (GML 09)	90,07 ^b	10,99 ^{ab}	3,22 ^d
<i>P. p.</i> (GML 11)	88,69 ^b	9,67 ^{ab}	5,28 ^c
<i>L. p.</i> (GML 51)	93,76 ^a	9,38 ^{ab}	0,94 ^e
<i>L. p.</i> (GML 66)	87,48 ^b	10,19 ^{ab}	6,97 ^{ab}
<i>L. p.</i> (GML 68)	88,37 ^b	12,08 ^a	7,90 ^a
<i>W. cibaria</i>	89,59 ^b	8,58 ^b	7,59 ^{ab}
EPM	0,76	0,65	0,33
Efeito principal de aditivo			
30 dias	90,78 ^a	13,26 ^a	6,25 ^a
80 dias	88,57 ^b	6,59 ^b	4,68 ^b
EPM	0,40	0,35	0,18
P-valor			
Tratamento	0,0002	0,0058	0,0001
Abertura	0,0006	0,0001	0,0001
Tratamento x Abertura	0,0799	0,0004	0,0001

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($P < 0,05$) de acordo com teste de Tukey. ¹

EPM: erro-padrão da média; ²RMS: recuperação de matéria seca; ³PE: perdas por efluentes; ⁴PG: perdas por gases; ⁵*L.p.*: *Lactiplantibacillus plantarum*; ⁶*P.p.*: *Pediococcus pentosaceus*.

Como pode-se observar na Tabela 4, os valores de pH das silagens foram bem ácidos, ficando dentro da faixa de pH ideal para ocorrer a fermentação alcoólica. Outro fator importante, são os valores das contagens de leveduras reportados na Tabela 5, como pode-se observar, as silagens apresentaram contagens de 3,99 e 2,42 UFC g⁻¹ de silagem, respectivamente, para os períodos de abertura de 30 e 80 dias, sendo o grupo de microrganismos que realizam a fermentação alcoólica, o que pode resultar na maior produção de etanol.

Observou-se efeito significativo entre os tratamentos para pH ($P=0,0021$), valor médio (3,44) e CT ($P=0,0001$), valor médio (0,37 mEq NaOH 100g⁻¹). Não foi significativo para CS ($P=0,2605$) e N-NH₃ ($P=0,1871$). Observou-se efeito significativo entre as aberturas para os valores de pH ($P=0,0084$) e N-NH₃ ($P=0,0118$) mas, não foi observado efeito significativo para CT ($P=0,1641$) e CS ($P=0,3708$). Observou-se efeito de interação entre os tratamentos e aberturas para a CT ($P=0,0006$), não havendo interação para pH ($P=0,0890$), CS ($P=0,8487$) e N-NH₃ ($P=0,1181$) (Tabela 4).

Tabela 4: Perfil fermentativo das silagens em dois tempos de abertura

Tratamento				
30 dias	pH ²	CT ³	CHOs ⁴	N-NH ₃ ⁵
Controle	3,43	0,33 ^b	2,86	1,37
<i>L. p.</i> ⁶ . (GML 09)	3,41	0,33 ^b	2,63	3,77
<i>P. p.</i> ⁷ . (GML 11)	3,41	0,33 ^b	2,93	3,15
<i>L. p.</i> (GML 51)	3,47	0,32 ^b	2,99	0,70
<i>L. p.</i> (GML 66)	3,46	0,43 ^a	2,44	0,73
<i>L. p.</i> (GML 68)	3,39	0,43 ^a	2,01	0,74
<i>W. cibaria</i>	3,35	0,41 ^a	2,44	2,65
80 dias				
Controle	3,56	0,39 ^a	2,83	0,93
<i>L. p.</i> (GML 09)	3,43	0,36 ^a	3,10	0,91
<i>P. p.</i> (GML 11)	3,43	0,37 ^a	2,87	0,74
<i>L. p.</i> (GML 51)	3,43	0,36 ^a	2,75	1,33
<i>L. p.</i> (GML 66)	3,46	0,38 ^a	2,49	0,72
<i>L. p.</i> (GML 68)	3,45	0,38 ^a	2,48	0,70
<i>W. cibaria</i>	3,42	0,39 ^a	2,83	0,71
EPM ¹	0,02	0,01	0,66	0,71
Efeito principal de tratamento				
Controle	3,49 ^a	0,36 ^b	2,84	1,15
<i>L. p.</i> (GML 09)	3,42 ^{ab}	0,35 ^b	2,86	2,34
<i>P. p.</i> (GML 11)	3,42 ^{ab}	0,35 ^b	2,90	1,95
<i>L. p.</i> (GML 51)	3,45 ^{ab}	0,34 ^c	2,87	1,01
<i>L. p.</i> (GML 66)	3,46 ^{ab}	0,40 ^a	2,47	0,73
<i>L. p.</i> (GML 68)	3,42 ^{ab}	0,40 ^a	2,25	0,72
<i>W. cibaria</i>	3,38 ^b	0,40 ^a	2,63	1,68
EPM	0,02	0,01	0,31	0,71
Efeito principal de abertura				
30 dias	3,42 ^b	0,37	2,61	1,87 ^a
80 dias	3,45 ^a	0,38	2,76	0,86 ^b
EPM	0,03	0,01	0,66	0,71
P-valor				
Tratamento	0,0021	0,0001	0,2605	0,1871
Abertura	0,0084	0,1641	0,3708	0,0118
Tratamento x Abertura	0,0890	0,0006	0,8487	0,1181

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($P<0,05$) de acordo com teste de Tukey; ¹EPM: erro-padrão da média; ²pH: potencial hidrogeniônico; ³CT: capacidade tampão, mEq NaOH 100g⁻¹; ⁴CS: carboidrato solúvel, g Kg⁻¹ de MS; ⁵N-NH₃: total: nitrogênio amoniacal %N; ⁶*L.p.*: *Lactiplantibacillus plantarum*; ⁷*P.p.*: *Pediococcus pentosaceus*.

A diminuição no valor de pH está diretamente relacionada a produção de ácido láctico, e representam, por isso, a possibilidade de maior recuperação de matéria seca. A silagem controle diferiu estatisticamente da silagem *W.cibaria*, porém numericamente obteve pH mais aproximado do recomendado por McDonald, Henderson e Heron (1991) para silagens bem fermentadas entre (3,8 e 4,2).

Ferrero *et al.* (2019) em seus estudos com silagem de milho e de sorgo ao utilizar inoculação de *Lactobacillus hilgardii* e *Lactobacillus buchneri* para abertura de 30 dias, não diferiu estatisticamente para nenhuma das culturas.

Houve uma redução de 1,01 %N para o teor de N-NH₃ entre as aberturas, indicando maior atividade proteolítica para 30 dias. Santos *et al.* (2020) em seu estudo com inoculação de *Lactobacillus buchneri* em silagem de milho, observaram comportamento semelhante ao que ocorreu nesta pesquisa, encontrando maior teor de N-NH₃ para a silagem controle e com inoculante liofilizado para a abertura de 14 dias quando comparado a abertura de 70 dias de fermentação, ocorrendo o inverso para o tratamento com inoculante ativo.

Para CT não houve diferença entre as silagens para a segunda abertura, havendo uma maior resistência dos tratamentos *L. p* (GML 66), *L.p* (GML 68) e *W.cibaria* no período de abertura de 30 dias. Nos estudos de Rabelo *et al.* (2017) com *Lactobacillus buchneri* para silagem de milho, apresentou uma diferença relativamente pequena entre os tratamentos, mas de forma significativa para o pH promovendo alterações durante a fermentação para CT. Os mesmos autores também verificaram uma maior concentração de ácidos totais, embora que pequena, entre a silagem com e sem inoculante, o que foi capaz de reduzir a CT das silagens. De acordo com Palmer *et al.* (2005) os ácidos orgânicos produzidos podem entrar em reações químicas dentro do silo promovendo a redução da CT e aumentando a produção de gases. Corroborando com Palmer *et al.* (2005), observa-se uma maior PG (Tabela 3) para os tratamentos *L.p.* (GML 66), *L.p.* (GML 68) e *W. cibaria* aos 30 dias de fermentação, o que pode ter acontecido para estes tratamentos nessa pesquisa.

Observou-se efeito significativo entre os tratamentos para MOFO (P = 0,0145) (Tabela 5). Observou-se efeito significativo entre as aberturas para os valores LEV (P= 0,0001) (Tabela 5). Observou-se efeito de interação entre os tratamentos e aberturas para

os teores de BAL ($P=0,0001$) e LEV ($P=0,0001$), não havendo interação para MOFO ($P=0,1177$) (Tabela 5).

Tabela 5. Populações microbianas nas silagens em dois tempos de abertura

Tratamento	BAL ²	MOFO	LEV ³
30 dias			
Controle	4,67 ^b	4,42	4,41 ^{bc}
<i>L. p.</i> ⁴ (GML 09)	5,37 ^a	4,90	4,96 ^a
<i>P. p.</i> ⁵ (GML 11)	5,16 ^a	4,74	4,91 ^a
<i>L. p.</i> (GML 51)	4,85 ^{ab}	4,52	4,58 ^{ab}
<i>L. p.</i> (GML 66)	4,69 ^b	4,75	3,99 ^c
<i>L. p.</i> (GML 68)	5,00 ^a	4,73	4,53 ^{ab}
<i>W. cibaria</i>	4,92 ^{ab}	4,63	4,82 ^{ab}
80 dias			
Controle	3,37 ^c	3,77	2,42 ^c
<i>L. p.</i> (GML 09)	4,40 ^b	4,27	3,90 ^{ab}
<i>P. p.</i> (GML 11)	4,33 ^b	4,20	4,03 ^{ab}
<i>L. p.</i> (GML 51)	4,49 ^b	4,32	4,21 ^a
<i>L. p.</i> (GML 66)	4,04 ^b	3,86	3,69 ^b
<i>L. p.</i> (GML 68)	4,31 ^b	3,95	3,98 ^{ab}
<i>W. cibaria</i>	4,99 ^a	4,24	4,02 ^{ab}
EPM ¹	0,09	0,12	0,09
Efeito principal de tratamento			
Controle	4,02 ^d	4,09 ^b	3,41 ^c
<i>L. p.</i> (GML 09)	4,89 ^{ab}	4,58 ^a	4,43 ^a
<i>P. p.</i> (GML 11)	4,75 ^{ab}	4,47 ^a	4,47 ^a
<i>L. p.</i> (GML 51)	4,67 ^{bc}	4,42 ^{ab}	4,39 ^a
<i>L. p.</i> (GML 66)	4,36 ^c	4,31 ^{ab}	3,84 ^b
<i>L. p.</i> (GML 68)	4,66 ^{bc}	4,34 ^{ab}	4,26 ^a
<i>W. cibaria</i>	4,95 ^a	4,43 ^{ab}	4,42 ^a
EPM	0,06	0,08	0,06
Efeito principal da abertura			
30 dias	4,95 ^a	4,67 ^a	4,60 ^a
80 dias	4,28 ^b	4,09 ^b	3,75 ^b
EPM	0,03	0,04	0,03
P-valor			
Tratamento	0,0001	0,0145	0,0001
Abertura	0,0001	0,0001	0,0001
Aditivo x Abertura	0,0001	0,1177	0,0001

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($P<0,05$) de acordo com teste de Tukey. ¹EPM: erro padrão médio; ²BAL: bactéria produtora de ácido láctico; ³LEV: levedura ⁴*L.p.*: *Lactiplantibacillus plantarum*; ⁵*P.p.*: *Pediococcus pentosaceus*.

De forma geral houve uma redução de todas as contagens de populações microbianas para abertura de 80 dias (0,67; 0,58 e 0,85 UFC g⁻¹ de silagem respectivamente para BAL, MOFO e LEV). Provavelmente ocorreu essa alteração devido

a silagem se apresentar na faixa de fermentação estável, sendo caracterizada pela redução da intensidade da fermentação.

Os valores obtidos para BAL na silagem controle para ambas as aberturas, forma estatisticamente menores (4,67 e 3,37 UFC g⁻¹ de silagem para 30 e 80 dias respectivamente), o que já era esperado, pois houve a inoculação de cepas bacterianas nas demais silagens, aumentando a concentração das BALs nessas silagens.

Já para as contagens de LEV, a silagem controle também se manteve igual ao comportamento das BALs para ambos períodos de abertura, podendo observar maiores contagens de LEV para as demais silagens com inoculantes microbianos. Esse fato pode ter ocorrido pela possível maior concentração de ácido lático produzido pelas cepas, que podem ser utilizados pelas LEV como substrato.

Rabelo *et al.* (2017), Santos *et al.* (2020), Chen *et al.* (2019) e Soundharrajan *et al.* (2020) também encontraram maiores contagens de UFC g⁻¹ de silagem para BALs para as silagens inoculadas, quando comparado as sem inoculação. Esses dados corroboram com os dados presentes nessa pesquisa, pois em ambos os trabalhos houve a inoculação de bactérias produtoras de ácido lático.

Nos estudos de Santos *et al.* (2020) também observaram o mesmo comportamento para LEV, sendo superior 0,31 UFC g⁻¹ de silagem para a silagem com inoculante ativo em relação ao controle da silagem de milho. Soundharrajan *et al.* (2020) e Rabelo *et al.* (2017) observaram maiores contagens de LEV para os tratamentos controle, atribuindo esse resultado a menor concentração de ácido acético na silagem sem inoculação. Já para Chen *et al.* (2019), tanto para o tratamento sem e com inoculação foram iguais, sendo inferiores a 2,00 UFC g⁻¹ de silagem.

Observou-se efeito significativo entre os tratamentos para o tempo de EA (P=0,0001) e TMáx (P=0,0144) (Tabela 6). Observou-se efeito significativo entre as aberturas para os valores de EA (P=0,0001) e TMáx (P=0,0001) (Tabela 6).

Observou-se efeito de interação entre os tratamentos e aberturas para valores de EA (P=0,0001), no entanto não foi observado para TMáx(P=0,0575) (Tabela 6).

Tabela 6. Estabilidade aeróbia (EA) e temperatura máxima (T Máx) das silagens em dois tempos de abertura

Tratamento	EA ² (h)	T Máx ³ (°C)
30 dias		
Controle	25,12 ^e	27,25
<i>L. p.</i> ⁴ . (GML 09)	24,25 ^e	34,50
<i>P. p.</i> ⁵ . (GML 11)	44,50 ^d	31,75
<i>L. p.</i> (GML 51)	49,87 ^{cd}	31,42
<i>L. p.</i> (GML 66)	79,12 ^a	31,02
<i>L. p.</i> (GML 68)	55,00 ^{bc}	32,25
<i>W. cibaria</i>	61,37 ^b	32,77
80 dias		
Controle	107,33 ^a	33,45
<i>L. p.</i> (GML 09)	51,53 ^e	34,60
<i>P. p.</i> (GML 11)	52,87 ^e	32,60
<i>L. p.</i> (GML 51)	54,00 ^{de}	33,80
<i>L. p.</i> (GML 66)	64,37 ^c	36,30
<i>L. p.</i> (GML 68)	64,25 ^{cd}	33,47
<i>W. cibaria</i>	76,37 ^b	34,72
EPM¹	2,05	1,05
Efeito principal de tratamento		
Controle	66,22 ^{ab}	30,35 ^b
<i>L. p.</i> (GML 09)	37,89 ^d	34,55 ^a
<i>P. p.</i> (GML 11)	48,68 ^c	32,17 ^{ab}
<i>L. p.</i> (GML 51)	51,93 ^c	32,61 ^{ab}
<i>L. p.</i> (GML 66)	71,75 ^a	33,66 ^a
<i>L. p.</i> (GML 68)	59,62 ^b	32,86 ^{ab}
<i>W. cibaria</i>	68,87 ^a	33,75 ^a
EPM	1,71	0,73
Efeito principal de abertura		
30 dias	48,46 ^b	31,56 ^b
80 dias	67,24 ^a	34,13 ^a
EPM	0,91	0,42
P-valor		
Tratamento	0,0001	0,0144
Abertura	0,0001	0,0001
Tratamento x Abertura	0,0001	0,0575

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($P < 0,05$) de acordo com teste de Tukey. ¹EPM: erro-padrão da média; ²EA: estabilidade aeróbica; ³TMáx: temperatura máxima; ⁴*L.p.*: *Lactiplantibacillus plantarum*; ⁵*P.p.*: *Pediococcus pentosaceus*.

Em relação aos períodos de abertura, houve um aumento de 18,78 h para EA na abertura de 80 dias, havendo também um acréscimo de 2,57 °C na TMáx do mesmo período de abertura, indicando que, apesar das silagens se manterem estáveis após exposição ao oxigênio, aumentou-se a temperatura atingida pelas silagens durante a deterioração aeróbia das silagens, aumentando sua temperatura interna.

Em comparação as silagens, o *L.p.* (GML 66) e *W. cibaria* obtiveram melhores resultados de EA, sendo 5,53 e 0,65 h, a mais respectivamente, em comparação ao

controle. Já *L.p. (GML 09)*, *P.p. (GML 11)*, *L.p. (GML 51)* e *L.p. (GML 68)* afetaram negativamente o tempo de EA das silagens, obtendo valores inferiores ao controle, respectivamente.

Para a EA do período de abertura de 30 dias, com exceção do *L.p. (GML 09)*, todos os tratamentos obtiveram resultados superiores ao tratamento controle, destacando-se o *L.p. (GML 66)*, *W. cibaria* e *L.p. (GML 68)*, com 79,12; 61,37 e 55 h. Esse resultado do *L.p. (GML 66)* para o tempo de 30 dias pode ser explicado pela menor concentração de LEV nesse mesmo período de abertura (3,99 UFC g⁻¹ de silagem) conforme pode ser observado na tabela 5.

Já para o segundo período de abertura dos silos, a silagem controle obteve melhor tempo de EA (107, 33 h), seguido do *W. cibaria* (76,37 h), *L.p. (GML 66)* (64,37 h) e *L.p. (GML 68)* (64,25 h). Esses valores de EA também são explicados pela maior concentração de LEV para as silagens nesse período de abertura, o qual o tratamento controle obteve a menor contagem (2,42 UFC g⁻¹ de silagem), conforme a tabela 5. Corroborando com Ferro *et al.* (2018) certificam que a quantidade de leveduras e o tempo da quebra de estabilidade aeróbica da silagem são inversamente proporcionais.

Santos *et al.* (2020) e Agarussi *et al.* (2022) ao avaliarem o efeito da inoculação do *L. buchneri* na silagem de sorgo, obtiveram menores tempos de EA para os tratamentos controle. Já Noski *et al.* (2012), ao avaliarem os efeitos da inoculação de *L. plantarum* e *L. buchneri*, obtiveram menor tempo de EA para o tratamento com inoculação do *L. plantarum* (46 h), sendo os tratamentos controle e *L. buchneri* superiores ao *L. plantarum*, com 53 e 72 h, respectivamente, conforme encontrado nessa pesquisa para o tratamento controle da abertura de 80 dias. Já Michel *et al.* (2016), ao avaliarem a silagem e a reensilagem do sorgo com e sem inoculação do combo de *L. plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*, observaram maior tempo de EA para o tratamento controle, tanto para a silagem quanto para a reensilagem, sendo a silagem superior 2,28 h e a reensilagem superior 19,46 h quando comparados com os tratamentos utilizando a inoculação, corroborando assim com os dados dessa pesquisa.

O aumento da estabilidade aeróbia com o avanço da fermentação era um resultado esperado, de forma que mesmo no tratamento sem inoculante, observou-se melhoria na estabilidade aeróbia. Em silagens ácidas, como é o caso do sorgo forrageiro, pode haver conversão de etanol em ácido acético, por bactérias acéticas, o que pode explicar o

aumento da estabilidade aeróbia com o tempo. Por outro lado, quando a expectativa é a abertura dos silos em um curto espaço de tempo, a silagem não inoculada se mostra pouco estável e o uso de inoculante se faz necessário.

Com relação aos inoculantes testados, destacam-se as estirpes de *L. plantarum* (GML 66) e *W. cibaria* que mantiveram a estabilidade aeróbia mais elevada tanto aos 30 quanto aos 80 dias de fermentação, as quais poderiam ser usadas na composição de combos de inoculantes em associação entre eles ou com *L. buchneri*, com objetivo, tanto de aumentar a recuperação de matéria seca quanto de manter a estabilidade aeróbia das silagens de sorgo forrageiro.

Dessa forma, estudos futuros poderão surgir para avaliar a utilização da cepa *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 66) em associação com outras bactérias, como a *Weissella cibaria* e o *Lactobacillus buchneri*.

5. CONCLUSÃO

Ao realizar a inoculação microbiana na ensilagem de sorgo forrageiro, recomenda-se a utilização do *Lactiplantibacillus plantarum* (GML 66), promovendo melhorias no teor de matéria seca, minimizando as perdas por efluentes sem afetar negativamente a recuperação de matéria seca, além de reduzir a quantidade de leveduras, prolongando o tempo de estabilidade aeróbia da silagem.

REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELHADI, L. ; TRICARICO, J. Effects of stage of maturity and microbial inoculation at harvest on nutritive quality and degradability of grain sorghum whole-plant and headchop silages. **Animal feed science and technology**, v. 152, n. 3-4, p. 175-185, 2009.
- AFZAL, M., AHMAD, A., e AHMAD, A.H. Efeito do nitrogênio no crescimento e produtividade da forragem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench cv.) Sob sistema de três estacas. **Cercetari Agron. Moldávia**, v. 45, p. 57-64, 2012.
- AGARUSSI, M. *et al.* Efeito de várias cepas de *Lactobacillus buchneri* na qualidade da fermentação e estabilidade aeróbica de silagem de milho. **Agricultura**, v. 12, n. 1, p. 95, 2022.
- ALBUQUERQUE, C. CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E BROMATOLÓGICAS DOS COMPONENTES VEGETATIVOS DE GENÓTIPOS DE SORGO FORRAGEIRO EM MINAS GERAIS. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, n.2, p. 164-182, 2013.
- AMRANE A. Evaluation of lactic acid bacteria autolysate for the supplementation of lactic acid bacteria fermentation. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.16, p. 207-209, 2000.
- BOLSEN, K. *et al.* Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfafa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.11, p.3066-83, 1992.
- BUMBIERIS JUNIOR, V. *et al.* Aerobic stability in corn silage (*Zea mays* L.) ensiled with different microbial additives. **Acta Scientiarum**, n. 39, p. 4, 2017.
- BUSO, W.H.D. *et al.* Utilização do sorgo forrageiro na alimentação animal. **PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 23, Ed. 170, 2011.
- CHANEY, A.; MARBACH, E.. Modified reagentes for determination of urea and ammonia. **Clinical Chermistry**, v.8, n.2, p. 130-137, 1962.
- CHEN, L *et al.* Effects of lactic acid bacteria inoculants and fibrolytic enzymes on the fermentation quality, in vitro degradability, ruminal variables and microbial communities of high-moisture alfalfa silage. **Japanese Society of Grassland Science**, v. 65, n. 4, p. 216-225, 2019.
- COELHO, M. *et al.* Chemical characteristics, aerobic stability, and microbiological counts in corn silage re-ensiled with bacterial inoculant. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.53, n.9, p.1045-1052, 2018.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Conab**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br> Acesso em: 05 jun. 2022.

CROWLEY, S., MAHONY, J., SINDEREN, D.V. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. **Trends Food Sci. Technol.** n. 33, 93-109, 2013.

DANTAS, T. *et al.* AVALIAÇÃO DO SORGO FORRAGEIRO EM DIFERENTES ÉPOCAS DE COLHEITA. **Mobilizar o Conhecimento para Alimentar o Brasil**, p. 67-79, 2018.

DONG, M. *et al.* Effects of microbial inoculants on the fermentation characteristics and microbial communities of sweet sorghum bagasse silage. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, pág. 1-9, 2020.

DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

EDVAN, R.L. *et al.* Utilização de adubação orgânica em pastagem de capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* cv. ‘Molopo’). **Archivos de Zootecnia**, v.59, n.228, p.499-508, 2010.

FAGGION, F.; OLIVEIRA, C. ; CHRISTOFIDIS, D. Uso eficiente da água: uma contribuição para o desenvolvimento sustentável da agropecuária, **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v.2, n.1, p.187-190, 2009.

FERNANDES, F. *et al.* Ensilagem de sorgo forrageiro com adição de ureia em dois períodos de armazenamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2111-2115, 2009.

FERRERO, F. *et al.* Effects of conservation period and *Lactobacillus hilgardii* inoculum on the fermentation profile and aerobic stability of whole corn and sorghum silages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 5, p. 2530-2540, 2019.

FERRO, F. *et al.* Effects of conservation period and *Lactobacillus hilgardii* inoculum on the fermentation profile and aerobic stability of whole corn and sorghum silages. **Journal of de Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 5, 2019, p. 2530-2540, 2019.

FILYA, I.; SUCU, E. The effect of bacterial inoculants and a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of whole-crop cereal silages. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 3, p. 378–384, 2007.

GOMES, S. *et al.* Comportamento agrônomo e composição químico-bromatológico de cultivares de sorgo forrageiro no estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n.2, p.221-227, 2006.

JOBIM, C. C. *et al.* Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 101-119, 2007.

KE, W., *et al.* Influences of addition of malic acid or citric acid, *Lactobacillus plantarum* and their mixtures on fermentation quality, proteolysis and fatty acid composition of ensiled alfalfa. **Arch Anim Nutr.** 72, 492- 502, 2018.

KRISTENSEN, N.B. *et al.* Efeitos de inoculantes microbianos na fermentação da silagem de milho, conteúdo microbiano, estabilidade aeróbia e produção de leite em condições de campo. **American Dairy Science Association**, 2010.

KUNG JR., L. **Preparation of silage water extracts for chemical analyses. Standard operating procedure – 001 2.03.96.** Worrlow: University of Delaware, Ruminant Nutrition Laboratory, 1996. 309p.

KUNG JR., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. *In*: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Wisconsin: ASA; CSSA; SSSA, p. 305-360, 2003.

LEITE, G. **AÇÃO COMBINADA DA TORTA DE ALGODÃO E DE INOCULANTES MICROBIANOS EM SILAGENS DE SORGO FORRAGEIRO.** 2019. Disponível em: <file:///C:/Users/Pessoal/Downloads/TCC%20guilherme.pdf>
Acesso em 23 abr. 2022.

LI, X., *et al.* Effects of applying *Lactobacillus plantarum* and Chinese gallnut tannin on the dynamics of protein degradation and proteases activity in alfalfa silage. **Grass Forage Sci.** n. 1, p. 1-12, 2018.

LIMA, R. *et al.* Effect of combined ensiling of sorghum and soybean with or without molasses and lactobacilli on silage quality and in vitro rumen fermentation. **Animal Feed and Silage Technology**, v. 155, p. 122-131, 2010.

LIMA, R. *et al.* Multifactorial models to assess responses to sorghum proportion, molasses and bacterial inoculant on i vitro quality of sorghum–soybean silages. **Animal Feed and Silage Technology**, v. 164, p. 161-173, 2011.

LOURENÇO JUNIOR, J. *et al.* POTENCIAL NUTRITIVO DA SILAGEM DE SORGO. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 2, p. 78-85, 2004.

LOURES, D. *et al.* Características do efluente e composição químico-bromatológica das silagens de capim-Elefante sob diferentes níveis de compactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 32, n. 6, p.1851-1858, 2003.

MCDONALD, P; HENDERSON, A.; HERON, S. The biochemistry of silage (2nd edn). **Marlow Bottom: Chalcombe Publications**, p. 340, 1991.

MELLO, R. SILAGEM DE MILHO, SORGO E GRAMÍNEAS TROPICAIS. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 1, n. 1, p.48-58, 2004.

MENDES, S. *et al.* Manejo de pragas na cultura do sorgo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 35, n. 278, p. 73-81, 2014.

MICHEL, P.H.F. *et al.* Reensilagem e aplicação de inoculante com *Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici* em silagens de sorgo. **Forage Science The Journal of the British Grassland Society**, 2016.

MICHEL, P. **Qualidade das silagens de sorgo reensiladas com e sem inoculante microbiano**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, 2015, 62p.

MIZUBUTI, I. Y *et al.* **Métodos laboratoriais de avaliação de alimentos para animais**. Londrina: Eduel, v. 1, 2009.

MOURA, M. *et al.* Chemical composition of sorghum genotypes silages. Acta Scientiarum. **Animal Sciences**, v. 38, ed. 4, p. 369-373, 2016.

MUCK, R. *et al.* Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.3980-4000, 2018.

MUCK, R. Microbiologia da silagem e seu controle através de aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 183-191, 2010.

MUCK, R.; KUNG JR., L. Effects of silage additives on ensiling. Silage: field to feedbunk. NRAES-99. Hershey: North America Conference, Ithaca: **Northeast Reg. Agric. Eng. Serv.**, p.187-199, 1997.

NAVEENA, B. *et al.* Selection of medium components by Plackett-Burman design for production of L (+) lactic acid by *Lactobacillus amylophilus* GV6 in SSF using wheat bran. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 485-490, 2005.

NEUMANN, M. *et al.* Aditivos químicos utilizados em silagens. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia** V. 3, n. 2, 2010.

NEUMANN, M. *et al.* Efeito do tamanho da partícula e do tipo de silo sobre o valor nutritivo da silagem de sorgo (*Sorghum bicolor*, L. Moench). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 2, p. 224- 242, 2005.

NEUMANN, M. *et al.* O. Avaliação de diferentes híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor*, L. Moench) quanto aos componentes da planta e silagens produzidas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 1, p. 302-312, 2002.

NKOSI, B. *et al.* Efeitos de inoculantes bacterianos e de uma enzima na qualidade da fermentação e estabilidade aeróbia do sorgo sacarino ensilado. **Revista Sul-Africana de Ciência Animal**, v. 42, n. 3, p. 232-240, 2012.

PALMER, M. *et al.* Interference of indirect gas produced by grass silage fermentation acids in an in vitro gas production technique. **Animal Feed Science and Technology**, 123–124, 185–196, 2005.

PARODES, B. *et al.* Estabilidade aeróbia de silagens de sorgo sob longos períodos de armazenamento. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**. Fronteira da Paz, v. 9, p. 6, 2017.

PERAZZO, A. *et al.* Agronomic Evaluation of Sorghum Hybrids for Silage Production Cultivated in Semiarid Conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 2, 2017.

PEREIRA, G. *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria in fresh plant and in silage from *Opuntia* and their effects on the fermentation and aerobic stability of silages. **JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE**, v. 03, p. 1-9, 2020.

PESCUMO, D.; IGARASI, M. Híbridos de milho e sorgo para silagem na alimentação de bovinos leiteiros. **PUBVET**, Londrina, v. 7, n. 6, ed. 229, Art. 1513, 2013.

PLAYNE, M.; MCDONALD, P. The buffering constituents of herb- age and of silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 17, 264–268, 1966.

RABELO, C. Effects of *Lactobacillus buchneri* as a silage inoculant or probiotic on in vitro organic matter digestibility, gas production and volatile fatty acids of low dry-matter whole-crop maize silage. **Grass and Forage Science**, v. 72, n. 3, p. 534-544, 2017.

RIBAS, P.M. **Sorgo**: introdução e importância econômica. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p.14, 2003.

ROCHA JÚNIOR, V. *et al.* Avaliação de sete genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para produção de silagem: I. Padrão de fermentação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.5, p.506-511, 2000.

RODRIGUES, J. **Cultivo do sorgo**. 5. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de produção, 2). Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Sorgo/CultivadoSorgo_5ed/cultivares.htm>. Acesso em: 30 mai. 2022.

RODRIGUES, P. *et al.* Valor nutritivo da silagem de sorgo tratada com inoculantes enzimo-microbianos. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 1141-1145, 2002.

RODRIGUES, P. Efeitos da Adição de Inoculantes Microbianos sobre a Composição Bromatológica e Perfil Fermentativo da Silagem de Sorgo Produzida em Silos Experimentais. **R. Bras. Zootec.**, v.31, n.6, p.2373-2379, 2002.

RODRIGUES, P. Valor nutritivo da silagem de sorgo tratada com inoculantes enzimo-microbianos. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 1141-1145, 2002.

SANTOS, A. *et al.* Effects of urea addition on the fermentation of sorghum (*Sorghum bicolor*) silage. **African Journal of Range and Forage Science**, v. 35, n. 1, 2018.

SANTOS, A.P.M. Effect of Inoculation with Preactivated *Lactobacillus Buchneri* and Urea on Fermentative Profile, **Aerobic Stability and Nutritive Value in Corn Silage**. Agriculture, 2020.

SHAH, A. *et al.* Microbiological and chemical profiles of elephant grass inoculated with and without *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici*. **Arch Microbiol.** 2, 311-328, 2017.

SILVA, A. *et al.* Consumo e digestibilidades dos nutrientes em bovinos recebendo dietas contendo silagens de milho e sorgo, com e sem inoculante microbiano1. **R. Bras. Zootec.**, v. 35, n. 6, p. 2469-2478, 2006.

SILVA, T. *et al.* Importance of the Fermentation to Produce High-Quality Silage. Fermentation Processes. **InTech**, p. 1–20, 2017. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/advances-in-silage-production-and-utilization>. Acesso em: 24 mai. 2022.

SKONIESKI, F. Produção, caracterização nutricional e fermentativa de silagens de sorgo forrageiro e sorgo duplo propósito. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 27-32, 2010.

SOARES, M. PADRÃO DE QUALIDADE DA SILAGEM DE SORGO (SORGHUM BICOLOR L. MOENCH) ASSOCIADO AO NEEM (AZADIRACHTA INDICA). **HOLOS**, v.36, v. 6, p. 100-73, 2020.

SOUNDHARRAJAN, I. *et al.* Effects of Microbial Inoculants on the Fermentation and Preservation of Triticale Silages at High and Low Moisture Levels, **Appl. Sci.**, v. 10, p. 7855; 2020.

TABACCO, E. *et al.* Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. **Journal of applied microbiology**, v. 107, n. 5, p. 1632-1641, 2009.

TABACCO, E. *et al.* Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 1409-1419, 2011.

TAVARES, Q. *et al.* Avaliação nutricional das silagens de milho e sorgo inoculadas com *Lactobacillus plantarum*. **Pubvet**, v.14, n.3 a536, p.1-9, 2020.

THOMAS, M. *et al.* Nutritive value, fermentation characteristics, and in situ disappearance kinetics of sorghum silage treated with inoculants. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 7120-7131, 2013.

ZANINE, A. *et al.* Evaluation of elephant grass silage with the addition of cassava scrapings. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, 2010.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J.; NUSSIO, L. 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.