

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

EVANDRA DA SILVA JUSTINO

SILAGENS DE SORGO ADITIVADAS COM TORTA DE ALGODÃO E INOCULANTES MICROBIANOS

AREIA

EVANDRA DA SILVA JUSTINO

SILAGENS DE SORGO ADITIVADAS COM TORTA DE ALGODÃO E INOCULANTES MICROBIANOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Linha de Pesquisa: Sistemas de Produção Pecuária no Nordeste Brasileiro

Orientador: Prof. Dr. Gherman Garcia

Leal de Araújo

Coorientador: Prof. Dr. Edson Mauro

Santos

Coorientador: Prof.^a Dr.^a Juliana Silva

de Oliveira

Catalogação na publicação Seção de Catalogação e Classificação

J96s Justino, Evandra da Silva.

Silagens de sorgo aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos / Evandra da Silva Justino. - Areia:UFPB/CCA, 2021.

94 f.

Orientação: Gherman Garcia Leal de Araújo. Coorientação: Edson Mauro Santos, Juliana Silva de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Zootecnia. 2. Aditivo nutricional. 3. Aditivo microbiano. 4. Gramínea tropical. I. Araújo, Gherman Garcia Leal de. II. Santos, Edson Mauro. III. Oliveira, Juliana Silva de. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636(043.3)

EVANDRA DA SILVA JUSTINO

SILAGENS DE SORGO ADITIVADAS COM TORTA DE ALGODÃO E INOCULANTES MICROBIANOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Aprovado em: 29/01/2021.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Thiago Carvalho da Silva Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)

Dr. Fleming Sena Campos

Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE)

BIOGRAFIA DA AUTORA

Evandra da Silva Justino, filha de Vanderlúcia Felinto da Silva e de José Justino Neto, nascida em 03 de dezembro de 1994, na cidade de Solânea (PB), concluiu o curso de Ciências Agrárias (Licenciatura plena) no Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias da Universidade Federal da Paraíba no ano de 2018. Durante a graduação participou do Programa de Iniciação Científica (PIBIC) como bolsista (UFPB/CNPq) desenvolvendo atividades no Laboratório de Caprinocultura e Ovinocultura nas áreas de Conservação de Recursos Genéticos, Produção de Pequenos Ruminantes e Qualidade de Leite e Queijo. Ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia no ano de 2018, defendendo a dissertação em Janeiro de 2021.

A minha Família

Ao meu avô, Antônio Felinto da Silva

Aos meus Irmãos, Luiz Eduardo Justino e José Elder Justino

Ao professor Dr. George Rodrigo Beltrão da Cruz

Hactus Souto Cavalcanti
Prof.Dr. Edson Mauro Santos
Vanderlúcia Felinto da Silva
Gilene Felinto da Silva
Paulo Rodriguez Dantas Júnior
Natalí Estevão da Cruz
Cristiano Matias Justino
Prof. Dr. Jussara Ellen Frazão
Maria das Dores Alves da Silva

Muitos foram importantes durante essa caminhada, mas vocês, foram essenciais!

Ofereço!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre iluminar meus caminhos, pela força e encorajamento nas etapas mais difíceis, pela saúde, bênçãos e maravilhas concedidas e realizadas em minha vida.

A Universidade Federal da Paraíba e ao Centro de Ciências Agrárias pela oportunidade em realizar o Mestrado em Zootecnia.

Ao Grupo de Estudos em Forragicultura (GEF), pelo acolhimento, realização da pesquisa e das análises, por tantas oportunidades de trabalhar em equipe, por tantos momentos bons, pelo aprendizado e amizades construídas.

Ao Instituto Nacional do Semiárido (INSA), Nas pessoas do Prof. Dr. Geovergue Medeiros e Romildo Neves, pela concessão do laboratório de análises de alimentos para realização de análises.

A coordenação do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, nas pessoas de Prof.^a Dr.^a Patrícia Emília Naves Givisiez e aos secretários Mayara Araújo e Jaldir de Oliveira pela ajuda, atendimento e atenção.

A CAPES, pela concessão da bolsa de pesquisa.

Aos meus pais, Vanderlúcia Felinto da Silva e José Justino Neto, pelo amor, cuidado e apoio.

Aos meus avós, Cleuza Felinto da Silva e Antônio Felinto da Silva, pelo amor, estimulo, e por fazer parte das minhas melhores lembranças.

A meu Orientador, prof. Dr. Gherman Garcia Leal de Araújo, pela paciência, orientação e ensinamentos.

A meus Co-orientadores, Prof. Dr. Edson Mauro Santos e a Prof.ª Dr.ª Juliana Silva de Oliveira, pela orientação, paciência e ensinamentos. A vocês, minha gratidão, respeito e admiração.

Ao professor Dr. George Rodrigo Beltrão da Cruz, por todo ensinamento, ajuda, apoio, orientação e incentivo na minha vida acadêmica, ao senhor, minha gratidão.

A Professora Dr.ª Jussara Ellen Frazão, por toda ajuda concedida a mim no término da graduação para que eu pudesse ingressar no mestrado.

As minhas tias, Gilene Felinto e Fátima Justino, pelo carinho e atenção.

Aos meus Irmãos, Cristiano, Cleandro, Erivaldo, Evandro, Luís Eduardo, e José Elder, pelo carinho, apoio e companheirismo.

As minhas cunhadas, Natalí Cruz, em especial, pelo companheirismo, amizade, ajuda nos trabalhos acadêmicos e científicos. À Aline Virgínia, e a Graça Baiêta pela amizade e incentivo.

Aos meus sobrinhos, Abílio César e Gabriel Medeiros, por todo carinho.

Ao meu primo, Túlio Mackson pelo apoio e amizade.

Ao meu gato, Oliver Queen Hans Krebs, por alegrar meus dias.

A Sr.ª Socorro da Cruz, pela força, carinho e incentivo na minha vida acadêmica.

A família Silva, nas pessoas de Sr.ª Dorinha e Sr. João; por acolherem-me, sempre que necessário, com tanto carinho em sua residência.

Ao amigo Hactus Souto Cavalcanti, pela amizade, parceria, e ajuda na construção dessa pesquisa.

Ao amigo Paulo Rodrigues Dantas júnior, pela amizade, irmandade e por toda força e parceria de sempre.

A amiga e parceira de turma Marina de Sousa Hipólito Ferreira, pelos momentos de estudos, parceria e a grande amizade que construímos juntas durante o mestrado.

Aos amigos e amigas, Liliane Santana, Wellington Cordeiro, Izabelly Pontes, Guilherme Medeiros, Rafael Lopes, Evelaine Lucena e Taís Lira pela parceria e contribuição nas análises laboratoriais.

Aos demais queridos amigos e amigas, Erika Maria Pontes, Bruna Silveira, Paloma Gabriela, Maria do Socorro Costa, Gabrielle Catarine Castro, Wellington Santos, Rafael de Paula, José Maria César Neto, Francisco Naysson, Alexandre Perazzo, Betina Cunha, Alyne Coutinho, Gabriel Cruz, Lavínia Sousa, Daiane Gonçalves, Suélen Anne, Gutembergue Dantas, Talita Fernandes, Paolo Silva, Arinaldo Filho, e Joederson Dantas, pelo companheirismo, amizade, resenhas, parceria e apoio.

A todos que diretamente e indiretamente contribuíram para minha formação.

Mas é preciso ter manha
É preciso ter graça
É preciso ter sonho sempre
Quem traz na pele essa marca
Possui a estranha mania
De ter fé na vida
Mas é preciso ter força
É preciso ter raça
É preciso ter gana sempre
(Fernando Brant / Milton Nascimento)
Entregue o seu caminho ao SENHOR; confie nele, e ele tudo fará.
Salmo 37:5
Reconhece-o em todos os teus caminhos, e ele endireitará as tuas veredas.
Provérbios 3:6
Consagra ao SENHOR todas as tuas obras e os teus planos serão bem sucedidos
Provérbios 16:3

RESUMO GERAL

Objetivou-se avaliar o perfil fermentativo, populações microbianas, estabilidade aeróbia, características bromátologicas e as perdas das silagens de sorgo forrageiro aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos. Foram realizados dois experimentos utilizado o sorgo forrageiro (Sorghum bicolor (L.) Moench.) cultivar BRS Ponta Negra. No primeiro experimento foram avaliados níveis de torta de algodão em associação ao sorgo para silagem, sendo a abertura realizada aos 55 dias após a ensilagem. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos foram arranjados da seguinte forma: T1 = apenas sorgo forrageiro; T2 = sorgo forrageiro + 5% de torta de algodão; T3 = sorgo forrageiro + 10% de torta de algodão; T4 = sorgo forrageiro + 20% de torta de algodão; T5 = sorgo forrageiro + 40% de torta de algodão. A utilização da torta de algodão como aditivo nutricional reduziu as perdas fermentativas, aumentou a recuperação de matéria seca, melhorou a estabilidade aeróbia e aumentou o valor nutritivo das silagens aditivadas. Nos níveis avaliados no presente trabalho, recomenda-se a utilização de 20% de inclusão da torta de algodão. Já no segundo experimento, foi avaliada a torta de algodão em associação aos inoculantes microbianos, com abertura dos silos os 45 e 90 dias após a ensilagem. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4, com 4 repetições, sendo analisados os seguintes tratamentos Sorgo (Controle); Sorgo + 20% torta de algodão (Controle); Sorgo + L. plantarum; Sorgo + 20% torta de algodão + L. plantarum; Sorgo + W. cibaria; Sorgo + 20% torta de algodão + W. cibaria; Sorgo + Combo; Sorgo + 20% torta de algodão + Combo. A utilização da torta de algodão melhorou as características fermentativas, diminuiu as perdas por efluentes, aumentou o valor nutritivo, aumentou a recuperação de matéria seca e, devido à inibição das leveduras, melhorou a estabilidade aeróbia. A Weissella Cibaria em associação a torta de algodão diminuiu significativamente o desenvolvimento das leveduras na silagem do sorgo com abertura aos 90 dias. A Weissella Cibaria e o Lactobacillus plantarum em associação (combo) controlaram os fungos na silagem de sorgo. O Lactobacillus plantarum foi capaz de acidificar o meio mesmo em condições de maior capacidade tamponante.

PALAVRAS CHAVE: Aditivo nutricional. Aditivos microbianos. Gramínea tropical.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the fermentative profile, microbial populations, aerobic stability, bromological characteristics and losses of forage sorghum silages added with cotton cake and microbial inoculants. Two experiments were carried out using forage sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench.) Cultivar BRS Ponta Negra. In the first experiment, levels of cotton cake were evaluated in association with sorghum for silage, and the opening was performed at 55 days after ensiling. A completely randomized design was used, with 5 treatments and 4 repetitions. The treatments were arranged as follows: T1 = only forage sorghum; T2 = forage sorghum + 5% cotton cake; T3 = forage sorghum+ 10% cotton cake; T4 = forage sorghum + 20% cotton cake; T5 = forage sorghum + 40% cotton cake. The use of cotton cake as a nutritional additive reduced fermentative losses. increased the recovery of dry matter, improved aerobic stability and increased the nutritional value of the added silages. At the levels assessed in the present study, it is recommended to use 20% cotton cake inclusion. In the second experiment, the cotton cake was evaluated in association with the microbial inoculants, with opening of the silos 45 and 90 days after ensiling. A completely randomized design was used in a 2 x 4 factorial scheme, with 4 replications, with the following treatments Sorghum (Control) being analyzed; Sorghum + 20% cotton cake (Control); Sorghum + L. plantarum; Sorghum + 20% cotton cake + L. plantarum; Sorghum + W. cibaria; Sorghum + 20% cotton cake + W. cibaria; Sorghum + Combo; Sorghum + 20% cotton cake + Combo. The use of cotton cake improved fermentative characteristics, decreased effluent losses, increased nutritional value, increased dry matter recovery and, due to yeast inhibition, improved aerobic stability. Weissella Cibaria in association with cotton cake significantly reduced the development of yeasts in sorghum silage with opening at 90 days. Weissella Cibaria and Lactobacillus plantarum in combination (combo) controlled the fungi in the sorghum silage. Lactobacillus plantarum was able to acidify the medium even under conditions of greater buffering capacity.

KEY WORDS: Nutritional additive. Microbial additives. Tropical grass.

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1

Tabela 1 - Características do sorgo forrageiro antes da ensilagem colhidos em diferentes idades/composição	24
Tabela 2. Composição bromatológica da torta de algodão	32
CAPITULO 2	
Tabela 1 - Composição Bromatológica, Valores de pH, Carboidratos Solúveis (CHOs) e Capacidade Tamponante (CT) do sorgo forrageiro com níveis crescentes de torta de algodão no momento da ensilagem.	50
Tabela 2 - Contagens microbianas do sorgo forrageiro com níveis crescentes de torta de algodão no momento da ensilagem.	50
Tabela 3 - Composição bromatológica de silagens de sorgo com níveis de torta de algodão.	51
Tabela 4 - pH, carboidratos solúveis residuais (CHOs), nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) e matéria seca de silagens de sorgo com níveis de torta de algodão.	52
Tabela 5 - Contagens microbianas de silagens de sorgo com níveis de torta de algodão	52
Tabela 6 - Perdas por gases (PG), perdas por efluentes (PE) e recuperação de matéria seca (RMS) em silagens de sorgo com níveis de torta de algodão	53
Tabela 7 - Estabilidade aeróbia e temperatura máxima em silagens de sorgo com níveis de torta de algodão	53
CAPITULO 3	
Tabela 1 - Composição bromatológica do sorgo forrageiro e das misturas com inoculantes microbianos e torta de algodão no momento da ensilagem	73
Tabela 2 - Valor de carboidratos solúveis do sorgo forrageiro e das misturas com inoculantes microbianos e torta de algodão no momento da ensilagem	73
Tabela 3 - Contagens microbianas do sorgo forrageiro e das misturas com inoculantes microbianos e torta de algodão no momento da ensilagem	73
Tabela 4 - Composição bromatológica de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 45 dias	75

Tabela 5 - Valores médios de pH, carboidratos solúveis residuais (CHOs) Capacidade Taponante (CT) e de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) em silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 45 dias	76				
Tabela 6 - Contagens microbianas em silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 45 dias	77				
Tabela 7 - Estabilidade aeróbia de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 45 dias	78				
Tabela 8 - Composição bromatológica de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos, abertas aos 90 dias	80				
Tabela 9 - Valores médios de pH, carboidratos solúveis residuais (CHOs) Capacidade Tamponante (CT) e de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 90 dias	81				
Tabela 10 - Contagens microbianas de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 90 dias.	82				
Tabela 11 - Estabilidade aeróbia de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 90 dias					
Tabela 12 - Perdas fermentativas e recuperação de matéria seca de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 90 dias					

LISTA DE ABREVIATURAS

BAL Bactérias produtoras de ácido lático

BDA Batata dextrose ágar

BOD Biochemical oxygen demand

CHOs Carboidratos Solúveis

CHOs_R Carboidratos Solúveis residuais

cm Centimetro

EPM Erro-padrão da média

ERO Espécies Reativas de oxigênio

EE Extrato etéreo

FDN Fibra em detergente neutro

g Grama

h Hora

h-1 Hectare

kg Kilograma

m Metro

m³ Metro cúbico

MFa Massa de forragem na abertura

MFf Massa de forragem na ensilagem (kg)

MFSf Matéria seca da forragem na ensilagem (%)

ML Mofos e leveduras

ml Mililitro

mm Milímetro

MRS Man, Rogosa e Sharpe

MS Matéria seca

MSa Teor de matéria seca na abertura (%)

MSf Teor de matéria seca na ensilagem (%)

N-NH₃ 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)

PVC Policloreto de polivinila

RMS Recuperação de matéria seca

rpm Rotação por minuto

S Peso do silo

Saa Peso do silo vazio + areia na abertura (kg)

Saf Peso do silo vazio + areia na ensilagem (kg)

T Temperatura

t Tonelada

UFC Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

INTRODUÇAO GERAL	17
CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO	20
1. REFERENCIAL TEÓRICO	21
1.1. Sorgo forrageiro	21
1.2. Processo fermentativo e estabilidade aeróbia de silagens	24
1.3. Aditivos e as melhorias na ensilagem	25
1.4. Torta de algodão e Gossipol	30
REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO 2 – NÍVEIS DE TORTA DE ALGODÃO EM SILA	GENS DE SORGO
FORRAGEIRO	41
RESUMO	42
ABSTRACT	43
1. INTRODUÇÃO	44
2. MATERIAL E MÉTODOS	45
2.1. Local do Experimento	45
2.2. Montagem do Experimento	46
2.3. Delineamento Experimental	46
2.4. Mensurações	47
2.5. Análise Estatística	49
3. RESULTADOS	49
4. DISCUSSÃO	51
5. CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	57
CAPÍTULO 3– SILAGENS DE SORGO ADITIVADAS COM TOR	TA DE ALGODÃO
E INOCULANTES MICROBIANOS	63
RESUMO	64
ABSTRACT	65
1. INTRODUÇÃO	66
2. MATERIAL E MÉTODOS	
2.1. Local do Experimento	68
2.2. Delineamento Experimental	68
2.3. Montagem do Experimento	69

	2.4.	Mensurações	.69
	2.5.	Análise estatística	.73
3.	RE	SULTADOS	.73
4.	DIS	CUSSÃO	.83
5.	CO	NCLUSÕES	.89
RE	EFERI	ÊNCIAS	.89

INTRODUÇÃO GERAL

O sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é uma cultura estival de alta produtividade, com grande versatilidade de uso e potencial de exploração em regiões tropicais devido à sua adaptação a este tipo de clima (PERAZZO *et al.*, 2017). A utilização desta cultura para a produção de silagem ganhou espaço, sendo a segunda silagem mais utilizada no Brasil, ficando atrás apenas da silagem de milho (OLIVEIRA e MILLEN, 2014).

Apesar disso, seu elevado conteúdo de carboidratos solúveis resulta numa excessiva acidificação da massa ensilada (DANIEL *et al.*, 2019). Como consequência, as leveduras ácidotolerantes produzem etanol a partir dos carboidratos solúveis e ácido lático, o que não é vantajoso, pois ocorrem muitas perdas durante o processo fermentativo além do que estes microrganismos são iniciadores da deterioração aeróbia (SANTOS *et al.*, 2018).

Quando se utiliza o sorgo em regiões Semiáridas é imprescindível que seu cultivo seja sincronizado com o período chuvoso a fim de otimizar a estação de crescimento. Nesse sentido, quando há disponibilidade hídrica observa-se que o teor de umidade do sorgo é maior, o que eleva as perdas por efluentes (DANIEL *et al.*, 2019), sendo os aditivos uma possibilidade para solucionar tais problemas. Santos *et al.*, (2018) ao ensilar sorgo com níveis de ureia observaram redução significativa nas perdas de matéria seca, onde as silagens não inoculadas chegaram a apresentar perdas de até 144,9 g kg⁻¹ MS, enquanto as silagens inoculadas apresentaram apenas perdas de 85,3 g kg⁻¹ MS, resultados como esse potencializam a busca por aditivos, cada vez mais, capazes de melhorar as características da silagem.

Compostos nitrogenados têm sido relatados por seu efeito tamponante em alguns trabalhos com silagens (PINHO *et al.*, 2013; ZANINE *et al.*, 2007). De acordo com Santos *et al.*, (2018) ao adicionar ureia nas silagens de sorgo ocorre uma acidificação mais lenta e, com isso, consegue-se controlar o pH evitando a proliferação de leveduras durante a fermentação, entretanto, apesar da ureia atuar durante a fermentação, o problema da alta umidade do sorgo não é contornado com este aditivo resultando em altas perdas por efluente que oscilam entre 75 a 108 kg MF t⁻¹.

Adicionalmente, por se tratar de uma gramínea tropical de ciclo fotossintético C₄ o teor de proteína bruta do sorgo é reduzido, inviabilizando o uso exclusivo em dietas para ruminantes, haja vista que para a manutenção adequada do rúmen são necessários pelo menos 70 g kg⁻¹ (VAN SOEST, 1994). Em animais com exigências nutricionais elevadas o uso exclusivo da silagem de sorgo é um problema e faz-se necessário fornecer um suplemento proteico para atender a demanda destes animais.

Uma alternativa viável para solucionar as perdas qualitativas e quantitativas das silagens de sorgo é usar um aditivo capaz de tamponar o meio, absorver a umidade excedente e aumentar o teor proteico da silagem. Muitos ingredientes existentes no mercado podem ser utilizados para confeccionar silagens, os quais funcionam muitas vezes como aditivos. Dentre estes ingredientes, destaca-se a torta de algodão por apresentar as características descritas anteriormente, ou seja, alto teor de matéria seca, proteína bruta e lipídeos (DIAS *et al.*, 2019). Este subproduto é gerado pelo processamento do caroço de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), sendo o resíduo da extração do óleo após a prensagem (ROGERS; POORE e PASCHAL, 2002).

No entanto, por ser um subproduto do algodão apresenta na sua composição o gossipol, que é considerado um fator antinutricional. Em função disso, existem limitações quanto ao uso e à quantidade fornecida dos alimentos provenientes do algodão uma vez que o gossipol causa toxidez nos animais que podem ser danosas a curto e longo prazo (CÂMARA *et al.*, 2015; GADELHA *et al.*, 2014). Buscando diminuir os teores deste composto nos alimentos, alguns estudos foram conduzidos e foram relatadas formas de diminuir sua concentração por processamento industrial, químico e biológico (PELITIRE; DOWD e CHENG, 2014; YANG *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2007). Nesse último caso, a atividade microbiana no silo pode reduzir o potencial tóxico desse alimento.

O uso de inoculantes microbianos tem sido muito relatado na literatura, pois atuam durante a fase de fermentação e, em alguns casos, durante a fase de abertura. As bactérias ácido láticas (BAL) mais usadas como inoculante são as que possuem metabolismo heterofermentativo, resultando na produção de ácido acético (TAYLOR e KUNG, 2002). Durante a fermentação, há oxidação do ácido lático para a produção do ácido acético por estas espécies, sendo isto favorável na diminuição da acidez e na estabilidade aeróbia. Isso acontece porque o ácido acético é mais fraco que o ácido lático, além do que possui propriedades antifúngicas, inibindo o desenvolvimento das leveduras na silagem exposta ao ar, resultando em baixa deterioração (WILKINSON e DAVIES, 2013).

As BAL homofermentadoras, por sua vez, tem seu potencial de uso em silagens com maior capacidade tampão, haja vista que a rápida acidificação inicial é primordial para diminuir as perdas de energia do processo como também inibir microrganismos indesejáveis (DA SILVA et al., 2017). Ao confeccionar silagens com torta, principalmente com aditivos nutricionais ricos em proteína, como a torta de algodão, pode-se ter um efeito tamponante capaz de interferir na acidificação à níveis acima dos recomendados, onde o pH das silagens seja maior que 4,2 (MCDONALD, HENDERSON e HERON, 1991). Com isso, é essencial avaliar o potencial destes microrganismos em acidificar o meio mesmo em condições hipoteticamente limitantes.

Ao ensilar o sorgo forrageiro com a torta de algodão pode-se obter uma silagem de alta qualidade, devido as características desejáveis e, ao mesmo tempo, complementares, da torta de algodão e do sorgo forrageiro. Assim, o presente trabalho tem como hipóteses que as silagens aditivadas com torta de algodão terão: (i) tamponamento do meio, por se tratar de um concentrado proteico; (ii) diminuição da perda de efluentes nas silagens devido ao aumento do teor de matéria seca e; (iii) diminuição do teor de gossipol da torta de algodão através da ensilagem (destoxificação). As silagens inoculadas com inoculantes microbianos heterofermentativos terão: (i) menor acidificação da massa ensilada e, consequentemente, menor desenvolvimento das leveduras; (ii) melhora da estabilidade aeróbia das silagens, pois ambos afetam negativamente as leveduras e; (iii) cepas homofermentativas são capazes de acidificar o meio satisfatoriamente mesmo em condições tamponantes.

Com base no exposto, objetivou-se avaliar o perfil fermentativo, populações microbianas, estabilidade aeróbia, características bromátologicas e as perdas das silagens de sorgo forrageiro aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CAMPUS II PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA DISSERTAÇÃO

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

AREIA

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.Sorgo forrageiro

O sorgo é uma planta que apresenta alta produção de biomassa, fator este muito importante quando se busca segurança alimentar para os sistemas de produção animal em regiões Semiáridas. Perazzo *et al.*, (2017) estudando híbridos de sorgo cultivados na Paraíba no período chuvoso, relataram que a produção variou de 9 a 17 t MS ha⁻¹, sendo realizados dois cortes neste período. Este resultado demonstra a viabilidade do cultivo desta espécie em regiões de clima semiárido, em que busca-se sincronizar a estação de crescimento da cultura com a época de maior disponibilidade hídrica, a fim de otimizar a produção da forragem (CORDEIRO, 2020).

Ainda tem-se como vantagem a capacidade de ajuste osmótico do sorgo quando se encontra em condições de déficit hídrico, o que lhe confere a capacidade de extrair mais água do solo e manter a produção. Este mecanismo fisiológico permite que o sorgo torne sua pressão mais negativa através do acúmulo de solutos, como açúcares e íons (K+, Mg++, Cl-), possibilitando manter atividades como a absorção de água pelas raízes, o turgor celular, a condutância estomática e a fotossíntese, acumulando então biomassa (TURNER, 2018). Assim, o ciclo de crescimento do sorgo torna-se bem mais rápido quando comparado ao milho, considerando que o sorgo tem a vantagem de se adaptar mais facilmente às condições de déficit hídrico.

PERAZZO *et al.*, (2017) e SANTOS *et al.*, (2018) relatam que o corte do sorgo deve ser realizado quando o grão atinge o estágio leitoso/pastoso, entretanto, nesse estágio o teor de umidade encontra-se consideravelmente elevado, pois raramente consegue-se um teor de matéria seca igual ou superior a 300 g kg⁻¹, principalmente quando a cultura está em rebrota (Tabela 1). O teor de umidade presente no sorgo pode ser um fator limitante no processo de ensilagem, tendo em vista que pode aumentar significativamente as perdas por efluentes, pois segundo Mc Donald; Henderson; Heron (1991) o teor de 300 a 350 g kg⁻¹ de matéria seca (MS) é decisivo para produzir silagem de boa qualidade.

Um fato importante na estrutura morfológica do sorgo é que nos cultivares de aptidão forrageira há maior proporção de colmos em relação à panícula e ao rebrotar, ocorre intensificação no perfilhamento, incrementando a quantidade de colmos. A panícula, por sua vez, tem alto teor de MS e concentração de nutrientes, que incrementa a MS do material a ser ensilado. Nos cultivares forrageiros a panícula tem pouca proporção na biomassa total se comparados ao cultivares de duplo propósito e granífero. Apesar disso, no primeiro corte do

sorgo as panículas são maiores e há menor contribuição de colmos na biomassa total, ocorrendo o contrário no segundo corte (após a rebrota) o que resulta em maior teor de umidade (PERAZZO *et al.*, 2017; PINHO *et al.*, 2015).

Tabela 1. Características do sorgo forrageiro antes da ensilagem colhido em diferentes idades/composição

Cultivar	Colheita	g kg ⁻¹				Autor
Cuitivai	(dias)	MS	PB	CHOs	pH¹	Autor
BRS Ponta Negra*	85	351,2	30,6	318,2	3,66	Santos et al. (2018)
BRS Ponta Negra*	98	232,5	-	-	-	Perazzo et al. (2013)
BRS Ponta Negra	*	208,2	49,1	205,9	3,02	Pinho et al. (2015)
BRS 655 - C1#	105	290,4	102,2	173,3	3,91	Neto et al. (2017)
BRS 655 - C2#	105	282,1	106,0	211,6	3,81	Neto et al. (2017)
BRS 655	*	231,7	69,4	125,8	3,12	Pinho et al. (2015)
BRS 610 - C1#	105	228,9	95,1	184,4	3,92	Neto et al. (2017)
BRS 610 - C2#	105	256,1	101,3	199,5	3,73	Neto et al. (2017)
BRS 610 - C1*	71	269,4	-	-	-	Perazzo et al. (2017)
BRS 610 - C2*	80	220,6	-	-	-	Perazzo et al. (2017)
BRS 610	*	233,5	54,1	133,5	3,44	Pinho et al. (2015)
BRS 810	*	211,3	64,1	190,5	3,08	Pinho et al. (2015)
Volumax - C1*	71	313,1	-	-	-	Perazzo et al. (2017)
Volumax - C2*	80	269,4	-	-	-	Perazzo et al. (2017)
BR 601 [#]	119	310,5	59,7	-	3,59	Macedo et al. (2012)
S. bicolor	*	275,2	53,6	164,1	3,92	Filya; Sucu (2007)

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; pH: potencial hidrogeniônico; CHOs: carboidratos solúveis; C1: primeiro corte; C2: segundo corte. #grão no estágio farináceo duro. *grão no estágio leitoso/pastoso.

¹valor obtido após abertura final dos silos.

Fonte: adaptado de Cordeiro (2020)

Para a produção de uma silagem de alta qualidade, já foi demonstrado que a planta *in natura* precisa ter um teor de MS de 300 a 350 g kg⁻¹, carboidratos solúveis de 60 a 120 g kg⁻¹ e baixa capacidade tampão. Assim, a produção de ácido lático será adequada e, consequentemente, o meio terá maior acidificação e conservação da energia gerando um produto de boa qualidade. Além disso, a combinação destes fatores resulta numa faixa de pH que varia de 3,8 a 4,2, o que diminui as perdas no processo fermentativo e inibe o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis (MCDONALD; HENDERSON e HERON, 1991; PAHLOW *et al.*, 2003).

Nesse sentido, o sorgo pode ser bem aproveitado para produção de silagem, uma vez que tem baixa capacidade tampão e carboidratos solúveis bem acima de 120 g kg⁻¹ (Tabela 1).

O baixo teor de MS em alguns cultivares de sorgo, especialmente após a rebrota, são considerados os pontos negativos desta planta, porém, alguns trabalhos demonstraram que para gramíneas tropicais colhidas no ponto ideal o valor de MS fica em torno de 250 g kg⁻¹, resultando em silagens com pH em torno de 4,5. Mesmo assim, o padrão fermentativo destas silagens mostrou-se adequado e foi possível obter um produto de boa qualidade (PINHO *et al.*, 2013; ZANINE *et al.*, 2010).

Assim, independentemente do teor de umidade do sorgo forrageiro, sua faixa de pH ocorre dentro da preconizada ou até mesmo inferior a esta, como pode ser visto na Tabela 1. Isso significa dizer que a alta umidade não interfere na acidificação da massa, mas a alta concentração de carboidratos solúveis (CHOs) acaba se tornando um problema. O elevado teor de CHOs no sorgo é devido à sua fisiologia, pois realiza com grande eficiência ajustes osmóticos em situações de déficit hídrico (JONES e TURNER, 1978). Para tanto, ocorre a concentração de açúcares para realizar tal ajuste sendo a sacarose, glicose e frutose os principais, contribuindo com aproximadamente 30% dos solutos (TURNER, 2018).

A importância dos CHOs no processo de ensilagem é grande pois são eles os principais substratos para o crescimento dos diversos microrganismos ali presentes. O grupo de microrganismos desejáveis são as bactérias ácido láticas (BAL), que utilizam os CHOs e o convertem majoritariamente a ácido lático (MUCK, 2010). Nesse sentido, o objetivo em fazer a silagem é de inibir os microrganismos indesejáveis através da rápida acidificação, pois eles causam diminuição da qualidade das silagens (PAHLOW *et al.*, 2003). Neste grupo de microrganismos indesejáveis encontram-se as leveduras, que são as principais competidoras das BAL quando em silagens de sorgo, apresentando populações superiores a 5 log UFC g⁻¹ de silagem (SANTOS *et al.*, 2018; SUCU *et al.*, 2016; WEINBERG *et al.*, 2011).

Devido ao excesso de CHOs no sorgo as BAL realizam a conversão em ácido lático e ocorre uma maior acidificação do meio, caindo numa faixa de pH menor que 3,5 e favorece a propagação de leveduras ácido tolerantes (MUCK, 2010). Desse modo, inicia-se a produção de etanol, CO₂ e H₂O a partir de glicose durante o processo fermentativo, podendo atingir perdas de MS de até 48% (DA SILVA *et al.*, 2017).

A utilização da cultura do sorgo tem sido amplamente difundida para fins de ensilagem, porém, faz-se necessário melhorar as condições fermentativas para que as perdas durante o processo e após a abertura dos silos não sejam tão elevadas. Portanto, nos tópicos seguintes serão feitas algumas considerações sobre as alternativas para otimizar o uso das silagens de sorgo forrageiro.

1.2. Processo fermentativo e estabilidade aeróbia de silagens

A conservação da forragem na forma de silagem depende do ambiente anaeróbio no interior do silo, pois é baseada em uma fermentação lática que proporciona a diminuição do pH, estando associada à alta pressão osmótica que inativa os microrganismos, preservando o valor nutritivo da forragem fresca. O princípio da produção de silagem está no ambiente anaeróbio e na fermentação dos carboidratos solúveis da cultura pelas bactérias epifíticas do ácido lático (BAL) bem como a produção do mesmo. No entanto, dependendo da disponibilidade de substrato, das populações microbianas predominantes, do teor de matéria seca (MS) e da capacidade de tamponamento da cultura na ensilagem, é provável que ocorra diferentes vias de fermentação (DA SILVA *et al.*, 2017).

A capacidade de tamponamento refere-se a resistência da silagem ao abaixamento do pH, que é influenciada pela presença e quantidade de proteína bruta, íons inorgânicos, ácidos orgânicos, entre outros compostos presentes na cultura (BUXTON e O'KIELY, 2003).

Uma boa fermentação associa-se a redução do pH em decorrência ao ácido produzido em condições anaeróbias, promovido pela quantidade de substrato disponível nesse processo, o qual deve promover níveis apropriados à conservação. Cada forrageira possui uma característica inerente a capacidade de tamponamento, sendo esta por sua vez capaz de influenciar na demanda de ácido necessário ao abaixamento do pH. Assim sendo, além do conteúdo de carboidratos solúveis de uma forragem, a capacidade de tamponamento também deve ser levada em consideração como parâmetro de adequação de uma forrageira à ensilagem (TOMICH et al., 2003).

Os carboidratos solúveis em água, apresentam uma faixa de valores ótimos consideravelmente estreita (60-80 g/kg de matéria seca), pois são substratos prontamente disponíveis para as bactérias ácido láticas e outros microrganismos (MCDONALD; HENDERSON E HERON, 1991) Além disso, culturas que apresentam um alto teor de açúcares, quando ensiladas, podem estimular o crescimento de leveduras anaeróbias que resistem ao baixo pH, o que resulta em perdas de MS, pois a fermentação segue pela via do etanol (KUNG JÚNIOR, 2010).

As leveduras são fungos unicelulares, eucarióticos e capazes de proliferar em meios aeróbicos e anaeróbicos (AZHAR *et al.*, 2017). Devido à sua grande versatilidade para obter energia em meios distintos, as leveduras não fermentadoras (aeróbicas) obtêm energia para seu metabolismo por meio da oxidação de carboidratos (via Embden-Meyerhof), resultando em

altos rendimentos energéticos, uma vez que o transportador NADH transfere seus elétrons ao O₂ na respiração mitocondrial.

Em contrapartida, quando as concentrações de O₂ diminuem até estabelecer a anaerobiose, algumas espécies moderadamente fermentadoras (anaeróbicas facultativas) e as fermentadoras (anaeróbicas) realizam a glicólise, porém, o aceptor de elétrons não é mais o O₂ mas sim o acetaldeído, como forma de regenerar o NAD⁺, produzindo etanol e CO₂ (NELSON e COX, 2018; VAN DIJKEN e SCHEFFERS, 1986).

No processo de ensilagem, as leveduras podem atuar tanto nas fases iniciais onde há presença de oxigênio (O₂) como durante a fermentação, ou seja, na ausência de O₂ (PAHLOW *et al.*, 2003). Desse modo, as leveduras tornam-se grandes competidoras das BAL, pois ambas necessitam de carboidratos solúveis para produção de energia e, consequentemente, sua propagação no meio. Assim, existem espécies caracterizadas por utilizar apenas um tipo de monossacarídeo como também algumas são capazes de usar mais de um monossacarídeo como substrato para oxidação (FIECHTER e SEGHEZZI, 1992; PAHLOW *et al.*, 2003).

As leveduras são geralmente os microrganismos iniciadores da deterioração aeróbia, consumindo açúcares e ácidos produzidos durante o processo fermentativo, elevando a temperatura e o pH da silagem (PAHLOW *et al.*, 2003). O padrão geral de deterioração tem sido conhecida há cerca de duas décadas. Trabalhos recentes, sobre deterioração aeróbia, tem sido realizados a partir de estudos e pesquisas sobre inoculantes para inibição da taxa de deterioração da massa ensilada (MUCK, 2013).

O principal objetivo de produzir silagem é maximizar a preservação dos nutrientes originais da cultura, para alimentação posterior. Silagens com fermentações indesejaveis resultam em perdas de energia, perdas de materia seca, baixa estabilidade aerobia e baixo valor nutritivo em geral, podendo reduzir o consumo e influenciar negativamente nos lucros da produção animal (KUNG JÚNIOR, 2018).

Quando a fermentação da silagem está completa e a mesma for mantida longe do ar, a silagem permanece razoavelmente estável por muito tempo, podendo passar até anos. No entanto, se a silagem for exposta ao ar durante o armazenamento (por exemplo, silos com vazamento, orifícios em silos de saco, silagem mal embalada) ou na abertura dos silos para alimentar os animais, na presença do ar, as leveduras degradam o ácido e o calor produzido pela respiração proporciona um aumento no pH favorecendo o desenvolvimento de bolores e microrganismos aeróbios o que proporcionam a deterioração (KUNG JÚNIOR, 2018).

1.3. Aditivos e as melhorias na ensilagem

Ao produzir silagens é necessário realizar o manejo correto em todas as etapas para alcançar um adequado processo fermentativo e, consequentemente, um produto de qualidade. Mesmo com todos os cuidados necessários, algumas silagens não apresentam uma boa fermentação sendo necessário utilizar aditivos como forma de proporcionar melhorias neste processo. Um dos problemas mais comuns nas silagens de sorgo é a alta umidade e o baixo pH, podendo-se usar aditivos específicos para corrigir estes problemas.

Os aditivos são classificados conforme sua função podendo atuar como estimulantes da fermentação, inibidores da fermentação, inibidores de deterioração aeróbia, aditivo nutricional e absorventes de umidade (MC DONALD, 1981).

Apesar da classificação ser bem específica, um determinado aditivo pode exercer mais de uma função. Isso resulta num aditivo com múltiplas funções e a depender das características da forragem ensilada podem-se explorar as diversas funções do aditivo usado (SANTOS *et al.*, 2018; VIANA *et al.*, 2013).

Como visto anteriormente, o sorgo apresenta um elevado teor de CHOs o que resulta numa rápida acidificação da massa ensilada, fato contrário à maioria das gramíneas tropicais, pois estas precisam ser aditivadas com fontes de carboidratos prontamente disponíveis para favorecer esta acidificação (ZANINE *et al.*, 2010). Assim, nas silagens de sorgo busca-se um efeito contrário, ou seja, tem-se como intuito usar aditivos que promovam o tamponamento do meio.

Os aditivos inibidores de fermentação são importantes na produção de silagens de sorgo de boa qualidade, pois causam o efeito tamponante desejado. Comprovando isso, Santos *et al.*, (2018) avaliando a inclusão de ureia (0 a 4%) nas silagens de sorgo verificaram que houve aumento do pH à medida que adicionou-se ureia, com diminuição das contagens de leveduras. Desse modo, a produção de etanol diminuiu linearmente enquanto o teor de ácido lático não foi alterado, mostrando que a ureia teve um efeito satisfatório inibindo as leveduras mas sem afetar as BAL. Apesar dos bons resultados fermentativos, a perda por efluentes foi alta oscilando de 75 a 108 kg silagem t⁻¹, em função da alta umidade do sorgo.

A umidade elevada é um problema recorrente nas silagens de sorgo, pois os principais cultivares tem alta umidade em seu ponto ótimo (Tabela 1) e, principalmente, quando estão em condição de disponibilidade hídrica (período chuvoso, por exemplo). É imprescindível, portanto, que um aditivo absorvente de umidade seja utilizado a fim de solucionar este problema haja vista que o uso da ureia melhorou a fermentação. Porém, os trabalhos na literatura abordando a inclusão de aditivos absorventes de umidade nas silagens de sorgo são incipientes o que leva à necessidade de estudos abordando este tema.

Como as silagens de capins tropicais tem sido bem utilizadas e recomendadas atualmente, encontra-se frequentemente na literatura os efeitos dos aditivos nessas silagens. Como o capim elefante (*Pennisetum purpureum*) é uma das gramíneas tropicais mais produtivas, muitos trabalhos tem relatado os efeitos positivos dos aditivos no processo de ensilagem (DIAS *et al.*, 2019; ÍTAVO *et al.*, 2010). Assim, Viana *et al.*, (2013) avaliaram diferentes níveis de inclusão do farelo de algodão nas silagens de capim elefante mostraram que houve diminuição significativa das perdas por efluentes, reduzindo de 142 kg MF t⁻¹ nas silagens puras para 1,5 kg MF t⁻¹ nas silagens mistas com 28% de inclusão (nível máximo de inclusão). Associado a isso, verifica-se que o teor de umidade das plantas eram de 180,5 g kg⁻¹ e, à medida que se incluiu o farelo, houve um aumento linear da MS atingindo o teor recomendado (300 a 350 g kg⁻¹).

De maneira similar, Zanine *et al.*, (2010) incluíram diferentes níveis de raspa de mandioca nas silagens de capim elefante com o intuito de elevar o teor de MS como o de CHOs. Os autores observaram que nos maiores níveis utilizados (15 e 30%) a MS aumentou (283 e 326 g kg⁻¹, respectivamente) como também o teor de CHOs, resultando em acidificação adequada (ph \approx 3,8). Além disso, as perdas por efluentes diminuíram significativamente o que levou ao aumento na recuperação de matéria seca das silagens aditivadas.

O princípio de atuação do aditivo absorvente de umidade se aplica a qualquer planta forrageira e os resultados experimentais demonstram que há redução satisfatória nos efluentes em função do aumento no teor de MS. Ainda, estes trabalhos mostram a multifuncionalidade dos aditivos pois além de atuarem como absorventes de umidade, promoveram um incremento no teor proteico das silagens (SANTOS *et al.*, 2018; VIANA *et al.*, 2013) e, em um caso específico, teve a função de absorvente e estimulante da fermentação, pois forneceu substrato para as BAL (ZANINE *et al.*, 2010).

Além dos benefícios durante a fase de fermentação, os aditivos também podem promover melhorias na fase de abertura dos silos onde há contato do oxigênio com a silagem. Nessa etapa fundamental os produtos gerados na fermentação são oxidados por microrganismos indesejáveis que foram inibidos pela acidificação do meio, sendo as leveduras as principais responsáveis pela colonização inicial, pois se propagam em meio aeróbio e anaeróbio utilizando os carboidratos solúveis e o ácido lático disponíveis. Com o passar do tempo os mofos e outras bactérias (*Clostridium* spp., enterobactérias) vão colonizando a massa e as temperaturas se elevam devido a oxidação dos nutrientes presentes e dos ácidos produzidos na fermentação. Assim, há aumento do pH com consequente diminuição da qualidade da silagem por conta do

consumo dos nutrientes e da produção de compostos antiqualitativos (MUCK, 2010; WILKINSON e DAVIES, 2013).

Uma das formas mais descritas na literatura de diminuir estes efeitos negativos é usando inoculantes bacterianos, onde o principal grupo usado é o das bactérias ácido láticas heterofermentativas (*Lactobacillus buchneri*), pois produzem ácido acético, além do ácido lático (TAYLOR e KUNG, 2002). O ácido acético apresenta uma característica potencialmente antifúngica e inibe a colonização inicial das leveduras na silagem exposta ao ar, resultando em baixa deterioração (MOON, 1983; WILKINSON e DAVIES, 2013).

Naturalmente, as silagens de sorgo possuem em sua microbiota epifítica uma alta população de leveduras e, dadas as condições adequadas para seu crescimento, ocorre uma rápida deterioração quando expostas ao ar (ABRÃO *et al.*, 2017). Na busca por otimizar o processo fermentativo e a estabilidade aeróbia das silagens, Filya e Sucu (2007) avaliaram diferentes silagens com aditivos microbianos e químicos, incluindo a silagem de sorgo. Os autores verificaram que as silagens inoculadas com *L. buchneri* tiveram menor acidificação (pH 4,4), menor teor residual de CHOs, maior produção de ácido acético, menores contagens de leveduras e melhor estabilidade aeróbia (após 5 dias) se comparados com as silagens controle e as inoculadas com *L. plantarum*.

Estes resultados demonstram a capacidade desta espécie bacteriana possibilitar uma adequada fermentação e de inibir a proliferação das leveduras quando há exposição ao ar. A estabilidade aeróbia das silagens tem sido um fator muito relevante na literatura científica nos últimos anos devido às elevadas perdas que podem acontecer em decorrência da rápida deterioração, onde se observa que as características fermentativas por si só não são mais suficientes para determinar uma boa silagem, devendo-se considerar a estabilidade das mesmas.

Avaliando silagens de sorgo quanto à estabilidade aeróbia, Santos *et al.*, (2018) relataram que as silagens atingiram mais de 31°C em aproximadamente 9h após exposição ao ar, evidenciando uma rápida deterioração. Ainda, Weinberg *et al.*, (2011) avaliaram as silagens de sorgo quando expostas ao ar por 7 dias e relataram aumento significativo nas populações de mofos e leveduras ao longo desses dias. A partir do 3° dia foi observada a maior contagem de leveduras, enquanto os mofos tiveram maiores contagens no último dia como resultado do longo período de exposição. Isso demonstra que mesmo o processo fermentativo sendo adequado há a necessidade de se considerar quais aditivos podem melhorar a estabilidade das silagens, a fim de ter um produto de qualidade.

Alguns trabalhos investigaram ainda a possibilidade de combinar diferentes cepas de bactérias ácido láticas para inoculação no momento da ensilagem. A premissa em questão é de

que as cepas homofermentativas teriam maior domínio inicial da massa ensilada, acidificando rapidamente a massa e diminuindo o pH devido à produção de ácido lático, enquanto as cepas heterofermentativas atuariam "sequencialmente" às primeiras, convertendo o ácido lático em acético. A ideia em si é pertinente, no entanto, ao avaliar a eficácia deste método os estudos demonstram que os resultados não são como o esperado.

Nesse contexto, Kung e Ranjit (2001) relataram que a combinação de *L. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* e *Propionibacterium freudenreichii* possibilitaram uma ótima fermentação (pH 4,12; alta proporção de ácido lático e relação ácido lático:acético e menor teor de etanol), no entanto, a estabilidade aeróbia foi a pior entre os tratamentos avaliados (diferentes doses de aplicação de *L. buchneri* e solução de ácido propiônico). Ao utilizar apenas o *L. buchneri*, independente da dose, os autores observaram aumentos significativos na estabilidade aeróbia das silagens estudadas (em torno de 700 horas).

Buscando explorar uma potencial interação entre microrganismos e aditivos químicos na tentativa de incrementar a estabilidade aeróbia e o perfil fermentativo das silagens de ração completa, Chen *et al.*, (2019) aplicaram uma combinação de ácido propiônico e *L. plantarum* obtendo ótimos resultados fermentativos, com estabilidade aeróbia de aproximadamente 272 h. Este tipo de trabalho corrobora com o fato de que os aditivos são essenciais para produzir uma silagem de qualidade, atendendo os requisitos necessários para uma fermentação satisfatória e uma boa estabilidade aeróbia.

Mais recentemente, tem se buscado novas cepas bacterianas capazes de promover melhorias no processo fermentativo e na estabilidade aeróbia das silagens, pois tem-se vários relatos na literatura quando se trata do *L. buchneri*. Uma das espécies em destaque é o gênero *Weissella*, que tem reconhecida produção de compostos antifúngicos, como o ácido acético (FUSCO *et al.*, 2015). Algumas espécies do gênero foram identificadas como sendo da microbiota epifítica em silagens do restolho de milho (PANG *et al.*, 2011) e na palma forrageira (PEREIRA *et al.*, 2021)

Em estudo taxonômico de Fusco *et al.*, (2015) buscando explorar o potencial biotecnológico em microrganismos do gênero *Weissella*, relataram que estes microrganismos têm o potencial de produzir dextranos, que são polímeros de polissacarídeos com alto peso molecular produzidos extracelularmente e apresenta grande potencial probiótico. Nesse sentido, a utilização desse tipo de microrganismo além de possibilitar melhoria na estabilidade aeróbia, por ter metabolismo heterofermentativo, pode permitir ainda um maior desenvolvimento das BAL ali presentes, uma vez que a acidez inibe os demais microrganismos e os dextranos poderiam ser utilizados majoritariamente pelas BAL.

As informações na literatura sobre as características qualitativas das silagens de sorgo são vastas, permitindo realizar uma análise crítica com relação a eficiência nos métodos de confecção destas silagens haja vista que os problemas já são bem conhecidos. Portanto, são necessários estudos para promover a produção de uma boa silagem de sorgo avaliando a eficácia de aditivos capazes de controlar a umidade elevada, a rápida acidificação do meio e incrementar o teor proteico, explorando as diversas funções dos aditivos.

1.4. Torta de algodão e Gossipol

O gênero *Gossypium spp*. é um dos mais cultivados e inclui muitas espécies distribuídas em todo o mundo, mas apenas quatro são cultivadas para a fibra de algodão: *Gossypium hirsutum* L., *Gossypium barbadense* L., *Gossypium arboreum* L., e *Gossypium herbaceum* L sendo a espécie *G. hirsutum* L. a de maior importância econômica, produzindo cerca de 90% do algodão mundial (BORÉM *et al*, 2003; GADELHA *et al.*, 2014). Destinado primariamente para produção de fibras úteis na indústria têxtil, tem-se no caroço um "resíduo" deste processo que é reaproveitado para produção do óleo, o qual é obtido através da extração física e/ou química. A extração física (mecânica) consiste na prensagem do caroço e dá o conhecido aspecto da torta de algodão, subproduto utilizado na alimentação animal de ruminantes possuindo elevado teor proteico e lipídico (ROGERS; POORE e PASCHAL, 2002) (Tabela 2).

Tabela 2. Composição bromatológica da torta de algodão (g kg⁻¹)

MS	PB	EE	FDN	FDA	Autores
926	240	76	443	333	Silva <i>et al.</i> , (2016)
882,8	357,3	90,1	498,4	358,4	Dias et al., (2019)

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra insolúvel em detergente neutro; FDA: fibra insolúvel em detergente ácido.

Devido ao bom valor nutritivo, os subprodutos do algodão tem sido utilizados em dietas de ruminantes substituindo total ou parcialmente o farelo de soja, que tem um vasto uso na produção de rações (NAGALAKSHMI *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2016). Esta substituição tem se estabelecido, principalmente, pela possibilidade de diminuir os custos de produção uma vez que são subprodutos ao passo que a soja é um grão de alta demanda na alimentação humana e animal.

A torta de algodão apresenta algumas características que podem favorecer sua utilização com sorgo forrageiro, como o alto teor de MS. Assim, é possível realizar uma mistura entre estes ingredientes para permitir a ensilagem do sorgo com maior teor de MS e atingir os teores preconizados por McDonald; Henderson e Heron (1991), diminuindo as perdas por efluentes

decorrentes da alta umidade (DIAS *et al.*, 2019; VIANA *et al.*, 2013). Muitos trabalhos demonstram o potencial da torta de algodão em aumentar a MS na ensilagem do capim elefante, porém, trabalhos com sorgo são escassos além do que as características fermentativas destas plantas quando ensiladas são totalmente diferentes.

Por se tratar de um concentrado proteico, a torta de algodão auxilia no tamponamento do meio durante o processo fermentativo considerando a utilização em mistura com o sorgo forrageiro. Esta característica é essencial devido a acidificação excessiva que ocorre, conforme descrito anteriormente. Ressalta-se que ingredientes nitrogenados associados a forragens, exercem um efeito tamponante sobre a silagem (SANTOS *et al.*, 2018).

Nesse sentido, a proporção ideal de torta de algodão a ser misturada com o sorgo é algo a ser investigado, pois o efeito tamponante e o equilíbrio no teor de MS atuariam conjuntamente no interior do silo. Entretanto, ao falar dos produtos originados do algodão, deve-se atentar para o gossipol. Esta substância é um composto fenólico, com pigmentação amarelada, cristalino e insolúvel em água, sendo produzido por glândulas presentes nos caules, folhas, sementes e flores (GADELHA *et al.*, 2014). Keshmiri-Neghab e Goliaei (2014) relatam o potencial de ação do gossipol contra vírus, parasitas, bactérias e fungos auxiliando na defesa do vegetal, além do que influencia a fisiologia dos animais, possuindo propriedades antitumorais, antioxidantes e afetando negativamente a fertilidade.

Por conta dos efeitos negativos na reprodução e na nutrição, pois forma complexos com a proteína e minerais dietéticos, o uso dos subprodutos do algodão na alimentação animal é feito de forma cautelosa a fim de evitar prejuízos no desempenho animal (NAGALAKSHMI et al., 2007). Os ruminantes são mais tolerantes ao gossipol quando comparados aos não-ruminantes, pois estes têm um potencial de detoxificação no rúmen. Entretanto, se consumidos em excesso, observa-se o surgimento de sinais clínicos como toxidez hepática, inibição da gametogênese, distúrbios respiratórios, inflamação intestinal, perda de peso, anemia e imunotoxidade que podem aparecer no curto e médio prazo a depender da quantidade e período do fornecimento (CÂMARA et al., 2015; GADELHA et al., 2014; SANTOS et al., 2003; VILLASEÑOR et al., 2008).

Em função dos efeitos negativos do gossipol, alguns estudos foram realizados para buscar formas de diminuir o teor de gossipol nestes alimentos. Pelitire; Dowd e Cheng (2014) realizaram um tratamento químico com solventes (acetona e álcool) e ácidos (ácido fosfórico) com intuito de remover o gossipol do farelo de algodão. Os autores observaram que houve redução de 90 a 95% nos níveis de gossipol quando utilizou-se qualquer um dos solventes em presença do ácido fosfórico. Isso possibilitaria o uso do farelo de algodão sem restrições para

os animais, no entanto, os custos para realizar tal tratamento seriam elevados, tornando inviável o processo de remoção do gossipol em condições industriais.

Liadakis *et al.*, (1993) avaliaram a ação de solventes associados ao ácido clorídrico (em baixas concentrações) com intuito de reduzir o teor de gossipol da torta e farelo de algodão. Os autores relataram diminuição de 80% do gossipol livre, 22 a 40% do gossipol total e ainda um teor de proteína após a extração que varia de 301 a 338 g kg⁻¹. Os bons resultados mostram que é possível extrair o gossipol destes produtos, porém, similarmente ao processo anterior, é oneroso economicamente a purificação em larga escala.

Alternativamente, alguns autores têm obtido êxito em remover o gossipol dos subprodutos do algodão usando microrganismos. Além de ser um processo com menores custos de operação quando compara-se com a purificação industrial (solventes), tem-se o benefício de melhorar o teor de proteína, aminoácidos e coenzimas (secretadas pelos microrganismos). Alguns fungos uni e multicelulares são capazes de degradar o gossipol, como a *Candida tropicalis*, *C. capsuligena*, *Saccharomyces cerevisae*, *Torulopsis candida*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. oryzae* e *A. terrícola* (KHALAF e MELEIGY, 2008; YANG et al., 2012; ZHANG et al., 2006; ZHANG et al., 2007).

Nesse sentido, é possível realizar a destoxificação do gossipol através de outros sistemas biológicos, como o caso dos ruminantes. A destoxificação se dá pela ligação do gossipol à amônia ou aminoácidos livres presentes no líquido ruminal, ocorrendo o desaparecimento de 2 mols de lisina por mol de gossipol (REISER e FU, 1962). Quimicamente, este fenômeno é conhecido como reação de base Shiff, na qual um grupamento amina se liga ao gossipol e o inativa (KENAR, 2006).

No início dos estudos buscando a detoxificação, imaginava-se que os microrganismos ruminais eram responsáveis pela degradação do gossipol, no entanto, alguns trabalhos demonstraram o efeito tóxico para alguns microrganismos, sendo antagonista das principais leveduras oxidativas e em algumas bactérias (MARGALITH, 1967). Ainda, foi mostrado que a lactato desidrogenase, imprescindível na redução do piruvato à lactato, é afetada pelo gossipol, pois o mesmo é um competidor no sítio ativo da coenzima NAD⁺, inibindo a reação dos substratos (OLGIATI e TOSCANO JUNIOR, 1983).

Apesar disso, algumas BAL são capazes de sobreviver e acidificar o meio mesmo na presença do gossipol, fermentando principalmente a glicose, maltose e sucrose. O *L. plantarum* é capaz de utilizar estes carboidratos mais simples assim como a rafinose, lactose, celobiose e trealose (presentes na semente de algodão) (RAMOS *et al.*, 2011). Segundo estes autores, as BAL mais predominantes durante a fermentação do caroço de algodão foram *L. plantarum*, *L.*

vermiforme e *L. paracasei*, com outras espécies de BAL predominando no início do processo. Isso demonstra o potencial destes microrganismos em se adaptar ao meio e utilizar os substratos disponíveis para gerar energia, desenvolver-se e acidificar o meio.

Estas bactérias, principalmente o *L. plantarum*, tem um potencial de crescimento elevado graças a mudanças na composição de ácidos graxos da membrana citoplasmática, em resposta aos compostos fenólicos presentes no meio, produzindo assim enzimas que os degradam (JIMÉNEZ *et al.*, 2013; RODRÍGUEZ *et al.*, 2009). Como o processo de ensilagem requer anaerobiose e carboidratos solúveis para uma adequada fermentação e acidificação, respectivamente (DA SILVA *et al.*, 2017), é razoável considerar que as BAL atuem diretamente e indiretamente na inativação do gossipol, especialmente quando são utilizados a torta de algodão e sorgo forrageiro em mistura.

A atuação indireta das BAL no processo se dá pela acidificação do meio, que promoveria tal inativação. Esse cenário hipotético é válido, haja vista que ao acidificar o meio os ácidos produzidos liberam o hidrogênio e podem reduzir o gossipol em várias substâncias a depender do tipo de ácido. Nos experimentos de natureza química, observa-se que o gossipol é preservado por meio de reações em meio alcalino, temperaturas relativamente baixas e com poucos reagentes (KENAR, 2006). No entanto, quando há acidificação do meio associada a presença destes microrganismos, o gossipol é eliminado (PELITIRE; DOWD e CHENG, 2014; RAMOS *et al.*, 2011).

Analisando a literatura, observam-se características que permitem conservar e eliminar o gossipol, sempre em condições experimentais bem controladas de natureza química/industrial. Com isso, tem-se no processo de ensilagem um sistema biológico capaz de detoxificar a torta de algodão, pois as condições necessárias para a eliminação do gossipol são unificadas quando se faz a silagem. Para tanto, além da acidificação do meio (discutido anteriormente), nota-se que há uma mistura de inúmeras substâncias ativas no interior do silo (ácidos orgânicos, fontes nitrogenadas, minerais solubilizados, carboidratos solúveis) (DA SILVA *et al.*, 2017; PAHLOW *et al.*, 2003). Dessa maneira, a dinâmica é tão intensa que podese facilmente haver a oxidação, redução ou formação de complexos do gossipol com tais substâncias (KENAR, 2006).

Pesquisas vem mostrando a eficácia de tratamentos biológicos para detoxificação da torta de algodão, microrganismos como *Aspergillus oryzae* (LIM e LEE, 2011), *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisae* e *Aspergillus niger* (ZHANG *et al.*, 2006; YANG, GUO e SUN, 2011) apresentaram resultados positivos na degradação de gossipol livre.

No entanto apesar dos resultados encontrados evidenciando a ação biológica sobre a detoxificação do gossipol, outras pesquisas mostram a ação do gossipol na degradação de microrganismos, especialmente fungos. Foi demonstrado que esse composto possui atividades fitopatogênicas (BELL, 1967); bacteriostáticas (YILDIRIM-AKSOY, *et al.*, 2004) e antifúngicas (MEDENTSEV e AKIMENKO, *et al.*, 1997; PUCKHABER *et al.*, 2002); Por ser biologicamente ativo, o gossipol tem recebido atenção significativa e tem sido amplamente estudado nas últimas duas décadas.

Arinbasarova; Medentsev e Krupyanko, (2012), estudando o efeito do gossipol na cadeia respiratória mitocondrial do fungo *Yarrowia lipolytica*, concluíram que esse composto inibiu a transferência de elétrons em mitocôndrias fúngicas, o que levou a um disturio no metabolismo energético. Os mesmos autores também encontraram inibição da respiração das células de levedura que levou ao aumento da concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs) tóxicas para as células. O efeito tóxico do gossipol foi observado anteriormente em fungos (MEDENTSEV e AKIMENKO *et al.*, 1997; TURCO *et al.*, 2007; PUCKHABER *et al.*, 2002). A partir dos resultados obtidos por Arinbasarova; Medentsev; Krupyanko, (2012) podese dizer que a toxicidade do gossipol para fungos também pode ser explicada pelo efeito antimitocondrial: inibição da respiração celular e também estimulação da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs)

É importante salientar a falta de trabalhos abordando esta temática na literatura, o que torna necessário mais estudos que possam comprovar a eficácia da ação microbiana na detoxificação dos subprodutos do algodoeiro a partir da ensilagem, bem como avaliar a ação do gossipol sobre a inibição dos fungos no processo de ensilagem.

REFERÊNCIAS

ABRÃO, F. O., MEDEIROS, A. O., ROSA, C. A., GERASEEV, L. C., RODRIGUEZ, N. M., & DUARTE, E. R. Yeasts naturally occurring in sorghum silage. **Zootecnia Tropical**, v. 35, n. 1, p. 86–90, 2017.

ARINBASAROVA, A.Y.; MEDENTSEV, A. G. & KRUPYANKO, V. I. Gossypol Inhibits Electron Transport and Stimulates ROS Generation in Yarrowia lipolytica Mitochondria. **The Open Biochemistry Journal**, v. 6, p. 11–15, 2012.

AZHAR, S. H. M., ABDULLA, R., JAMBO, S. A., MARBAWI, H., GANSAU, J. A., FAIK, A. A. M., & RODRIGUES, K. F. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 10, n. November 2016, p. 52–61, 2017.

BELL, A. Formation of gossypol in infected or chemically irritated tissues of Gossypium species. **Phytopathology**, 1967, 57, 759-764.

- BORÉM, A., FREIRE, E. C., PENNA, J. C. V., & BARROSO, P. A. V. Considerations about cotton gene escape in Brazil: a review. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 3, n. 4, 2003.
- BUXTON, D. R. & O'KIELY, P. (Ed.). Preharvest plant factors affecting ensiling. **Silage science and technology**, v. 42, p. 199-250, 2003.
- CÂMARA, A. C. L., GADELHA, I. C. N., BORGES, P. A. C., DE PAIVA, S. A., MELO, M. M., & SOTO-BLANCO, B. Toxicity of gossypol from cottonseed cake to sheep ovarian follicles. **PLoS ONE**, v. 10, n. 11, p. 1–11, 2015.
- CHEN, L., YUAN, X. J., LI, J. F., DONG, Z. H., WANG, S. R., GUO, G., & SHAO, T. Effects of applying lactic acid bacteria and propionic acid on fermentation quality, aerobic stability and in vitro gas production of forage-based total mixed ration silage in Tibet. **Animal production science**, v. 59, n. 2, p. 376-383, 2019.
- CORDEIRO, J. W. B. **Níveis de torta de algodão em silagens de sorgo forrageiro**. 2020. Monografia (Bacharelado em zootecnia) Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2020.
- DA SILVA, T. C., DA SILVA, L. D., SANTOS, E. M., OLIVEIRA, J. S., & PERAZZO, A. F. Importance of the Fermentation to Produce High-Quality Silage. **Fermentation Processes**, p. 1–20, 2017.
- DANIEL, J. L. P., BERNARDES, T. F., JOBIM, C. C., SCHMIDT, P., & NUSSIO, L. G. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. **Grass and Forage Science**, v. 74, n. 2, p. 188–200, 2019.
- DIAS, E. C. B., CÂNDIDO, M. J. D., FURTADO, R. N., POMPEU, R. C. F. F., & SILVA, L. V. D. Nutritive value of elephant grass silage added with cottonseed cake in diet for sheep. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, n. 2, p. 321–328, 2019.
- FIECHTER, A. & SEGHEZZI, W. Regulation of glucose metabolism in growing yeast cells. **Journal of Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 27–45, 1992.
- 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.
- FUSCO, V., QUERO, G. M., CHO, G. S., KABISCH, J., MESKE, D., NEVE, H., ... & FRANZ, C. M. The genus Weissella: Taxonomy, ecology and biotechnological potential. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. MAR, 2015.
- GADELHA, I. C. N., FONSECA, N. B. S., OLORIS, S. C. S., MELO, M. M., & SOTO-BLANCO, B. Gossypol toxicity from cottonseed products. **Scientific World Journal**, v. 2014, n. Figure 1, p. 4–6, 2014.
- ÍTAVO, L. C. V., ÍTAVO, C. C. B. F., DA GRAÇA MORAIS, M., COELHO, E. M., & DIAS, A. M. Composição química e parâmetros fermentativos de silagens de capim-elefante e cana-de-açúcar tratadas com aditivos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n. 3, p. 606–617, 2010.
- JIMÉNEZ, N., CURIEL, J. A., REVERÓN, I., DE LAS RIVAS, B., & MUÑOZ, R.

Uncovering the Lactobacillus plantarum WCFS1 gallate decarboxylase involved in tannin degradation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 14, p. 4253–4263, 2013.

JONES, M. M. & TURNER, N. C. Osmotic Adjustment in Leaves of Sorghum in Response to Water Deficits. **Plant Physiology**, v. 61, n. 1, p. 122–126, 1978.

KENAR, J. A. Reaction chemistry of gossypol and its derivatives. **JAOCS**, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, n. 4, p. 269–302, 2006.

KESHMIRI-NEGHAB, H.; GOLIAEI, B. Therapeutic potential of gossypol: An overview. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 1, p. 124–128, 2014.

KHALAF, M. A. & MELEIGY, S. A. Reduction of free gossypol levels in cottonseed meal by microbial treatment. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 10, n. 2, p. 185–190, 2008.

KUNG JÚNIOR, L. Aerobic stability of silage. *In:* **Proceedings of the Alfalfa & Forage Symposium and Corn/Cereal Silage Conference**, Visalia, California, USA, 2010, p. 14.

KUNG JÚNIOR, L. Silage fermentation and additives. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 26, n. 3-4, 2018.

KUNG, L. & RANJIT, N. K. The effect of Lactobacillus buchneri and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 5, p. 1149–1155, 2001.

LIADAKIS, G. N., FLORIDIS, A., TZIA, C., & OREOPOULOU, V. Protein Isolates with Reduced Gossypol Content from Screw-Pressed Cottonseed Meal. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 6, p. 918–922, 1993.

LIM, S. J. & LEE, K. J. A microbial fermentation of soybean and cottonseed meal increases antioxidant activity and gossypol detoxification in diets for nile tilapia, oreochromis niloticus. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 42, n. 4, p. 494-503, 2011.

MACEDO, C. H. O., ANDRADE, A. P. D., SANTOS, E. M., SILVA, D. S. D., SILVA, T. C. D., & EDVAN, R. L. Perfil fermentativo e composição bromatológica de silagens de sorgo em função da adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 2, p. 371–382, 2012.

MARGALITH, P. Inhibitory effect of gossypol on microorganisms. **Applied microbiology**, v. 15, n. 4, p. 952–953, 1967.

MCDONALD, P. J.; HENDERSON, A. R. & HERON, S. J. E. **The Biochemistry of Silage**. 2nd. ed. Marlow, Bucks, UK: Cambridge University Press, 1991.

MCDONALD, P. The biochemistry of silage. Chichester: John Wiley & Sons, 1981. 218 p.

MEDENTSEV, A. G. & AKIMENKO, V. K. Effect of secondary metabolites and electron transfer inhibitors on naphthoquinone synthesis in Fusarium decemcellulare. **Microbiology** (New York, NY), v. 66, n. 6, p. 647-651, 1997.

MOON, N. J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and

- propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 55, n. 3, p. 453–460, 1983.
- MUCK, R E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. suppl spe, p. 183–191, 2010.
- MUCK, R. Recent advances in silage microbiology. **Agricultural and Food Science**, 22(1), 3-15. 2013.
- NAGALAKSHMI, D., RAO, S. V. R., PANDA, A. K., & SASTRY, V. R. Cottonseed meal in poultry diets: A Review. **The Journal of Poultry Science**, v. 44, p. 119–134, 2007.
- NELSON, D. L. & COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6^a ed. [s.l.] Artmed Editora, 2018.
- NETO, A. B., DOS REIS, R. H. P., DA SILVA CABRAL, L., DE ABREU, J. G., DE PAULA SOUSA, D., PEDREIRA, B. C., ... & DA SILVA CARVALHO, A. P. Fermentation characteristics of different purposes sorghum silage. **Semina: Ciencias Agrarias**, v. 38, n. 4, p. 2607–2618, 2017.
- OLGIATI, K. L. & TOSCANO JUNIOR, W. A. Kynetics of gossipol inhibition of bovine lactate dehydrogenase.pdf. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 115, n. 1, p. 180–185, 1983.
- OLIVEIRA, C. A. & MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 64–75, 2014.
- PAHLOW, G., MUCK, R. E., DRIEHUIS, F., ELFERINK, S. J. O., & SPOELSTRA, S. F. Microbiology of ensiling. **Silage science and technology**, v. 42, p. 31-93, 2003.
- PANG, H., ZHANG, M., QIN, G., TAN, Z., LI, Z., WANG, Y., & CAI, Y. Identification of lactic acid bacteria isolated from corn stovers. **Animal Science Journal**, v. 82, n. 5, p. 642–653, 2011.
- PELITIRE, S. M., DOWD, M. K. & CHENG, H. N. Acidic solvent extraction of gossypol from cottonseed meal. **Animal Feed Science and Technology**, v. 195, p. 120–128, 2014.
- PEREIRA, G. A., SANTOS, E. M., DE OLIVEIRA, J. S., DE ARAÚJO, G. G. L., DE SÁ PAULINO, R., PERAZZO, A. F., ... & LEITE, G. M. Intake, nutrient digestibility, nitrogen balance, and microbial protein synthesis in sheep fed spineless-cactus silage and fresh spineless cactus. **Small Ruminant Research**, v. 194, p.106-293, 2021.
- PERAZZO, A. F., SANTOS, E. M., PINHO, R. M. A., CAMPOS, F. S., RAMOS, J. P. D. F., AQUINO, M. M. D., ... & BEZERRA, H. F. C. Características agronômicas e eficiência do uso da chuva em cultivares de sorgo no semiárido. **Ciência Rural**, v. 43, n. 10, p. 1771–1776, 2013.
- PERAZZO, A. F., CARVALHO, G. G., SANTOS, E. M., BEZERRA, H. F., SILVA, T. C., PEREIRA, G. A., ... & RODRIGUES, J. A. Agronomic Evaluation of Sorghum Hybrids for Silage Production Cultivated in Semiarid Conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n.

- June, p. 1–8, 2017.
- PINHO, R. M. A., SANTOS, E. M., CARVALHO, G. G. P. D., SILVA, A. P. G. D., SILVA, T. C. D., CAMPOS, F. S., & MACEDO, C. H. O. Microbial and fermentation profiles, losses and chemical composition of silages of buffel grass harvested at different cutting heights. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, n. 12, p. 850–856, 2013.
- PINHO, R. M. A., SANTOS, E. M., OLIVEIRA, J. S. D., BEZERRA, H. F. C., FREITAS, P. M. D. D., PERAZZO, A. F., ... & SILVA, A. P. G. D. Sorghum cultivars of different purposes silage. **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 298–303, 2015.
- PUCKHABER, L., DOWD, M. K., STIPANOVIC, R. D., HOWELL, C. R. Toxicity of (+) and (-) -gossypol to the plant pathogen Rhizoctonia solani. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 24, 7017-7021. 2002.
- RAMOS, C. L., DE ALMEIDA, E. G., FREIRE, A. L., & SCHWAN, R. F. Diversity of bacteria and yeast in the naturally fermented cotton seed and rice beverage produced by Brazilian Amerindians. **Food Microbiology**, v. 28, n. 7, p. 1380–1386, 2011.
- REISER, R. & FU, H. C. The Mechanism of Gossypol Detoxification by Ruminant Animals. **The Journal of Nutrition**, v. 76, n. 2, p. 215–218, 1962.
- RODRÍGUEZ, H., CURIEL, J. A., LANDETE, J. M., DE LAS RIVAS, B., DE FELIPE, F. L., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., ... & MUÑOZ, R. Food phenolics and lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 132, n. 2–3, p. 79–90, 2009.
- ROGERS, G. M.; POORE, M. H. & PASCHAL, J. C. Feeding cotton products to cattle. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 267–294, 2002.
- SANTOS, A. P. M. D., SANTOS, E. M., OLIVEIRA, J. S. D., RIBEIRO, O. L., PERAZZO, A. F., MARTINS ARAÚJO PINHO, R., ... & PEREIRA, G. A. Effects of urea addition on the fermentation of sorghum (Sorghum bicolor) silage. **African Journal of Range and Forage Science**, v. 35, n. 1, p. 55–62, 2018.
- SANTOS, J. E. P., VILLASENOR, M., ROBINSON, P. H., DEPETERS, E. J., & HOLMBERG, C. A. Type of cottonseed and level of gossypol in diets of lactating dairy cows: Plasma gossypol, health, and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 3, p. 892–905, 2003.
- SILVA, R. V. M. M., DE CARVALHO, G. G. P., PIRES, A. J. V., PEREIRA, M. L. A., PEREIRA, L., CAMPOS, F. S., ... & DE CARVALHO, B. M. A. Cottonseed cake in substitution of soybean meal in diets for finishing lambs. **Small Ruminant Research**, v. 137, p. 183–188, 2016.
- SUCU, E., KALKAN, H., CANBOLAT, O., & FILYA, I. Effects of ensiling density on nutritive value of maize and sorghum silages. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 10, p. 596–603, 2016.
- TAYLOR, C. C. & KUNG, 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, n. 6, p. 1526–1532, 2002.

- TOMICH, T. R., PEREIRA, L. G. R., GONÇALVES, L. C., TOMICH, R. G. P., & BORGES, I. Características químicas para avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para qualificação da fermentação. **Embrapa Pantanal-Documentos** (**INFOTECA-E**), 2003.
- TURNER, N. C. Turgor maintenance by osmotic adjustment: 40 years of progress. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 13, p. 3223–3233, 2018.
- TURCO, E., VIZZUSO, C., FRANCESCHINI, S., RAGAZZI, A., & STEFANINI, F. M. The in vitro effect of gossypol and its interaction with salts on conidial germination and viability of Fusarium oxysporum sp. vasinfectum isolates. **Journal of applied microbiology**, v. 103, n. 6, p. 2370-2381, 2007.
- VAN DIJKEN, J. P. & SCHEFFERS, W. A. Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts. **FEMS Microbiology Letters**, v. 32, n. 3–4, p. 199–224, 1986.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. [s.l.] Cornell university press, 1994.
- VIANA, P. T., TEIXEIRA, F. A., PIRES, A. J. V., CARVALHO, G. G. P. D., FIGUEIREDO, M. P. D., & SANTANA JÚNIOR, H. A. D. Losses and nutritional value of elephant grass silage with inclusion levels of cottonseed meal. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 35, n. 2, p. 139–144, 2013.
- VILLASEÑOR, M., COSCIONI, A. C., GALVÃO, K. N., CHEBEL, R. C., & SANTOS, J. E. P. Gossypol disrupts embryo development in heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 8, p. 3015–3024, 2008.
- WEINBERG, Z. G., KHANAL, P., YILDIZ, C., CHEN, Y., & ARIELI, A. Ensiling fermentation products and aerobic stability of corn and sorghum silages. **Grassland Science**, v. 57, n. 1, p. 46–50, 2011.
- WILKINSON, J. M. & DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v. 68, n. 1, p. 1–19, 2013.
- YANG, X., SUN, J. Y., GUO, J. L., & WENG, X. Y. Identification and proteomic analysis of a novel gossypol-degrading fungal strain. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 4, p. 943–951, 2012.
- YANG X.; GUO J. & SUN J. Biodegradation of free-gossypol by a new fungus isolated from cotton planted soil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 19, p. 3066-3072, 2011.
- YILDIRIM-AKSOY, M., LIM, C., DOWD, M. K., WAN, P. J., KLESIUS, P. H., & SHOEMAKER, C. In vitro inhibitory effect of gossypol from gos-sypol-acetic acid (+)-and (-)-isomers of gossypol on the growth of Edwardsiella ictaluri. **Journal Applied Microbiology**, 2004, 97, 87-92.
- ZANINE, A. D. M., SANTOS, E. M., DE JESUS FERREIRA, D., & PEREIRA, O. G. Populações microbianas e componentes nutricionais nos órgãos do capim-tanzânia antes e após a ensilagem. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 143, 2007.

- ZANINE, A. D. M., SANTOS, E. M., DÓREA, J. R. R., DANTAS, P. A. D. S., SILVA, T. C. D., & PEREIRA, O. G. Evaluation of elephant grass silage with the addition of cassava scrapings. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2611–2616, 2010.
- ZHANG, W. J., XU, Z. R., SUN, J. Y., & YANG, X. Effect of selected fungi on the reduction of gossypol levels and nutritional value during solid substrate fermentation of cottonseed meal. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v. 7, n. 9, p. 690–695, 2006.
- ZHANG, W. J., XU, Z. R., ZHAO, S. H., JIANG, J. F., WANG, Y. B., & YAN, X. H. Optimization of process parameters for reduction of gossypol levels in cottonseed meal by Candida tropicalis ZD-3 during solid substrate fermentation. **Toxicon**, v. 48, n. 2, p. 221-226, 2006.
- ZHANG, W. J., XU, Z. R., ZHAO, S. H., SUN, J. Y., & YANG, X. Development of a microbial fermentation process for detoxification of gossypol in cottonseed meal. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, n. 1–2, p. 176–186, 2007.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CAMPUS II PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA DISSERTAÇÃO

CAPÍTULO 2 – NÍVEIS DE TORTA DE ALGODÃO EM SILAGENS DE SORGO FORRAGEIRO

AREIA

NIVEIS DE TORTA DE ALGODÃO EM SILAGENS DE SORGO FORRAGEIRO

RESUMO

Objetivou-se com esse trabalho determinar o nível ótimo de inclusão da torta de algodão na silagem de sorgo forrageiro avaliando o perfil fermentativo, populações microbianas, estabilidade aeróbia, perdas das silagens e composição bromatológica. Foi utilizado o sorgo forrageiro (Sorghum bicolor (L.) Moench.) cultivar BRS Ponta Negra com níveis de torta de algodão. Os silos foram abertos aos 55 dias após a ensilagem. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos foram arranjados da seguinte forma: T1 = apenas sorgo forrageiro; T2 = sorgo forrageiro + 5% de torta de algodão; T3 = sorgo forrageiro + 10% de torta de algodão; T4 = sorgo forrageiro + 20% de torta de algodão; T5 = sorgo forrageiro + 40% de torta de algodão. Na abertura dos silos, observouse que os teores de MS, MO, PB, EE aumentaram enquanto os níveis de FDN diminuíram, à medida que aumentou-se a inclusão de torta de algodão. O pH aumentou (p=0,0006) de forma linear em função dos níveis de torta de algodão enquanto os CHOs, CT e N-NH3 diminuíram linearmente (p<0,0001). Conforme aumentou o nível da torta de algodão a população de BAL aumentou até um nível máximo com 20% inclusão de torta, diminuindo em seguida. À medida que incluiu-se torta de algodão em níveis crescentes observou-se um decréscimo linear (p<0,0001) nas contagens de leveduras, nas perdas por gases e efluentes da silagem (p<0,0001), enquanto que para a recuperação de matéria seca e estabilidade aeróbia observou-se efeito linear crescente (p<0,0001). A utilização da torta de algodão como aditivo nutricional reduziu as perdas fermentativas, aumentou a recuperação de matéria seca, melhorou a estabilidade aeróbia e aumentou o valor nutritivo das silagens aditivadas. Nos níveis avaliados no presente trabalho, recomenda-se a utilização de 20% de inclusão da torta de algodão.

Palavras Chave: aditivo nutricional; gramínea tropical; subproduto; silagem aditivada

COTTON PIE LEVELS IN FODDER SORGHUM SILAGENS

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the optimal level of inclusion of cotton cake in forage sorghum silage by evaluating the fermentative profile, microbial populations, aerobic stability, silage losses and chemical composition. Forage sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench.) Was used to cultivate BRS Ponta Negra with levels of cotton cake. The silos were opened at 55 days after ensiling. A completely randomized design was used, with 5 treatments and 4 repetitions. The treatments were arranged as follows: T1 = only forage sorghum; T2 = forage sorghum + 5% cotton cake; T3 = forage sorghum + 10% cotton cake; T4 = forage sorghum +20% cotton cake; T5 = forage sorghum +40% cotton cake. At the opening of the silos, it was observed that the levels of MS, MO, PB, EE increased while the NDF levels decreased, as the inclusion of cotton cake increased. The pH increased (p = 0.0006) linearly as a function of the levels of cotton cake while the CHOs, CT and N-NH3 decreased linearly (p <0.0001). As the level of cotton cake increased, the BAL population increased to a maximum level with 20% inclusion of cake, then decreasing. As cotton cake was included at increasing levels, a linear decrease (p < 0.0001) was observed in yeast counts, in losses by gases and silage effluents (p <0.0001), while for dry matter recovery and aerobic stability an increasing linear effect was observed (p < 0.0001). The use of cotton cake as a nutritional additive reduced fermentative losses, increased the recovery of dry matter, improved aerobic stability and increased the nutritional value of the added silages. At the levels assessed in the present work, it is recommended to use 20% cotton cake inclusion.

Keywords: nutritional additive; tropical grass; by-product; additive silage

1. INTRODUÇÃO

O uso de silagens na alimentação animal é uma prática bastante difundida, que contribui no desenvolvimento produtivo e maximiza a rentabilidade dos sistemas de criação (STELLA *et al.*, 2016). A silagem de sorgo vem ganhando cada vez mais espaço como fonte de volumoso na região nordeste do Brasil (SILVA *et al.*, 2019), no entanto existem limitações durante o processo de ensilagem, que levam a perdas de nutrientes, relacionadas ao excesso de umidade e de carboidratos solúveis presentes no sorgo. Fernandes *et al.*, (2009), afirma que o sorgo apresenta um baixo teor proteico, que associado à sua baixa capacidade tamponante e elevado teor de carboidratos solúveis, permite uma maior redução do seu pH durante o processo fermentativo, o que pode afetar diretamente a qualidade da silagem.

Para uma fermentação adequada a planta in natura precisa ter um teor de matéria seca de 300 a 350 g kg-1, carboidratos solúveis de 60 a 120 g kg-1 e baixa capacidade tampão (MCDONALD; HENDERSON e HERON, 1991). O ponto de corte ótimo do sorgo é quando o grão atinge o estágio leitoso/pastoso (PERAZZO *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2018). No entanto, nesse ponto, o teor de matéria seca dificilmente ultrapassa os 300 g kg-1. Alguns estudos com a variedade do sorgo forrageiro BRS ponta negra comprovam esse fato, Perazzo *et al.*, (2013) relatam valores de 232,5 g kg-1 MS, enquanto Pinho *et al.*, (2015) observaram valores de 208,2 g kg-1 MS. O baixo teor de matéria seca pode influenciar negativamente o processo fermentativo, em consequência do maior teor de umidade, e com isso resultar em maiores perdas por efluentes.

O elevado teor de carboidratos presente no sorgo resulta em uma maior acidificação da massa ensilada (DANIEL *et al.*, 2019), tornando-se um problema, pois as leveduras ácido tolerantes produzem etanol a partir dos carboidratos solúveis e do ácido lático, resultando em perdas durante o processo fermentativo, além de serem as principais iniciadoras da deterioração aeróbia (SANTOS *et al.*, 2018). O autor supracitado avaliando a variedade de sorgo BRS ponta negra, demonstra o alto teor de carboidratos solúveis (318,2 g kg-1 CHOs), o que também é relatado por Pinho *et al.*, (2015) (205,9 g kg-1 CHOs).

Visando minimizar esses possíveis problemas alguns aditivos vem sendo utilizados no intuito de melhorar as características do produto final, principalmente no que se refere à qualidade nutricional da silagem. Sendo assim, a torta de algodão apresenta elevado potencial de uso como aditivo nutricional, pois além de ser um importante subproduto regional, com menor custo quando comparado a outras fontes proteicas (LIMA *et al.*, 2017), apresenta excelente composição bromatológica com alto teor de matéria seca, proteína e lipídeos (DIAS *et al.*, 2019).

A utilização da torta de algodão como aditivo nutricional na ensilagem do sorgo pode atingir os teores de matéria seca preconizados por McDonald; Henderson e Heron (1991), e dessa forma diminuir as perdas por efluentes decorrentes da alta umidade (DIAS *et al.*, 2019; VIANA *et al.*, 2013). Considerando a utilização da torta em mistura com o sorgo forrageiro, por se tratar de um concentrado proteico, a mesma pode influenciar positivamente no tamponamento do meio durante o processo fermentativo, sendo esta característica essencial, devido a acidificação excessiva que ocorre, conforme descrito anteriormente. Alguns autores demonstraram o potencial tamponante de substâncias nitrogenadas, principalmente em trabalhos com silagens (PINHO *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2018; ZANINE *et al.*, 2007).

No entanto, estudos devem ser realizados visando avaliar o nível ideal de inclusão a de torta de algodão em associação a silagem de sorgo. Já que a utilização da torta de algodão pode ser limitada devido ao gossipol, componente antinutricional presente no algodão, que pode ser nocivo a fisiologia dos animais (CÂMARA *et al.*, 2015; GADELHA *et al.*, 2014).

Alternativamente, alguns autores têm obtido êxito em remover o gossipol dos subprodutos do algodão usando microrganismos (KHALAF e MELEIGY, 2008; YANG *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2007). Como o processo de ensilagem requer anaerobiose e carboidratos solúveis para uma adequada fermentação e acidificação, respectivamente (DA SILVA *et al.*, 2017), é provável considerar que as BAL atuem diretamente e indiretamente na inativação do gossipol, principalmente quando utiliza-se a torta de algodão em associação ao sorgo.

Já outros autores relatam o potencial antifúngico do gossipol (MEDENTSEV e AKIMENKO *et al.*, 1997; PUCKHABER *et al.*, 2002; KESHMIRI-NEGHAB e GOLIAEI, 2014). Arinbasarova; Medentsev e Krupyanko (2012) observaram inibição da respiração celular de leveduras que levou ao aumento da concentração de espécies reativas de oxigênio, além disso estes autores destacam que o gossipol apresenta toxidez para fungos pelo efeito antimitocondrial que este composto exerce.

Dessa forma, objetivou-se determinar o nível ótimo de inclusão da torta de algodão na ensilagem de sorgo forrageiro avaliando o perfil fermentativo, populações microbianas, estabilidade aeróbia, perdas na ensilagem e composição bromatológica das silagens.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do Experimento

O sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) cultivar BRS Ponta Negra, foi cultivado na cidade de Barra de Santana – PB (07° 31' 13" S, longitude 35° 59' 59" W, altitude

350 m). As sementes foram plantadas em densidade de plantio de 74.100 sementes por hectare e espaçados com 0,8 m entre fileiras. Foi realizada irrigação, utilizando-se lamina de 440 mm durante o ciclo da cultura, e adubação orgânica, utilizando-se 15 tn/ha de esterco bovino.

O sorgo foi colhido e transportado ao Laboratório de Forragicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – Campus II - Areia, para a ensilagem.

2.2. Montagem do Experimento

O Sorgo foi colhido aos 100 dias após o plantio, quando os grãos apresentavam-se no estágio pastoso a farináceo. O corte foi efetuado manualmente, a 10 cm acima do solo, sendo o material cortado picado em máquina forrageira, obtendo-se partículas cujos tamanhos variaram de 2 a 5 centímetros.

Os silos experimentais foram confeccionados com tubos de policloreto de polivinila (PVC) possuindo 15 cm de diâmetro e 40 cm de altura, sendo vedados nas duas extremidades com tampas de PVC. Na parte superior de cada silo, foi adaptada uma válvula tipo Bunsen, visando a eliminação dos gases produzidos durante a fermentação. Foram adicionados 0,8 kg de areia nos silos com TNT (tecido não-tecido) para separar a areia da silagem, permitindo assim a drenagem dos efluentes.

A forragem foi moída em ensiladeira estacionária com partículas de aproximadamente 2 cm, seguindo-se da mistura com a torta de algodão nos diferentes níveis estabelecidos conforme os tratamentos. Feito isso, material foi compactado nos silos experimentais com bastões de madeira até atingir a densidade de aproximadamente 600 kg m⁻³. Os silos foram abertos aos 55 dias após a ensilagem.

2.3. Delineamento Experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 4 repetições, totalizando 20 silos experimentais. Os tratamentos foram considerados como sendo os diferentes níveis de torta de algodão nas silagens de sorgo, com a inclusão expressa em matéria natural. Os tratamentos foram arranjados da seguinte forma:

- 1. T1 = apenas sorgo forrageiro;
- 2. T2 = sorgo forrageiro + 5% de torta de algodão;
- 3. T3 = sorgo forrageiro + 10% de torta de algodão;
- 4. T4 = sorgo forrageiro + 20% de torta de algodão;
- 5. T5 = sorgo forrageiro + 40% de torta de algodão.

2.4. Mensurações

No dia da ensilagem (0 dias) foram coletadas amostras para análise de microbiologia, pH, CT, nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e composição bromatológica. Aos 55 dias (abertura), foi contabilizado o peso dos silos para quantificação das perdas por efluentes e recuperação de matéria seca, em seguida o material da superfície foi descartado (5 cm) enquanto o restante foi homogeneizado para coletas de amostras, feito isso, o material remanescente foi realocado no interior dos silos, sem compactação, para avaliação da estabilidade aeróbia. Os procedimentos metodológicos de cada análise realizada estão descritos detalhadamente a seguir.

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com protocolo do laboratório de forragicultura do CCA/UFPB, sendo realizadas diluições em série das silagens numa faixa de 10⁻¹ a 10⁻⁶, sendo utilizadas placas de Petri estéreis no plaqueamento. Para a diluição 10⁻¹, 25 g de silagem foram diluídos em 225 ml de solução tampão fosfato estéril, e em seguida, diluições seriadas foram conduzidas. Os meios de cultura usados foram seletivos para cada grupo de microrganismo. As BAL foram isoladas em meio ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (KASVI, Conda S.A., Espanha), acidificadas com 1,4% de ácido acético. Os mofos e leveduras (ML) foram isolados em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Agar), adicionandose ácido tartárico à 10%. Ambos os grupos foram incubados em BOD à 35 °C, onde as contagens de BAL e ML foram realizadas 48 h e 72 h após a incubação, respectivamente. As colônias foram contadas em placas que tinham de 30 a 300 unidades formadoras de colônia (UFC).

As mensurações do pH foram realizadas com auxílio de um potenciômetro, utilizandose amostras de 25 g de cada repetição adicionando 100 mL de água destilada, seguindo de repouso por 1 hora (BOLSEN *et al.*, 1992).

Para determinar o N-NH₃ foi utilizada a técnica da solução acidificada com ácido sulfúrico (0,05 N) realizando-se as leituras em espectrofotômetro, conforme metodologia descrita por Vieira (1980).

Além disso, amostras da silagem foram avaliadas quanto à capacidade tamponante (PLAYNE; MCDONALD, 1966)

Foram coletadas amostras de aproximadamente 250 g para realização das análises bromatológicas, sendo estas imediatamente colocadas em estufa de circulação forçada de ar à 60 °C por 72 h. Após esse período, anotaram-se os pesos e seguiu-se com a moagem do material em moinho tipo facas com partículas de 1 mm. O material foi acondicionado em recipientes vedados para impedir a absorção de umidade. As concentrações de MS (método 934.01) foi analisada conforme o AOAC (1990), PB (método 984.13), EE (método 920.85) (AOAC, 1990).

As análises da FDN e FDA foram de acordo com a metodologia do INCT, seguindo-se as recomendações de Detmann *et al.*, (2012) (FDN; Método INCT-CA F-001/1e FDA; Método INCT-CA F-003/1), sendo realizada análise sequencial da FDN e FDA nas amostras. Enquanto os carboidratos solúveis foram determinados conforme Dubois *et al.*, (1956). Nas tabelas 1 e 2 estão apresentados os valores das referidas análises no dia da ensilagem (dia 0).

Tabela 1. Composição Bromatológica, Valores de pH, Carboidratos Solúveis (CHOs) e Capacidade Tamponante (CT) do sorgo forrageiro com níveis crescentes de torta de algodão no momento da ensilagem

Variáveis	Níveis de torta de algodão (% MN)								
MS	0	5	10	20	40				
MS	29,56	31,35	34,48	44,53	51,60				
MO	93,36	94,40	94,96	95,85	97,26				
PB	6,78	10,56	11,45	17,38	21,24				
EE	2,02	3,50	4,12	5,93	8,12				
FDN (%MS)	63,58	61,93	60,71	57,34	55,60				
FDA (%MS)	34,62	37,99	36,66	37,24	37,47				
pH	5,31	5,42	5,51	5,63	5,73				
CHOs (%)	20,20	18,83	16,87	12,02	10,17				
CT	0,073	0,083	0,081	0,076	0,078				

MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; CHOs = carboidratos solúveis; CT=Capacidade Tampão

Tabela 2. Contagens microbianas do sorgo forrageiro com níveis crescentes de torta de algodão no momento da ensilagem

Variáveis	Níveis de torta de algodão (% MN)								
variaveis	0	5	10	20	40				
BALa	6,76	6,46	6,44	6,38	6,39				
$Mofos^b$	4,69	4,58	4,57	4,48	4,60				
Leveduras ^c	5,13	4,88	4,89	4,80	4,70				

^{abc}Log UFC g⁻¹ silagem; BAL = bactérias ácido láticas; EPM = erro-padrão da média

As perdas de matéria seca foram quantificadas por diferenças de peso conforme as equações abaixo descritas por Zanine *et al.*, (2010):

- PG: (PSF PSA)/(MFf x MFSf) x 1000, 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 x 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 x MSa)/(MFf x MSf) x 100, onde RMS = recuperação de matéria seca (%);
 MFa = massa de forragem na abertura (kg); MSa = teor de MS na abertura (%); MFf = massa de forragem na ensilagem (kg); MSf = teor de MS na ensilagem (%).

Para determinação da estabilidade aeróbia, as amostras foram coletadas no momento da abertura dos silos e realocadas em silos limpos, sem necessidade de compactação. Dois termômetros foram acoplados no centro da massa de cada silo e a temperatura foi registrada a cada 30 minutos. A temperatura ambiente foi mantida sob controle, à 25 °C. A estabilidade aeróbia foi calculada como sendo o número de horas que a massa ensilada permanece com até 2°C acima da temperatura ambiente (TAYLOR e KUNG, 2002).

2.5. Análise Estatística

Os dados da microbiologia foram transformados em \log_{10} e apresentados nas tabelas com base na matéria fresca. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão, ambos com nível de significância de 5%, com auxílio do procedimento de modelos lineares gerais (PROC GLM) do pacote estatístico SAS v. 9.2 (SAS, 2012). Os modelos de regressão foram selecionados com base na significância dos parâmetros estimados pelos modelos e pelos valores dos coeficientes de determinação (R^2). O seguinte modelo estatístico foi utilizado: $Y = \mu + Tj + eij$, em que: $\mu =$ média geral; Tj = efeito da inclusão da torta de algodão; eij = erro residual.

3. RESULTADOS

Na abertura dos silos verificou-se a mesma tendência da ensilagem, com aumentos lineares nos teores de MS (p<0,0001), MO (p=0,0002), PB (p<0,0001) e EE (p<0,0001) e diminuição linear da FDN (p<0,0001), não havendo efeito significativo para FDA (Tabela 3).

Tabela 3. Composição Bromatológica de silagens de sorgo com níveis de torta de algodão

Variáveis	Nív	eis de tor	ta de algo	odão (% I	- EPM -	Proba	bilidade	
variaveis	0	5	10	20	40	- LPNI -	Linear	Quadrático
MS ^a	26,01	28,92	31,39	37,32	51,30	2,07	< 0,0001	< 0,0001
MO^b	93,63	93,69	94,29	94,69	96,04	0,86	0.0002	0.8920
PBc	6,52	10,39	12,41	20,38	21,66	1,07	< 0,0001	< 0,0001
EE^d	6,23	5,93	6,66	7,69	9,49	0,43	< 0,0001	0,3334
FDN^e	64,75	63,61	62,60	59,43	57,38	2,00	< 0,0001	0,2588
FDA^f	39,89	38,59	40,04	38,60	39,51	2,22	0,9187	0,6094
			Equa	ções de re	gressão			

 $^{^{}a}\hat{Y} = 17,294 + 5,898.X$

 $^{^{}b}\hat{Y} = 95.54 + 0.062x$

 $R^2 = 0.86$

 $R^2 = 0,54$

$^{\circ}\hat{Y} = 8.08 + 0.36.X$	$R^2 = 0.96$
$^{\mathrm{d}}\hat{Y} = 5.86 + 0.09 X$	$R^2 = 0.91$
$^{\mathrm{e}}\hat{Y} = 64,39 - 0,19.X$	$R^2 = 0.67$

^aMS = matéria seca; ^bMO = matéria orgânica; ^cPB = proteína bruta; ^dEE = extrato etéreo; ^cFDN = fibra em detergente neutro; ^fFDA = fibra em detergente ácido

O pH aumentou (p=0,0006) de forma linear em função dos níveis de torta de algodão enquanto os CHOs, CT e N-NH₃ diminuíram linearmente (p<0,0001). A diminuição do teor de CHOs já na ensilagem resultou em diminuição linear também nos carboidratos residuais (pósfermentação), os quais ocorrem em maior quantidade no sorgo (Tabela 4).

Tabela 4. pH, carboidratos solúveis residuais, nitrogênio amoniacal e matéria seca de silagens de sorgo com níveis de torta de algodão

Variáveis	Nívo	eis de tor	ta de algo	dão (%]	MN)	EPM	, Probabilidade		
variaveis	0	5	10	20	40	EPW	Linear	Quadrático	
pH ^a	3,64	3,64	3,71	3,86	4,09	0,04	0,0006	<0,0001	
CHOsr (%) ^b	2,95	1,90	0,52	0,86	0,74	0,23	<0,0001	0,0021	
CT^c	0,75	0,74	0,73	0,66	0,63	0,03	<0,0001	< 0,0001	
$N-NH_3 (\%MS)^d$	12,24	11,44	11,36	9,49	7,61	1,15	<0,0001	0,7625	
Equações de regressão									
	$a\hat{Y} = 3,4$	452+0,11		\mathbb{R}^2 :	= 0,86				
	$^{\mathrm{b}}\hat{Y}=4,3$	8215 - 2,0		\mathbb{R}^2	= 0,76				
	$^{c}\hat{Y}=0$,	752 - 0.00		\mathbb{R}^2 =	= 0,74				
	$d\hat{Y} = 12$	2,19-0,12	2 X				$R^2 = 0.70$		

^bCHOsr = carboidratos solúveis residuais; ^c Capacidade tampão; ^dN-NH₃ = nitrogênio amoniacal; EPM = erropadrão da média

Observou-se efeito quadrático para as BAL (p<0,0001) e Mofos (p=0,0042). Já em relação as leveduras houve efeito linear decrescente (p<0,0001) de acordo com os níveis da torta de algodão (Tabela 5).

Tabela 5. Contagens microbianas de silagens de sorgo com níveis de torta de algodão

Variáveis	Nívei	s de tort	a de alg	odão (%	MN)	EDM	EPM Probabilidad		
variaveis	0	5	10	20	40	EPWI —	Linear	Quadrático	
BAL^{a}	5,21	6,17	6,98	7,69	5,24	0,2326	0,1097	<0,0001	
$Mofos^b$	2,92	3,91	3,90	3,37	3,21	0,1244	0,9513	0,0042	
Levedurasc	5,21	3,64	2,54	0,00	0,00	0,4967	< 0,0001	0,3242	
			Equ	uações d	e regress	ão			
	$a\hat{Y}=2,$		$R^2 = 0$	0,7121					
$^{\mathrm{b}}\hat{Y} = 2,0370 + 1,2195.X - 0,2025.X^2$							$R^2 = 0.3903$		
	$^{\circ}\hat{Y} = 7,3555 - 2,1374.X$							0,8543	
abel an IIEC and at	1 D	AT 1	. 4 2	.: .1 1	an EDM		~		

^{abc}Log UFC g⁻¹ silagem; BAL = bactérias ácido láticas; EPM = erro-padrão da média.

As perdas por gases e efluentes da silagem diminuíram de forma linear (p<0,0001), enquanto a recuperação de matéria seca teve efeito linear crescente (p<0,0001) à medida que incluiu-se torta de algodão (Tabela 6).

Tabela 6. Perdas por gases (PG), perdas por efluentes (PE) e recuperação de matéria seca (RMS) em silagens de sorgo com níveis de torta de algodão

Variáveis	Níveis	s de torta	a de algo	dão (%	- EPM -	Proba	Probabilidade	
variaveis	0	5	10	20	40	EFWI -	Linear	Quadrático
PG (% MS) ^a	4,57	4,51	4,06	3,38	2,27	0,2161	< 0,0001	0,0095
$PE (kg MF t^{-1})^b$	100,39	90,69	67,02	13,69	3,65	9,2648	< 0,0001	0,2458
RMS (%) ^c	88,61	89,23	91,72	96,77	98,46	0,9371	< 0,0001	0,0804
Equações de regressão								
	$^{a}\hat{Y} = 5.4^{\circ}$		\mathbb{R}^2 =	= 0,89				
	$^{\mathrm{b}}\hat{Y} = 121$	$R^2 = 0.8278$						
	$^{\mathrm{c}}\hat{Y} = 87,$	1450 + 0	,7090.X				$R^2 =$	0,9070

^aPG = Perdas por Gases; ^bPE = Perdas por Efluentes; ^cRMS= Recuperação de Matéria Seca; EPM = erropadrão da média.

A estabilidade aeróbia das silagens aumentou linearmente (p<0,0001) conforme incluiuse torta de algodão nas silagens. Já a temperatura máxima reduziu linearmente a medida em que adicionou-se a torta (p<0,0001) (Tabela 7).

Tabela 7. Estabilidade aeróbia e temperatura máxima em silagens de sorgo com níveis de torta de algodão

Variáveis	Nívei	s de torta	a de algo	dão (%]	EDM	Probabilidade			
variaveis	0	5	10	20	40	EPM -	Linear	Quadrático	
Tempo ^a	35	37	53	78	88,87	5,06	<0,0001	0,0575	
Tmax ^b	30,12	29,00	28,63	28,62	28,12	2,89	< 0,0001	0,1237	
Equações de regressão									
	$^{\mathrm{a}}\hat{Y}=27$	9250 + 2		$R^2 =$	0,9074				
	$^{b}\hat{Y} = 31$	0.0250 - 1	,1339. <i>X</i>				\mathbb{R}^2	0,6324	

^aTempo necessário (horas) para as silagens apresentarem quebra da estabilidade aeróbia (temperatura acima de 2°C em relação à temperatura ambiente). ^bTemperatura máxima (°C) do primeiro pico de aquecimento das silagens num período de 96 horas, mantidas em temperatura ambiente a 25 °C; EPM = erro-padrão da média.

4. DISCUSSÃO

Na abertura dos silos verificou-se a mesma tendência da ensilagem, em relação as variáveis bromatológicas, com aumento nos teores de MS, MO, PB e EE e diminuição da FDN, não houve efeito significativo para FDA (Tabela 3).

Mesmo após o processo fermentativo os níveis de PB e EE apresentaram efeito linear crescente (p<0,00001), esse fato era esperado, tendo em vista que a torta de algodão é um ingrediente proteico com alto teor lipídico (ZIMMERMANN *et al.*, 2017), outro fato que provavelmente influenciou esses resultados foi o aumento no teor de matéria seca (Tabela 3), isso resultou em melhoria na qualidade fermentativa do produto, diminuindo a atividade de

água e impedindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis principalmente bactérias do gênero *Clostridium* e de outras que desdobram proteínas e aminoácidos em ácido butírico, amônia e aminas, substancias que afetam a qualidade da silagem (VAN SOEST, 1994; CHARMLEY, 2001; REIS *et al.*, 2008).

Estudos realizados por Santin *et al.*, (2020) analisando as características fermentativas e composição química da silagem de sorgo (*Sorghum bicolor*) com uso de aditivos absorventes, encontraram valores para PB de 10,47%MS para o nível 10% de utilização do farelo de soja, já no presente estudo a utilização de 10% de inclusão da torta de algodão resultou em valores superiores ao observado por esses autores, chegando a 12,41%MS (Tabela 3).

Cruz *et al.*, (2019) avaliando o teor proteico e mineral das silagens de sorgo consorciadas com gramíneas aditivadas com ureia, observaram teores de PB crescentes ao adicionarem níveis de ureia, resultando em silagens com teor proteico de até 20,60%MS semelhante aos valores obtidos no presente estudo, 20,38%MS e 21,66%MS os níveis 20% e 40% de inclusão de torta de algodão, respectivamente, (Tabela 3).

Os teores de FDN apresentaram resultados decrescentes de acordo com o aumento dos níveis de torta, o que pode ser explicado pelos baixos níveis de FDN desse constituinte, que de acordo com o NRC (2007) corresponde a 31%, quando comparado ao sorgo forrageiro que varia de 49,96% a 62,53% (ALBUQUERQUE *et al.*, 2010).

Os níveis de FDN e FDA no sorgo podem limitar a qualidade final das silagens, já que estas não apresentam redução após o processo fermentativo, atuando como obstáculos para ação microbiana presente no silo (SILVA, 1999). Durante o processo de ensilagem os conteúdos de lignina e celulose podem sofrer apenas pequenas alterações, demonstrando que os microrganismos fermentadores no silo não degradam estas frações (MORRISON, 1979). Quando eventualmente ocorrem perdas nestas porções, podem ser decorrente a deterioração por fungos (VAN SOEST, 1994), fato não observado nesse estudo.

Reduções nos teores de FDN da silagem podem contribuir para a melhoria da digestibilidade da mesma, enaltecendo os resultados do presente trabalho, mostrando que a adição da torta em níveis crescentes contribui consequentemente para um volumoso mais digestível, pois o teor de FDN é indicativo da quantidade total de fibra do volumoso, sendo negativamente correlacionada com o consumo pelos animais, visto que é um fator físico que limita a ingestão de matéria seca, enquanto que as frações FDA e lignina possuem relação negativa com a digestibilidade aparente do material e com a ingestão (ROSA *et al.*, 2004; VAN SOEST, 1994; LUPATINI *et al.*, 2004). As frações FDN e FDA quando em níveis elevados,

acima dos valores obtidos no presente trabalho, podem comprometer o consumo e o aproveitamento da silagem.

Observou-se diminuição do pH em relação à ensilagem, fato já esperado, devido à conversão dos CHOs em ácidos orgânicos (Tabela 4). O pH aumentou de forma linear em função dos níveis de torta de algodão enquanto os CHOs, CT e N-NH₃ diminuíram linearmente (p<0,0001) (Tabela 3). Com isso, fica claro o potencial da torta de algodão como aditivo nutricional capaz de tamponar o meio, pois os tratamentos com 20 e 40% de inclusão de torta tiveram os valores de pH entre 3,8 a 4,2 (MCDONALD; HENDERSON e HERON, 1991), considerado ideal para predominância de bactérias láticas durante a fermentação. As demais silagens tiveram valores abaixo de 3,8 indicando que o nível de torta na mistura não foi suficiente para tamponar o meio causando acidificação excessiva (NGUYEN *et al.*, 2002).

A diminuição do teor de CHOs já na ensilagem resultou em diminuição linear também nos carboidratos residuais (pós-fermentação), os quais ocorrem em maior quantidade no sorgo. Por conta do alto teor proteico da torta de algodão, as silagens com 20 e 40% de inclusão de torta tiveram os menores valores de carboidratos. As demais silagens tiveram valores mais altos, indicando que a inclusão de torta não foi suficiente para reduzir a proporção inicial de CHOs nem de tamponar o meio, resultando em acidificação excessiva.

O aumento dos níveis de torta de algodão resultou em diminuição nos valores de CT (Tabela 4), esse fato está relacionado ao poder tamponante da torta de algodão, por se tratar de um ingrediente proteico pode corresponder de 10 a 20% do poder tamponante total na ensilagem.

O sorgo caracteriza-se por conter um elevado teor de carboidratos solúveis, proporcionando uma maior acidificação da massa ensilada, o que resulta em perdas durante o processo fermentativo devido ao desenvolvimento de leveduras ácidos tolerantes que produzem etanol a partir dos CHOs e ácido lático, além de serem as principias iniciadoras da deterioração aeróbia durante a abertura do silo (DANIEL *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2018).

A adição da torta de algodão promoveu a redução da queda do pH e isso proporcionou um equilíbrio na intensidade com que a forragem resistiu a mudança de pH durante o processo fermentativo. Pode-se dizer que os menores valores observados para CT (Tabela 4) indica que a quantidade de ácido necessária para diminuir o pH foi menor e com isso o processo fermentativo foi mais rápido, com menor consumo de carboidratos solúveis e redução de perdas. Sendo estes resultados associados as característica proteica da torta, pois de acordo com Pereira *et al.*, (2015) os principais responsáveis pelo poder tampão das forragens são os ânions, no entanto, as proteínas respondem por 10 a 20% do poder tamponante total.

Manter o pH próximo a 4,0 é muito importante no processo de ensilagem, pois favorece o desenvolvimento de bactérias ácido-lácticas e contribui para produção de uma silagem de boa qualidade (MCDONALD; HENDERSON e HERON, 1991).

Santos *et al.*, (2018) avaliando o efeito da adição de ureia na silagem do sorgo, observou que a ureia proporcionou aumento progressivo no pH da silagem (p < 0,05), embora tenha permanecido abaixo de 4,0. Por outro lado, os valores de pH permaneceram em uma faixa considerada adequada para o processo de ensilagem, o que possivelmente foi decorrente da capacidade tampão do meio.

O teor de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) na abertura dos silos diminuiu linearmente (p<0,0001) à medida que se incluiu a torta de algodão (Tabela 4). Isso pode ser explicado pela diminuição da atividade de água promovidos pelo aumento do teor de MS (Tabela 3) resultando em menor proteólise de acordo com os níveis crescentes da torta e promovendo uma ótima fermentação. A diminuição da atividade de água em decorrência ao aumento no teor de matéria seca contribuiu na minimização de bactérias patogênicas sobretudo do gênero clostridium que contribui para proteólise, desdobrando proteínas e aminoácidos em ácido butílico, amônia e aminas, substancias que comprometem negativamente a silagem (VAN SOEST, 1994; CHARMLEY, 2001; REIS et al., 2008). A alta proteólise não é um atributo desejável para silagens, uma vez que há diminuição do conteúdo de proteína da silagem e perde-se um nutriente caro pela volatilização na forma de N-NH₃ (DA SILVA et al., 2017; PAHLOW et al., 2003). O presente trabalho demostra a eficiência da torta de algodão sobre este parâmetro, evidenciando a ótima fermentação e melhoria do produto final, pois de acordo com McDonald; Henderson e Heron (1991), os presentes resultados obtidos principalmente nos níveis de 20% e 40% de inclusão não afetaram as características qualitativas da silagem, visto que apresentaram valores abaixo de 10%, que é o valor máximo recomendados por estes autores.

Com relação as contagens de BAL e mofos observou-se efeito quadrático para ambas as variáveis. Enquanto as leveduras tiveram efeito linear decrescente (p<0,0001) (Tabela 5). Conforme aumentou o nível da torta de algodão a população de BAL aumentou até um nível máximo de \cong 7,26 UFC g⁻¹ silagem com 20% inclusão de inclusão da torta, diminuindo em seguida. Este crescimento ocorreu, possivelmente, pelo maior conteúdo proteico das silagens, que podem ter servido como substrato para as BAL, ao passo que o teor de gossipol não interferiu no crescimento, com provável inativação do mesmo por estas bactérias (RAMOS et al., 2011). Em contrapartida, a diminuição no crescimento das BAL após os 20% de inclusão, pode ser explicado pela diminuição da atividade de água em função do alto teor de MS das silagens até atingir o máximo de 40% de torta (PAHLOW *et al.*, 2003).

Além disso, a inibição das BAL no nível máximo de inclusão da torta pode ter acontecido em resposta ao aumento concomitante da concentração de gossipol. Margalith (1967) relata algumas espécies bacterianas susceptíveis à toxidez por gossipol, inclusive algumas BAL. Este efeito antagonista ao crescimento se dá pela própria estrutura bacteriana, pois espécies Gram-Positivas (como as BAL), transportam mais facilmente o gossipol ao seu interior por não terem uma membrana externa como as Gram-Negativas (KESHMIRI-NEGHAB e GOLIAEI, 2014). Ainda, Yildirim-Aksoy *et al.*, (2004) reportaram diminuição significativa do crescimento de *Edwardsiella ictaluri* (bactéria Gram-Positiva) quando submetida à diferentes fontes e doses de gossipol. Desse modo, faz-se necessário concluir as análises para determinar o teor de gossipol das silagens para confirmar tais suposições.

Observou-se efeito quadrático nas contagens de mofos (Tabela 5), de acordo com relatos na literatura, várias espécies fúngicas metabolizam o gossipol (YANG et al., 2012; ZHANG et al., 2007) provavelmente até um certo nível, pois observou-se um aumento nas contagens de mofos nos níveis 5% e 10% de torta de algodão, com declínio em seguida, nos níveis 20% e 40% da torta, apontando possíveis evidencias antifúngicas da torta de algodão, já que o gossipol, composto presente na torta de algodão, apresenta propriedades antifúngicas (MEDENTSEV e AKIMENKO et al., 1997; PUCKHABER et al., 2002).

Observou-se um decréscimo linear (p<0,0001) nas contagens de leveduras conforme aumentou a inclusão da torta de algodão (Tabela 5). Este fenômeno ocorreu pelo tamponamento do meio promovido pela torta de algodão, onde o pH ficou acima de 3,7 nas silagens com mais de 10% de torta (Tabela 4) e, como as leveduras ácido-tolerantes se propagam mais facilmente numa faixa de pH menor que 3,5, o tamponamento levou à sua inibição (PAHLOW *et al.*, 2003). Associado a isso, tem-se um efeito inibitório também do gossipol sobre as leveduras (ARINBASAROVA; MEDENTSEV e KRUPYANKO, 2012; MARGALITH, 1967).

As perdas por gases e efluentes da silagem diminuíram de forma linear (p<0,0001), enquanto a recuperação de matéria seca teve efeito linear crescente à medida que incluiu-se torta de algodão (Tabela 6). Observa-se uma relação inversa entre as perdas e a recuperação de matéria seca, ou seja, quanto menores as perdas maior é a recuperação de MS.

Esses resultados são dependentes das características fermentativas das silagens, que variam de acordo com a quantidade de aditivo nutricional adicionado à mistura. Desse modo, nota-se que as perdas por gases tem uma estreita relação com a microbiologia das silagens, em que as vias heterofermentativas realizadas pelas leveduras são as que mais propiciam perdas de matéria seca (Tabela 5 e a Tabela 6). Tais perdas ocorrem porque as leveduras realizam a

conversão dos CHOs em etanol e produzem CO₂, que leva à perdas de matéria seca da ordem de 48%, segundo a equação disposta a seguir:

$$Glicose + 2 ADP + 2 Pi = 2 Etanol + 2 CO2 + 2 ATP + 2 H2O$$

Por esta razão, a via homofermentativa é a mais desejável nas silagens, pois proporciona maior recuperação de matéria seca e, consequentemente, menores perdas de energia (DA SILVA *et al.*, 2017; ROOKE e HATFIELD, 2003). Com a adição da torta de algodão houve maior tamponamento do meio o que inviabilizou o desenvolvimento das leveduras resultando em menores perdas por gases (Tabela 6). Viana *et al.*, (2013) avaliando níveis de farelo de algodão na ensilagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum Schum*) também observaram diminuição linear nas perdas por gases.

A adição da torta de algodão minimizou as perdas por efluentes (Tabela 6), justamente pelo maior teor de matéria seca da torta de algodão que, ao realizar-se a mistura dos ingredientes, verificou-se aumento linear (Tabela 1). A retenção da umidade excedente presente no sorgo foi satisfatória, pois reduziu de maneira significativa os efluentes da silagem (de 100,39 para 3,65 kg MF t⁻¹), sendo isso um bom resultado, uma vez que os efluentes carreiam nutrientes para o fundo do silo que não são aproveitados quando utiliza-se estas silagens na alimentação animal (VIANA *et al.*, 2013).

Com relação à recuperação de matéria seca percebe-se um aumento linear (p<0,0001) conforme se aumentou o nível de torta de algodão nas silagens (Tabela 6). Devido à diminuição da perdas por gases e efluentes a tendência esperada era de se aumentar a recuperação, pois nas silagem de sorgo (0% torta) tinha-se uma recuperação de 88,61% e atingiu-se um valor de 98,46%. Estes resultados demonstram a viabilidade da torta de algodão como aditivo nutricional capaz de reduzir drasticamente as perdas e melhorar a recuperação de matéria seca.

A estabilidade aeróbia das silagens aumentou linearmente (p<0,0001) conforme incluiu torta de algodão nas silagens, (Tabela 7). Este efeito é relacionado à microbiologia, ao teor de CHOsr e do pH das silagens, pois onde há predominância da fermentação lática, há menores valores de pH resultado da acidificação do meio. Com isso, há desenvolvimento de leveduras nesse meio e, ao abrir estes silos, tem-se mais substrato para o desenvolvimento dos microrganismos deterioradores, como as leveduras, que são os iniciadores da deterioração aeróbia, proliferando-se rapidamente na massa exposta ao ar oxidando CHOsr e ácido lático para obtenção de energia (MUCK, *et al.*, 2018; WILKINSON e DAVIES, 2013).

Como as silagens contendo mais torta de algodão promoveram o tamponamento do meio e tiveram menor teor de CHOsr (Tabela 4), houve então uma melhoria da estabilidade pela inibição das leveduras durante o processo fermentativo. Como a oxidação dos substratos é um

processo aeróbio exotérmico, percebe-se aumentos na temperatura das silagens em deterioração (KUNG e RANJIT, 2001; TAYLOR e KUNG, 2002; WILKINSON e DAVIES, 2013). Em consequência, a temperatura das silagens torna-se mais elevada com o passar do tempo, no entanto, como as silagens do presente trabalho tiveram menor quantidade de substrato (CHOsr e ácido lático) na abertura a tendência das temperaturas máximas foi de diminuir linearmente nas silagens mistas com maior teor de torta de algodão (Tabela 7).

Santos *et al.* (2018) e Weinberg *et al.*, (2011) avaliando silagens de sorgo com e sem aditivos microbianos e químicos, observaram aumentos significativos nas temperaturas das silagens com o passar do tempo de exposição das silagens ao ar. Os autores relataram ainda mudanças notáveis na microbiologia dessas silagens ao longo do tempo, com incremento das populações de leveduras, mofos e bactérias aeróbias, resultando em aumento do pH e diminuição da qualidade da silagem. Com base nisso, nota-se a qualidade das silagens do presente trabalho, pois passaram mais de três dias (20 e 40% de torta) mantendo-se 2 °C abaixo da temperatura ambiente (Tabela 7), enquanto Santos *et al.*, (2018) relataram quebra da estabilidade das silagens de sorgo com menos de 12 h de exposição ao ar.

5. CONCLUSÃO

A utilização da torta de algodão como aditivo nutricional reduziu as perdas fermentativas, aumentou a recuperação de matéria seca, melhorou a estabilidade aeróbia e aumentou o valor nutritivo das silagens aditivadas. Nos níveis avaliados no presente trabalho, recomenda-se a utilização de 20% de inclusão da torta de algodão.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, C., von PINHO, R. G., RODRIGUES, J., BRANT, R., SOUSA, R., SILVA, K. D. J., & de OLIVEIRA, R. M. Composição bromatológica do sorgo forrageiro em diferentes arranjos de plantas. In: **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso** (**ALICE**). *In*: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28.; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA DO CARTUCHO, 4., 2010, Goiânia. Potencialidades, desafios e sustentabilidade: resumos expandidos... Sete Lagoas: ABMS, 2010., 2010.

AOAC. Official Methods of Analysis: Changes in Official Methods of Analysis Made at the Annual Meeting. Supplement. [S.l.]: Association of Official Analytical Chemists, v. 15. 1990.

ARINBASAROVA, A.Y.; MEDENTSEV, A. G. & KRUPYANKO, V. I. Gossypol Inhibits Electron Transport and Stimulates ROS Generation in Yarrowia lipolytica Mitochondria. **The**

- **Open Biochemistry Journa***l*, v. 6, p. 11–15, 2012.
- BOLSEN, K. K., LIN, C., BRENT, B. E., FEYERHERM, A. M., URBAN, J. E., & AIMUTIS, W. R. Effect os silage additives on the microbial succession and fermentation process of alafalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.11, p.3066-83, 1992.
- CÂMARA, A. C. L., GADELHA, I. C. N., BORGES, P. A. C., DE PAIVA, S. A., MELO, M. M., & SOTO-BLANCO, B. Toxicity of gossypol from cottonseed cake to sheep ovarian follicles. **PLoS ONE**, v. 10, n. 11, p. 1–11, 2015.
- CHARMLEY, E. Towards improve silage quality: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, n.81, p.51-168, 2001.
- CRUZ, S. S., PASCOALOTO, I. M., ANDREOTTI, M., LIMA, G. C., LATTARI, J. V. F., SOARES, D. A., ... & DICKMANN, L. Teor proteico e mineral das silagens de sorgo consorciadas com gramíneas aditivadas com ureia. **Archivos de zootecnia**, v. 68, n. 262, p. 252-258, 2019.
- DA SILVA, T. C., DA SILVA, L. D., SANTOS, E. M., OLIVEIRA, J. S., & PERAZZO, A. F. Importance of the Fermentation to Produce High-Quality Silage. **Fermentation Processes**, p. 1–20, 2017.
- DANIEL, J. L. P., BERNARDES, T. F., JOBIM, C. C., SCHMIDT, P., & NUSSIO, L. G. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. **Grass and Forage Science**, v. 74, n. 2, p. 188–200, 2019.
- DETMANN, E., SOUZA, M. A., VALADARES FILHO, S. C., QUEIROZ, A. C., BERCHIELLI, T. T., SALIBA, E. O. S., ... & AZEVEDO, J. A. G. Métodos para análise de alimentos INCT Ciência Animal. **Visconde do Rio Branco: Suprema**, 2012. 214p.
- DIAS, E. C. B., CÂNDIDO, M. J. D., FURTADO, R. N., POMPEU, R. C. F. F., & SILVA, L. V. D. Nutritive value of elephant grass silage added with cottonseed cake in diet for sheep. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, n. 2, p. 321–328, 2019.
- DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. T., & SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.
- FERNANDES, F. E. P., GARCIA, R., PIRES, A. J. V., PEREIRA, O. G., CARVALHO, G. G. P. D., & OLIVINDO, C. D. S. 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.
- GADELHA, I. C. N., FONSECA, N. B. S., OLORIS, S. C. S., MELO, M. M., & SOTO-BLANCO, B. Gossypol toxicity from cottonseed products. **Scientific World Journal**, v. 2014, n. Figure 1, p. 4–6, 2014.
- KESHMIRI-NEGHAB, H.; GOLIAEI, B. Therapeutic potential of gossypol: An overview. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 1, p. 124–128, 2014.
- KHALAF, M. A. & MELEIGY, S. A. Reduction of free gossypol levels in cottonseed meal

- by microbial treatment. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 10, n. 2, p. 185–190, 2008.
- KUNG, L. & RANJIT, N. K. The effect of Lactobacillus buchneri and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 5, p. 1149–1155, 2001.
- LIMA, R. S.; PESSOA, R. A. S.; NASCIMENTO, W. G.; COELHO DA SILVA, J. R.; FERRAZ, I. Palma forrageira associada à silagem de sorgo corrigida com ureia e farelo de algodão em dietas para novilhos Girolando. **Boletim de Indústria Animal**, v.74, p.342-350, 2017.
- LUPATINI, G. C., MACCARI, M., ZANETTE, S., PIACENTINI, E., & NEUMANN, M. Avaliação do desempenho agronômico de híbridos de milho (Zea mays, L), para produção de silagem. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.3, n.2, p.193-203, 2004.
- MARGALITH, P. Inhibitory effect of gossypol on microorganisms. **Applied microbiology**, v. 15, n. 4, p. 952–953, 1967.
- MCDONALD, P. J.; HENDERSON, A. R. & HERON, S. J. E. **The Biochemistry of Silage**. 2nd. ed. Marlow, Bucks, UK: Cambridge University Press, 1991.
- MEDENTSEV, A. G. & AKIMENKO, V. K. Effect of secondary metabolites and electron transfer inhibitors on naphthoquinone synthesis in Fusarium decemcellulare. **Microbiology** (New York, NY), v. 66, n. 6, p. 647-651, 1997.
- MORRISON, I_ Mm. Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effect of various additives on these changes. **The Journal of Agricultural Science**, v. 93, n. 3, p. 581-586, 1979.
- MUCK, R. E., NADEAU, E. M. G., MCALLISTER, T. A., CONTRERAS-GOVEA, F. E., SANTOS, M. C., & KUNG JR, L. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3980–4000, 2018.
- NGUYEN, V. A. T., TOKUDA, A., MISHIMA, T., NISHIDA, Y., & HISAMATSU, M. Isolation and Identification of New Acid-tolerant and Starch-degradable Yeasts. **Journal of Applied Glycoscience**, v. 49, n. 2, p. 153–157, 2002.
- PAHLOW, G., MUCK, R. E., DRIEHUIS, F., ELFERINK, S. J. O., & SPOELSTRA, S. F. Microbiology of ensiling. **Silage science and technology**, v. 42, p. 31-93, 2003.
- PERAZZO, A. F., CARVALHO, G. G., SANTOS, E. M., BEZERRA, H. F., SILVA, T. C., PEREIRA, G. A., ... & RODRIGUES, J. A. Agronomic Evaluation of Sorghum Hybrids for Silage Production Cultivated in Semiarid Conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. June, p. 1–8, 2017.
- PEREIRA, L. E. T., DA SILVA BUENO, I. C., & HERLING, V. R. **Tecnologias para conservação de forragens: fenação e ensilagem.** Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo, 2015. 48 p.
- PINHO, R. M. A., SANTOS, E. M., CARVALHO, G. G. P. D., SILVA, A. P. G. D., SILVA,

- T. C. D., CAMPOS, F. S., & MACEDO, C. H. O. Microbial and fermentation profiles, losses and chemical composition of silages of buffel grass harvested at different cutting heights. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, n. 12, p. 850–856, 2013.
- PINHO, R. M. A., SANTOS, E. M., OLIVEIRA, J. S. D., BEZERRA, H. F. C., FREITAS, P. M. D. D., PERAZZO, A. F., ... & SILVA, A. P. G. D. Sorghum cultivars of different purposes silage. **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 298–303, 2015.
- PLAYNE, M.J.; McDONALD, P. The buffering constituents of herbage and of silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.17, p.264-268, 1966.
- PUCKHABER, L., DOWD, M. K., STIPANOVIC, R. D., HOWELL, C. R. Toxicity of (+) and (-) -gossypol to the plant pathogen Rhizoctonia solani. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 24, 7017-7021. 2002.
- RAMOS, C. L., DE ALMEIDA, E. G., FREIRE, A. L., & SCHWAN, R. F. Diversity of bacteria and yeast in the naturally fermented cotton seed and rice beverage produced by Brazilian Amerindians. **Food Microbiology**, v. 28, n. 7, p. 1380–1386, 2011.
- REIS, R. A., SIQUEIRA, G. R., ROTH, M. T. P., & ROTH, A. P. T. P. Fatores que afetam o consumo de forragens conservadas. *In:* C.C. Jobim, U. Cecato e M.W. do Canto (Eds.). **Produção e utilização de forragens conservadas. Masson, Maringá**, PR. pp. 9-40.
- ROOKE, J. A. & HATFIELD, R. D. Biochemistry of ensiling. **Silage science and technology**, v. 42, p. 95-139, 2003.
- ROSA, J.R.P.; SILVA, J.H.S.; RESTLE, J.; PASCOAL,L.L.; BRONDANI,I.L.; ALVES FILHO,D.C.; FREITAS, A.K.; Avaliação do comportamento agronômico da planta e valor nutritivo da silagem de diferentes híbridos de Milho (Zea mays, L.); **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, 302-312p., 2004.
- SANTOS, A. P. M. D., SANTOS, E. M., OLIVEIRA, J. S. D., RIBEIRO, O. L., PERAZZO, A. F., MARTINS ARAÚJO PINHO, R., ... & PEREIRA, G. A. Effects of urea addition on the fermentation of sorghum (Sorghum bicolor) silage. **African Journal of Range and Forage Science**, v. 35, n. 1, p. 55–62, 2018.
- SANTOS, J. E. P., VILLASENOR, M., ROBINSON, P. H., DEPETERS, E. J., & HOLMBERG, C. A. Type of cottonseed and level of gossypol in diets of lactating dairy cows: Plasma gossypol, health, and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 3, p. 892–905, 2003.
- SANTIN, T. P., FRIGERI, K. D. M., AGOSTINI, A., DA SILVA, H. R., FRIGERI, K. D. M., KALLES, N. Z., ... & DIAS, A. M. Características fermentativas e composição química da silagem de sorgo (Sorghum bicolor) com uso de aditivos absorventes. **Brazilian Journal of Development**, 6(8), 54931-54943.2020.
- SAS. Statistical Analyses System. Statistical Analysis System user's guide. Version 9.2. Cary: Statistical Analyses System Institute, 2012.
- SILVA, F. F. D., GONÇALVES, L. C., RODRIGUES, J. A. S., CORRÊA, C. E. S., RODRIGUEZ, N. M., BRITO, A. F., & MOURÃO, G. B. Qualidade de silagens de híbridos de sorgo (Soghum bicolor (L.) Moench) de portes baixo, médio e alto com diferentes

- proporções de colmo+ folhas/panícula: 2. Avaliação do valor nutritivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 1, p. 21-29, 1999.
- SILVA, J. R. C., VERAS, A. S. C., FERREIRA, M. A., NASCIMENTO, W. G., FERRAZ, I., LIMA, R. S., & PESSOA, R. A. S. Qualidade da carcaça e da carne de novilhos alimentados com palma forrageira e silagem de sorgo corrigida com ureia e farelo de algodão. **Boletim De Indústria Animal**, v. 76, p. 1-8, 2019.
- STELLA, L. A.; PERIPOLI, V.; PRATES, E. R.; BARCELLOS, J. O. J. Composição química das silagens de milho e sorgo com inclusão de planta inteira de soja. **Boletim de Indústria Animal**. v.73, n.1, p.73-79, 2016.
- TAYLOR, C. C. & KUNG, 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, n. 6, p. 1526–1532, 2002.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. [s.l.] Cornell university press, 1994.
- VIANA, P. T., TEIXEIRA, F. A., PIRES, A. J. V., CARVALHO, G. G. P. D., FIGUEIREDO, M. P. D., & SANTANA JÚNIOR, H. A. D. Losses and nutritional value of elephant grass silage with inclusion levels of cottonseed meal. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 35, n. 2, p. 139–144, 2013.
- VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em rações**. 1980. 98f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1980.
- WEINBERG, Z. G., KHANAL, P., YILDIZ, C., CHEN, Y., & ARIELI, A. Ensiling fermentation products and aerobic stability of corn and sorghum silages. **Grassland Science**, v. 57, n. 1, p. 46–50, 2011.
- WILKINSON, J. M. & DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v. 68, n. 1, p. 1–19, 2013.
- YANG, X., SUN, J. Y., GUO, J. L., & WENG, X. Y. Identification and proteomic analysis of a novel gossypol-degrading fungal strain. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 4, p. 943–951, 2012.
- YILDIRIM-AKSOY, M., LIM, C., DOWD, M. K., WAN, P. J., KLESIUS, P. H., & SHOEMAKER, C. In vitro inhibitory effect of gossypol from gos-sypol-acetic acid (+)-and (-)-isomers of gossypol on the growth of Edwardsiella ictaluri. **Journal Applied Microbiology**, 2004, 97, 87-92.
- ZANINE, A. D. M., SANTOS, E. M., DE JESUS FERREIRA, D., & PEREIRA, O. G. Populações microbianas e componentes nutricionais nos órgãos do capim-tanzânia antes e após a ensilagem. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 143, 2007.
- ZANINE, A. D. M., SANTOS, E. M., DÓREA, J. R. R., DANTAS, P. A. D. S., SILVA, T. C. D., & PEREIRA, O. G. Evaluation of elephant grass silage with the addition of cassava scrapings. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2611–2616, 2010.

ZHANG, W. J., XU, Z. R., SUN, J. Y., & YANG, X. Effect of selected fungi on the reduction of gossypol levels and nutritional value during solid substrate fermentation of cottonseed meal. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v. 7, n. 9, p. 690–695, 2006.

ZHANG, W. J., XU, Z. R., ZHAO, S. H., SUN, J. Y., & YANG, X. Development of a microbial fermentation process for detoxification of gossypol in cottonseed meal. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, n. 1–2, p. 176–186, 2007.

ZIMMERMANN, J. A. R., CASTAGNARA, D. D., TADIELO, L. E., BREMM, T., ALTERMANN, O. D. C., & DA ROSA, F. Q. Farelos de milho, soja e arroz melhoram a composição bromatológica de silagens de tifton 85. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 8, n. 2, 2017.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CAMPUS II PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA DISSERTAÇÃO

CAPÍTULO 3– SILAGENS DE SORGO ADITIVADAS COM TORTA DE ALGODÃO E INOCULANTES MICROBIANOS

AREIA

SILAGEM DE SORGO ADITIVADA COM TORTA DE ALGODÃO E INOCULANTES MICROBIANOS

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da inclusão da torta de algodão e de inoculantes microbianos sobre o perfil fermentativo, populações microbianas, estabilidade aeróbia, perdas das silagens e composição bromatológica. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4, com 4 repetições. Foram analisados os seguintes tratamentos Sorgo (Controle); Sorgo + 20% torta de algodão (Controle); Sorgo + L. plantarum; Sorgo + 20% torta de algodão + L. plantarum; Sorgo + W. cibaria; Sorgo + 20% torta de algodão + W. cibaria; Sorgo + Combo; Sorgo + 20% torta de algodão + Combo. A inclusão de 20% de torta de algodão proporcionou aumento nos teores de MS, MO, EE, e PB (p<0,0001) e diminuição no teor de FDN (p=0,0299), quando comparado aos tratamentos contendo apenas o sorgo inoculado. Observou-se efeito da torta de algodão sobre o pH das silagens (p<0,0001). Aos 45 dias, na silagem com torta e sem inoculante, as contagens de leveduras foram menores que 1,00 log UFC g⁻¹ de silagem diferindo dos demais tratamentos. Aos 90 dias, observou-se para as BAL interação torta x inoculante, apresentando maior população nas silagens com torta e não inoculadas. Houve efeito do inoculante (p=0,0008) e da torta (p=0,0244) sobre a estabilidade aeróbia das silagens abertas aos 90 dias, em que a silagem com torta e não inoculada houve a maior estabilidade. A utilização da torta de algodão melhorou as características fermentativas, diminuiu as perdas por efluentes, aumentou o valor nutritivo, aumentou a recuperação de matéria seca e, devido à inibição das leveduras, melhorou a estabilidade aeróbia. A Weissella Cibaria em associação a torta de algodão diminuiu significativamente o desenvolvimento das leveduras na silagem do sorgo com abertura aos 90 dias. A Weissella Cibaria e o Lactobacillus plantarum em associação (combo) controlaram os fungos na silagem de sorgo. O Lactobacillus plantarum foi capaz de acidificar o meio mesmo em condições de maior capacidade tamponante.

PALAVRAS CHAVE: aditivo nutricional; aditivos microbianos; gramínea tropical

SORGHUM SILAGE ADDED WITH COTTON PIE AND MICROBIAL INOCULANTS

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of the inclusion of cotton cake and microbial inoculants on the fermentative profile, microbial populations, aerobic stability, loss of silages and chemical composition. A completely randomized design was used in a 2 x 4 factorial scheme, with 4 replications. The following treatments Sorghum (Control) were analyzed; Sorghum + 20% cotton cake (Control); Sorghum + L. plantarum; Sorghum + 20% cotton cake + L. plantarum; Sorghum + W. cibaria; Sorghum + 20% cotton cake + W. cibaria; Sorghum + Combo; Sorghum + 20% cotton cake + Combo. The inclusion of 20% cotton cake provided an increase in the contents of DM, MO, EE, and PB (p <0.0001) and a decrease in the NDF content (p = 0.0299), when compared to treatments containing only the inoculated sorghum. The effect of cotton cake on the pH of the silages was observed (p <0.0001). At 45 days, in silage with cake and without inoculant, yeast counts were less than 1.00 log UFC g-1 of silage, differing from the other treatments. At 90 days, a pie x inoculant interaction was observed for BAL, with a higher population in non-inoculated and pie silages. There was an effect of the inoculant (p = 0.0008) and of the cake (p = 0.0244) on the aerobic stability of the silages opened at 90 days, in which the silage with cake and not inoculated had the greatest stability. The use of cotton cake improved fermentative characteristics, decreased effluent losses, increased nutritional value, increased dry matter recovery and, due to yeast inhibition, improved aerobic stability. Weissella Cibaria in association with cotton cake significantly reduced the development of yeasts in sorghum silage with opening at 90 days. Weissella Cibaria and Lactobacillus plantarum in combination (combo) controlled the fungi in the sorghum silage. Lactobacillus plantarum was able to acidify the medium even under conditions of greater buffering capacity.

KEY WORDS: nutritional additive; microbial additives; tropical grass

1. INTRODUÇÃO

O sorgo é uma cultura de metabolismo do tipo anual C4, capaz de ter elevados rendimentos de forragem por hectare e pode ser utilizado para produção de silagem. Apresenta vantagens competitivas como a elevada produção de biomassa, qualidade dos grãos e a estabilidade da produção em condições adversas (GIZZI & GAMBI, 2016).

Sabe-se que as condições edafoclimáticas na região nordeste do brasil, limitam a produção animal, devido ao menor aporte forrageiro e consequente escassez de alimento, o que afeta diretamente o desempenho dos animais. A conservação de forragens na forma de silagem é uma alternativa para mitigar esse problema, permitindo que o excedente forrageiro produzido na época das chuvas seja armazenado de forma que mantem a qualidade nutricional e possa ser utilizado na estação seca, assim minimizando o efeito negativo da escassez de forragens sobre a produção animal (RIBEIRO *et al.*, 2010).

Entretanto, a forragem deve atender a critérios específicos para assegurar um processo fermentativo adequado e dessa forma se obter uma silagem de qualidade. O sorgo, de modo geral, apresenta composição bromatológica diferente da recomendada por Mc Donald, Henderson e Heron (1991), possuindo teores de matéria seca abaixo de 30-35%. Isso propicia maiores perdas por efluentes devido ao alto teor de umidade da sua silagem, resultando em perdas de até 108 kg MF t⁻¹ (SANTOS *et al.*, 2018). Além disso, os altos teores de carboidratos solúveis presentes favorecem uma rápida acidificação (DANIEL *et al.*, 2019), o que resulta em perdas e promovem o crescimento de leveduras produtoras de etanol, além de comprometer a estabilidade aeróbia das silagens (SANTOS *et al.*, 2018).

Outro fator limitante na utilização da silagem de sorgo é o seu baixo teor de proteína, sendo este um fator de destaque quando se pensa em utilizá-la nas rações dos animais, pois a proteína é o nutriente mais oneroso na alimentação e promove maior deposição muscular. Uma opção para os produtores que desejam atenuar esse problema é o uso de aditivos ricos em proteína bruta (COSTA *et al.*, 2019).

A torta de algodão é um subproduto proveniente da extração do óleo da semente, possuindo em sua composição alto teor de proteína (FERREIRA *et al.*, 2019), podendo ser utilizado como fonte proteica na dieta animal. Além disso a torta de algodão apresenta algumas características que podem favorecer sua utilização com sorgo forrageiro, como o alto teor de MS. Assim, é possível realizar uma mistura entre estes ingredientes para permitir a ensilagem do sorgo com maior teor de MS e atingir os teores preconizados por McDonald; Henderson;

Heron (1991), diminuindo as perdas por efluentes decorrentes da alta umidade (DIAS *et al.*, 2019; VIANA *et al.*, 2013).

Acredita-se que as boas características presentes na torta de algodão aliada ao sorgo resulte numa silagem de excelência, já que alguns trabalhos mostram que a utilização de farelos como aditivos para silagem vem apresentando bons resultados, isso se deve ao poder higroscópico desses aditivos que faz com que o teor de umidade das forragens diminuam e com isso aconteça menores perdas por efluentes (VIANA *et al.*, 2013; SANTIN, *et al.*, 2020).

Outros aditivos de uso comum em silagens são os inoculantes microbianos, com uso predominante na maior parte do mundo estando disponíveis em muitos países há décadas. Até recentemente, a maioria destes produtos eram cepas de BAL facultativa homofermentadoras como por exemplo o L. *plantarum*. O objetivo era ter uma fermentação rápida e eficiente que produzisse ácido lático, principalmente, minimizasse as perdas de MS, e mantivesse o valor nutritivo semelhante ao da cultura ensilada. Os resultados foram não apenas uma maior recuperação de matéria seca mas também proporcionou um melhor desempenho animal (WEINBERG E MUCK, 1996). No entanto, cepas homofermentadoras têm apresentado um efeito negativo sobre a estabilidade aeróbica, devido à redução do ácido acético (MUCK, 2013).

O ácido acético é o ácido encontrado na segunda maior concentração em silagem variando geralmente de 1 a 3% da MS, são encontrados em maiores proporções em silagens tratadas com cepas heterofermentadoras por causa da conversão do ácido láctico para ácido acético. O aumento do ácido acético conduz a uma melhoria na estabilidade aeróbica porque o ácido acético tem fortes características antifúngicas (MUCK, 2013). No entanto, estes produtos parecem ter efeitos limitados sobre o desempenho animal (ROOK e GILL, 1990; STEEN et al., 1998), Os resultados dessas pesquisas podem estar relacionadas a espécie microbiana que produziram o ácido acético, e o fator que afeta a ingestão não é, provavelmente, o ácido acético, mas algum outro produto não identificado (MUCK, 2013), já que outros autores discordam que maiores níveis de ácido acético na silagem influenciam o desempenho dos animais (HUHTANEN et al, 2007; KRIZSAN et al., 2007).

Hoje existe uma terceira classe de inoculantes que combinam cepas heterofermentativas com cepas homofermentativas tentando obter silagem com maior recuperação de MS e que resulte em melhor desempenho animal (MUCK, 2013). Apesar disso, existem poucos estudos testando a ação combinada de bactérias homofermentativas, heterofermentativas e aditivos nutricionais para correção dos problemas fermentativos e de estabilidade aeróbia do sorgo forrageiro.

Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito de inoculantes microbianos e da inclusão da torta de algodão sobre o perfil fermentativo, populações microbianas, estabilidade aeróbia, perdas das silagens e composição bromatológica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do Experimento

Foi utilizado o sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) cultivar BRS Ponta Negra, cultivado na cidade de Barra de Santana – PB (latitude 07° 31' 13" S, longitude 35° 59' 59" W, altitude 350 m). As sementes foram plantadas em densidade de plantio de 74.100 sementes por hectare e espaçados com 0,8 m entre fileiras. Foi realizada adubação orgânica, com esterco bovino (15 tn/ha). Foi realizada irrigação utilizando lamina de 440 mm durante o ciclo da cultura.

O sorgo foi colhido e transportado ao Laboratório de Forragicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – Campus II - Areia, para a ensilagem.

2.2. Delineamento Experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4, com 4 repetições, totalizando 32 unidades experimentais. As medias foram repetidas no tempo, em dois períodos de abertura de silos, 40 e 90 dias após a ensilagem. Os tratamentos consistiram na combinação de dois fatores inoculante e torta, sendo controle + três inoculantes (Sem inoculante, *Lactobacillus plantarum, Weissella cibaria* e Combo [*L. plantarum* + *W. cibaria*]) e dois tipos de silagem sem torta e com torta (apenas sorgo e sorgo + 20% torta de algodão, com base na matéria natural). Dessa maneira, foram feitas diferentes combinações da seguinte forma:

- 1. Sorgo (Controle);
- 2. Sorgo + 20% torta de algodão (Controle);
- 3. Sorgo + L. plantarum;
- 4. Sorgo + 20% torta de algodão + L. plantarum;
- 5. Sorgo + W. cibaria;
- 6. Sorgo + 20% torta de algodão + W. cibaria;
- 7. Sorgo + Combo;
- 8. Sorgo + 20% torta de algodão + Combo.

2.3. Montagem do Experimento

O Sorgo foi colhido aos 100 dias após o plantio, quando os grãos apresentavam-se no estágio pastoso a farináceo. O corte foi efetuado manualmente, a 10 cm acima do solo, sendo o material cortado picado em máquina forrageira, obtendo-se partículas cujos tamanhos variaram de 2 a 5 centímetros. Foi realizada a mistura da torta de algodão ao sorgo, nos tratamentos em que houve a inclusão desse aditivo, e a aplicação dos inoculantes nos tratamentos inoculados. Feito isso, o material foi compactado nos silos experimentais com bastões de madeira até atingir a densidade de, aproximadamente, 500 kg m⁻³. Os silos foram abertos aos 45 e 90 dias após a ensilagem.

Os microrganismos utilizados como inoculantes foram oriundos de experimentos prévios, sendo isoladas as cepas homo e heterofermentativas de bactérias láticas da palma miúda (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck cv. Miúda) (PEREIRA, 2019). Os microrganismos passaram por três ativações sucessivas em caldo MRS, a 37°C por 24 h, aplicando-se uma dose de 1 x 10⁵ log UFC/g de forragem ensilada. Nos tratamentos sem inoculante (Controle), foi aplicado água destilada no mesmo volume da solução que contém os inoculantes.

Os silos experimentais foram confeccionados com tubos de PVC (policloreto de polivinila) possuindo 20 cm de diâmetro e 30 cm de altura, sendo vedados nas duas extremidades com tampas de PVC. Na parte superior de cada silo, foi adaptada uma válvula tipo Bunsen, visando a eliminação dos gases produzidos durante a fermentação. Foram adicionados 1 kg de areia no fundo dos silos, utilizando-se tecido TNT para separar a areia da silagem, permitindo assim a drenagem dos efluentes.

2.4. Mensurações

No dia da ensilagem e durante a abertura dos silos, o material da superfície foi descartado e o restante foi homogeneizado manualmente, realizando-se a amostragem para as análises de perfil fermentativo, perfil microbiano, cálculo das perdas na ensilagem e estabilidade aeróbia. As mensurações de pH foram realizadas com auxílio de um potenciômetro, utilizando-se amostras de 25 g com 100 mL de água destilada seguindo de repouso por 1 hora. As amostras do dia da ensilagem (dia 0) foram feitas em duplicata, enquanto nos dias da abertura (45 e 90 dias) as amostras foram analisadas conforme o número de repetições de cada tratamento (BOLSEN *et al.*, 1992)

Para determinar o teor de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) utilizaram-se 5,6 mL de ácido sulfúrico diluído em 1 litro de água destilada para acidificação da amostra (valor ajustado de acordo com a densidade e volume descrito no rótulo do reagente). Dessa solução, foram adicionados 100 mL em 12,5 gramas de amostra fresca da silagem, mantidos em potes plásticos com tampa, durante 48 horas, em temperatura ambiente e caixa fechada. O sobrenadante foi pipetado em eppendorfs e foi submetido à centrifugação (13.000 rpm por 10 minutos), onde, posteriormente, realizou-se a retirada do sobrenadante, mantendo o pellet (VIEIRA,1980).

Além disso, amostras da silagem foram avaliadas quanto à capacidade tamponante (PLAYNE; MCDONALD, 1966)

Para a análise microbiológica foram utilizados meios seletivos, em que o MRS ágar adicionado de 0,1 % de ácido acético foi usado para contagem das bactérias ácido láticas (BAL) após 48 h de incubação e; BDA (batata dextrose ágar) acidificado com 1% de ácido tartárico para contagens de mofos e leveduras após 72 h, ambos incubados em BOD à 30 °C. Foram pesados 10 g de silagem fresca, agitando manualmente e seguindo-se de diluições em série variando de 10⁻¹ a 10⁻⁸. Após isso, foi realizado o plaqueamento de cada repetição experimental em duplicata para cada meio de cultura. As placas com unidades formadoras de colônia (UFC) variando de 30 a 300 foram contadas, diferenciando os mofos e leveduras por meio de características morfológicas das colônias.

Foram coletadas amostras de aproximadamente 250 g para realização das análises bromatológicas, sendo estas imediatamente colocadas em estufa de circulação forçada de ar à 60 °C por 72 h. Após esse período, anotaram-se os pesos e seguiu-se com a moagem do material em moinho tipo facas com partículas de 1 mm. O material foi acondicionado em recipientes vedados para impedir a absorção de umidade. As concentrações de MS (método 934.01) foi analisada conforme o AOAC (1990), PB (método 984.13), EE (método 920.85) (AOAC, 1990). As análises da FDN e FDA foram de acordo com a metodologia do INCT, seguindo-se as recomendações de Detmann *et al.*, (2012) (FDN; Método INCT-CA F-001/1e FDA; Método INCT-CA F-003/1), Enquanto os carboidratos solúveis foram determinados conforme Dubois *et al.*, (1956). Nas tabelas 1; 2 e 3 estão apresentados os valores das referidas análises no dia da ensilagem (dia 0).

Tabela 1. Composição bromatológica do sorgo forrageiro e das misturas com inoculantes microbianos e torta de algodão no momento da ensilagem

Tratamentos	MS% ¹	MO^2	EE (%MS) ³	PB (%MS) ⁴	FDN (%MS) ⁵	FDA (%MS) ⁶
Sem inoculante						
Sorgo	25,35	90,42	4,49	5,65	62,16	35,26
Sorgo + 20% Torta	35,77	93,26	6,19	16,13	60,79	38,64
L. plantarum						
Sorgo	24,34	91,10	2,61	6,61	65,72	38,80
Sorgo + 20% Torta	36,73	94,22	5,70	15,35	59,53	40,90
W. cibaria						
Sorgo	23,77	91,00	2,54	5,94	61,92	36,67
Sorgo + 20% Torta	35,16	94,28	7,04	17,87	59,69	36,86
Combo						
Sorgo	23,13	91,40	3,52	5,97	62,26	36,48
Sorgo + 20% Torta	36,76	93,49	6,58	17,98	58,45	37,48

¹MS = matéria seca; ²MO = matéria orgânica; ³EE = extrato etéreo; ⁴PB = proteína bruta ⁵FDN = fibra em detergente neutro; ⁶FDA = fibra em detergente ácido

Tabela 2. Valor de carboidratos solúveis do sorgo forrageiro e das misturas com inoculantes microbianos e torta de algodão no momento da ensilagem

Tratamentos	Carboidratos	\mathbf{CT}^1
Sem inoculante		
Sorgo	17,92	0,103
Sorgo + 20% Torta	5,66	0,091
L. plantarum		
Sorgo	12,91	0,115
Sorgo + 20% Torta	8,88	0,110
W. cibaria		-
Sorgo	15,32	0,078
Sorgo + 20% Torta	8,21	0,099
Combo		-
Sorgo	14,64	0,085
Sorgo + 20% Torta	7,83	0,113

¹CT= Capacidade Tampão

Tabela 3. Contagens microbianas do sorgo forrageiro e das misturas com inoculantes microbianos e torta de algodão no momento da ensilagem

Tratamentos	BAL^1	Mofos ²	Leveduras ³
Sem inoculante			_
Sorgo	6,60	5,00	5,19

Sorgo + 20% Torta	5,65	4,69	5,21
L. plantarum			
Sorgo	6,66	4,89	5,37
Sorgo + 20% Torta	6,90	5,05	5,25
W. cibaria	•	•	
Sorgo	6,39	5,10	5,30
Sorgo + 20% Torta	6,50	4,65	5,16
Combo			_
Sorgo	6,44	4,71	5,21
Sorgo + 20% Torta	6,55	4,89	5,53

¹BAL = bactérias ácido láticas, log UFC/g de silagem fresca. ²Mofos, log UFC/g de silagem fresca. ³Leveduras, log UFC/g de silagem fresca.

As perdas de matéria seca do processo fermentativo foram quantificadas por diferenças de peso conforme as equações abaixo ZANINE *et al.*, (2010):

- PG: (PSF PSA)/(MFf x MFSf) x 1000, 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 x 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 x MSa)/(MFf x MSf) x 100, onde RMS = recuperação de matéria seca (%);
 MFa = massa de forragem na abertura (kg); MSa = teor de MS na abertura (%); MFf = massa de forragem na ensilagem (kg); MSf = teor de MS na ensilagem (%).

Para determinação da estabilidade aeróbia, foram coletadas amostras de 2 kg de silagem no momento da abertura dos silos e realocadas em silos limpos, sem necessidade de compactação. Dois termômetros foram inseridos no centro geométrico da massa de cada silo, com a temperatura sendo registrada a cada 30 minutos. A temperatura ambiente foi monitorada e registrada com um termômetro acoplado próximo aos silos, controlando-se a temperatura ambiente para 25 °C durante 96 horas. A estabilidade aeróbia foi calculada como sendo o número de horas que a massa ensilada permaneceu 2 °C acima da temperatura ambiente (TAYLOR e KUNG, 2002).

2.5. Análise estatística

Os dados foram analisados pelo procedimento de modelos lineares gerais (PROC GLM) do pacote estatístico SAS® v. 9.2 (SAS, 2012), sendo submetidos à análise de variância num delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2x4 (silagens com e sem aditivo nutricional x inoculantes), seguindo o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijk} = m + \alpha_i + \beta_j + (\alpha \beta)_{ij} + e_{ijk}$$

Em que:

 Y_{ijk} = valor observado para variável em estudo;

m = média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo;

 $\alpha_i = torta$

 β_j = inoculante

 $\alpha\beta$ = efeito da interação dos fatores

Quando significativo, foi feito o desdobramento dos efeitos principais e das interações entre eles.

3. RESULTADOS

Na abertura dos silos aos 45 dias (Tabela 4) houve efeito de interação Inoculante x torta para as variáveis MS e PB (p=0,0002 e p=0,0269, respectivamente). Observou-se que a inclusão de 20% de torta de algodão proporcionou aumento nos teores de MS, MO, EE, e PB (p<0,0001) e diminuição no teor de FDN (p=0,0299), quando comparado aos tratamentos contendo apenas o sorgo inoculado.

Quanto aos tratamentos aditivados com inoculantes, os tratamentos com *W. cibaria e o combo* apresentaram maiores valores para MS quando comparado aos tratamentos sem inoculante e inoculados com *L. plantarum*. Quanto a PB, maiores teores foram encontrados nos tratamentos inoculados com *L. plantarum* e o combo. Observou-se que o uso dos inoculantes na silagem diminuiu os teores de EE, quando comparado ao tratamento não inoculado, não havendo diferença entre os inoculantes.

Tabela 4. Composição bromatológica de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 45 dias

Tratamentos	MS%	МО	EE (%MS)	PB (%MS)	FDN (%MS)	FDA (%MS)
Sem inoculante	•					
Sorgo	23,65°	91,99 ^b	6,57 ^{ab}	5,70 ^{dc}	60,69 ^a	38,79a

Sorgo + 20% Torta	$35,27^{ab}$	93,97ª	8,13 ^a	17,47 ^a	59,59 ^a	37,68 ^a
L. plantarum	·	·				
Sorgo	24,25°	91,24 ^b	4,07 ^{cb}	6,79 ^b	63,20a	33,49a
Sorgo + 20% Torta	$33,56^{b}$	93,59a	6,01 ^{ab}	17,54 ^a	$60,09^{a}$	39,87 ^a
W. cibaria	·	·				
Sorgo	24,29°	91,14 ^b	3,11°	5,45 ^d	63,85a	38,41ª
Sorgo + 20% Torta	36,63a	94,42 ^a	$7,26^{a}$	17,34 ^a	48,72a	39,06 ^a
Combo						
Sorgo	23,39°	91,53 ^b	3,95 ^{cb}	6,67 ^{bc}	63,36 ^a	37,21 ^a
Sorgo + 20% Torta	$37,08^{a}$	$94,27^{a}$	$6,22^{ab}$	17,42 ^a	54,54 ^a	37,59 ^a
EPM	1,169	0,653	1,193	0,524	8,655	3,014
	Efeito	principal pa	ra silagens in	oculadas		
Sem inoculante	29,46ab	92,98ª	7,35 ^a	11,59 ^{ab}	60,14 ^a	38,24ª
L. plantarum	28,91 ^b	92,42ª	5,04 ^b	12,16 ^a	61,65 ^a	36,68 ^a
W. cibaria	$30,56^{a}$	92,78ª	$5,19^{b}$	11,39 ^b	56,28a	38,74 ^a
Combo	30,24 ^a	92,90ª	$5,08^{b}$	12,04 ^a	58,95 ^a	$37,40^{a}$
Efe	eito Principa	l para silager	ns com ou ser	n torta de alg	odão	
Sorgo	23,90 ^b	91,47 ^b	4,43 ^b	6,15 ^b	62,77 ^a	36,98 ^a
Sorgo + 20% Torta	35,69 ^a	94,07ª	6,91ª	17,44 ^a	55,74 ^b	38,55a
P-valor						
Inoculante	0,0021	0,3214	0,0007	0,0074	0,6508	0,4651
Torta	<0,0001	<0,0001	<0,0001	< 0,0001	0,0299	0,1182
Inoculante x Torta	0,0002	0,2280	0,1312	0,0269	0,3809	0,0560

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey (*P* < 0,05). EPM: erro-padrão da média. ¹MS = matéria seca; ²MO = matéria orgânica; ³EE = extrato etéreo; ⁴PB = proteína bruta ⁵FDN = fibra em detergente neutro; ⁶FDA = fibra em detergente ácido.

Aos 45 dias de abertura houve diferença significativa para pH com efeitos isolados de torta e inoculante (P<0,0001) entre os tratamentos. Observa-se que as silagens inoculadas apresentaram valores de pH mais baixos que o Controle. Além disso, as silagens com torta (sorgo + torta de algodão) tiveram valores mais altos de pH, evidenciando o tamponamento do meio. Para o teor de N-NH₃ observou-se efeito isolados entre os tratamentos para torta e inoculante, apresentando valores maiores nas silagens sem torta e nas não inoculadas (Tabela 5). Não foram observadas diferenças entre tratamentos para a variável CHOs, mas apenas efeito da torta de algodão (P=0,0305), deixando claro que as silagens com torta têm teor menor teor de CHOs que as silagens de sorgo.

Tabela 5. Valores médios de pH, carboidratos solúveis residuais (CHOs) Capacidade Tamponante (CT) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) em silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 45 dias

Tratamentos	pН	CHOs (%) ¹	\mathbf{CT}^2	N-NH3 total ³
Sem inoculante				

Sorgo	3,52 ^d	3,43ª	0,35ª	14,92ª
Sorgo + 20% Torta	3,88a	$2,26^{a}$	$0,36^{a}$	11,42 ^b
L. plantarum				
Sorgo	3,45e	2,31ª	0,34ª	12,53 ^b
Sorgo + 20% Torta	$3,84^{ab}$	1,91ª	$0,37^{a}$	8,61°
W. cibaria				
Sorgo	3,43e	2,99ª	0,35ª	11,75 ^b
Sorgo + 20% Torta	$3,79^{c}$	2,31 ^a	$0,35^{a}$	$7,74^{b}$
Combo				
Sorgo	3,45°	2,68ª	0,39a	12,05 ^b
Sorgo + 20% Torta	3,83 ^{cb}	2,21ª	$0,36^{a}$	$7,16^{c}$
EPM	0.03	0,15	0,032	0,888
	Efeito principa	al para silagens inc	oculadas	
Sem inoculante	$3,70^{a}$	2,85ª	0,35a	13,17 ^a
L. plantarum	3,64 ^b	2,11 ^a	$0,35^{a}$	10,57 ^b
W. cibaria	3,58°	2,59ª	0,35a	9,75 ^b
Combo	3,58 ^b	2,39ª	0,37ª	9,61 ^b
Efei	to Principal para si	lagens com ou sem	torta de algodão	
Sorgo	$3,46^{b}$	2,85ª	$0,36^{a}$	12,81ª
Sorgo + 20% Torta	3,84ª	2,11 ^b	$0,36^{a}$	8,73 ^b
		P-valor		
Inoculante	< 0.0001	0,3264	0,6279	<0,0001
Torta	< 0.0001	0,0305	0,9999	<0,0001
Inoculantes x Torta	0,1644	0,7819	0,4796	0,4781

Médias seguidas de letras diferentes na coluna tem diferença significativa pelo teste de Tukey (*P* < 0,05). EPM: erro-padrão da média. ¹CHOs= carboidratos solúveis; ²CT=capacidade tampão; ³N-NH₃ total= nitrogênio amoniacal total.

Aos 45 dias houve diferença nas contagens de BAL com interação torta x inoculante (P<0,0001) entre os tratamentos; A maior população de BAL foi verificada na silagem de Sorgo + 20% Torta inoculada com *L. plantarum*, seguidas do Controle, Combo e *W. cibaria*. Com relação aos mofos observou-se as menores contagens na silagem de sorgo inoculada com o combo. Na silagem com torta e sem inoculante, as contagens de leveduras foram menores que 1,00 log UFC g⁻¹ de silagem diferindo dos demais tratamentos (Tabela 6)

Tabela 6. Contagens microbianas em silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 45 dias

Tratamentos	BAL ¹	Mofos ²	Leveduras ³
Sem inoculante			
Sorgo	5,13 ^{cd}	2,90a	4,91ª
Sorgo + 20% Torta	$5,72^{b}$	$3,05^{a}$	<1,00 ^b
L. plantarum			

Sorgo	5,69 ^{bc}	2,17ª	5,10 ^a
Sorgo + 20% Torta	6,45 ^a	2,51 ^a	$4,80^{a}$
W. cibaria		•	
Sorgo	4,93 ^d	2,69ª	4,76ª
Sorgo + 20% Torta	4,39e	$2,24^{ab}$	5,64 ^a
Combo			
Sorgo	5,87 ^b	<1,00 ^b	5,77ª
Sorgo + 20% Torta	$5,40^{\text{bcd}}$	$2,79^{ab}$	$5,00^{a}$
EPM	0,06	0,40	0,33
Efeito pri	ncipal para sil	agens inoculad	as
Sem inoculante	5,41 ^b	2,78ª	2,45 ^b
L. plantarum	6,00ª	2,32ª	5,16ª
W. cibaria	4,64°	2,15ª	4,73ª
Combo	5,59 ^b	0,76 ^b	4,98ª
Efeito Principal pa	ra silagens cor	n ou sem torta	de algodão
Sorgo	5,35ª	1,87ª	5,21ª
Sorgo + 20% Torta	5,46ª	2,13ª	3,45 ^b
	<i>P</i> -valor		
Torta	0,1665	0,3734	0,0001
Inoculante	<0,0001	0,0003	0,0001
Torta x Inoculante	<0,0001	0,0394	0,0001
Médias seguidas de l	letras diferente	s na coluna te	m diferenca

Médias seguidas de letras diferentes na coluna tem diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05). EPM: erro-padrão da média. $^{1}\text{BAL} = \text{bactérias}$ ácido láticas, log UFC/g de silagem fresca. $^{2}\text{Mofos}$, log UFC/g de silagem fresca. $^{3}\text{Leveduras}$, log UFC/g de silagem fresca.

Na abertura dos silos aos 45 dias houve interação torta x inoculante para as variáveis tempo e temperatura máxima (P<0,0001), onde as silagens com torta tiveram menores temperaturas e maior estabilidade se comparada às demais silagens. No desdobramento dos efeitos, nota-se que os inoculantes promoveram maior aquecimento e diminuição da estabilidade aeróbia das silagens. O tratamento com melhor estabilidade aeróbia foi o não inoculado e aditivado com torta de algodão, levando 84 h, em média, para iniciar a deterioração. Este tratamento, seguido da silagem com torta e inoculada com o Combo, tiveram as menores temperaturas registradas (Tabela 7).

Tabela 7. Estabilidade aeróbia de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 45 dias

Tratamentos	Tempo ¹	T. máx ²
Sem inoculante		
Sorgo	31,00e	32,82ª

Sorgo + 20% Torta	$84,00^{a}$	$28,30^{d}$			
L. plantarum					
Sorgo	35,12 ^{de}	32,42ª			
Sorgo + 20% Torta	$54,50^{b}$	31,52 ^{ab}			
W. cibaria					
Sorgo	42,50 ^{dc}	30,50 ^{cb}			
Sorgo + 20% Torta	52,00 ^{bc}	$29,97^{cb}$			
Combo					
Sorgo	43,00 ^{dc}	30,10 ^{bc}			
Sorgo + 20% Torta	49,87 ^{bc}	$29,25^{cd}$			
EPM	2,82	0,28			
Efeito principal	l para silagens inocula	das			
Sem inoculante	57,50 ^a	30,56 ^b			
L. plantarum	44,81 ^b	31,97 ^a			
W. cibaria	47,25 ^b	30,23 ^b			
Combo	46,43 ^b	29,67 ^b			
Efeito Principal para sila	agens com ou sem torta	a de algodão			
Sorgo	$37,90^{b}$	31,46 ^a			
Sorgo + 20% Torta	$60,09^{a}$	29,76 ^b			
P-valor					
Torta	<0,0001	<0,0001			
Inoculante	<0,0001	<0,0001			
Torta x Inoculante	<0,0001	<0,0001			
Médias seguidas de letras	diferentes na coluna	tem diferenca			

Médias seguidas de letras diferentes na coluna tem diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0.05). EPM: erro padrão da média ¹Tempo necessário (horas) para as silagens apresentarem quebra da estabilidade aeróbia (temperatura acima de 2°C em relação à temperatura ambiente). ²Temperatura máxima (°C) do primeiro pico de aquecimento das silagens num período de 96 horas mantidas em temperatura ambiente de 25 °C.

Observou-se, aos 90 dias de abertura dos silos, efeito de interação inoculante x torta para variável MS (P=0,0078), a adição de torta de algodão no nível de 20% da MN aumentou o teor de matéria seca da silagem. Os tratamentos sem torta apresentaram menores teores de MS. Houve interação para variável EE e PB. As silagens aditivadas com torta de algodão apresentaram maiores teores de EE e PB. Observou-se efeito isolado da torta de algodão em todas as variáveis bromatológicas estudadas, houve aumento no teor de MS, MO, EE, PB (P<0,0001) e diminuição no teores de FDN e FDA (P<0,0001 e P=0,0092 respectivamente). Quanto ao efeito principal para silagens inoculadas observou-se diferença (P=0,0004) onde as silagens não inoculadas apresentaram valores de matéria seca inferior a silagem inoculada, no entanto não houve diferença entre os inoculantes (Tabela 8).

Tabela 8. Composição bromatológica de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos, abertas aos 90 dias

Tratamentos	MS%	МО	EE (%MS)	PB (%MS)	FDN (%MS)	FDA (%MS)
Sem inoculante						
Sorgo	23,66°	92,25 ^b	2,85 ^d	5,69e	64,17ª	38,15 ^a
Sorgo + 20% Torta	$35,02^{b}$	93,95°	$6,05^{ab}$	$15,77^{d}$	58,98 ^b	39,05 ^a
L. plantarum			·	•		
Sorgo	24,31°	91,70 ^{bc}	3,65 ^{cd}	5,74e	64,68ª	38,99ª
Sorgo + 20% Torta	36,63 ^a	93,58ª	$7,65^{a}$	16,23°	$59,10^{b}$	37,51 ^a
W. cibaria						
Sorgo	24,40°	91,54 ^{bc}	6,69ª	4,67 ^g	64,53ª	39,32ª
Sorgo + 20% Torta	36,85 ^a	93,73ª	$7,77^{a}$	16,87ª	55,77 ^b	$37,08^{a}$
Combo						
Sorgo	23,60°	91,26°	4,75 ^{cb}	5,43 ^f	64,67ª	39,63ª
Sorgo + 20% Torta	37,09 ^a	93,87ª	7,44 ^a	16,55 ^b	58,31 ^b	36,57ª
EPM	0,663	0,378	0,924	0,449	1,952	1,602
	Efeito	principal pa	ra silagens in	oculadas		
Sem inoculante	29,34 ^b	93,10 ^a	4,45°	10,73 ^b	61,57a	38,60a
L. plantarum	$30,47^{a}$	92,64 ^{ab}	$5,65^{b}$	10,99a	61,89a	38,25 ^a
W. cibaria	30,63 ^a	92,63 ^{ab}	$7,23^{a}$	$10,77^{b}$	$60,15^{a}$	$38,20^{a}$
Combo	$30,35^{a}$	$92,56^{b}$	$6,09^{b}$	$10,99^{a}$	61,49 ^a	$38,10^{a}$
E	feito Principa	l para silageı	ns com ou ser	n torta de alg	godão	
Sorgo	23,99 ^b	91,69 ^b	4,49 ^b	5,38 ^b	64,51 ^a	39,02a
Sorgo + 20% Torta	$36,40^{a}$	$93,78^{a}$	$7,23^{a}$	16,36 ^a	58,04 ^b	37,55 ^b
		P-	valor			
Inoculante	0,0004	0,0196	<0,0001	<0,0001	0,2991	0,9114
Torta	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	< 0,0001	0,0092
Inoculante x Torta	0,0078	0,0733	0,0066	<0,0001	0,2654	0,0677

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey (*P* < 0,05). EPM: erro-padrão da média. ¹MS = matéria seca; ²MO = matéria orgânica; ³EE = extrato etéreo; ⁴PB = proteína bruta ⁵FDN = fibra em detergente neutro; ⁶FDA = fibra em detergente ácido.

Aos 90 dias de abertura dos silos observou-se efeito da torta de algodão sobre o pH das silagens (P<0,0001), promovendo aumento do pH em relação às silagens de sorgo sem torta, independentemente dos inoculantes usados. Com relação aos CHOs aos 90 dias, não houve diferença entre tratamentos. Quanto à capacidade tampão observou-se efeito de interação, onde o tratamento Combo + Sorgo + 20% Torta apresentou o menor valor (0,0064), seguido do W. cibaria + Sorgo + 20% Torta (0,0067). Para o teor de N-NH₃ aos 90 dias verificou-se apenas efeito da torta (P<0,0001), onde as silagens com torta tiveram menores valores independentemente dos inoculantes usados (Tabela 9).

Tabela 9. Valores de pH, carboidratos solúveis residuais (CHOs) Capacidade Tamponante (CT) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 90 dias

Tratamentos	pН	CHOs (%)	CT	N-NH ₃ total
Sem inoculante				
Sorgo	3,48 ^b	3,19ª	0,37ª	13,12 ^{ab}
Sorgo + 20% Torta	3,99ª	2,43ª	$0,33^{a}$	$9,10^{cb}$
L. plantarum	·	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		<u> </u>
Sorgo	3,45 ^b	1,94ª	0,34ª	12,11 ^{ab}
Sorgo + 20% Torta	3,87ª	2,93ª	$0,31^{a}$	$6,02^{c}$
W. cibaria				
Sorgo	3,45 ^b	2,61ª	0,33ª	14,91ª
Sorgo + 20% Torta	3,95ª	3,89ª	$0,07^{b}$	7,81°
Combo				
Sorgo	3,48 ^b	2,87ª	0,09 ^b	13,88ª
Sorgo + 20% Torta	$3,88^{a}$	2,60ª	$0,06^{b}$	6,65°
EPM	0,04	0,15	0,021	1,776
	Efeito principa	l para silagens inoc	uladas	
Sem inoculante	3,73ª	2,81ª	0,35ª	11,11ª
L. plantarum	3,66ª	2,44ª	0,33ª	9,07ª
W. cibaria	3,70ª	2,34ª	0,20 ^b	11,36ª
Combo	3,68ª	2,41ª	0,07°	10,27ª
Efeite	o Principal para sil	agens com ou sem to	orta de algodão	
Sorgo	3,46 ^b	2,65ª	0,28ª	13,51ª
Sorgo + 20% Torta	3,92ª	2,35ª	0,19 ^b	7,40 ^b
		<i>P</i> -valor		
Inoculante	0.1485	0,2887	<0,0001	0,0589
Torta	< 0.0001	0,2941	<0,0001	<0,0001
Inoculante x Torta	0.2614	0,0555	<0,0001	0,2488

Médias seguidas de letras diferentes na coluna tem diferença significativa pelo teste de Tukey (*P* < 0,05). EPM: erro-padrão da média. ¹CHOs= carboidratos solúveis; ²CT=capacidade tampão; ³N-NH_{3 total}= nitrogênio amoniacal total.

Observou-se para as BAL interação torta x inoculante, tendo maior população nas silagens com torta e não inoculadas, seguida das silagens inoculadas com *W. cibaria* e Combo. Para a população de mofos houve efeito de torta (P=0,0002) e de inoculante (P=0,0002), com maiores contagens em ambas as silagens não inoculadas e na silagem com torta e inoculada com o Combo. Para a variável levedura tem-se interação torta x inoculante (P=0,0002), onde nas silagens com torta e não inoculadas observaram-se as menores contagens (Tabela 10).

Tabela 10. Contagens microbianas de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 90 dias

Tratamentos	BAL ¹	Mofos ²	Leveduras ³		
Sem inoculante					
Sorgo	5,38 ^{cb}	3,07 ^{ab}	4,04ª		
Sorgo + 20% Torta	$6,27^{ab}$	3,88a	0.00^{b}		
L. plantarum					
Sorgo	5,37 ^{cb}	3,18 ^{ab}	2,85ª		
Sorgo + 20% Torta	5,26 ^{cb}	$3,00^{ab}$	$3,84^{a}$		
W. cibaria					
Sorgo	4,81°	0,62°	3,90a		
Sorgo + 20% Torta	6,91 ^a	$3,10^{ab}$	1,66 ^{ab}		
Combo					
Sorgo	4,41°	2,15 ^b	3,65ª		
Sorgo + 20% Torta	$7,40^{a}$	$2,97^{ab}$	$4,12^{a}$		
EPM	0,19	0,19	0,29		
Efeito pri	ncipal para sila	agens inocula	das		
Sem inoculante	5,83 a	3,47a	2,02 ^b		
L. plantarum	5,32 a	3,09 ab	3,34 ^{ab}		
W. cibaria	5,86 a	1,86°	2,78 ^{ab}		
Combo	5,91 a	2,56 ^{cb}	3,88ª		
Efeito Principal para silagens com ou sem torta de algodão					
Sorgo	4,99 ^b	2,25 ^b	3,61 ^a		
Sorgo + 20% Torta	6,46 ^a	3,24 ^a	2,40 ^b		
P-valor					
Inoculante	0,1361	0.0002	0.0131		
Torta	< 0.0001	0.0002	0.0042		
Inoculante x Torta	< 0.0001	0.0555	0.0002		
Médias seguidas de significativamente pel			una diferem . EPM: erro-		

Houve efeito do inoculante (P=0,0008) e da torta (P=0,0244) sobre a estabilidade aeróbia das silagens abertas aos 90 dias, em que a silagem com torta e não inoculada houve a maior estabilidade, seguido do tratamento inoculado com *W. cibaria*. As temperaturas foram menores nas silagens com torta e não inoculada (28,12) e silagem com torta inoculado com *W. cibaria* (30,87), enquanto os demais tratamentos tiveram temperaturas acima dos 31 °C (Tabela 11).

padrão da média. ¹BAL = bactérias ácido láticas, log UFC/g de silagem fresca. ²Mofos, log UFC/g de silagem fresca. ³Leveduras,

log UFC/g de silagem fresca.

Tabela 11. Estabilidade aeróbia de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 90 dias

Tratamentos	Tempo¹	T. máx²			
Sem inoculante					
Sorgo	58,25 ^{abc}	32,50 ^{ab}			
Sorgo + 20% Torta	$73,75^{a}$	$28,12^{c}$			
L. plantarum					
Sorgo	49,12°	31,62 ^{ab}			
Sorgo + 20% Torta]	54,25 ^{cb}	34,62 ^a			
W. cibaria					
Sorgo	60,00 ^{abc}	34,12ª			
Sorgo + 20% Torta	65,37 ^{ab}	30,87 ^{cb}			
Combo					
Sorgo	56,75 ^{cb}	33,12 ^{ab}			
Sorgo + 20% Torta	53,50 ^{cb}	$34,00^{a}$			
EPM	1,66	0,41			
Efeito principa	l para silagens inocul	adas			
Sem inoculante	66,00ª	30,31 ^b			
L. plantarum	51,68°	33,12ª			
W. cibaria	62,68 ^{ab}	32,50 ^a			
Combo	5512 ^{cb}	33,56ª			
Efeito Principal para sila	agens com ou sem tor	ta de algodão			
Sorgo	56,03 ^b	32,84ª			
Sorgo + 20% Torta	61,71 ^a	31,90ª			
P-valor					
Inoculante	0,0008	0,0002			
Torta	0,0244	0,0527			
Inoculante x Torta	0,0735	<0,0001			
Médias seguidas de letras	diferentes na colun	a tem diferenca			

Médias seguidas de letras diferentes na coluna tem diferença significativa pelo teste de Scott – Knott (P < 0,05). EPM: erro padrão da média 1 Tempo necessário (horas) para as silagens apresentarem quebra da estabilidade aeróbia (temperatura acima de 2° C em relação à temperatura ambiente). 2 Temperatura máxima ($^{\circ}$ C) do primeiro pico de aquecimento das silagens num período de 96 horas mantidas em temperatura ambiente de 25° C.

Houve efeito da torta para as perdas por gases (P<0,0001), em que o a silagem de sorgo inoculada com o combo apresentou maior perda por gases (Tabela 12). As perdas por efluentes foram bem menores nos tratamentos contendo torta de algodão, independente do inoculante utilizado, haja vista que houve efeito principal para torta (P<0,0001) (Tabela 12), observandose uma diminuição média de 66,4 kg MF t⁻¹ para 3,5 kg MF t⁻¹. Houve interação torta x inoculante (P<0,0001) para a recuperação de matéria seca onde os tratamentos contendo torta

de algodão tiveram recuperação superior às demais silagens (Tabela 12). Observa-se ainda que as silagens de sorgo inoculadas tiveram maior recuperação que a silagem de sorgo não inoculadas.

Tabela 12. Perdas fermentativas e recuperação de matéria seca de silagens aditivadas com torta de algodão e inoculantes microbianos abertas aos 90 dias

Tratamentos	PG (%MS)	PE (kg t ⁻¹)	RMS (%)
Sem inoculante			
Sorgo	0,98 ^b	67,34ª	84,55°
Sorgo + 20% Torta	$0,69^{b}$	5,63 ^b	96,96 ^a
L. plantarum			
Sorgo	0,96 ^b	65,61 ^a	90,74 ^b
Sorgo + 20% Torta	$0,53^{b}$	3,81 ^b	97,64 ^a
W. cibaria			
Sorgo	0,99 ^b	69,65 ^a	92,91 ^b
Sorgo + 20% Torta	$0,70^{b}$	1,73 ^b	97,35°
Combo			
Sorgo	1,67ª	63,06a	91,50 ^b
Sorgo + 20% Torta	$0,54^{b}$	2,77 ^b	$97,74^{a}$
EPM	0,07	5,68	0,80
Efeito pri	ncipal para sila	agens inoculada	as
Sem inoculante	0,83ª	36,48ª	90,76 ^b
L. plantarum	0,75ª	34,71ª	94,19ª
W. cibaria	0,84ª	35,69ª	95,13ª
Combo	1,10 ^a	32,92ª	94,62ª
Efeito Principal pa	ıra silagens con	n ou sem torta	de algodão
Sorgo	1,15ª	66,41ª	89,93 ^b
Sorgo + 20% Torta	0,61 ^b	3,48 ^b	97,42ª
	<i>P</i> -valor		
Inoculante	0.0604	0.1471	< 0.0001
Torta	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Inoculante x Torta	0.0089	0.0936	< 0.0001

Médias seguidas de letras diferentes na coluna tem diferença significativa pelo teste de Scott – Knott (p < 0.05). PG: perdas por gases, em % de MS; PE: perdas por efluentes, em kg matéria fresca t⁻¹; RMS: recuperação de matéria seca, em %; N-NH3: nitrogênio amoniacal, em %N-NH3 na MS.

4. DISCUSSÃO

O aumento nos teores de MS, MO, EE e PB (Tabelas 4 e 8) pode ser explicado pelo fato da torta de algodão ser um ingrediente de elevado teor proteico e lipídico (ROGERS; POORE e PASCHAL, 2002) Além de maior matéria seca, em relação ao sorgo, o que lhe confere características higroscópicas que contribui na melhoria dos processos fermentativos, atuando diretamente nas características qualitativas do produto final (SANTIN *et al.*, 2020). A inclusão da torta de algodão resultou na melhoria do valor nutritivo do material ensilado, mostrando a eficiência da mistura com sorgo forrageiro, pois o sorgo possui baixo teor proteico e muitas vezes seu uso torna-se limitado, principalmente em dietas para animais com alta exigência nutricional.

No ponto de corte do sorgo forrageiro, quando o grão atinge o estágio leitoso/pastoso (PERAZZO *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2018), dificilmente é possível obter um teor de matéria seca entre 30 e 35% como McDonald; Henderson e Heron (1991) recomendam, principalmente no período de rebrota, sem contar que o sorgo apresenta alta concentração de CHOs, o que pode ocasionar problemas fermentativos, alta acidificação do meio e aumento das perdas por gases, como também maiores perdas por efluentes. Dessa forma, a adição da torta usada como aditivo nutricional, foi avaliada quanto sua capacidade de tamponar o meio e minimizar as perdas durante o processo fermentativo. O nível de 20% de inclusão da torta proporcionou valores para MS dentro do preconizado pela literatura, não ultrapassando 40%MS, o que pode ser importante principalmente no impedimento da proliferação de microrganismos indesejáveis (MCDONALD; HENDERSON E HERON, 1991; AMARAL e NUSSIO, 2011).

O aumento nos teores de matéria seca com a inclusão de 20% de torta de algodão se justifica pelo fato deste ingrediente apresentar maior teor de matéria seca (MS) quando comparado ao sorgo. Neste caso a torta é utilizada como aditivo absorvente, usada no intuito de minimizar o teor de umidade das silagens, de forma que eleve o teor de matéria seca da massa ensilada. Zanine *et al.*, (2006) avaliando a inclusão de 30% de farelo de trigo em silagem de capim elefante observou aumento de 100% de MS.

Foi evidenciado maiores teores de PB e EE nos tratamentos com adição de 20% de torta de algodão, devido à alta composição proteica e energética da torta de algodão. Andrade *et al.*, (2019) avaliando a adição de Leucena (*Leucaena leucocephala*) na qualidade da silagem de sorgo também observaram teor de PB na silagem elevado, variando de 7,2 a 23,6%.

Observou-se menores teores de FDN com a inclusão de torta de algodão ao sorgo forrageiro tanto no dia da ensilagem, quanto nos 45 e 90 dias de abertura (Tabelas 1,4 e 8). Já para FDA foram encontrados menores valores apenas nos 90 dias de abertura. A diminuição nos teores de FDN nas silagens com a inclusão da torta em comparação com as silagens sem torta pode ser explicada pelo fato de que a adição de 20% de torta de algodão diluiu a proporção dessas fibras, já que de acordo com o NRC (2007) a torta de algodão possui teores de FDN em torno de 31%. Resultados semelhantes foram encontrados por Bureenok *et al.*, (2012) que avaliando o efeito de aditivos bacterianos e nutricionais nas silagens de capim Napier, observaram que aos 45 dias depois da ensilagem, a fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) da silagem tratada com farelo de mandioca foram significativamente menores (p <0,05). Zanine *et al.*, (2005) também observaram redução nos teores de FDN com a inclusão do farelo de trigo na silagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum*).

Quanto ao desdobramento dos efeitos observou-se que os tratamentos com *W. cibaria e o combo* apresentaram maiores valores para MS quando comparado aos tratamentos sem inoculante e inoculados com *L. plantarum*. Este fato pode está relacionado ao estimulo da fermentação lática promovido por estes inoculantes, que de acordo com McDonald (1981), resulta em menores perdas de MS nas silagens (Tabela 4).

Ainda em relação ao desdobramento dos efeitos (Tabela 4), maiores teores de PB foram encontrados nos tratamentos inoculados com L. *plantarum* e o combo. Este fato pode ser explicado pela maior produção de BAL nos 45 dias da ensilagem, o que resultou em proteína microbiana nos silos. Observou-se que o uso dos inoculantes na silagem diminuiu os teores de EE, quando comparado ao tratamento não inoculado, não havendo diferença entre os inoculantes. Este fato pode está associado a presença de lipases, que atuaram sobre os lipídios durante alguma reação química. Alguns autores relatam à atividade de lipases em espécies de *Lactobacillus* (Kamaly e Marth, 1989).

Com relação ao tamponamento, Pedroso (2003) e Siqueira *et al.*, (2007) estudando o efeito da adição proteica em silagens, observaram que fontes proteicas possuem efeito alcalino e promovem uma lenta queda de pH durante o processo fermentativo, caracterizando-se como um tamponante (Tabela 5).

Verificou-se que os tratamentos contendo torta de algodão apresentaram valores de pH mais próximos ao recomendado por McDonald; Henderson e Heron (1991), entre 3,8 a 4,2

(Tabela 5 e 9). E valores mais baixos para variável CT, Isso mostra o potencial da torta de algodão como um aditivo tamponante do meio, mesmo em silagens que possuem alto teor de CHOs. Alguns autores demonstram o potencial tamponante de substancias nitrogenadas principalmente em trabalhos com silagens (PINHO *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2018; ZANINE *et al.*, 2007).

Ao se aditivar o sorgo com 20% de torta e inocular com *W. cibaria + L. plantarum* (Combo) obteve-se o menor valor de CT (Tabela 9). O ideal é que o material a ser ensilado tenha baixo poder tampão, para facilitar a redução do pH pela ação dos ácidos orgânicos produzidos pela fermentação (MASSARO JÚNIOR *et al.*, 2020) tendo em vista que a capacidade tampão é definida como a resistência que a massa ensilada apresenta ao rebaixamento do pH (JOBIM *et al.*, 2007). Este comportamento observado na capacidade tampão (Tabela 9) pode ser devido à ação dos inoculantes (*W. cibaria + L. plantarum*). Apesar de não se ter diferenças entre os inoculantes testados, todos os tratamentos apresentaram baixa capacidade tampão. Pinto *et al.*, (2012) avaliando o efeito de diferentes aditivos proteicos sobre as características químicas, parâmetros de fermentação e digestibilidade in vitro de silagem de milho, observou menores valores de capacidade tampão quando a silagem foi inoculada com farelo de algodão (44,69 mg/100 g de MS) o que mostra a eficácia da torta de algodão como aditivo nutricional.

O teor de CHOs residuais não diferiu entre tratamentos por uma característica inerente às próprias BAL, onde além da oxidação dos açúcares causar a redução do teor a acidez do meio torna-se tão elevada que inibe seu próprio crescimento e, por esta razão, alguns CHOs não são utilizados durante a fermentação (Tabela 5).

As silagens com torta tiveram menores teores de N-NH₃, apresentando menor proteólise. Desta forma, pode-se dizer que a fermentação foi adequada, dados os valores de pH e N-NH₃, indicando que não houve proteólise, conferindo aos alimentos conservados de boa qualidade fermentativa. De acordo com Weinberg e Muck (1996) Silagens que apresentam baixo pH, as bactérias proteolíticas são inibidas e, dessa forma, a proteólise é reduzida e, consequentemente, a produção de N-NH₃. Isso pode explicar a diminuição nas quantidades de N-NH₃, observadas neste estudo. Resultados semelhantes para os valores de pH encontrados no presente estudo foram obtidos por Andrade *et al.*, (2019) onde estes autores trabalharam com níveis de Leucena (*Leucaena leucocephala*), forragem com elevado teor proteico, na silagem de sorgo, encontrando valores para pH com média de 3,7. Ainda com relação a diminuição do N-NH₃

com a inclusão da torta, este fato também pode está relacionado ao aumento nos teores de matéria seca, observados nas silagens, que resultou na diminuição da atividade de água que é um dos principais fatores que influenciam o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis na silagem, principalmente bactérias do gênero *Clostridium* e de outras que desdobram proteínas e aminoácidos em ácido butírico, amônia e aminas, substancias que afetam a qualidade da silagem (VAN SOEST, 1994; CHARMLEY, 2001; REIS *et al.*, 2008). Os valores encontrados para os teores de N-NH₃ nos tratamentos utilizando torta (Tabela 5 e 9) não afetam as características qualitativas da silagem, visto que apresentaram valores abaixo de 10%, que é o valor máximo recomendado por McDonald; Henderson e Heron (1991).

O teor de amônia das silagens, expresso como uma porcentagem de nitrogênio amoniacal em relação ao total nitrogênio (N-NH₃ / TN), é utilizado na avaliação de silagens, indicando a quantidade de proteína degradada durante a fermentação. Pode-se considerar que a adição de torta resultou em uma silagem de excelente qualidade, pois de acordo a AFRC (1987) a silagem é considerada de excelente qualidade quando tem uma relação N-NH₃ / TN inferior a 10%, o que observou-se nas silagens inoculadas com torta, e boa entre 10 e 15%, que foram os resultados obtidos nas silagens apenas com sorgo e inoculantes microbianos.

Os resultados obtidos corroboram com os achados por Andrade *et al.*, (2019) que avaliando a qualidade da silagem de sorgo com níveis de Leucena (*Leucaena leucocephala*) de até 50%, encontraram valores de 0,245 à 1,071, também classificada como de excelente qualidade de acordo com AFRC (1987).

As contagens microbianas aos 45 dias (Tabela 6) e 90 dias (Tabela 10) mostram como a anaerobiose torna as BAL competitivas e levam à inibição dos demais microrganismos indesejáveis, como os mofos e leveduras. Apesar disso, por terem espécies de leveduras ácidotolerantes, exceto no tratamento contendo apenas torta sem inoculante, há contagens suficientes para produzir etanol e CO₂, aumentando as perdas fermentativas e diminuindo a recuperação de matéria seca (Tabela 12) (PAHLOW *et al.*, 2003). No entanto a inibição das leveduras também podem está associadas a ação do gossipol, pois alguns autores observaram aumento da concentração de espécies reativas de oxigênio, o que levou a diminuição da respiração celular das levedura (ARINBASAROVA; MEDENTSEV e KRUPYANKO, 2012).

A silagem do sorgo sem a torta, inoculada com o combo, demonstrou uma diminuição estatisticamente significativa na contagem de mofos nesse tratamento (Tabela 6), o que provavelmente pode estar relacionado a dinâmica no metabolismo das bactérias, de forma que

as bactérias de metabolismo homofermentativo acidificaram o meio rapidamente, provavelmente devido a maior disponibilidade de substratos presente no sorgo, enquanto as bactérias de metabolismo heterofermentativo converteram o ácido lático a ácido acético, resultando em maior disponibilidade desse ácido, que por apresentar características antifúngicas, certamente combateu o mofo nesse tratamento. Explicando tal fato, as cepas homofermentativas e as cepas heterofermentativas, quando associadas, tem a capacidade de produzir uma maior concentração de ácido acético, quando compara-se sua utilização separadamente, já que as bactérias homoláticas podem fornecer mais ácido lático para ser convertido em ácido acético pelas bactérias heteroláticas (BASSO *et al.*, 2014).

Estes resultados da dinâmica microbiológica nas duas aberturas reforçam a prerrogativa de que as leveduras são iniciadoras da deterioração aeróbia e são responsáveis por perdas qualitativas e quantitativas nas silagens (WILKINSON e DAVIES, 2013; MUCK, 2010). Em função disso, observa-se nas duas aberturas (Tabela 7 e Tabela 11) que a estabilidade aeróbia das silagens com torta e não inoculadas foi superior, por terem menor teor de CHOs desde a ensilagem, tamponamento do meio e diminuição da atividade de água, resultado da inclusão da torta de algodão, possuindo maior estabilidade aeróbia e menor incremento em temperatura em relação às demais silagens.

A presença dos mofos se dá pela sua aerobiose, os quais vão colonizando a massa exposta ao ar e acabam produzindo micotoxinas na silagem. Por conta da intensa proliferação microbiana, as temperaturas se elevam devido a oxidação dos nutrientes presentes e dos ácidos produzidos na fermentação. Assim, o aumento do pH é resultado da utilização do ácido lático pelos microrganismos e a diminuição da qualidade da silagem que ocorre por conta do consumo dos nutrientes e da produção de compostos antiqualitativos (MUCK, 2010; WILKINSON e DAVIES, 2013).

Mesmo tendo um metabolismo heterofermentativo (FUSCO et al., 2015) a Weissella cibaria não demonstrou ser um inoculante capaz de melhorar a estabilidade aeróbia das silagens, uma vez que a torta de algodão por si só demonstrou ser mais efetiva, fazendo com que as silagens passassem aproximadamente 80 horas sem sofrer deterioração. É possível que a proporção de ácido lático:ácido acético metabolizada pela W. cibaria seja alta, resultando em baixa capacidade antifúngica das silagens inoculadas com ela. Adicionalmente, pode estar havendo uma produção elevada de ácido lático, o qual é oxidado junto aos CHOs por microrganismos aeróbicos na abertura dos silos (MUCK et al., 2018; WILKINSON e DAVIES,

2013). Isso também explica o porquê da baixa estabilidade aeróbia nos tratamentos inoculados com *L. plantarum* e com o Combo, mesmo com baixo teor de CHOs residuais observados (Tabela 5 e Tabela 9).

As contagens de BAL foram elevadas nos tratamentos contendo torta de algodão (Tabela 10), sendo este efeito decorrente do tamponamento promovido por esse aditivo. Dessa forma, as BAL aumentaram sua população para produzir mais ácido lático com intuito de acidificar o meio e, pode ter havido também uma disponibilização de nitrogênio via torta de algodão, favorecendo o desenvolvimento das BAL. Outra explicação que pode está associada a este fato é que algumas BAL são capazes de sobreviver e acidificar o meio mesmo na presença do gossipol, composto presente na torta de algodão (RAMOs *et al.*, 2011).

Com relação as perdas por gases, nota-se que apenas a silagem de sorgo inoculada com o Combo teve altas perdas por gases (Tabela 12), enquanto os demais não diferiram entre si. Por se tratar de uma mistura de dois microrganismos com vias metabólicas diferentes, pode ter havido um efeito sinérgico e as rotas heterofermentativas terem sido mais evidentes. No entanto, tais efeitos só poderão ser comprovados quando as análises de ácidos orgânicos forem realizadas.

Em contrapartida, as perdas por efluentes foi significativa nos tratamentos com torta de algodão. Tal efeito demonstra a capacidade absortiva da torta de algodão ao reter a umidade excedente do sorgo forrageiro, devido ao seu elevado teor de MS, resultando em aumento na MS da massa ensilada encontrando-se na faixa considerada adequada para silagens com bom perfil fermentativo (MCDONALD, HENDERSON e HERON, 1991). Viana *et al.*, (2013) também observaram redução significativa nas perdas por efluentes quando adicionou farelo de algodão em silagem de capim elefante caindo de 142 kg MF t⁻¹ nas silagens puras para 1,5 kg MF t⁻¹ nas silagens mistas com 28% de inclusão (nível máximo de inclusão).

A redução nas perdas por efluentes resultou em maior recuperação de matéria seca nos tratamentos aditivados com torta (Tabela 12). Santos *et al*, (2018) ao ensilar sorgo com níveis de ureia, também observaram redução significativa nas perdas de matéria seca, onde as silagens não inoculadas chegaram a apresentar perdas de até 144,9 g kg⁻¹MS, enquanto as silagens inoculadas apresentaram apenas perdas de 85,3 g kg⁻¹MS. Além disso, como as silagens tiveram boa acidificação já espera-se que tenham um bom conteúdo de ácido lático, que é o responsável pela maior conservação da energia (DA SILVA *et al.*, 2017). Este resultado é justificado ainda pelo pH das silagens (Tabela 5 e Tabela 9), pois o substrato necessário para produção do ácido

lático encontrava-se prontamente disponível e em altas concentrações, favorecendo maior desenvolvimento desses microrganismos.

5. CONCLUSÕES

A utilização da torta de algodão melhorou as características fermentativas, diminuiu as perdas por efluentes, aumentou o valor nutritivo, aumentou a recuperação de matéria seca e, devido à inibição das leveduras, melhorou a estabilidade aeróbia.

A Weissella Cibaria em associação a torta de algodão diminuiu significativamente o desenvolvimento das leveduras na silagem do sorgo com abertura aos 90 dias.

A Weissella Cibaria e o Lactobacillus plantarum em associação (combo) controlaram os fungos na silagem de sorgo.

O Lactobacillus plantarum foi capaz de acidificar o meio mesmo em condições de maior capacidade tamponante.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, W. R., MOURA, M. M. A., ROCHA, V. R., COSTA, R. F., SANTOS, L. H. T., & SILVA, M. M. D. Quality of sorghum silage with leucaena. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, 41. 2019.

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL [AFRC]. Technical committee on responses to nutrients, report number 2, characterisation of feedstuffs: nitrogen. **Nutrition Abstracts and Reviews**. Series B, 57, 713-736, 1987.

AMARAL, R. C. & NUSSIO, L. G. Fungos e micotoxinas em silagens. *In*.: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGEIRAS CONSERVADAS, 2011, Maringá. **Anais**... Maringá: Ed. Sthampa, 2011 p. 221 - 250.

AOAC. Official Methods of Analysis: Changes in Official Methods of Analysis Made at the Annual Meeting. Supplement. [S.l.]: Association of Official Analytical Chemists, v. 15. 1990.

ARINBASAROVA, A.Y.; MEDENTSEV, A. G. & KRUPYANKO, V. I. Gossypol Inhibits Electron Transport and Stimulates ROS Generation in Yarrowia lipolytica Mitochondria. **The Open Biochemistry Journa***l*, v. 6, p. 11–15, 2012.

BASSO, F. C., ADESOGAN, A. T., LARA, E. C., RABELO, C. H. S., BERCHIELLI, T. T., TEIXEIRA, I. A. M. A., SIQUEIRA, G. R., REIS, R. A. Effects of feeding corn silage inoculated with microbial additives on the ruminal fermentation, microbial protein yield, and growth performance of lambs. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 12, p. 5640-5650, 2014.

BOLSEN, K. K., LIN, C., BRENT, B. E., FEYERHERM, A. M., URBAN, J. E., &

- AIMUTIS, W. R. Effect os silage additives on the microbial succession and fermentation process of alafalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.11, p.3066-83, 1992.
- BUREENOK, S., YUANGKLANG, C., VASUPEN, K., SCHONEWILLE, J. T., & KAWAMOTO, Y. The effects of additives in napier grass silages on chemical composition, feed intake, nutrient digestibility and rumen fermentation. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 25, n. 9, p. 1248, 2012.
- CHARMLEY, E. Towards improve silage quality: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, n.81, p.51-168, 2001.
- COSTA, C. D. S., RODRIGUES, R. C., DE ARAUJO, R. A., SANTOS, F. D. S., SOUSA, G. O. C., LIMA, J. R. L., ... & MIRANDA, B. E. C. Nutritional composition of Ponta Negra'forage sorghum silage enriched with dried Leucaena leucocephala forage. **Semina:** Ciências Agrárias, v. 40, n. 5Supl1, p. 2397-2406, 2019.
- DA SILVA, T. C., DA SILVA, L. D., SANTOS, E. M., OLIVEIRA, J. S., & PERAZZO, A. F. Importance of the Fermentation to Produce High-Quality Silage. **Fermentation Processes**, p. 1–20, 2017.
- DANIEL, J. L. P., BERNARDES, T. F., JOBIM, C. C., SCHMIDT, P., & NUSSIO, L. G. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. **Grass and Forage Science**, v. 74, n. 2, p. 188–200, 2019.
- DETMANN, E., SOUZA, M. A., VALADARES FILHO, S. C., QUEIROZ, A. C., BERCHIELLI, T. T., SALIBA, E. O. S., ... & AZEVEDO, J. A. G. Métodos para análise de alimentos INCT Ciência Animal. **Visconde do Rio Branco: Suprema**, 2012. 214p.
- DIAS, E. C. B., CÂNDIDO, M. J. D., FURTADO, R. N., POMPEU, R. C. F. F., & SILVA, L. V. D. Nutritive value of elephant grass silage added with cottonseed cake in diet for sheep. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, n. 2, p. 321–328, 2019.
- DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. T., & SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.
- FERREIRA, D. N. M., DUTRA JÚNIOR, W. M., PALHARES, L. O., COELHO, A. H. S. C., LOURENÇO-SILVA, M. I., & MELO, R. L. C. Desempenho e características de carcaça de suínos em crescimento alimentados com torta de algodão e complexo enzimático. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 5, p. 1616-1622, 2019.
- FUSCO, V., QUERO, G. M., CHO, G. S., KABISCH, J., MESKE, D., NEVE, H., ... & FRANZ, C. M. The genus Weissella: Taxonomy, ecology and biotechnological potential. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. MAR, 2015.
- GIZZI, G. & GAMBIN, B. L. Eco-physiological changes in sorghum hybrids released in Argentina over the last 30 years. **Field crops research**, v. 188, p. 41-49, 2016.

- HUHTANEN, P., RINNE, M. & NOUSIAINEN, J. Evaluation of the factors affecting silage intake of dairy cows: a revision of the relative silage dry-matter intake index. **Animal.** 1:758-770. 2007.
- JOBIM, C. C., NUSSIO, L. G., REIS, R. A., & SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 36, 101–119, 2007.
- KAMALY, K. M. & MARTH, E. M. Enzyme activities of lactic streptococci and their role in maturation of cheese: a review. **J Dairy Science**, 72, 1945-66, 1989.
- KRIZSAN, S. J., WESTAD, F., ÅDNØY, T., ODDEN, E., AAKRE, S. E., & RANDBY, Å. T. Effect of volatile compounds in grass silage on voluntary intake by growing cattle. **Animal**. 1:283-292. 2007.
- MASSARO JUNIOR, F. L., BUMBIERIS JUNIOR, V. H., ZANIN, E., DA SILVA, L. D. D. F., GALBEIRO, S., PEREIRA, E. S., ... & MIZUBUTI, I. Y. Effect of storage time and use of additives on the quality of grape pomace silages. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 4, p. e14373, 2020.
- McDONALD, P. The biochemistry of silage. New York: John Wiley & Sons, 1981. 226p.
- MCDONALD, P. J.; HENDERSON, A. R. & HERON, S. J. E. **The Biochemistry of Silage**. 2nd. ed. Marlow, Bucks, UK: Cambridge University Press, 1991.
- MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. suppl spe, p. 183–191, 2010.
- MUCK, R. Recent advances in silage microbiology. **Agricultural and Food Science**, 22(1), 3-15. 2013.
- MUCK, R. E., NADEAU, E. M. G., MCALLISTER, T. A., CONTRERAS-GOVEA, F. E., SANTOS, M. C., & KUNG JR, L. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3980–4000, 2018.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and New World camelids. Washington: National Academic Press, 362p. 2007.
- PAHLOW, G., MUCK, R. E., DRIEHUIS, F., ELFERINK, S. J. O., & SPOELSTRA, S. F. Microbiology of ensiling. **Silage science and technology**, v. 42, p. 31-93, 2003.
- PEDROSO, A.F. Aditivos químicos e microbianos no controle de perdas e na qualidade de silagem de cana-de-açúcar (Saccharum officinarum L.). Piracicaba, 2003. 122f. Tese (Doutorado em Agronomia) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2003.
- PEREIRA, G. A. **Prospecção e uso de culturas láticas como inoculante na ensilagem de palma forrageira.** 2019. 94 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal da Paraíba, Areia. 2019.

- PERAZZO, A. F., CARVALHO, G. G., SANTOS, E. M., BEZERRA, H. F., SILVA, T. C., PEREIRA, G. A., ... & RODRIGUES, J. A. Agronomic Evaluation of Sorghum Hybrids for Silage Production Cultivated in Semiarid Conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. June, p. 1–8, 2017.
- PINTO, A. P., MIZUBUTI, I. Y., DE AZAMBUJA RIBEIRO, E. L., PEREIRA, E. S., JUNIOR, V. H. B., PIMENTEL, P. G., ... & DE SOUSA CARNEIRO, M. S. Avaliações das silagens de bagaço de laranja e de milho com diferentes aditivos proteicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.2, p.3305–3314, 2012.
- PINHO, R. M. A., SANTOS, E. M., CARVALHO, G. G. P. D., SILVA, A. P. G. D., SILVA, T. C. D., CAMPOS, F. S., & MACEDO, C. H. O. Microbial and fermentation profiles, losses and chemical composition of silages of buffel grass harvested at different cutting heights. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, n. 12, p. 850–856, 2013.
- PLAYNE, M.J.; McDONALD, P. The buffering constituents of herbage and of silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.17, p.264-268, 1966.
- RAMOS, C. L., DE ALMEIDA, E. G., FREIRE, A. L., & SCHWAN, R. F. Diversity of bacteria and yeast in the naturally fermented cotton seed and rice beverage produced by Brazilian Amerindians. **Food Microbiology**, v. 28, n. 7, p. 1380–1386, 2011.
- REIS, R. A., SIQUEIRA, G. R., ROTH, M. T. P., & ROTH, A. P. T. P. Fatores que afetam o consumo de forragens conservadas. *In:* C.C. Jobim, U. Cecato e M.W. do Canto (Eds.). **Produção e utilização de forragens conservadas. Masson, Maringá**, PR. p. 9-40. 2008.
- RIBEIRO, L. S. O., PIRES, A. J. V., CARVALHO, G. G. P., SANTOS, A. B., FERREIRA, A. R., BONOMO, P. & SILVA, F. F. Composição química e perdas fermentativas de silagem de cana-de-açúcar tratada com ureia ou hidróxido de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 39, n. 9, p.1911-1918, 2010.
- ROGERS, G. M.; POORE, M. H. & PASCHAL, J. C. Feeding cotton products to cattle. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 267–294, 2002.
- ROOK, A. J. & GILL, M. Prediction of the voluntary intake of grass silages by beef cattle. 1. Linear regression analyses. **Animal Production.** 50:425-438. 1990.
- SANTOS, A. P. M. D., SANTOS, E. M., OLIVEIRA, J. S. D., RIBEIRO, O. L., PERAZZO, A. F., MARTINS ARAÚJO PINHO, R., ... & PEREIRA, G. A. Effects of urea addition on the fermentation of sorghum (Sorghum bicolor) silage. **African Journal of Range and Forage Science**, v. 35, n. 1, p. 55–62, 2018.
- SANTIN, T. P., FRIGERI, K. D. M., AGOSTINI, A., DA SILVA, H. R., FRIGERI, K. D. M., KALLES, N. Z., ... & DIAS, A. M. Características fermentativas e composição química da silagem de sorgo (Sorghum bicolor) com uso de aditivos absorventes. **Brazilian Journal of Development**, 6(8), 54931-54943. 2020.

- SAS. Statistical Analyses System. Statistical Analysis System user's guide. Version 9.2. Cary: Statistical Analyses System Institute, 2012.
- SILVA, F. F. D., GONÇALVES, L. C., RODRIGUES, J. A. S., CORRÊA, C. E. S., RODRIGUEZ, N. M., BRITO, A. F., & MOURÃO, G. B. Qualidade de silagens de híbridos de sorgo (Soghum bicolor (L.) Moench) de portes baixo, médio e alto com diferentes proporções de colmo+ folhas/panícula: 2. Avaliação do valor nutritivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 1, p. 21-29, 1999.
- SIQUEIRA, G. R., REIS, R. A., SCHOCKEN-ITURRINO, R. P., PIRES, A. J. V., BERNARDES, T. F., & AMARAL, R. C. D. Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.2000-2009, 2007.
- STEEN, R. W. J., GORDON, F. J., DAWSON, L. E. R., PARK, R. S., MAYNE, C. S., AGNEW, R. E., ... & PORTER, M. G. Factors affecting the intake of grass silage by cattle and prediction of silage intake. Anim. Sci. 66:115-127. 1998.
- TAYLOR, C. C. & KUNG, 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, n. 6, p. 1526–1532, 2002.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. [s.l.] Cornell university press, 1994.
- VIANA, P. T., TEIXEIRA, F. A., PIRES, A. J. V., CARVALHO, G. G. P. D., FIGUEIREDO, M. P. D., & SANTANA JÚNIOR, H. A. D. Losses and nutritional value of elephant grass silage with inclusion levels of cottonseed meal. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 35, n. 2, p. 139–144, 2013.
- VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em rações**. 1980. 98f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1980.
- WEINBERG, Z.G. & MUCK, R.E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. FEMS Microbiology Reviews 19:53-68. 1996.
- WILKINSON, J. M. & DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v. 68, n. 1, p. 1–19, 2013.
- ZANINE, A. D. M., SANTOS, E. M., FERREIRA, D. D. J., OLIVEIRA, J. S., ALMEIDA, J. C., & PEREIRA, O. G. Avaliação da silagem de capim-elefante com adição de farelo de trigo. **Archivos de zootecnia**, v. 55, n. 209, p. 75-84, 2006.
- ZANINE, A. D. M., SANTOS, E. M., DE JESUS FERREIRA, D., & PEREIRA, O. G. Populações microbianas e componentes nutricionais nos órgãos do capim-tanzânia antes e após a ensilagem. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 143, 2007.

ZANINE, A. D. M., SANTOS, E. M., DÓREA, J. R. R., DANTAS, P. A. D. S., SILVA, T. C. D., & PEREIRA, O. G. Evaluation of elephant grass silage with the addition of cassava scrapings. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2611–2616, 2010.