



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

LILIANE PEREIRA SANTANA

**INOCULANTE MICROBIANO E TORTA DE ALGODÃO NA ENSILAGEM DE
MILHETO EM DIFERENTES PERÍODOS DE FERMENTAÇÃO**

AREIA
2021

LILIANE PEREIRA SANTANA

**INOCULANTE MICROBIANO E TORTA DE ALGODÃO NA ENSILAGEM DE
MILHETO EM DIFERENTES PERÍODOS DE FERMENTAÇÃO**

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.

Área de Concentração: Produção Animal

Linha de Pesquisa: Forragicultura e Pastagens

Orientador: Prof. Dr. Edson Mauro Santos

Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Fernandes Perazzo

Coorientadora: Profa. Dra. Betina Raquel Cunha dos Santos

AREIA

2021

Ficha catalográfica

Catálogo na publicação Seção de Catalogação e Classificação

S232i Santana, Liliane Pereira.
Inoculante microbiano e torta de algodão na ensilagem
de milho em diferentes períodos de fermentação /
Liliane Pereira Santana. - Areia:UFPB/CCA, 2021.
66 f. : il.

Orientação: Edson Mauro Santos.
Coorientação: Alexandre Fernandes Perazzo, Betina
Raquel Cunha dos Santos.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Zootecnia. 2. Aditivo absorvente. 3. Produtividade.
4. Valor nutritivo. 5. Weissella cibaria. I. Santos,
Edson Mauro. II. Perazzo, Alexandre Fernandes. III.
Santos, Betina Raquel Cunha dos. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636(043.3)

LILIANE PEREIRA SANTANA

INOCULANTE MICROBIANO E TORTA DE ALGODÃO NA ENSILAGEM DE
MILHETO EM DIFERENTES PERÍODOS DE FERMENTAÇÃO

Aprovado em: 09/03/2021.

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.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Edson Mauro Santos (UFPB)

Orientador



Prof. Dr. Ricardo Loiola Edvan (UFPI)

Examinador I



Prof. Dr. Ricardo Martins Araújo Pinho (IFCE)

Examinador II

Dedico a minha família, especialmente a minha avó, Creusa Maria Oliveira Santana, responsável por grande parte da minha educação e crescimento.

Aos amigos que sempre contribuíram com minha formação.

Ao Ho'oponopono pela arte de ensinar a ser grata.

Ao ASMR, Reiki e outras terapias holísticas, energéticas e de meditação que sempre me proporcionaram um melhor equilíbrio mental, físico e emocional.

Ao universo pelos ciclos da vida e ao tempo que me ensinou muito até aqui!

Dedico!

Prof.Dr. Edson Mauro Santos
Francisco Naysson de Sousa Santos
Evandra da Silva Justino
Iva Carla de Barros Ayres
Hactus Souto Cavalcanti
Profa. Dra. Maria Verônica Meira de Andrade
Wilson Araujo da Silva

*Minha eterna gratidão a quem me estendeu a mão e me auxiliou a evoluir profissional e
pessoalmente!*

Ofereço!

Jamais perca o seu equilíbrio por mais forte que seja o vento da tempestade, busque no interior o abrigo!

Ponto de equilíbrio-Reggae

AGRADECIMENTOS

A Deus por iluminar minha vida, por me dar forças e me manter perseverante.

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, pelos experimentos, pelas confraternizações, pelo aprendizado e amizades construídas.

A Universidade Federal da Paraíba e ao Centro de Ciências Agrárias pela oportunidade em realizar todo meu trabalho de Mestrado em Zootecnia, local onde muito aprendi e vivi momentos inesquecíveis.

A coordenação do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, na pessoa da Prof.^a Dr.^a Patrícia Givisiez pela ajuda, apoio, atendimento e atenção.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

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 minha avó, Creusa Maria Oliveira Santana, pelo incentivo, por nunca ter me deixado faltar nada, por sempre me apoiar nas minhas escolhas, por me aconselhar, pelas risadas, pelo amor incondicional e por fazer parte dos melhores momentos da minha vida.

A minha tia, Cleitiane Santana, por fazer parte de toda minha criação e sempre me incentivar, por ser um grande exemplo da família a ser seguido, por seu sacrifício financeiro para dar condições para que eu sempre pudesse estudar e não passar dificuldades, pelo carinho, amor e atenção.

Aos meus pais, Lucimaria Gomes Pereira e Raimundo Cleber Oliveira Santana, por sempre me incentivarem a ir atrás do melhor para minha vida, por torcerem pelo meu sucesso e pelo amor incondicional.

Aos meus irmãos, Reinaldo, Nathan e Davi pela companhia.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Edson Mauro Santos, uma pessoa de coração bom, gratidão pelos ensinamentos, críticas que vieram para que eu melhorasse como profissional e pessoa, grata pelas conversas, pelos momentos de descontração que você proporcionou para todo o grupo de pesquisa, obrigada pelo grande exemplo de pessoa a ser seguido, orientação e ensinamentos, levarei comigo tudo que vivi durante essa jornada para toda minha vida. Minha eterna gratidão e carinho!

A Profa. Dra. Juliana da Silva Oliveira, por ser uma pessoa incrível, por se preocupar com seus alunos, pelos seus ensinamentos, pelas conversas e por ser um grande exemplo de pessoa, pessoa que inspira.

Aos meus Co-orientadores, Profa. Dra. Betina Raquel Cunha dos Santos e ao Prof. Dr. Alexandre Fernandes Perazzo, pela orientação, correção, ajuda e ensinamentos. A vocês, minha gratidão, respeito e admiração.

A Profa. Dra. Maria Verônica, por toda a ajuda durante essa trajetória, por ter acreditado em mim e por proporcionar inúmeras oportunidades no meio acadêmico, por ser

uma pessoa iluminada, gratidão pelos momentos felizes, pelas conversas, pelos conselhos, pela preocupação e pela amizade. Você é incrível!

Ao meu gatinho, (in memoriam), Xane, pela companhia e por ter feito meus dias mais felizes.

A amiga, Iva Carla e sua mãe Ivanilda Barros por ter se tornado parte da minha família, ganhei mais que uma amiga no mestrado, ganhei uma irmã, gratidão pela amizade, pelos perrengues que passamos mas que foram essenciais para o nosso aprendizado, juntas choramos, rimos e nos divertimos das coisas mais bobas dessa vida, gratidão por ter aberto as portas da sua casa pra mim quando precisei, gratidão pelos conselhos, por me alertar quando precisei, por me abraçar, gratidão pela mima e pela mel, levarei tudo que vivi e aprendi com vocês por toda minha vida.

Aos queridos amigos(as), Evandra Justino, Naysson, Rafael Lopes, Guilherme Medeiros, Hactus Souto, Alyne Coutinho, Izabelly Pontes, Gilberto Sobral e Evelaine Lucena pela parceria, pelos momentos felizes, pelas conversas, pelo aprendizado, amizade e contribuição no laboratório durante o mestrado. A vocês todo meu carinho e gratidão!

Aos amigos Herminia e Nando, por terem sido fundamentais me acolhendo em Areia, pelo suporte, carinho, conversas e bons momentos na casa onde moramos juntos durante um período curto mas de bastante aprendizado em minha vida. Minha eterna gratidão!

Aos queridos grandes amigos(as), Rayane Ferreira, Maria da Penha, Helane Severo, Allan Sthênio, Anderson Duaroli, Romilton Barros, Wilson Silva, Rafael Silva, Jakeline Florêncio, Andreia Rodrigues, Giovana Leão, Dayara Sousa, Pedro Leandro, Roger Tavares, Waliston Gabriel, Gabriela Azevedo, Rejane Carvalho, Alice Rocha, , Anny Santos, Marinalva Silva, Gracilane Sousa, Maize Menezes, Marcelo Augusto e Rosilda Lopes, pela amizade, bons momentos e recordações, pelo companheirismo de vocês, pelos conselhos, por todo apoio e amor que vocês tem por mim. A vocês todo meu carinho, amor e eterna gratidão!

A todos que diretamente e indiretamente contribuíram para minha formação, pela dedicação, compreensão e principalmente pelo respeito.

Muito Obrigada!

RESUMO GERAL

Foi realizado um experimento no setor de Forragicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, em Areia com o objetivo de avaliar o resultado da adição de inoculante microbiano e torta de algodão sobre o perfil fermentativo, populações microbianas, estabilidade aeróbia, composição bromatológica e as perdas nas silagens de milho em diferentes períodos de fermentação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4×2, sendo os tratamentos: 1. Controle (Milho); 2. Milho+ 10% torta de algodão (com base na matéria natural); 3. Milho+ *Weissella cibaria* –bactéria láctica heterofermentativa; 4. Milho + torta de algodão e *Weissella cibaria* (Combo) e dois períodos de abertura do silo (30 e 90 dias após ensilagem) e quatro repetições. Foram avaliadas a quantificação das populações microbianas, o perfil fermentativo, as perdas por gases e efluentes na ensilagem, a recuperação de matéria seca, a composição bromatológica e a estabilidade aeróbia. As silagens contendo torta de algodão tiveram uma maior recuperação de matéria seca ($P=0,0002$). Houve efeito do período de abertura do silo sobre o pH das silagens ($p<0,0001$). Aos 90 dias de abertura, nas silagens com torta, as contagens de leveduras e mofo foram menores que $1,00 \log \text{ UFC g}^{-1}$ de silagem. Houve efeito da abertura do silo nas contagens de BAL, mofo e leveduras ($p<0,0001$) e silagens abertas aos 90 dias tiveram menores contagens. Houve efeito também da abertura em que o silo foi aberto aos 90 dias sobre a estabilidade aeróbia ($p<0,0001$) houve maior estabilidade. A adição de torta de algodão proporcionou aumento nos teores de MS, MM, EE, e PB ($p<0,0001$) e redução nos teores de FDN e FDA ($p<0,0001$), quando comparado as silagens controle (apenas milho) e inoculado com *Weissella cibaria*. As perdas por efluentes foram bem menores (19,03 e 12,56 kg t⁻¹) nas silagens contendo torta de algodão. O uso da torta de algodão na silagem de milho diminuiu as perdas, melhora o perfil fermentativo e o valor nutricional. O uso da *Weissella cibaria* não promoveu melhorias na fermentação. Além disso, é recomendado a abertura dos silos após 90 dias de fermentação.

Palavras-chave: aditivo absorvente, pH, produtividade, valor nutritivo, *Weissella cibaria*.

ABSTRACT

An experiment was carried out in the Forage sector of the Department of Zootechnics of the Agricultural Sciences Center of the Federal University of Paraíba, in Areia with the objective of evaluating the result of the addition of microbial inoculant and cotton cake on the fermentation profile, microbial populations, stability aerobic, chemical composition and losses in millet silages. The experimental design used was completely randomized, in a 4×2 factorial scheme, with the treatments being: 1. Control (Millet); 2. Millet + 10% cotton cake (based on natural material); 3. Millet + *Weissella cibaria* - heterofermentative lactic bacteria; 4. Millet + cotton cake and *Weissella cibaria* (Combo) and two opening periods (30 and 90 days after silage) and four repetitions, totaling 32 experimental units. Quantification of microbial populations, fermentation profile, gas losses were evaluated and effluents in silage, dry matter recovery, chemical composition and aerobic stability. The silages containing cotton cake had a greater recovery of dry matter ($P = 0.0002$). There was an effect of the opening on the pH of the silages ($p < 0.0001$). At 90 days of opening, in cake silages, yeast and mold counts were less than 1.00 log UFC g⁻¹ of silage. There was an effect of the opening in the counts of BAL, mold and yeast ($p < 0.0001$) and silages opened at 90 days had lower counts. There was also an effect of the opening on aerobic stability ($p < 0.0001$) in which silages opened at 90 days, there was the greatest stability. The addition of cotton cake provided an increase in the contents of DM, MM, EE, and PB ($p < 0.0001$) and a decrease in the contents of NDF and FDA ($p < 0.0001$), when compared to control silages (only millet).) and inoculated with *Weissella cibaria*. The losses due to effluents were much lower in silages containing cotton cake. The use of cotton cake in millet silage proved to be efficient in decreasing silage losses, improving the fermentative profile and nutritional value, however, it did not influence the aerobic stability of millet silage, as well as *Weissella cibaria*.

Keywords: absorbent additive, pH, productivity, nutritional value, *Weissella cibaria*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Contagens microbianas em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano no momento da ensilagem.....	29
Tabela 2. Composição química das silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano no momento da ensilagem.....	31
Tabela 3. Valores de pH, carboidratos solúveis residuais (CHOs), nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) e de capacidade tampão (CT) em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 30 e 90 dias.....	37
Tabela 4. Perdas fermentativas e recuperação de matéria seca em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 90 dias.....	39
Tabela 5. Contagens microbianas em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 30 e 90 dias.....	40
Tabela 6. Composição bromatológica em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 30 e 90 dias.....	41
Tabela 7. Estabilidade aeróbia (EA) em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 30 e 90 dias.....	42
Tabela 8. Contagens microbianas pós estabilidade em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 30 e 90 dias.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

BAL	Bactérias produtoras de ácido láctico
BDA	Batata dextrose ágar
BOD	Biochemicaloxygendemand
CHO	Carboidratos Solúveis
cm	Centimetro
EPM	Erro-padrão da média
EE	Extrato etéreo
FDN	Fibra em detergente neutro
FDA	Fibra em detergenteácido
g	Gramma
h	Hora
h ⁻¹	Hectare
kg	Kilograma
m	Metro
m ³	Metro cúbico
MFa	Massa de forragem na abertura
MFf	Massa de forragem na ensilagem (kg)
MFSf	Matéria seca da forragem na ensilagem (%)
ML	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-NH ₃	Nitrogênio amoniacal
PB	Proteína bruta
PE	Perdas por efluentes
PG	Perdas por gases
Ph	Potencial hidrogênio-iônico
PSA	Peso do silo na abertura (fechado)
PSF	Peso do silo na ensilagem (fechado)
PT	Perdas totais
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
TA	Torta de algodão
t	Tonelada
UFC	Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	13
CAPÍTULO1 – REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
1 Referencial teórico	17
1.1. Ensilagem de Milheto Forrageiro	17
1.2. Inoculantes no processo de ensilagem	19
1.3. Torta de algodão	21
1.4. Período de fermentação	24
REFERÊNCIAS.....	26
CAPÍTULO 2–INOCULANTE MICROBIANO E TORTA DE ALGODÃO NA ENSILAGEM DE MILHETO.....	33
RESUMO.....	34
ABSTRACT.....	35
1. INTRODUÇÃO.....	36
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
2.1. Local do Experimento.....	38
2.2. Condução do Experimento.....	38
2.3. Delineamento Experimental	39
2.4. Análises Laboratoriais	39
2.5. Análise Estatística.....	43
3.RESULTADOS.....	44
4.DISSCUSSÃO.....	51
5.CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS.....	60

INTRODUÇÃO GERAL

O milheto (*Pennisetum glaucum* [L.] R.) é uma espécie forrageira tropical que possui a via fotossintética C4 com tolerância à seca, calor e baixo pH do solo, por causa de sua adaptabilidade a condições adversas, o milheto pode ser cultivado em áreas desfavoráveis, substituindo outros cereais, como o milho por exemplo (AMER et al., 2012). Possui um alto teor de proteína bruta, em torno de 11%, o que a torna uma planta com potencial para ser utilizado na alimentação e formulação de dieta animal em sua forma conservada para suprir demandas nos períodos de estiagem e escassez de alimento (SILVA,2016).

Segundo Brunette et al. (2016), a silagem do milheto pode ser uma alternativa para a produção de ruminantes em regiões onde as precipitações pluviais não ocorrem de forma regular. Visto que esta gramínea apresenta resistência à escassez de água, tolerância a elevadas temperaturas, ciclo vegetativo curto, baixa exigência em fertilidade e capacidade de manter o seu valor nutritivo mesmo com o avançar da sua maturidade, tem aptidão para produção de silagem nestas condições a menor custo que outras culturas.

No entanto, essa cultura possui alguns entraves para produção de silagem como por exemplo, a grande variação nos teores de carboidratos solúveis que com a atuação da população de leveduras, convertem açúcares a etanol, CO₂ e água, diminuindo o teor de carboidratos solúveis e aumentando os componentes da parede celular e as perdas de matéria seca (MS), o que prejudica a qualidade e o valor nutritivo da silagem, esses carboidratos na cultura do milheto estão relacionado as mudanças de clima e solo. Por exemplo, em condições de déficit hídrico, o milheto encurta seu ciclo produtivo, produz menos biomassa, resultando em maior concentração de carboidratos solúveis, por outro lado, em condições mais apropriadas de clima, as plantas apresentam menores valores de carboidratos solúveis, em função da maior produção de matéria seca, esses carboidratos solúveis quando em excesso podem (ALLI et al., 1983; MACHADO FILHO et al., 1986;CHAVES, 1997; GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2005; PINHO et al., 2014).

Pinho et al. (2014) avaliaram a recuperação de matéria seca, perdas por gases, perdas por efluentes e pH de silagens de milheto observaram que as silagens com pH mais reduzidos foram aquelas que resultaram em menor recuperação de matéria seca, e atribuíram esse resultado ao excesso de carboidratos solúveis que desencadeia fermentação alcohólica,

favorecendo a proliferação de leveduras e resultando em uma baixa estabilidade aeróbia dessas silagens.

Um dos principais fatores limitantes para produção de silagem de milho além da quantidade de carboidratos solúveis é o baixo teor de matéria seca no material a ser ensilado, assim como produção desilagens de outras gramíneas tropicais como os capins. O momento adequado de colheita do milho para confecção de silagem se dá quando seus grãos encontram-se em estágio pastoso-farináceo, porém, nesse momento a planta apresenta baixo teor de matéria seca de 20% e 23% e perde qualidade nutricional (SILVA, 2013; TREVISOLI et al., 2017). Por suas características pode ser utilizada para produção de silagem, porém o milho quando ensilado pode apresentar perdas no processo de ensilagem, devido seu elevado teor de umidade. Portanto, se faz necessário o uso de técnicas como a inclusão de aditivos absorventes de umidade que possibilitem melhor qualidade no perfil fermentativo das silagens de milho.

A utilização de tortas e farelos como aditivos em silagens vem contribuindo como uma alternativa eficiente para a melhoria dos processos fermentativos, atuando diretamente nas características qualitativas, isto porquês são considerados aditivos de alto poder higroscópico (SANTIN et al., 2020). Os aditivos absorventes de umidade são, normalmente, fontes de carboidratos, cereais, tortas, farelos, entre outros, utilizados para elevar o teor de MS das silagens, reduzir a produção de efluentes e aumentar o valor nutritivo das silagens (MCDONALD et al., 1991).

Há um interesse em utilizar coprodutos agroindustriais na alimentação animal, porém ainda são inconsistentes os trabalhos com dados sobre a sua utilização como aditivos sequestrante de umidade na ensilagem de milho, esses aditivos têm por finalidade elevar os teores de matéria seca, favorecendo a dinâmica de fermentação, consequentemente a conservação dos nutrientes da silagem (SANTOS et al., 2010; YITBAREK; TAMIR, 2014).

O uso da torta de algodão (resíduo da indústria têxtil) em silagens, possibilita um aumento do teor de matéria seca que é um dos problemas nas silagens de milho e aumenta o teor de proteína bruta, o que favorece o desenvolvimento eficaz das bactérias lácticas na forragem ensilada (TRANCOSO, 2014).

Os resultados descritos na literatura relatam que uma das maneiras mais utilizadas para diminuir os efeitos negativos da ensilagem é a utilização de inoculantes e/ou aditivos que proporcionem melhorias na fermentação e nas características da qualidade da silagem, com isso devem ser considerado o uso de cepas heterofermentadoras que produzem ácido lático e

ácido acético, onde, o ácido acético, possui efeito antifúngico, controlando o desenvolvimento de leveduras (TAYLOR; KUNG JR, 2002; WILKINSON; DAVIES, 2013).

É possível que a combinação entre um inoculante microbiano e a torta de algodão como um aditivo que controle a matéria seca e possivelmente mantenha estável o pH das silagens, possa resultar em um bom perfil fermentativo, controle das populações de leveduras e leveduras em silagens de milho forrageiro, minimizando a fermentação alcoólica um dos grandes problemas dessa forragem durante o processo fermentativo.

Deste modo, objetivou-se avaliar o resultado da adição de inoculante microbiano e torta de algodão sobre o perfil fermentativo, populações microbianas, estabilidade aeróbia, composição bromatológica e as perdas nas silagens de milho em diferentes períodos de fermentação.

CAPÍTULO I – REFERENCIAL TEÓRICO

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Ensilagem do milho forrageiro

O milho é uma gramínea forrageira tropical, que pode ser cultivada anualmente ou no período do verão. Originou-se das regiões norte da África Ocidental, sendo posteriormente difundida pelo Sudão e Índia. Pertence ao gênero *Pennisetum*, o qual abrange cerca de 140 espécies e está espalhado por todo o mundo (GRAINS, 1996).

Apresenta boa tolerância ao estresse hídrico, a solos ácidos, de média e baixa fertilidade sendo esses fatores que limitam o cultivo de milho e sorgo (RODRIGUES; PEREIRA FILHO, 2016). Bernardes e Tao (2020) relataram que a cultura ainda apresenta boa resistência a insetos e doenças, e não está sujeito a toxidade, possuindo um bom valor nutritivo e boa capacidade de rebrota, o que favorece uma boa produção de forragem em pouco tempo.

Segundo Bonfim-Silva (2011), a cultura do milho requer baixo investimento econômico, além de produzir boa quantidade de grãos nas condições do Cerrado, onde verificam-se altas temperaturas, solos muito ácidos e baixos teores de matéria orgânica. Com isso, o milho pode ser uma alternativa na produção de grãos e forragem no Nordeste brasileiro, além de possuir ciclo curto, ter potencial de rebrota e apresentar adaptabilidade e produtividade nas condições edafoclimáticas da região (NETTO; DURÃES, 2005).

Sua produtividade pode variar entre 20-70 t/ha de massa verde e de 5-17,5 t/ha de massa seca dependendo da época de semeadura, densidade, manejo e do solo, desse modo, a silagem de milho surge como alternativa às silagens de milho e sorgo no período de safrinha, com bons ganhos em produtividade (GUIMARÃES et al., 2009).

O milho oferece silagem de qualidade satisfatória, com custos inferiores às silagens de culturas padrão em virtude de sua baixa exigência hídrica e de fertilidade do solo e, além dessas características, ainda apresenta rebrota espontânea após corte, possibilitando a opção de pastejo direto pelos animais e proteção do solo contra as intempéries (JACOVETTI et al., 2018).

Em avaliações agronômicas com milho no Semiárido, Perazzo (2013) observou produção de matéria seca média de 6.200 kg/ha, obtidos em 64 dias e precipitação de 96,5 mm durante o ciclo da cultura. A cultura do milho pode completar seu ciclo em 90 a 120 dias. O autor explica que devido à escassez de chuva, fisiologicamente o milho acelerou seu

ciclo demonstrando uma característica xerófila que confere capacidade de se estabelecer e terminar o ciclo em regiões com regimes pluviais reduzidos e mal distribuídos. O milho converte 1 mm de chuva em 63 kg/ha de MS através de um crescimento rápido, adaptação a solos de baixa fertilidade e excelente capacidade de produção de fitomassa.

Pinho et al. (2013a) avaliaram genótipos de milho para silagem no semiárido colhidos após 43 dias de rebrota e encontraram teores médios de 18,36% de MS, 10% de PB, 66% de FDN e 3,27 de pH para os cultivares Sauna B, CMS 01, ADR 500, BRS 1501 e CMS 03.

Segundo Pinho et al. (2013b), o milho é uma alternativa em regiões com estacionalidade climática com boa produção de biomassa mesmo na rebrota, apresentando teores de MS próximos a 30% e bons resultados quanto à qualidade do material ensilado com pH variando entre 3,17 a 3,56; recuperação de matéria seca de 83% a 94%; teores de ácido láctico de 1,98% a 5,39%, sendo este superior aos demais ácidos orgânicos; 65% de fibra em detergente neutro e teores de proteína bruta e extrato etéreo superiores a 5%.

Dentre suas vantagens em relação a produção animal, contém um alto teor de proteína bruta, o que faz de si uma planta com grande potencial em utilização na alimentação animal em sua forma conservada para suprir demandas nos períodos de estiagem e escassez de alimento (SILVA, 2016). Avaliando silagens de diferentes genótipos de milho Pinho et al. (2013) encontraram teores de proteína bruta, com valores superiores variando de (11,56; 11,01 e 10,94%).

Para Guimarães Júnior (2003), a silagem de milho é bem consumida por ruminantes, não apresentando fatores anti nutricionais que prejudiquem o desempenho do animal. Apesar de o conteúdo energético ser inferior às silagens de milho e sorgo, a elevada qualidade e teor proteico da silagem de milho tem sido um diferencial. Portanto, possibilita que o milho possa ser indicado como uma interessante opção de volumoso para ruminantes.

O principal fator limitante é o baixo teor de matéria seca no material a ser ensilado, Silva et al. (2020) descrevem que o momento adequado de colheita do milho para confecção de silagem se dá quando seus grãos se encontram em estágio pastoso-farináceo, porém, nesse momento a planta apresenta baixos teores de matéria seca de 20% e 23% e alto teor de carboidratos solúveis, sendo fator limitante para adequada fermentação no silo fazendo com que haja perda da qualidade nutricional (GUIMARÃES JÚNIOR et al. 2005; SILVA, 2012; TREVISOLI et al., 2017; KUNG JR et al., 2018). Portanto, se faz necessário o uso de técnicas como a inclusão de aditivos que possibilitem melhor qualidade no perfil fermentativo das silagens de milho.

Kung Jr. (2003) relata que uso de aditivos e inoculantes na silagem de milho podem ser estratégicos, uma vez que estes aditivos podem reduzir a fermentação indesejável por parte dos microrganismos e aumentar a vida útil da silagem após a abertura dos silos.

Pinho et al. (2014) avaliaram a recuperação de matéria seca, perdas por gases, perdas por efluentes e pH de silagens de dois genótipos de milho sob adubação nitrogenada. Esses autores observaram que as silagens com pH mais reduzidos foram aquelas que resultaram em menor recuperação de matéria seca, e atribuíram esse resultado ao excesso de carboidratos solúveis, que desencadeou fermentação alcoólica. Balieiro Neto et al. (2010), por sua vez, encontraram elevada recuperação de matéria seca, 93,56%, e função das silagens apresentarem pH em torno de 4,0, o que provavelmente suprimiu a fermentação alcoólica.

Os estudos mencionados evidenciam o grande potencial da ensilagem do milho. Os resultados preliminares demonstram alguns problemas na fermentação dessas silagens, contudo, apesar da potencialidade, há ainda poucos estudos levantados sobre a dinâmica da fermentação da ensilagem do milho com inoculante microbiano e aditivo absorvente de umidade.

1.2 Inoculantes no processo de ensilagem

Os inoculantes microbianos para ensilagem compreendem as bactérias homofermentativas, heterofermentativas, ou a combinação destas. Os microrganismos homofermentativos diferenciam-se, principalmente, pela mais rápida taxa de fermentação, e o metabolismo quase que na sua totalidade voltado para a produção de ácido láctico, no qual, os heterofermentativos são caracterizados pela utilização do ácido láctico e glicose como substrato para produção de ácido acético e propiônico (SILVA et al., 2011).

Os inoculantes microbianos são obtidos a partir de bactérias e também de fungos, isolados de vários ambientes, como solo, planta, resíduos vegetais, água e adubos orgânicos (BASHAN et al., 2014; CALVO et al., 2014). Para o desenvolvimento de um inoculante microbiano é necessário encontrar a melhor cepa de bactérias ou um consórcio microbiano que irá conferir o efeito desejado na cultura alvo (BASHAN et al., 2014).

Até o ano de 2015, a utilização de inoculantes no Brasil estava presente em apenas 27% das propriedades, por diversos parâmetros limitantes, entre eles destacam-se a mão de obra, maquinário disponível, carência de informações dos produtores e a resistência deles em aceitar e executar as recomendações técnicas. Os efeitos da utilização dos inoculantes sobre o processo de ensilagem estão associadas ao tipo de inoculante, sua atividade biológica, a

quantidade aplicada e tipo de forragem (ANJOS et al., 2018; SILVA et al., 2015; BERNARDES e RÊGO, 2014).

Os inoculantes microbianos tornaram-se um tipo de aditivo de silagem dominante na maior parte do mundo e disponível em muitos países nos últimos anos. Na década de 90, a maioria desses produtos eram cepas de hetero facultativo BAL fermentativo (comumente chamado de homofermentadores), como *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, várias espécies de *Pediococcus* e *Enterococcus faecium*. O objetivo era ter uma fermentação rápida e eficiente que produzisse principalmente ácido láctico, minimizando as perdas de MS e tentando manter um valor nutritivo semelhante ao da cultura na ensilagem (MUCK, 2013).

Estes produtos não só melhoraram a fermentação de silagem e a recuperação de MS, mas também melhoraram desempenho: produção de leite, ganho, eficiência alimentar (WEINBERG e MUCK, 1996). No entanto, esses produtos tiveram um efeito negativo sobre a estabilidade aeróbia em silagens de milho e de grãos pequenos, presumivelmente devido à produção de ácido acético (MUCK, 2013).

No final dos anos 90, uma nova classe de inoculantes, baseada em heterofermentadores obrigatórios como *Lactobacillus buchneri*, foi lançada no mercado, estas linhagens crescem lentamente mesmo após o término do período ativo de fermentação, produzindo ácido acético a partir de açúcares ou ácido láctico, sendo o principal objetivo aumentar o ácido acético de modo que o crescimento de leveduras e bolores fosse inibido e a estabilidade aeróbica fosse melhorada (MENDES et al., 2008; FYLIA, 2003; REIS et al., 2008).

Posteriormente, surgiu uma terceira classe de inoculantes que combinava *Lactobacillus buchneri* com azeitonas tradicionais que objetivam aumentar a recuperação da MS e o desempenho animal, com cepas heterofermentadoras facultativas, juntamente com as melhorias de estabilidade aeróbica fornecidas por *L. buchneri* (MUCK, 2013).

O uso de cepas heterofermentativas, produz ácido láctico e ácido acético, onde, o ácido acético, possui efeito antifúngico, controlando o desenvolvimento de leveduras (TAYLOR; KUNG JR, 2002; WILKINSON; DAVIES, 2013).

Porém tem se buscado novas cepas bacterianas capazes de promover melhorias no processo fermentativo e na estabilidade aeróbia das silagens, como alternativa ao *L. buchneri*. Podem-se destacar as espécies do gênero *Weissella*, as quais produzem compostos antifúngicos, como o ácido acético (FUSCO et al., 2015). Algumas espécies do gênero foram identificadas como sendo da microbiota epifítica em silagens da palma forrageira (PEREIRA et al., 2021).

Fusco et al. (2015) buscando explorar o potencial biotecnológico em microrganismos do gênero *Weissella*, relataram que estes microrganismos têm o potencial de produzir 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 uma predominância das BAL (bactérias ácido lácticas) ali presentes, uma vez que a acidez inibe os demais microrganismos e seus produtos poderiam ser utilizados pelas BAL.

A cultura do milho, pelas características produtivas e qualitativas, pode ser utilizada para produção de silagem. Entretanto, são necessários estudos para promover uma silagem de qualidade, fazendo o uso de inoculantes e ou aditivos eficazes, que sejam capazes de reverter os problemas conhecidos nessas silagens e proporcione melhorias na fermentação.

Estudando o efeito do uso de inoculantes homofermentadores na composição química e pH da silagem de milho Grise et al. (2001) e Bergamaschine et al. (2011) relataram que os inoculantes não demonstraram efeito na qualidade de conservação em relação às variáveis estudadas. Provavelmente, inoculantes contendo bactérias lácticas homofermentativas não são eficientes em silagens de milho por se tratar de uma planta com alto teor de açúcar, de maneira que o emprego de inoculantes contendo bactérias lácticas heterofermentativas poderia ser mais efetivo.

1.3 Torta de algodão

O algodoeiro *Gossypium hirsutum* é a única espécie domesticada que apresenta mais de um produto na indústria, produção de fibra-fio (principal produto), óleo (semente) e produção de energia alimentar (torta). A torta de algodão é um coproduto proveniente da extração de óleo da semente do algodão, que possui alto teor de energia e proteína bruta, com menor concentração de lisina quando comparada ao farelo de soja, porém os demais aminoácidos essenciais estão presentes em quantidades aceitáveis (CORDÃO et al., 2018; FERREIRA, 2019).

A torta ou farelo de algodão tem como mercado principal o setor de nutrição animal, ancorado principalmente nos animais ruminantes (BELTRÃO et al., 2000; NCPA, 2003), em função da capacidade de tolerância à determinados níveis de gossipol (exceto para animais reprodutores).

Além disso a torta é considerada um aditivo proteico devido ao seu elevado valor nutritivo, pode substituir parcialmente o farelo de soja, que tem um uso vasto na produção de rações (NAGALAKHMI 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 coprodutos ao passo que a soja é um grão de alta demanda na alimentação humana e animal.

O reaproveitamento de coprodutos, como torta/farelo, oriundos da extração de óleo vegetal na produção do biodiesel, para alimentação animal fortalece o cunho de cadeia produtiva sustentável (GADELHA et al., 2014).

O caroço do algodão que dá origem a torta, possui boa efetividade pela característica de sua fibra, tornando esse subproduto único no mercado, possui 92% de matéria seca (MS); 38% de proteína bruta (PB); 56,24% de fibra em detergente neutro (FDN); 40% de fibra em detergente ácido (FDA); 12,9% lignina (LIG); 4,2% de matéria mineral (MM); e 19,3% de extrato etéreo (EE) (NRC, 2001; NEIVA JÚNIOR et al., 2007; PIRES, 2010). A disponibilidade do caroço e da torta de algodão no mercado produtor, seu valor energético, proteico e o baixo preço, têm estimulado pecuaristas a adotarem sua utilização na alimentação animal (DIAS et al., 2019).

Por apresentar um alto teor de MS, a torta de algodão é alternativa para utilização na ensilagem de gramíneas úmidas como aditivo, a fim de reduzir as perdas de efluentes e melhorar a qualidade do material (VIANA et al., 2013). Assim, é possível utilizar a torta de algodão na silagem de milho para permitir uma ensilagem com maior teor de MS uma vez que seria possível atingir facilmente os valores de MS preconizados por McDonald et al. (1991).

Estudando a utilização da torta de algodão em silagens de capim elefante Viana et al. (2013) verificaram que em níveis de inclusão a partir de 7%, a torta de algodão é um aditivo eficiente, reduzindo o nível de umidade e as perdas de efluentes nas silagens, melhorou a qualidade da fermentação das silagens, aumentando os teores de proteína bruta e extrato etéreo.

Há estudos na literatura que demonstraram o potencial tamponante de substâncias nitrogenadas quando utilizadas na ensilagem (PINHO et al., 2013b; SANTOS et al., 2018; ZANINE et al., 2007). Portanto a torta de algodão seria importante pois além de melhorar nutricionalmente as silagens, atuaria também durante a fermentação como agente tamponante do meio. Esse efeito é interessante para inibir a atividade das leveduras ácidotolerantes,

evitando assim que haja perdas principalmente por gases provocadas pela fermentação etanólica das silagens de milho.

De fato, a torta de algodão é uma fonte de proteína de alta qualidade, entretanto, o uso desses subprodutos é limitado à nutrição de animais ruminantes, em função de componentes tóxicos e/ou antinutricionais, como é o caso do gossipol (ARAÚJO et al., 2003; ROMERO, 2013; BARBOSA, 2016).

O gossipol que é uma substância química fenólica de cor amarelada produzido em glândulas especializadas localizadas em vários tecidos e partes das plantas do gênero *Gossypium*. Na nutrição animal, é descrito como um metabólito secundário que causa efeitos antinutricionais ou tóxicos, dependendo da concentração ingerida por diferentes tipos de animais ou idade (LIU et al., 2008). De acordo com Naves et al. (2010) efeitos antinutricionais consistem na capacidade da substância em interferir na digestibilidade e absorção dos nutrientes, enquanto a toxicidade tem a capacidade de provocar diversos problemas inclusive pode levar a morte.

Os ruminantes têm a habilidade de tolerar o gossipol, devido à existência de microrganismos do rúmen que promovem ligações com o grupo e-amino da lisina de proteínas solúveis que impedem sua absorção, tornando-se fisiologicamente inativo, razão pela qual não se recomenda a inclusão apenas em dietas de bezerros. O gossipol tem sido alvo de pesquisas, devido a sua importância em atividades biológicas, como a antifúngica, antiviral, anticancerígena e efeitos antifertilidade (TALIPOV et al., 2009; GOMES et al., 2014).

A fermentação microbiana também é apontada como uma forma de reduzir o nível de gossipol no farelo de algodão. De acordo com Zhang et al. (2007), o *Candida tropicalis* ZD-3 têm-se mostrado o microrganismo mais eficiente na redução do potencial de toxicidade do farelo de algodão. A suplementação do substrato com glicose ou sacarose, assim como o tratamento pelo calor beneficiariam a fermentação bacteriana e a consequente detoxificação de gossipol.

Alguns estudos utilizando microrganismos com o intuito de diminuir o efeito do gossipol vem sendo utilizados, por meio de cepas fúngicas, obtendo êxito em reduzir seu teor (YANG et al., 2012). Algumas BAL são encontradas tanto no caroço de algodão, quanto nas silagens, como o *Lactobacillus plantarum*, esse por sua vez consegue se adaptar ao meio, desenvolver-se e acidificar a massa ensilada (RAMOS et al., 2011).

A acidificação do meio pelas BAL pode promover a inativação do gossipol, visto que a presença de várias substâncias no meio tende a inativar, pois o mesmo reage facilmente com substâncias ácidas (PELITIRE; DOWD; CHENG, 2014; RAMOS et al., 2011).

Em um estudo avaliando silagem de milho aditivada com casca de soja Silva (2015) verificou que a casca de soja atuou como um bom aditivo elevando o teor de matéria seca da silagem de milho, o que comprovou sua eficiência como aditivo absorvente de umidade, apoiando a ideia de que a torta de algodão possa apresentar o mesmo efeito na ensilagem de milho.

Trancoso (2014) trabalhando com a inclusão da torta de algodão na silagem de capim tanzânia, verificou que a torta possibilitou aumento do teor de matéria seca, melhorou o pH, o que favoreceu o desenvolvimento eficaz das bactérias lácticas na forragem ensilada.

Portanto, a utilização da torta de algodão como aditivo pode promover melhorias no perfil fermentativo e valor nutricional no processo de ensilagem do milho, vale ressaltar que estudos mostrando a utilização da torta de algodão como aditivo absorvente de umidade, ainda são escassos na literatura principalmente em condição de Semiárido Brasileiro, o que reforça a necessidade de mais estudos que possam comprovar o efeito desse subproduto no processo de ensilagem.

1.4 Período de fermentação

Durante o processo de ensilagem, o fator tempo de armazenamento influencia direto e indiretamente diversos fatores relacionados a qualidade do material ensilado por períodos longos, como o seu valor nutritivo, a digestibilidade dos nutrientes e alterações na estabilidade aeróbia (JOBIM et al. 2007). É notável a importância que esse fator possui no processo de conservação de silagem, no decorrer da fase ativa da ensilagem, bactérias produtoras de ácido láctico fermentam açúcares solúveis em ácidos graxos de cadeia curta, principalmente para o ácido láctico, o que provoca uma diminuição do pH da massa de forragem.

Tem-se retratado nas pesquisas que os processos metabólicos mais ativos no silo depois de cerca de 2 a 6 semanas de ensilagem (dependendo de várias condições), sem a presença de oxigênio, pode resultar numa fase estável de ensilagem (PAHLOW et al., 2003). No entanto Kleinschmit e Kung Jr (2006), relataram que ao longo do período de

armazenamento alguns microgarnismos, como *Lactobacillus buchneri* permanecem bastante ativo por períodos prolongados de tempo (até um ano), mesmo sob condições anaeróbicas em um pH baixo. A hipótese para esse contexto da pelo fato de 1,2- propanodiol, um produto do metabolismo do ácido láctico para ácido acético por este organismo, aumentar continuamente com o tempo de armazenamento.

Kleinschmit e Kung Jr (2006) relataram que o nitrogênio amoniacal foi duas vezes maior na silagem de milho não tratada após 361 dias, em comparação com 282 dias de ensilagem. Embora não diretamente fermentado por lactobacilos, a fracção de fibras de silagens também é influenciada pelo o tempo de armazenamento. Morrison (1979) relatou os resultados da hidrólise ácida na degradação da hemicelulose durante a ensilagem. Hallada et al. (2008) verificaram que a digestibilidade da FDN da silagem de milho aumentou substancialmente com o avançar do tempo de armazenamento. Benton et al. (2005) referiu-se um aumento constante na digestibilidade in situ da matéria seca de milho de alta umidade, com o prolongamento do período de armazenamento, mas não detalhou as razões específicas para este fato.

Guimarães Junior et al. (2005), trabalhando com silagens de genótipos de milheto em diferentes períodos de fermentação verificaram em seus resultados que o melhor período para utilização da silagem de milheto se deu por volta de 14 dias após a ensilagem.

Após a ensilagem da forrageira, com ação das bactérias anaeróbicas, o pH da silagem tende a reduzir rapidamente e equilibrar por volta de três a sete dias após o processo de ensilagem, no entanto, períodos entre 21 a 30 dias tem sido amplamente divulgado como tempo apropriado para fermentação (KUNG JR et al. 2003). No entanto faz-se necessário mais estudos a respeito do período de fermentação sobre a cultura de milheto.

REFERÊNCIAS

- AMER, S. MUSTAFA, A. F. Short communication: Effects of feeding pearl millet silage On milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.93 :5921–5925, 2010.
- AMER, S. HASSANAT, F.; BERTHIAUME, R.; SEGUINC, P.; MUSTAFA, A. F. Effects of water soluble carbohydrate content on ensiling characteristics, chemical composition and *in vitro* gas production of forage millet and forage sorghum silages. **Animal Feed Science and Technology** 177 p: 23– 29, 2012.
- ANJOS, G. V. S.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; KELLER, K. M.; COELHO, M. M.; MICHEL, P. H. F.; OTTONI, D.; JAYME, D. G. Effect of Re-Ensiling The Quality of Sorghum Silage. **Journal of Dairy Science**, v.101, n.7, p.6047-6054, 2018.
- ARAÚJO, A. E., Silva, C. A. D., Freire, E. C. et al. Cultura do algodão herbáceo na agricultura familiar. 98p. **EMBRAPA Algodão**. 2003.
- BALIEIRO NETO, G.; FERRARI JÚNIOR, E.; NOGUEIRA, J. R. et al. Perdas fermentativas, composição química, estabilidade aeróbia e digestibilidade aparente de silagem de cana-de-açúcar com aditivos químico e microbiano. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.44, p.621-630, 2010.
- BARBOSA, R. N. E. 108 f. **Torta de algodão com suplementação enzimática para frangos de corte**. Tese (Doutorado Integrado em Zootecnia), Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2016.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ J. P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology-formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant and Soil, The Hague**, v. 378, n. 1/2, p. 1-33, 2014.
- BELTRÃO, N. E. M. et al. Potencialidade de alguns subprodutos do algodoeiro. I. Fitomassa e seu subproduto principal, a celulose. Campina Grande: **Embrapa Algodão**, (Embrapa Algodão. Comunicado Técnico, 114), 2000.
- BERGAMASCHINE, A. F.; FREITAS, R. V. L.; VALÉRIO FILHO, W. V. et al. Substituição do milho e farelo de algodão pelo milheto no concentrado da dieta de novilhos em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 1, p. 154-159, 2011.
- BERNARD, J. K. E TAO, S. Lactating dairy cows fed diets based on corn silage plus either brown midrib forage sorghum or brown midrib pearl millet silage have similar performance. **Applied Animal Science** 36:2–7. 2020.
- BERNARDES, T. F., RÊGO, A. C. 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science**. 97:1852–1861.
- BONFIM-SILVA, E. M.; SILVA, T. J. A.; CABRAL, C. E. A.; KROTH, B. E.; REZENDE, D. Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, v.24, n.2, p.180-186, 2011.

BRUNETTE, T.; BAURHOO, B.; MUSTAFA, A. F. Effects of replacing grass silage with forage pearl millet silage on milk yield, nutrient digestion, and ruminal fermentation of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** 99: 269-279, 2016.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, The Hague, v. 383, n. 1/2, p. 3-41, 2014.

CHAVES, C. **Produção e valor nutritivo das silagens de capim sudão [*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf, milheto (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke], teosinto (*Euchlaena mexicana* Schrad) e milho (*Zeamays* L.)**. 1997. 56 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CORDÃO, M. A.; ARAÚJO, W. P.; PEREIRA, J. R.; ZONTA, J. H.; LIMA, R. F.; FERREIRA, F. N. Cultivares de algodoeiro herbáceo sob déficit hídrico aplicado em fases fenológicas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 13(3), 313-321. 2018.

CRUZ, V. M. P. **Espaçamentos na cultura do algodoeiro e o seu efeito na produtividade, qualidade e rendimento de fibra**. 2020. 19 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020. DIAS, E. C. B. et al. 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.

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. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.71, n.5, p.1616-1622, 2019.

FRANÇA, A. F. D. S.; DIAS, M. J.; ORSINE, G. F.; PÁDUA, J. T. D. Avaliação do Grão de Milheto (*Pennisetum americanum*) em Substituição ao Milho (*Zea mays*) em Rações para Cabras em Lactação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 27, n. 1, p. 1997.

FUSCO, V. et al. The genus *Weissella*: Taxonomy, ecology and biotechnological potential. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. MAR, 2015.

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

GADELHA, I. C. N. et al. Gossypol toxicity from cottonseed products. **Scientific World Journal**, v. 2014, n. Figure 1, p. 4–6, 2014.

GOMES, A. H. B.; SANTOS, M. D.; MURARO, L. S.; CAMARGO, L. M. COSTA, D. S.; FREITAS, S. H.; JUNIOR, D. A. F.; FILHO, A. M. Avaliação de parâmetros hematológicos e bioquímicos de touros submetidos a dietas com diferentes níveis de gossipol livre. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 08, n. 2, p. 161-180, abr-jun, 2014.

GRAINS. **In**: National Research Council. Lost crops of África. DC: National Academy, v.1, p.77-125, Washington-Pais, 1996.

GRISE, MM; JOBIM, CC; CECATO, U .; GONÇALVES, GD. Efeito do uso de inoculantes na composição química e pH dasilagem de milho (*Pennisetum americanum* (L.) Lekee). No:REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA,38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: SBZ, 2001

GUIMARÃES JÚNIOR, R. **Potencial forrageiro, perfil de fermentação e qualidade das silagens de três genótipos de milho.** 2003. 44f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; CARLOS GONÇALVES, L.; AVELINO SANTOS RODRIGUES, J. Utilização do milho para produção de silagem. 1.ed. Planaltina: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - **Embrapa Cerrados**, 2009. 30 p.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; GONÇALVES, L. C.; JAYME, D. G. et al. Degradabilidade *in situ* de silagens de milho em ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 334-343, 2010.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; GONÇALVES, L. C.; MAURÍCIO, R. M. et al. Cinética de fermentação ruminal de silagens de milho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, p. 1174-1180, 2008.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S. et al. Matéria seca, proteína bruta, nitrogênio amoniacal e pH das silagens de três genótipos de milho [*Pennisetum glaucum* (L). R. Br.] em diferentes períodos de fermentação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 4, n. 2, p. 251-258, 2005.

JACOVETTI, R. et al. Milho Como Silagem Comparado A Gramíneas Tradicionais: Aspectos Quantitativos, Qualitativos E Econômicos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.19, 1-16, e-26539, 2018.

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

JOCHIMS, F.; PIRES, C. C.; LINS, A.; ZAGO, L. C.; JAHN, G. M.; CONFORTIN, A. C. C.; Performance of rearing female hoggets under different feeding strategies. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 6, p. 1296-1302, 2011.

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

KUNG JR, L. SHAVER, R. D.GRANT,R.J. SCHMIDT,R.J. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. **Journal of Dairy Science**. v. 101, n. 5,p.4020-4033.2018.

LIU, J.; STIPANOVIC, R. D.; BELL, A. A.; PUCKHABER, L. S.; MAGILL, C. W. Stereo selective coupling of hemi gossypol to form (β)-gossypol in moco cotton is mediated by a dirigent protein. **Phytochemistry**69, (2008) 3038–3042.

MACHADO FILHO, L. C. P.; MÜHLBACH, P. R. F. Efeito do emurchecimento na qualidade das silagens de Capim – Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) e de Milheto (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke), avaliadas quimicamente. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 15, n. 3, p. 224-233, 1986.

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

MENDES, C.Q.; SUSIN, I.; PIRES, A.V. et al. Desempenho, parâmetros da carcaça e comportamento ingestivo de cordeiros alimentados com cana-de-açúcar ensilada ou *in natura*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.3, p.733-740, 2008.

MEZZALIRA, J. C.; CARVALHO, P. C. F.; AMARAL, M. F.; BREMM, C.; TRINDADE, J. K.; GONÇALVES, E. N.; GENRO, T. C. M.; SILVA, R. W. S. M. Rotational grazing management in a tropical pasture to maximize the dairy cow's herbage intake rate. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 65, n. 3, p. 833-840, 2013.

MUCK, R.E. Avanços recentes na microbiologia da silagem. **Ciência Agrícola e Alimentar**. n.22,p.3-15.2013.

NAGALAKSHMI, D. et al. Cottonseed meal in poultry diets: A Review. **The Journal of Poultry Science**, v. 44, p. 119–134, 2007.

NAVES, LUCIANA DE PAULA et al. Componentes antinutricionais e digestibilidade proteica em sementes de abóbora (*Cucurbita maxima*) submetidas a diferentes processamentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, supl. 1, p. 180- 184, May, 2010.

NCPA - National Cottonseed Products Association. **Cottonseed feed products guide**. 2003.

NETTO, D.A.M.; DURAES, F.O.M. **Milheto: tecnologias de produção e agronegócio**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2005. 215p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, NRC. Nutrient requirement of dairy cattle. 7th Rev. Edition. **National Academic Press**. Washington, DC. 2001.

NEIVA JÚNIOR, A.P.; VAN CLEEF, E.H.C.B.; PARDO, R.M.P. et al. Subprodutos agroindustriais do biodiesel na alimentação de ruminantes. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 2., 2007, Brasília. Anais... Brasília: MCT/ABIPTI, 2007.

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.

PERAZZO, A.F. **Avaliação agrônômica de genótipos de Milheto no Semiárido Paraibano**. 2010. 35f. Monografia (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, 2010.

- PERAZZO, A. F.; SANTOS, E. M.; PINHO, R. M. A.; CAMPOS, F. S.; RAMOS, J. P. F.; AQUINO, M. M.; SILVA, T. C.; BEZERRA, H. F. C. 2013. Características agronômicas e eficiência do uso da chuva em cultivares de sorgo no semiárido. *Ciência Rural* 43: 1771-1776
- PEREIRA, G. A. et al. 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.
- PINHO, R. M. A. et al. 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.; RODRIGUES, J.A.S.; MACEDO, C.H.O.; CAMPOS, F.S.;RAMOS, J.P.D.F.; PEZARRO, A.F.2013a. Avaliação de genótipos demilheto para silagem. *Revista Brasileira SaúdeProdução Animal*, 14:426-436
- PINHO, R. M. A.; SANTOS, E. M.; CAMPOS, F. S. et al. Silages of pearl millet submitted to nitrogen fertilization. **Ciência Rural**, v. 44, n. 5, p. 918-924, 2014.
- PIRES, A. V. 2010. Bovinocultura de Corte (Vol. 1, 760 p.) **FEALQ**, Piracicaba, São Paulo, BR.
- RAMOS, C. L. et al. 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.
- RANJIT, N.K. E L. KUNG, JR. 2000. O efeito de *Lactobacillus buchneri*, *L. plantarum* ou um conservante químico na fermentação e estabilidade aeróbica da silagem de milho. **J. Anim. Sci.** 83: 526-535.
- REIS, R. A. et al. EFEITO DE DOSES DE *Lactobacillus buchneri* “CEPA NCIMB 40788” SOBRE AS PERDAS NOS PERÍODOS DE FERMENTAÇÃO E PÓS-ABERTURA DA SILAGEM DE GRÃOS ÚMIDOS DE MILHO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 923-934, out./dez. 2008.
- RODRIGUES, J.A.S.; PEREIRA FILHO, I.A. **Cultivo do Milheto**. Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de Produção, 3. ISSN 1679-012X Versão Eletrônica - 5^a edição Abr/2016.
- ROMERO, A.C. **Resíduos da produção de biodiesel: Avaliação de moléculas bioativas e potencial de aplicação na alimentação animal**. Tese- Universidade De São Paulo Centro De Energia Nuclear Na Agricultura, Piracicaba, 2013.
- SANTIN, T. P. et al. 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.
- SANTOS, A. P. M. D. et al. Effects of urea addition on the fermentation of sorghum (*Sorghum bicolor*) silage. **African Journal of Range and Forage Science**, v. 35, n. 1, p. 55–62, 2018.

SANTOS, M.V.F.; GÓMEZ CASTRO, A.G.; PEREA, J.M.; GARCÍA, A.; GUIM, A.; PÉREZ HERNÁNDEZ, M. Fatores que afetam o valor nutritivo da silagens de forrageiras tropicais. *Archivos de Zootecnia*, v.59, p.25-43, 2010.

SANTOS, E.M.; PEREIRA, O.G.; GARCIA, R. et al. Effect of regrowth interval and a microbial inoculant on the fermentation profile and dry matter recovery of guinea grass silages. **Journal of Dairy Science**. v. 97, p. 4423-4432, 2014.

SILVA, V.L. **Inclusão de milho desintegrado com palha e sabugo em silagem de milheto forrageiro**. 78 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, (EVZ), Goiânia, 2016.

SILVA, T.C.; SILVA, M. V. B.; FERREIRA, E. G.; PEREIRA, O. G.; FERREIRA, C. L. L. F. Papel da fermentação láctica na produção de silagem. **PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 1, Ed. 148, Art. 998, 2011.

SILVA, A. G., FARIA JÚNIOR, O. L., FRANÇA, A. F. S., MIYAGI, E. S., RIOS, L. C., MORAES FILHO, C. G., FERREIRA, J. L. Rendimento forrageiro e composição bromatológica de milheto sob adubação nitrogenada. *Ciência Animal Brasileira*, 13(1), 67-75. 2012.

SILVA, V.L.; FREITAS, P. V.D.X. OLIVEIRA, L.G; BASTO,D.C.; ALMEIDA,E.M.; NETO,C.M.S.; FRANÇA,A.F.S. Qualidade da silagem de milheto aditivada com milho desintegrado com palha e sabugo. **Research, Society andDevelopment**, v. 9, n. 2 , 2020.

SILVA, M. S. J., JOBIM, C. C., POPPI, E. C., TRES, T. T., & OSMARI, M. P. Production technology and quality of corn silage for feeding dairy cattle in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 44(9), 303-313. 2015.

SILVA, R.S. **Características Bromatológicas E Perfil Fermentativo Da Silagem De Milheto Forrageiro (*Pennisetum Glaucum*) Aditivado Com Casca De Soja**.61p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS Escola de Veterinária e Zootecnia, (EVZ), Goiânia, 2015.

TALIPOV, S.A.; MAMADRAKHIMOV, A.A.; TILJAKOV, Z.G. et al. The Crystal and Molecular Structure of Dianhydro gossypol. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, New York, v. 86, p. 207-213, 2009.

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

TRANCOSO, P.F. **Torta de algodão como aditivo em silagens de capim Tanzânia**. 61p. Dissertação (Mestrado em Mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

TREVISOLI, F. C. A. Características fermentativas e composição bromatológica da silagem de cultivares de milheto inclusão de casca de soja. 2014. 97 f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia (PPGZ) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Go. 2014.

TREVISOLI, F. C. A., FRANÇA, A. F. S., CORRÊA, D. S., TREVISOLI, P. A., OLIVEIRA, L. G. Composição bromatológica de silagens de cultivares de milho com inclusão de casca de soja. **Revista Ciência Agronômica**, 48(3), 540-547. 2017.

VIANA, P. T. et al. 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.

WEINBERG, ZG & MUCK, R.E. 1996. Novas tendências e oportunidades no desenvolvimento e uso de inoculantes para silagem. **FEMS Microbiologia** 19: 53-68.

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.

YITBAREK, M.; TAMIR, B. Silage additives: review. *Open Journal of Applied Sciences*. v.4, n.4, p.258-274, 2014.

YANG, X. et al. 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.

ZHANG, W. J. et al. 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.

ZANINE, A. D. M. et al. 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.

CAPÍTULO II

INOCULANTE MICROBIANO E TORTA DE ALGODÃO NA ENSILAGEM DE MILHETO

INOCULANTE MICROBIANO E TORTA DE ALGODÃO NA ENSILAGEM DE MILHETO EM DIFERENTES PERÍODOS DE FERMENTAÇÃO

RESUMO

Foi realizado um experimento no setor de Forragicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, em Areia com o objetivo de avaliar o resultado da adição de inoculante microbiano e torta de algodão sobre o perfil fermentativo, populações microbianas, estabilidade aeróbia, composição bromatológica e as perdas nas silagens de milho em diferentes períodos de fermentação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4×2, sendo os tratamentos: 1. Controle (Milho); 2. Milho+ 10% torta de algodão (com base na matéria natural); 3. Milho+ *Weissella cibaria* –bactéria láctica heterofermentativa; 4. Milho + torta de algodão e *Weissella cibaria* (Combo) e dois períodos de abertura do silo (30 e 90 dias após ensilagem) e quatro repetições. Foram avaliadas a quantificação das populações microbianas, o perfil fermentativo, as perdas por gases e efluentes na ensilagem, a recuperação de matéria seca, a composição bromatológica e a estabilidade aeróbia. As silagens contendo torta de algodão tiveram uma maior recuperação de matéria seca ($P=0,0002$). Houve efeito do período de abertura do silo sobre o pH das silagens ($p<0,0001$). Aos 90 dias de abertura, nas silagens com torta, as contagens de leveduras e mofo foram menores que $1,00 \log \text{ UFC g}^{-1}$ de silagem. Houve efeito da abertura do silo nas contagens de BAL, mofo e leveduras ($p<0,0001$) e silagens abertas aos 90 dias tiveram menores contagens. Houve efeito também da abertura em que o silo foi aberto aos 90 dias sobre a estabilidade aeróbia ($p<0,0001$) houve maior estabilidade. A adição de torta de algodão proporcionou aumento nos teores de MS, MM, EE, e PB ($p<0,0001$) e redução nos teores de FDN e FDA ($p<0,0001$), quando comparado as silagens controle (apenas milho) e inoculado com *Weissella cibaria*. As perdas por efluentes foram bem menores (19,03 e 12,56 kg t⁻¹) nas silagens contendo torta de algodão. O uso da torta de algodão na silagem de milho diminui as perdas, melhora o perfil fermentativo e o valor nutricional. O uso da *Weissella cibaria* não promoveu melhorias na fermentação. Além disso, é recomendado a abertura dos silos após 90 dias de fermentação.

Palavras-chave: aditivo absorvente, pH, produtividade, valor nutritivo, *Weissella cibaria*.

MICROBIAL INOCULANT AND COTTON PIE IN MILETH HARDWARE IN DIFFERENT FERMENTATION PERIODS

ABSTRACT

An experiment was carried out in the forage sector of the Animal Science Department of the Center for Agricultural Sciences, Federal University of Paraíba, in Areia, in order to evaluate the result of the addition of microbial inoculant and cotton cake on the fermentation profile, microbial populations, stability aerobic, chemical composition and losses in pearl millet silages in different fermentation periods. The experimental design used was completely randomized, in a 4×2 factorial scheme, with the treatments: 1. Control (millet); 2. Millet+ 10% cotton pie (based on natural matter); 3. Millet+*Weissella cibaria* –heterofermentative lactic acid bacteria; 4. Millet + cotton cake and *Weissella cibaria* (Combo) and two silo opening periods (30 and 90 days after ensiling) and four repetitions. The quantification of microbial populations, fermentation profile, losses by gases and effluents in silage, dry matter recovery, chemical composition and aerobic stability were evaluated. The silages containing cotton cake had a higher dry matter recovery (P=0.0002). There was an effect of the silo opening period on the pH of the silages (p<0.0001). At 90 days of opening, in the silages with cake, the yeast and mold counts were lower than 1.00 log CFU g⁻¹ of silage. There was an effect of silo opening on BAL, mold and yeast counts (p<0.0001) and silages opened at 90 days had lower counts. There was also an effect of the opening in which the silo was opened at 90 days on aerobic stability (p<0.0001) there was greater stability. The addition of cotton cake provided an increase in the DM, MM, EE, and CP contents (p<0.0001) and a reduction in the NDF and FDA contents (p<0.0001), when compared to the control silages (only millet) and inoculated with *Weissella cibaria*. Effluent losses were much lower (19.03 and 12.56 kg t⁻¹) in silages containing cotton cake. The use of cotton cake in millet silage reduces losses, improves fermentation profile and nutritional value. The use of *Weissella cibaria* did not improve fermentation. In addition, it is recommended to open the silos after 90 days of fermentation.

Keywords: absorbent additive, pH, productivity, nutritional value, *Weissella cibaria*.

1. INTRODUÇÃO

Para a produção de silagem, as espécies forrageiras devem ser adaptadas ao clima e com elevada produção de matéria verde, bom valor nutritivo e características que favoreçam a qualidade da fermentação. Diante desse fato, buscam-se espécies alternativas ao cultivo do milho e sorgo que apresentem potencial produtivo nas regiões de clima semiárido com baixa precipitação pluviométrica, as quais se mostram adaptadas e apresentam tolerância em condições de déficit hídrico (TONUCCI, 2018).

O milheto [*Pennisetum glaucum*(L.) R. Br.] se destaca entre as plantas forrageiras disponíveis para ensilagem, por apresentar características favoráveis para cultivo em regiões semiáridas, pois é uma forrageira de ciclo curto (60 a 90 dias); se adapta à ambientes com restrição hídrica (400 mm anualmente) (CARVALHO et al., 2018).

Alguns estudos avaliando silagens de milheto (MACHADO FILHO et al., 1986; GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2005; CHAVES, 1997; PINHO et al., 2014) demonstraram que há uma variação muito grande nos teores de carboidratos solúveis dessa forrageira, o que pode ser devido a variações de clima e solo. Por exemplo, em condições de déficit hídrico, o milheto encurta seu ciclo produtivo, produz menos biomassa, resultando em maior concentração de açúcares solúveis.

Por outro lado, em condições mais apropriadas de clima, as plantas apresentam menores valores de carboidratos solúveis, em função da maior produção de matéria seca (PINHO et al. 2014). Em algumas ocasiões podem ocorrer fermentações excessivas, enquanto em outras ocasiões, a fermentação pode ser pouco intensa, resultando em uma faixa de pH de silagens bastante variável.

O emprego de aditivos na silagem é uma estratégia para auxiliar na redução do pH em menor tempo. Os inoculantes microbianos são utilizados para aumentar a população de bactérias benéficas, as quais auxiliam na fermentação da silagem, consumindo açúcares, produzindo diferentes tipos de ácidos orgânicos como láctico, acético e propiônico, estes ácidos são capazes de aumentar a estabilidade aeróbica, diminuindo o pH e evitando perdas de nutrientes (CAGNINI et al., 2020).

Tem se buscado novas cepas bacterianas capazes de promover melhorias no processo fermentativo e na estabilidade aeróbia das silagens, como alternativa ao *Lactobacillus buchneri* dentre essas alternativas destacam-se as espécies do gênero *Weissella*, as quais produzem compostos antifúngicos, como o ácido acético (FUSCO et al., 2015). 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).

Existem poucos estudos testando a associação de cepas heterofermentativas e aditivos nutricionais para correção dos problemas fermentativos e de estabilidade aeróbia na ensilagem de milho, na busca de diminuir esses problemas vem sendo empregados alguns aditivos com o objetivo de melhorar as características dessas silagens.

Portanto o uso da torta de algodão apresenta elevado potencial de uso como aditivo, pois além de ser um importante subproduto regional, com menor custo quando comparado a outras fontes proteicas (LIMA et al., 2017), apresenta uma excelente composição bromatológica com alto teor de matéria seca, proteína e lipídeos (DIAS et al., 2019) e pode melhorar os teores de matéria seca ideal para ensilagem (McDonald; Henderson e Heron 1991) fazendo com que as perdas nessas silagens sejam reduzidas. Além disso, o aumento do teor proteico na massa ensilada, pode acarretar em redução menos acentuada do pH, diminuindo a intensidade da fermentação, principalmente, por meio da fermentação alcoólica (ZANINE et al., 2007; VIANA et al., 2013).

Outro fator importante quando se avalia o processo de ensilagem, é o fator tempo de armazenamento que influencia direta e indiretamente diversos fatores relacionados a qualidade do material ensilado, por períodos longos, como o seu valor nutritivo, a digestibilidade dos nutrientes e alterações na estabilidade aeróbica (JOBIM et al. 2007).

É possível que a combinação entre um inoculante microbiano (cepa heterofermentadora), a torta de algodão como um aditivo que controle a matéria seca e eleve o teor de proteína bruta, dessa forma mantendo estável o pH das silagens e o período de fermentação possa resultar em um bom perfil fermentativo, controle das populações de mofo e leveduras em silagens de milho forrageiro, minimizando a fermentação alcoólica um dos grandes problemas dessa forragem durante o processo fermentativo.

Assim, objetivou-se avaliar o efeito da torta de algodão e inoculante microbiano sobre o perfil fermentativo, populações microbianas, estabilidade aeróbia, perdas e composição bromatológica das silagens de milho em diferentes períodos de abertura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

O experimento a campo foi realizado nas dependências do Setor de Forragicultura, pertencente ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCA-UFPB), em Areia no período de 07/06/2019 a 06/09/2019. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Forragicultura da UFPB e no Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal do Lapa/UFPB, situado em Areia-PB.

2.2 Condução do experimento

Foi utilizado o milheto forrageiro (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) cultivar ADR 300, estabelecida em 07/06/2019 no Campo Agrostológico. O espaçamento utilizado na cultura foi de 0,7 m entre linhas com semeadura em sulcos a uma profundidade de 1,0 cm, e densidade de plantio de 180.000 plantas/ha.

Foram coletadas amostras de solo na profundidade de 0-20 cm para caracterização da química e fertilidade no dia 06/04/2019, o material foi enviado para análise no laboratório de ciência do solo da Universidade Federal da Paraíba (CCA-UFPB), conforme metodologia proposta por Teixeira et al. (2017). Os resultados foram: pH em H₂O - 5,4; fósforo (Mehlich 1) - 2,64 mg/dm³; potássio (Mehlich 1) - 41,77 mg/dm³; sódio - 0,08 cmolc/dm³; alumínio - 0,10cmolc/dm³; H+Al - 2,61cmolc/dm³; cálcio - 1,50 cmolc/dm³; magnésio - 1,87cmolc/dm³; soma de bases - 3,56 cmolc/dm³; CTC total - 6,16 cmolc/dm³ e matéria orgânica - 15,59, não sendo necessário realizar correção e adubação do solo, visto que a cultura tem baixa exigência em fertilidade.

As plantas foram colhidas no dia 06 de setembro de 2019 (90 dias após o plantio), quando os grãos estavam no estágio leitoso/pastoso, processadas em uma máquina forrageira regulada para cortar a forragem em partículas de aproximadamente 2 cm, e em seguida, ensiladas em silos experimentais. Os silos experimentais utilizados foram baldes plásticos com capacidade para 3,5 L. Em cada silo experimental foram adicionados aproximadamente 2,5kg de forragem picada e a compactação do material nos baldes foi realizada de forma manual com bastões de madeira até atingir a densidade de aproximadamente 500 kg m⁻³. A condição de anaerobiose no interior do silo foi mantida por tampa lacre.

Apenas para a abertura de 90 dias, foram adotados nos baldes tampas com válvulas de Bunsen adaptadas, para escape dos gases. Nos fundos dos baldes foram colocados 0,5 kg de areia fina seca, separada da massa de forragem por um tecido de TNT, objetivando-se capturar e quantificar o efluente produzido pela silagem.

O peso dos silos no momento da ensilagem foi contabilizado para determinar, posteriormente, aos 90 dias, as perdas por gases, efluentes e recuperação de matéria seca. Os baldes ficaram armazenados no Laboratório de Forragicultura da UFPB, foram abertos com 30 e 90 dias após a ensilagem.

O inoculante microbiano utilizado foi a (*Weissella cibaria*) isolada de bactérias lácticas da palma miúda (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck cv. Miúda). O microrganismo foi incubado em caldo MRS a 37^oC em três ativações sucessivas a cada 24 h, aplicando-se uma dose de 1×10^5 log UFC/g do isolado. Posteriormente o inoculante foi novamente reativado em caldo MRS previamente à inoculação, diluído em água destilada (1 L/t) e foi pulverizado uniformemente na forragem fresca através de um pulverizador agrícola manual, imediatamente antes do enchimento dos silos experimentais. No tratamento sem inoculante (Controle), foi aplicado água destilada no mesmo volume da solução que contém o inoculante.

2.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (4×2), sendo os tratamentos: 1. Controle (Milheto); 2. Milheto+ 10% torta de algodão (com base na matéria natural); 3. Milheto+ *Weissella cibaria* –bactéria láctica heterofermentativa; 4. Milheto+ torta de algodão e *Weissella cibaria* (Combo) e dois períodos de abertura (30 e 90 dias após ensilagem) e quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais.

2.4 Análises Laboratoriais

Quantificação das populações microbianas

As populações microbianas foram quantificadas nas forragens, antes da ensilagem (Tabela 1) e nas silagens (Tabela 5 e 8) utilizando-se meios de cultura seletivos para cada grupo microbiano: Para a análise microbiológica foram utilizados meios seletivos, em que o MRS ágar adicionado de ácido acético é usado para contagem das bactérias ácido lácticas (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 10⁻⁷. A seguir, foi realizado o plaqueamento de cada repetição experimental em duplicata para cada meio de cultura conforme a metodologia descrita por Jobim et al. (2007).

Foram consideradas passíveis de contagem as placas com valores entre 30 e 300 unidades formadoras de colônias (UFC).

Tabela 1. Contagens microbianas em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano no momento da ensilagem.

Tratamentos	BAL ¹	Mofos ²	Leveduras ³
Controle	6,96	7,15	7,59
Torta de algodão	6,18	5,43	5,89
<i>Weissella cibaria</i>	6,92	5,59	7,12
T.algodão x Wc	6,70	4,83	5,75

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

Perfil fermentativo

Nas amostras dos tratamentos da ensilagem e das aberturas foi mensurado o pH com o auxílio de um potenciômetro, utilizando-se amostras de 25 g com 100 mL de água destilada seguindo de repouso por 1 hora (BOLSEN et al., 1992). As amostras do dia da ensilagem (dia 0) foram feitas em duplicata (Tabela 2), enquanto nos dias da abertura (30 e 90 dias) as amostras foram analisadas conforme o número de repetições de cada tratamento.

Para a determinação de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) das amostras, seguiu-se a metodologia de Bolsen et al. (1992), pesando-se 12,5 g em potes plásticos, adicionando-se 100 ml de solução de H₂SO₄ a 0,2 N. Após repouso de 48 horas em refrigeração, foi filtrada a mistura com auxílio de papel filtro e ocorrerá a estimativa considerando o nitrogênio total da amostra. Para análise de carboidratos solúveis seguiu-se a metodologia de (DUBOIS et al., 1956).

Os valores de capacidade tampão foram obtidos segundo a metodologia de Playne e McDonald (1966). Foram pesados 15 gramas de cada amostra de silagem após prévio descongelamento (com prévio preparo das soluções de HCl (elaborar em capela) e NaOH),

homogeneizando-a em STOMACHER 400 CIRCULATOR MB/45402 durante 3 minutos a 270 RPM, com 250 mL de água destilada, transferindo-se para beakers de vidro (500 ml) e deixando em repouso a temperatura ambiente durante cerca de 10 minutos. Com auxílio de agitador magnético, foi realizada titulação sob agitação constante com auxílio imã revestido de plástico (bailarinas), adicionando primeiramente a solução de HCl (0,1N) para reduzir o pH até 3,0 de forma a haver liberação de bicarbonatos e CO₂. Posteriormente, foi realizada a titulação com NaOH (0,1N) até elevar para o pH no valor 4,0. A partir disso, adiciona-se mais solução de NaOH (0,1N) e anotado o valor gasto até atingir o pH de 6,0. Este valor que foi utilizado no cálculo da capacidade tampão das amostras (MIZUBITTI, 2009; PLAYNE e Mc DONALD, 1966).

Composição bromatológica

O teor de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) foi determinado segundo a AOAC (1990); o teor de proteína bruta (PB) na matéria seca, pelo método micro Kjeldahl, segundo a AOAC (1990); e as concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), segundo técnicas descritas por Silva & Queiroz (2002).

Foram coletadas amostras no momento da ensilagem para determinação da composição bromatológica e perfil fermentativo (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano no momento da ensilagem.

Variáveis (% MS)	Controle	Torta de algodão	<i>Weissella cibaria</i>	T.algodão xWc
%MS ¹	21,01	26,65	21,07	27,37
MM ²	1,58	1,19	1,58	1,14
PB ³	4,28	11,37	4,86	14,41
FDN ⁴	68,58	63,42	69,21	66,69
FDA ⁵	40,95	39,01	41,54	40,12
EE ⁶	1,85	4,28	2,35	4,29
pH	4,80	5,00	4,85	4,95
CHO _s ⁷	17,21	14,05	17,63	13,36
N-NH ₃ ⁸	0,17	0,05	0,13	0,04
CT ⁹	0,02	0,02	0,02	0,02

¹MS = matéria seca; ²MM = matéria mineral; ³PB = proteína bruta; ⁴FDN = fibra em detergente neutro; ⁵FDA = fibra em detergente ácido; ⁶EE = extrato etéreo; ⁷CHOs = carboidratos solúveis; ⁸N-NH₃ = nitrogênio amoniacal; ⁹CT = Capacidade Tampão.

Perdas na ensilagem

Antes do enchimento dos baldes, foi tomado o peso do conjunto balde + tampa + areia + pano. Em seguida, procedeu-se o enchimento deles, efetuando-se a compactação da forragem com o auxílio das mãos.

Na abertura de 90 dias foi realizada a abertura dos silos, efetuando-se nesta oportunidade a pesagem dos baldes cheios, pesagem da silagem e pesagem do conjunto balde + tampa + areia + pano.

As perdas de matéria seca do processo fermentativo das silagens sob as formas de gases e efluente, assim como para se estimar a recuperação da matéria seca serão quantificadas por diferença de peso, conforme as equações abaixo descritas por ZANINE et al. (2010):

PG: $(PSF - PSA)/(MFf \times MFSf) \times 1000$, 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: $(SAf - S) - (SAa - S)/MFf \times 100$, onde:

PE = perdas por efluentes; SAf = peso do silo vazio+areia na abertura (kg); SAa = peso do silo vazio + areia na ensilagem (kg); S = peso do silo (kg); MFf = massa de forragem na ensilagem (kg);

RMS = $(MFa \times MSa)/(MFf \times MSf) \times 100$, 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 (%).

Estabilidade aeróbia

A estabilidade aeróbia foi determinada a partir de aproximadamente 1kg de amostras representativas da silagem, as quais foram acondicionadas novamente nos baldes (sem compactação). No centro geométrico de cada massa de forragem dois termômetros digitais de imersão foram inseridos, 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 definida como o tempo necessário para que a temperatura da silagem ultrapasse 2°C a temperatura ambiente (TAYLOR; KUNG, 2002).

2.5 Análises estatísticas

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 e as comparações entre as médias foram realizadas pelo teste Tukey considerando o nível de 5% de probabilidade de erro, 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;

α_i = aditivo

β_j = abertura

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

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

Para as variáveis de perdas e recuperação da matéria seca adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições utilizou-se o pacote estatístico SAS® v. 9.2 (SAS, 2012), sendo submetidos à análise de variância e as comparações entre as médias foram realizadas pelo teste Tukey considerando o nível de 5% de probabilidade de erro.

3. RESULTADOS

Houve interação aditivo x abertura ($P= 0,0031$) para o teor de CHOs, apresentando valores maiores nas silagens controle e inoculada com *W.cibaria* abertas aos 90 dias.

Verifica-se que não foram observadas diferenças entre os diferentes tipos de aditivos para a variável pH, houve diferença para pH com efeitos na abertura das silagens ($P<0,0001$). Observa-se que as silagens abertas aos 90 dias apresentaram o pH mais alto em relação as silagens abertas aos 30 dias.

Houve efeito principal para aditivo no teor de N-NH₃ ($P<0,0001$), observando-se maiores valores para as silagens do controle e inoculada com *W.cibaria*.

Houve efeito principal para a abertura nos valores de CT ($P<0,0001$), observando-se menores valores para silagens abertas aos 90 dias. Observou-se que tanto para os teores de CHOs quanto de N-NH₃ os menores valores foram nas silagens que possuíam torta de algodão.

Tabela3. Valores de pH, carboidratos solúveis residuais (CHOs), nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e de capacidade tampão (CT) em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 30 e 90 dias.

	pH	CHOs (%)	N-NH ₃ (% NT)	CT
Dia 30				
Controle	3,62	2,60bc	0,22	0,13
Torta de algodão	3,82	2,02c	0,14	0,13
<i>Weissella cibaria</i>	3,60	3,19ab	0,19	0,12
T.algodãoxWc	3,77	3,03ab	0,13	0,11
Dia 90				
Controle	3,90	3,48a	0,26	0,14
Torta de algodão	3,92	3,07ab	0,12	0,16
<i>Weissella cibaria</i>	3,91	3,85a	0,22	0,12
T.algodãoxWc	3,95	2,82ab	0,11	0,14
Efeito principal para aditivo				
Controle	3,77	3,04	0,24a	0,13
Torta de algodão	3,86	2,55	0,13b	0,14
<i>Weissella cibaria</i>	3,76	3,28	0,21a	0,13
T.algodãoxWc	3,86	2,93	0,12b	0,13

Efeito principal para abertura				
30 dias	3,70b	2,71	0,17a	0,15a
90 dias	3,92a	3,19	0,18a	0,12b
EPM	0,03	0,10	0,01	0,03
P-valor				
Aditivo	0,3077	0,0022	<0,0001	0,1450
Abertura	<0,0001	0,0005	0,5888	<0,0001
Aditivo x Abertura	0,2540	0,0031	0,0641	0,1978

Médias seguidas de letras diferentes na coluna tem diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). EPM: erro-padrão da média; pH: potencial hidrogeniônico. N-NH₃: nitrogênio amoniacal, em %N-NH₃ total.

Observa-se na Tabela 4 que houve efeito de aditivos nos valores de perdas por gases, em que as silagens que continham torta de algodão resultaram em menores perdas por gases em relação a silagem controle e com inoculante ($P < 0,0001$). As perdas por efluentes tiveram efeito significativo ($P = 0,0004$) e os valores foram inferiores nas silagens combo (torta de algodão + *W. cibaria*) seguido da silagem contendo apenas torta de algodão.

Houve efeito também para a recuperação de matéria seca ($P = 0,0002$) em que a silagem contendo apenas torta de algodão seguido do combo, tiveram uma maior recuperação da matéria seca em relação a silagem controle e a que possuía apenas inoculante microbiano. Verificou-se ainda que a silagem contendo apenas inoculante microbiano obteve maiores perdas por efluentes (33,57 kg t⁻¹) em relação ao controle (29,64 kg t⁻¹).

Tabela 4. Perdas fermentativas e recuperação de matéria seca em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 90 dias.

	PG (%MS)	PE (kg t ⁻¹)	RMS (%)
Tratamentos			
Controle	0,69 ^a	29,64 ^{ab}	90,16 ^c
Torta de algodão	0,19 ^b	19,03 ^{cb}	95,48 ^a
<i>Weissella cibaria</i>	0,53 ^a	33,57 ^a	90,66 ^{cb}
T.algodão x <i>Wc</i>	0,20 ^b	12,56 ^c	94,91 ^{ab}
EPM	0,06	2,55	0,80
P-valor	<0,0001	0,0004	0,0083

Médias seguidas de letras diferentes na coluna tem diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). PG:

perdas por gases, em % de MS; PE: perdas por efluentes, em kg matéria fresca t⁻¹ e RMS: recuperação de matéria seca, em %.EPM: erro padrão da média.

Na Tabela 5 observa-se que houve interação aditivo × abertura para a população de BAL($P=0,0005$) na qual as silagens inoculadas com *W. cibaria* abertas aos 30 dias tiveram maior população de BAL.

Houve interação aditivo × abertura para a população de mofos ($P<0,0001$), em que as silagens abertas aos 90 dias de todos os tratamentos tiveram contagem menores que 1,00 log UFC g⁻¹ de silagem.

Para a variável levedura ($P=0,0459$), houve interação aditivo × abertura, em que as silagens combo abertas aos 90 dias tiveram contagens menores que 1,00 log UFC g⁻¹ de silagem.

Tabela5. Contagens microbianas em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 30 e 90 dias.

	BAL ¹	Mofos ²	Leveduras ³
Dia 30			
Controle ⁴	8,80b	4,69c	8,09a
Torta de algodão	9,54ab	7,32b	8,02a
<i>Weissella cibaria</i>	9,67a	7,88ab	8,40a
T.algodãoxWc	9,58ab	8,27a	8,39a
Dia 90			
Controle ⁴	6,91c	0,00d	0,92b
Torta de algodão	6,21c	0,00d	0,88b
<i>Weissella cibaria</i>	6,91c	0,00d	0,10b
T.algodãoxWc	6,18c	0,00d	0,00b
Efeito principal para aditivo			
Controle ⁴	7,85	2,34	4,10
Torta de algodão	7,88	3,66	4,05
<i>Weissella cibaria</i>	8,29	3,94	4,20
T.algodãoxWc	7,88	4,13	4,19
Efeito principal para abertura			
30 dias	9,40	7,04	7,97
90 dias	6,55	0,00	0,70

EPM	0,26	0,65	0,68
P-valor			
Aditivo	0,0466	<0,0001	0,3034
Abertura	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Aditivo x Abertura	0,0005	<0,0001	0,0459

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). EPM: erro-padrão da média. ¹BAL = bactérias ácido lácticas, log UFC/g de silagem fresca. ²Mofos, log UFC/g de silagem fresca. ³Leveduras, log UFC/g de silagem fresca. ⁴Controle: Silagem não inoculada.

Observa-se na Tabela 6 que houve interação aditivo \times abertura para PB ($P < 0,0001$), os maiores valores para PB foram observados nas silagens combo e torta de algodão, aos 90 dias de abertura.

Verificou-se interação aditivo \times abertura ($P = 0,0682$) para o EE, apresentando valores maiores nas silagens torta de algodão e combo abertas aos 30 dias.

Houve efeito principal de aditivo ($P < 0,0001$) para a variável MS, em que os maiores valores para MS foram observados nas silagens torta de algodão e combo.

Para a variável MM houve efeito principal de aditivo ($P < 0,0001$), em que o maior valor de MM foi observada nas silagens controle e inoculada com *W.cibaria*, houve efeito também para a abertura ($P = 0,0020$) e as silagens abertas aos 90 dias tiveram maior porcentagem de MM.

Para as variáveis FDN e FDA, houve efeito principal para aditivo ($P < 0,0001$) e ambos tiveram menor porcentagem nas silagens combo e torta de algodão.

Tabela 6. Composição bromatológica em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 30 e 90 dias.

	MS %	MM(%MS)	PB(%MS)	FDN(%MS)	FDA(%MS)	EE(%MS)
Dia 30						
Controle	19,34	2,00	5,33e	71,83	39,55	3,70
Torta de algodão	26,14	1,45	11,78d	65,22	40,82	6,14
<i>Weissella cibaria</i>	20,12	1,85	5,39e	71,95	40,37	4,54
T.algodãoxWc	25,66	1,63	12,47c	64,81	40,50	5,41
Dia 90						
Controle	19,82	2,33	5,47e	70,16	34,55	2,98

Torta de algodão	26,02	1,72	13,19b	65,22	38,22	4,62
<i>Weissella cibaria</i>	20,77	2,48	5,41e	70,72	35,72	2,47
T.algodãoxWc	26,14	1,68	13,58a	63,39	35,72	5,14
Efeito principal para aditivo						
Controle	19,58b	2,17a	5,40	70,82a	44,27a	3,34b
Torta de algodão	26,10a	1,59b	12,48	65,22b	41,57b	5,38a
<i>Weissella cibaria</i>	20,44b	2,17a	5,40	71,34a	44,15a	3,50b
T.algodãoxWc	25,90a	1,65b	13,02	64,10b	41,56b	5,27a
Efeito principal para abertura						
30 dias	22,81a	1,73 b	8,74	68,37	43,35	4,95a
90 dias	23,19a	2,05 a	9,41	67,37	42,43	3,80b
EPM	0,55	0,17	0,66	0,63	0,33	0,23
P-valor						
Aditivo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Abertura	0,1253	0,0020	<0,0001	0,0787	0,0635	<0,0001
Aditivo x Abertura	0,7308	0,2182	<0,0001	0,7683	0,5975	0,0682

Médias seguidas de letras diferentes na coluna tem diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). MS: matéria seca em %; MM: matéria mineral, em % de MS; PB: proteína bruta, em % de MS; FDN, fibra em detergente neutro, em % de MS; FDA: fibra em detergente ácido, em % de MS; EE: extrato etéreo, em % de MS. EPM: erro padrão da média.

Na Tabela 7 observa-se que não houve interação, houve apenas efeito principal do tempo de abertura nas variáveis tempo para atingir a temperatura máxima ($P < 0,0001$), em que as silagens abertas aos 90 dias tiveram maior estabilidade aeróbia em relação as silagens de 30 dias.

As menores temperaturas foram observadas nas silagens abertas aos 90 dias, em que as silagens atingiram temperaturas acima dos 30 °C. Houve efeito principal para aditivo na variável temperatura máxima ($P = 0,0144$) e as silagens torta de algodão e combo alcançaram maiores temperaturas.

Tabela 7. Estabilidade aeróbia (EA) em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 30 e 90 dias.

	EA (Horas) ¹	Temperatura Máxima ²
Dia 30		
Controle ³	12,87	39,55

Torta de algodão	15,00	40,82
<i>Weissella cibaria</i>	13,37	40,37
T.algodãoxWc	13,75	40,50
Dia 90		
Controle ³	25,62	34,55
Torta de algodão	26,37	38,22
<i>Weissella cibaria</i>	20,62	35,72
T.algodãoxWc	23,62	35,72
Efeito principal para aditivo		
Controle ³	19,25	37,05 ^b
Torta de algodão	20,68	39,52 ^a
<i>Weissella cibaria</i>	17,00	38,05 ^{ab}
T.algodãoxWc	18,68	38,86 ^{ab}
Efeito principal para abertura		
30 dias	13,75 ^b	40,31 ^a
90 dias	24,06 ^a	36,43 ^b
EPM	1,20	0,48
P-valor		
Aditivo	0,4592	0,0144
Abertura	<0,0001	<0,0001
Aditivo x Abertura	0,6643	0,3258

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. ³Controle: silagem não inoculada.

Os valores para BAL tiveram interação aditivo x abertura ($P=0,0025$), em que a menor população observada foi nas silagens contendo torta de algodão abertas aos 90 dias (Tabela 8).

Houve interação aditivo x abertura ($P=0,0110$) para a variável mofo com menores contagens nas silagens torta de algodão e combo das abertas aos 90 dias.

Já para a variável levedura houve interação aditivo x abertura ($P=0,0044$), com menores contagens também nas silagens torta de algodão e combo abertas aos 90 dias.

Tabela 8. Contagens microbianas pós estabilidade aeróbia (exposição ao ar) em silagens de milho aditivadas com torta de algodão e inoculante microbiano abertas aos 30 e 90 dias.

	BAL ¹	Mofos ²	Leveduras ³
Dia 30			
Controle ⁴	8,66a	8,41a	8,91a
Torta de algodão	9,33a	8,05a	8,48a
<i>Weissella cibaria</i>	9,38a	9,03a	9,25a
T.algodãoxWc	9,35a	8,73a	9,16a
Dia 90			
Controle ⁴	6,53b	5,60ab	7,24b
Torta de algodão	5,91b	0,00c	6,32c
<i>Weissella cibaria</i>	6,09b	2,34cb	6,37c
T.algodãoxWc	6,05b	2,51cb	6,29c
Efeito principal para aditivo			
Controle ⁴	7,69	7,00	8,08
Torta de algodão	7,52	4,02	7,42
<i>Weissella cibaria</i>	7,73	5,68	7,78
T.algodãoxWc	7,75	5,62	7,73
Efeito principal para abertura			
30 dias	9,18	8,55	8,95
90 dias	6,17	2,61	6,55
EPM			
	0,27	0,63	0,23
P-valor			
Aditivo	0,7090	0,0049	0,0140
Abertura	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Aditivo x Abertura	0,0025	0,0110	0,0044

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). EPM: erro-padrão da média. ¹BAL = bactérias ácido lácticas, log UFC/g de silagem fresca. ²Mofos, log UFC/g de silagem fresca. ³Leveduras, log UFC/g de silagem fresca. ⁴Controle: Silagem não inoculada. EPM: erro padrão da média.

4. DISCUSSÕES

Verifica-se que as silagens abertas aos 90 dias apresentaram valores de pH mais alto (3,9) e mais próximos aos preconizados por McDonald; Henderson e Heron (1991), entre 3,8 a 4,2 (Tabela 3). Esse resultado mostra que o tempo de abertura interfere no pH dessas silagens, provavelmente esse valor mais alto pode estar relacionado a uma fermentação menos intensa aos 90 dias de abertura, bem como pela utilização do ácido lático por BALheterofermentadoras (TAYLOR; KUNG, 2002). Balieiro Neto et al. (2010) estudando silagens de cana de açúcar com diferentes aditivos (cal virgem + *Lactobacillus buchneri*) encontraram um pH em torno de 4,0 o que provavelmente suprimiu a fermentação alcóolica, um valor próximo a faixa de pH encontrada no presente trabalho (Tabela 3). Esses valores se assemelham aos encontrados por Costa (2018) que avaliando a qualidade de silagens de milho consorciados com diferentes sistemas forrageiros, encontrou valor médio de pH entre 3,75 para a silagem de milho sem aditivos, mantendo-se um pouco abaixo dos valores encontrados no presente trabalho.

Santos et al. (2020) trabalhando com silagem de milho encontraram uma faixa de valores de pH bastante variável entre 5 e 3,5 o mesmo problema é comprovado pelos estudos de Guimarães Júnior et al. (2005) que ao analisarem o pH das silagens de genótipos de milho, os resultados mostraram que houve variações do pH durante os períodos de abertura. Esses resultados mostram que silagens de milho possuem pH bastante variáveis, causando possíveis problemas na fermentação.

Vale ressaltar que o pH por si só não deve ser utilizado como critério exclusivo na avaliação da fermentação, pois seu efeito inibidor de microrganismos depende da velocidade de declínio da concentração iônica e do teor de umidade do material ensilado (COAN et al., 2007).

Os valores para CHOs encontrados no presente trabalho encontram-se dentro do indicado por McDonald, Henderson e Heron (1991) que recomendam que as forragens no momento da ensilagem devem possuir de 6 a 12% de CHOs para garantir um adequado processo fermentativo (Tabela 2).

Maiores teores de carboidratos causam uma fermentação mais intensa no silo, indicando possíveis problemas na fermentação. A silagem contendo torta de algodão abertas aos 30 dias, tiveram menores teores de CHOs (Tabela 3), essa diminuição pode estar

relacionada a um efeito de diluição, considerando o valor de CHOs mais baixo para a torta em relação ao milho (Tabela 2 e 3).

Os menores teores de N-NH₃, foram observados nas silagens contendo torta de algodão. Portanto, entende-se que houve uma fermentação adequada, considerando os teores de N-NH₃ e pH preconizados por McDonald et al. (1991) indicando que houve pouca proteólise (Tabela 3). A diminuição dos teores de N-NH₃ nas silagens com torta, pode estar relacionado ao aumento da matéria seca, verificado nas silagens, que resultou na diminuição da atividade de água que é um dos principais fatores que influenciam o desenvolvimento de microrganismos proteolíticos na silagem (CHARMLEY, 2001; REIS et al., 2008).

Em silagens, a fermentação láctica é responsável pela redução do pH e, além disso, as bactérias ácido lácticas não são proteolíticas e têm uma capacidade limitada de sintetizar aminoácidos (MCDONALD, 1981). Os teores de N-NH₃ encontrados nesse trabalho nas silagens que continham torta não afetam as características qualitativas da silagem, apesar da torta de algodão ser um ingrediente protéico, com valores abaixo de 1% (Tabela 3), que de acordo com Benachio (1965), quanto ao teor de nitrogênio amoniacal (% do nitrogênio total), as silagens são classificadas em muito boa, quando os valores são inferiores a 10%. Muck (1996) verificou que silagens que apresentam baixo pH, as bactérias proteolíticas são inibidas e, dessa forma, a proteólise é reduzida e, conseqüentemente, a produção de N-NH₃. Esse estudo reforça os resultados encontrados no presente trabalho em relação a diminuição dos teores de N-NH₃.

De acordo com Jobim et al. (2007) a capacidade tampão é definida como a resistência que a massa ensilada apresenta ao rebaixamento do pH. Os valores de CT foram menores nas silagens abertas aos 90 dias. Os menores teores de CT dessas silagens demonstram uma rápida acidificação da massa ensilada e pode causar efeito de uma melhor conservação das silagens.

A capacidade tampão depende basicamente da composição da planta no que se refere ao teor de proteína bruta, íons inorgânicos (Ca, K, Na) e combinação de ácidos orgânicos e seus sais. O conhecimento da CT da forragem a ser ensilada é importante, pois fornece informações em relação à velocidade de abaixamento do pH (JOBIM et al. 2007).

Segundo Cherney e Cherney (2003) a CT da forragem a ser ensilada é um fator chave no processo de fermentação. Quando a planta apresenta alta CT a velocidade de abaixamento do pH é lenta e em consequência as perdas no processo de ensilagem são maiores, reduzindo a qualidade da silagem. É interessante que a forragem ensilada tenha baixa capacidade tamponante e assim facilita a redução do pH feita pela ação dos produtos da fermentação principalmente ácidos orgânicos (MASSARO JÚNIOR et al., 2020). Esse resultado de menor

valor da CT (Tabela 3) é esperado visto que o valor de CT da planta no momento da ensilagem (Tabela 2) foi baixo (0,02) para todos os tratamentos, indicando que a cultura possui baixa capacidade tampão, essa variável é importante pois no momento da ensilagem a mesma indica se o coeficiente de fermentação dessa cultura é alto ou baixo.

Em relação as perdas por gases e efluentes os valores foram menores nas silagens contendo torta de algodão (Tabela 4). E esse resultado provavelmente está associado ao aditivo que possui um alto teor de MS e capacidade de absorver o excesso de umidade nas silagens de milho, elevando assim a MS das silagens a faixa ideal preconizada por (MCDONALD, HENDERSON; e HERON, 1991). A formação de gases e efluentes na silagem de milho que não continham torta pode ser resultado do alto teor de carboidratos e baixa MS, o que pode ter resultado em fermentação alcoólica, elevando as perdas gasosas associadas a esse tipo de fermentação.

Os valores encontrados nesse trabalho para as perdas mantiveram-se semelhantes aos encontrados por Rodrigues et al. (2020) trabalhando com silagem de milho e inclusão de leucena, os autores observaram menores perdas com um nível maior de inclusão.

Estudando a utilização da torta de algodão em silagens de capim elefante Viana et al. (2013) verificaram que em níveis de inclusão a partir de 7%, a torta de algodão é um aditivo eficiente, reduzindo o nível de umidade e as perdas de efluentes nas silagens, melhorou a qualidade da fermentação das silagens, aumentando os teores de proteína bruta e extrato etéreo.

A redução nas perdas por gases e efluentes resultou em maior recuperação de matéria seca (RMS) nas silagens com torta de algodão (Tabela 4). Os valores mais altos para recuperação de matéria seca nas silagens com torta apoiam-se na ideia de que a torta tanto controla as perdas por efluente, quanto reduz a incidência de fermentações secundárias.

De acordo com Reich e Kung Junior (2010) silagens com teores mais baixos de MS apresentam maiores perdas por efluentes.

Pinho et al. (2014), avaliaram a recuperação de matéria seca e encontraram baixo valor para essa variável, associado a valores de pH abaixo de 3,5, e associaram esse resultado ao excesso de CHO que pode resultar em fermentação alcoólica e aumentar as perdas por gases no silo, o que não foi observado nesse estudo.

Segundo Santos et al. (2010), valores de RMS superiores a 90%, como os observados nesse estudo, não comprometem a produção da silagem, podendo classificar as mesmas como bem preservadas.

A contagem de bactérias lácticas variou nos diferentes dias de abertura 9,40 e 6,55 log UFCg-1 de silagem, para as aberturas de 30 e 90 dias, respectivamente (Tabela 5).

As silagens com torta abertas aos 90 dias apresentaram um menor valor de BAL quando comparado as demais silagens (Tabela 5). Isso pode ser explicado pela diminuição da proporção de milho que possui alta população autóctone de BAL (Tabela 1) em função da inclusão de torta. Nota-se ainda uma alta contagem de mofo e leveduras nesta cultura (Tabela 1), o que influencia diretamente na fermentação e estabilidade aeróbia das silagens (PAHLOW et al., 2003).

Segundo Hammes et al. (1992), no decorrer do processo de fermentação da silagem, ocorre sucessão de gêneros de bactérias do ácido láctico. No estágio inicial, as bactérias pertencentes ao gênero *Streptococcus* dominam o processo, sendo substituídas por *Leuconostoc*, depois por *Lactobacillus* e *Pediococcus*, que são mais resistentes às condições ácidas. Com o decorrer do processo, até as BAL pertencentes ao gênero *Lactobacillus* vão perdendo a viabilidade e alguns microrganismos especializados, tais como *Lactobacillus buchneri*, continuam ativos em um baixo nível (Elferink et al., 2001).

Apesar da maior população de BAL da silagem aberta aos 30 dias durante a fermentação, as modificações no tempo ocorridas foram próximas para os dois tempos de abertura (Tabela 5).

Esse fato poderia ser explicado pelo perfil de produção dos ácidos graxos voláteis e ácido láctico.

O tempo de ensilagem do milho promoveu efeito negativo na contagem de mofo e leveduras, decrescendo de uma média 7 parâmetros de 1,00 log ufc g-1 de silagem entre 30 e 90 dias de ensilagem.

A diminuição de mofo e leveduras era esperada com o passar do tempo, a acidificação da massa aos 90 dias é tão intensa que até mesmo as BAL não conseguem se manter, enquanto que aos 30 dias ainda há uma fermentação intensa e grande quantidade de CHO.

Esses resultados indicam que o tempo de abertura na silagem de milho deve ser considerado, visto que quando se trata de silagem de milho, observa-se no presente estudo que um menor tempo de abertura não é suficiente para a estabilidade da atividade microbiana.

Com a inibição do crescimento de mofo e leveduras, ocorrerá, conseqüentemente, menor produção de fermentação indesejada principalmente a alcoólica e menores perdas de MS. Entretanto, há necessidade de avaliações mais detalhadas com relação à qualidade das

silagens, inclusive a inclusão adequada de aditivos e com a quantidade adequada do inoculante a ser adicionada.

Observa-se um aumento dos teores de matéria seca das silagens com torta, reafirmando a eficiência deste aditivo na elevação do teor de matéria seca do material ensilado. Os aditivos são citados em diversos estudos, como forma de aumentar o teor de MS, isso ocorre pois seu baixo teor de umidade equilibra o excesso de umidade da forragem ensilada, o que melhora a fermentação microbiana e o valor nutricional em silagem de gramíneas (Trevisoli, 2017) quando avaliou a inclusão de casca de soja na ensilagem de cultivares de milho.

A torta proporcionou valores para MS dentro do indicado na literatura, não ultrapassando 40%MS, o que pode ser importante principalmente no impedimento da proliferação de microrganismos indesejáveis (MCDONALD; HENDERSON E HERON, 1991).

Os teores de MM apresentaram diferenças com maiores valores para as silagens controle e inoculado com *W.cibaria* com média de 2,1% para ambos (Tabela 6). Vale ressaltar que os teores médios de matéria mineral determinados nesta pesquisa, encontram-se dentro da faixa relatada por Lopes et al. (2010), com média de 2,3% quando avaliou silagem de cana de açúcar acrescida de aditivos absorventes de umidade, valores citados como normais na literatura. Ocorreu aumento desses teores (Tabela 6), em decorrência das perdas de constituintes celulares durante a fermentação, resultando em elevação proporcional nos valores.

Pode-se afirmar que o processo fermentativo transcorreu de forma adequada, sem ocasionar perdas nos teores de PB das silagens produzidas. Observa-se também que a torta de algodão contribuiu de forma efetiva para o incremento dos teores de PB das silagens produzidas, devido sua alta composição proteica e energética.

O aumento nos teores de PB com a adição de torta de algodão é bastante desejável, já que alta proteólise não é uma característica desejável para silagens, uma vez que há diminuição do conteúdo de proteína da silagem e perde-se esse importante nutriente pela volatilização na forma de $N-NH_3$ (DA SILVA et al., 2017; PAHLOW et al., 2003). O que não ocorreu no presente trabalho nas silagens contendo torta, o incremento da PB nessas silagens reduziu a proteólise.

Portanto, a adição de torta no processo de produção de silagem destaca a importância deste aditivo não só como absorvente de umidade e conseqüentemente na elevação do teor de MS da silagem, mas também como fonte de nutriente. As silagens com adição da TA,

apresentaram resultados para PB superiores aos relatados por Pinho et al. (2013b) que variou entre 8,57% a 10,82% e por Khan et al. (2011) que encontraram 8,8%. Essa variação pode estar relacionada com a reduzida proteólise nas silagens contendo torta, o que se observa pelos menores teores de N-NH₃ (Tabela 3). De acordo com Evangelista & Lima (2001) a concentração de amônia das silagens, representada como porcentagem do nitrogênio amoniacal (N-NH₃) é bastante utilizada na avaliação de silagens.

Fermentações mais apropriadas promovem menores teores dessa fração, o que refletiu em menor proteólise do material ensilado nas silagens de milho com torta. Isso significa que a proteína da torta de algodão foi incorporada na silagem promovendo esse aumento nos teores encontrados, o pH baixo dessas silagens provavelmente inibiu microrganismos indesejáveis a exemplo de clostrídios o que favoreceu a redução da proteólise nessas silagens (Tabela 2).

Dias et al. (2019) trabalhando com a inclusão de 5% de torta de algodão na silagem de capim elefante observaram melhora na eficiência no uso de fontes protéicas quando o objetivo é utilizar a silagem na composição de uma dieta balanceada.

As reduções observadas na FDN nas silagens podem contribuir para aumento do consumo de MS das silagens produzidas, o que corrobora com os resultados obtidos por Branco et al. (2010) em que alimentos de baixa digestibilidade podem reduzir a ingestão de matéria seca, em decorrência da baixa taxa de passagem pelo trato gastrointestinal.

Em virtude das baixas taxas de degradação, a FDN é considerada o constituinte dietético primário associado ao efeito do enchimento (NRC, 2001). Estudos realizados por Mertens (1994) apontam que a diminuição na quantidade de FDN da ração proporcionam aumentos na ingestão de MS, assim o resultado do presente trabalho é interessante por esse ponto de vista.

A diminuição nos teores de FDN nas silagens com a adição da torta pode ser explicada pelo fato da torta de algodão dissolver a proporção das fibras, já que a mesma possui baixos teores de FDN segundo o NRC (2007), bem como pelas menores perdas de carboidratos solúveis, em função da eficiente fermentação observada.

Com relação aos teores de extrato etéreo determinados nas silagens de milho com a adição da torta variaram entre 5,38 a 5,27% (Tabela 6). Este compreende como sendo a fração do alimento que é insolúvel em água, é a gordura vegetal que tem a mesma função dos carboidratos, ou seja, fornecer energia e, estão na média dos valores considerados máximos, que é de 8% (Neiva-Junior et al., 2007). Esse resultado era esperado,

tendo em vista que a torta de algodão é um ingrediente proteico com alto teor lipídico (ZIMMERMANN et al., 2018).

Viana et al. (2013) trabalhando com adição de torta de algodão de 7% na silagem de capim elefante, forragem com alto teor de umidade, encontraram valor superior de EE 9,9% quando comparado aos teores do presente estudo. Possivelmente a fermentação favoreceu para os menores teores no presente trabalho.

Com relação a estabilidade aeróbia (EA), as silagens abertas aos 90 dias tiveram maior EA: 24,06, esse resultado possivelmente aconteceu, pelo fato dessas silagens terem uma atividade fermentativa menos intensa aos 90 dias.

O tempo de abertura foi eficiente em elevar a estabilidade aeróbia das silagens de milho e possivelmente pode ter diminuído as populações de leveduras, mofos e bactérias aeróbias durante 24 horas de exposição ao ar. Mesmo tendo uma baixa estabilidade aeróbia (Tabela 7), a utilização dessas silagens podem trazer resultados satisfatórios em pequenas propriedades quando confeccionadas em sacos, visto que essas silagens possuem um bom valor nutritivo (Tabela 6) baixas perdas e uma boa recuperação de matéria seca (Tabela 4).

As silagens abertas aos 90 dias nesta pesquisa apresentaram deterioração após as 24 horas de exposição ao ar. Essa rápida deterioração se deu à presença elevada de fungos na silagem ensilada bem como alta concentração da fermentação homolática, ao serem expostas ao ambiente consumiram o ácido lático dentre outros substratos presente no meio, resultando em aquecimento das massas devido ao processo de respiração desses microrganismos e consequentemente aumento gradativo da temperatura resultando rapidamente na quebra da estabilidade (MUCK, 2010). As leveduras e mofos são os microrganismos que mais provocam elevação da temperatura da silagem no período da abertura.

Segundo relatado por Woolford (1990), o aumento inicial da temperatura é causado pelo crescimento de leveduras e fungos filamentosos, contudo, após algum tempo, segundo Muck e Pitt (1992), os bacilos, que não são importantes até o pH da silagem estar acima de 5,0, causam o segundo aumento de temperatura do material.

As bactérias, leveduras e mofos podem ficar em estado de dormência dentro do silo até que ele seja aberto e o ar entre novamente na massa ensilada. Esses microrganismos utilizam substratos derivados diretamente da forragem, ou derivados da fermentação, e alteram as características qualitativas do material, provocando perdas de nutrientes do material.

Nas silagens, esta característica foi observada por Borreani e Tabacco (2010), que observaram maiores contagens de bolores e leveduras em regiões periféricas de silos, áreas com maiores concentrações de oxigênio.

Na estabilidade aeróbia nas silagens observou-se um aumento na população geral de BAL, mofos e leveduras. Os menores valores de contagem foram observados nas silagens contendo torta de algodão abertas aos 90 dias: BAL: 6,17 UFC/g de silagem; mofos: 2,61 UFC/g de silagem e leveduras: 6,55 UFC/g de silagem (Tabela 8). Esses resultados explicam também os valores de estabilidade aeróbia (Tabela 7) que aos 90 dias teve uma maior EA, em função de menor população de microrganismos deteriorantes. Esses 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; DAVIES, 2013; MUCK, 2010).

Este comportamento pode ser decorrente das condições de anaerobiose mantidas durante todo o período de ensilagem, visto que o desenvolvimento fúngico é dependente da presença de oxigênio. A redução na contagem destes microrganismos também sugere que o teor de matéria seca da silagem de milho e o processamento são importantes na ensilagem pois, possibilita uma compactação eficiente da massa com alta capacidade de expulsão do ar contida nela.

Considerando a análise bromatológica e os parâmetros de fermentação é possível inferir que as silagens de milho aditivadas com torta de algodão tiveram qualidade satisfatória.

A torta de algodão teve um maior controle na fermentação, reduziu as perdas, aumentou a recuperação da matéria seca, elevou os teores de proteína bruta e matéria seca e diminuiu os teores de fibra.

A atividade microbiana foi reduzida nas silagens abertas aos 90 dias e um período longo de fermentação deve ser considerado, visto que as silagens de milho abertas em período longo são mais estáveis.

Tendo em vista a qualidade dessas silagens mesmo com uma baixa estabilidade aeróbia, podem trazer resultados satisfatórios em pequenas propriedades quando confeccionadas em silo de pequeno porte.

A *Weissella cibaria* cepa heterofermentadora não promoveu melhorias na fermentação, não inibiu o desenvolvimento de leveduras e em consequência não foi observada melhoria da estabilidade aeróbia.

5. CONCLUSÕES

O uso da torta de algodão na silagem de milho diminui as perdas, melhora o perfil fermentativo e o valor nutricional .

O uso da *Weissella cibaria* não promoveu melhorias na fermentação.

Além disso, é recomendado a abertura dos silos após 90 dias de fermentação.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A. R., PASCOAL, L. A. F., CAMBUI, G. B., TRAJANO, J. S., SILVA, C. M., GOIS, G. C. (2016) Fibra para ruminantes: Aspecto nutricional, metodológico e funcional. **PUBVET**, 10(7), p.568-579.
- BALIEIRO NETO, G.; FERRARI JÚNIOR, E.; NOGUEIRA, J.R. et al. Perdas fermentativas, composição química, estabilidade aeróbia e digestibilidade aparente de silagem de cana-de-açúcar com aditivos químico e microbiano. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.44, p.621-630, 2010.
- BENACHIO, S. Níveis de melaza em silo experimental de milho crillo (*Sorghumvulgare*). **Agronomia Tropical, Maracay**, v. 14, n. 2, p. 291-297, 1965.
- BENTON, J. R., T. KLOPFENSTEIN, G. E. ERICKSON. 2005. Effects of corn moisture and length of ensiling on dry matter digestibility and rumen degradable protein. **Nebraska Beef Cattle Reports**: 31–33. Univ. Nebraska, Lincoln.
- BERGAMASCHINE, A. F.; FREITAS, R. V. L.; VALÉRIO FILHO, W. V. et al. Substituição do milho e farelo de algodão pelo milheto no concentrado da dieta de novilhos em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 1, p. 154-159, 2011.
- BOLSEN, K.K. et al. Effect os silage additives on the microbial succession and fermentation process of alafalfa and corn silages. **JournalofDairy Science**, v.75, n.11, p.3066-83, 1992.
- BONAMIGO, L. A. A. Cultura do milheto no Brasil: implantação e desenvolvimento no cerrado. In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE MILHETO, 1999, Brasília. **Anais...** Planaltina: Embrapa Cerrados, 1999. p. 31-65.
- BORREANI, G; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.6, p.2620- 2629, jun., 2010.
- BRANCO,R.H.; RODRIGUES,M.T.; SILVA, M.M.C.; RODRIGUES,C.A.F.; QUEIROZ,A.C.; ARAÚJO,F.L. Efeito dos níveis de fibra da forragem sobre o consumo, a produção e a eficiência de utilização de nutrientes em cabras lactantes. **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.11, p.2477-2485, 2010.
- BRAVO-MARTINS, C.E.C. et al. Chemical and microbiological evaluation of ensiled sugar cane with different additives. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 499-504, 2006.
- CAGNINI,L.F.; BATTISTON,J.; ROOS,A.H; Avaliação Da Composição Química Da Silagem De Milheto Submetida A Aplicação Do Ácido Propiônio E Inoculante Microbiano Em Diferentes Períodos De Fermentação. **Anuário Pesquisa E Extensão Unoesc São Miguel Do Oeste**, 10 p, 2020.
- CARVALHO, G.G.P.; FREITAS, P.M.D.; SANTOS, E.M.; ARAÚJO, G.G.L.; OLIVEIRA, J.S.; PIRES, A.J.V.; MARANHÃO, C.M.A.; RODRIGUES, T.C.G.C.; FREITAS-JUNIOR, J.E.; RUFINO, L.M.A.; RODRIGUES, C.S.; LEITE, L.C., ARAÚJO,M.L.G.Effect of pearl Millet silage ammoniated with urea on lamb production and metabolic performance. **Grass and Forage Science**, v.73, p. 685–693, 2018.

CHARMLEY, E. Towards improve silage quality: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, n.81, p.51-168, 2001.

CHAVES, C. **Produção e valor nutritivo das silagens de capim sudão [*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf, milheto (*Pennisetum americanum* (L.) Leekel], teosinto (*Euchlaena mexicana* Schrad) e milho (*Zeamays* L.)**. 1997. 56 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CHERNEY, J.H.; CHERNEY, D.J.R. Assessing Silage Quality. In: Buxton *et al.* **Silage Science and Technology** Madison, Wisconsin, USA. 2003. p.141-198.

COAN, R.M. et al. Dinâmica fermentativa e microbiológica de silagens dos capins tanzânia e marandu acrescidas de polpa cítrica peletizada. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 36, n. 5, supl. p. 1502-1511, Oct. 2007.

COSTA, K. A. P., ASSIS, R. L., PERIM, R. C., GUIMARÃES, K. C., PALUDO, A., PRIVADO, C. J. T., VIEIRA, T. P. (2011) Qualidade e valor nutritivo de silagem de genótipos de milheto produzidas com e sem inoculante bacteriano. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, 12(2), 286-295

COSTA, R. R.G. F.; COSTA, K. A. P.; SOUZA, W.F.; SANTOS, P. S. E.; BARBOSA, C.; SILVA, J.T; OLIVEIRA, S.T. Production And Quality Of Silages Pearl Millet And PaiaguasPalisadegrass In Monocropping And Intercropping In Different Forage Systems. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 34, n. 2, p. 357-367, Mar./Apr. 2018.

CRUZ, B. C. C., CRUZ, C. L. S., PIRES, A. J. V., ROCHA, J. B., SANTOS, S., BASTOS, M. P. V. (2011) Desempenho, Consumo E Digestibilidade De Cordeiros Em Confinamento Recebendo Silagens De Capim Elefante Com Diferentes Proporções De Casca Desidratada De Maracujá. **Semina: Ciências Agrárias**, 32(4), 1595-1604.

DA SILVA, Thiago Carvalho et al. Importance of the Fermentation to Produce High-Quality Silage. Fermentation Processes. p. 1–20. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analyses**. 15.ed. Virginia: v.1, 648p. [S.l.]: In Tech, 2017.

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.

DOLCI, P. et al. Microbial dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. **Applied and Environmental Microbiology**, v.77, n.21, p.7499- 7507, ago., 2011.

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

EVANGELISTA, A. R.; LIMA, J. A. Utilização de silagem de girassol na alimentação animal. In: **Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas**, 2001, Maringá. Anais... Maringá: UEM, p. 177-217. 2001.

FREITAS, P. M. D. D.; CARVALHO, G. G. P. D.; SANTOS, E. M. et al. Qualitative parameters of pearl millet silage ammoniated with urea, at different compaction densities. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 52, n. 8, p. 679-689, 2017.

FUSCO, V. et al. 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.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; GONÇALVES, L. C.; JAYME, D. G. et al. Degradabilidade *in situ* de silagens de milho em ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 334-343, 2010.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; GONÇALVES, L. C.; MAURÍCIO, R. M. et al. Cinética de fermentação ruminal de silagens de milho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, p. 1174-1180, 2008.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S. et al. Matéria seca, proteína bruta, nitrogênio amoniacal e pH das silagens de três genótipos de milho [*Pennisetum glaucum* (l). R. Br.] em diferentes períodos de fermentação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 4, n. 2, p. 251-258, 2005.

HAMMES, W.P. et al. The genus *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In: BALLOWS, A. et al. (Ed.). **The Prokaryotes**. 2. ed. New York: Springer-Verlag, 1992. p. 719-767.

JACOVETTI, R. et al. Milheto Como Silagem Comparado A Gramíneas Tradicionais: Aspectos Quantitativos, Qualitativos E Econômicos. **Cienc. anim. bras.**, Goiânia, v.19, 1-16, e-26539, 2018.

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

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

KHAN M.A.WEARY D.M. KEYSERLINGK M.A.G. Hay intake improves performance and rumen development of calves fed higher quantities of milk. **J. Dairy Sci.** ; **94**: 3547-3553. 2011.

KICHEL, Armindo Neivo; MIRANDA, Cesar Behling. Uso do milho como planta forrageira. **Embrapa Gado de Corte-Séries anteriores (INFOTECA-E)**, Campo Grande, dez. 2000.

KLEINSCHMIT, D. H., AND L. KUNG JR.. 2006. The effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* R1094 on the fermentation of corn silage during various stages of ensiling. **J. Dairy Sci.** 89:3999–4004.

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.

- MACHADO FILHO, L. C. P.; MÜHLBACH, P. R. F. Efeito do emurchecimento na qualidade das silagens de Capim – Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) e de Milheto (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke), avaliadas quimicamente. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 15, n. 3, p. 224-233, 1986.
- MASSARO JUNIOR, F. L. et al. 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. 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**. New York: John Wiley & Sons, 226p. 1981.
- MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: Forage quality, evaluation and utilization. Madison: **American Society of Agronomy**, p. 450-493, 1994.
- MIZUBUTI, I.Y., PINTO, A.P.P., RAMOS, B.M.O., PEREIRA, E.S. Métodos laboratoriais de avaliação de alimentos para animais. Londrina: **EDUEL**,. 228 p. 2009.
- MORRISON, I. M. 1979. Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effect of various additives on these changes. **J. Agric. Sci.** 93:581–586.
- 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& WEINBERG, Z.G. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews** 19:53-68. 1996.
- MUCK, R. E.; PITT, R. E. Aerobic losses at the silo face. **American Society of Agriculture and Engineer**, n. 92, p. 1003.1992.
- MUCK, R.E. et al. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3980–4000, 2018.
- NAZIR A KHAN, JOHN W CONE, WILBERT F PELLIKAAN, MAZHAR A KHAN, PAUL C STRUIKBAND WOUTER H HENDRIKS. Changes in fatty acid content and composition in silage maize during grain filling. **J Sci Food Agric** 2011; 91: 1041–1049.
- NEIVA-JUNIOR, A. P.; FILHO, J. C. S.; ROCHA, G. P.; CAPPELLE, E. R.;COUTO FILHO, C. C. C. (2007) Efeito de diferentes aditivos sobre os teores de proteína bruta, extrato etéreo e digestibilidade da silagem de maracujá. **Ciência & Agrotecnologia**, 31(3), 871-875.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and New World camelids. Washington: **National Academic Press**, 362p. 2007.
- NRC-National Research Council. Nutrients requirements of dairy cattle. 7th ed. rev. Washington, D.C.: **National Academy of Sciences**, 2001.

- OUDE ELFERINK, S.J.W.H. et al. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-Propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, D.C., v. 67, n. 1, p. 125-132, 2001.
- PAHLOW, Günter. et al. Microbiology of Ensiling. **Silage Science and Technology**. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p. 63. 2003.
- PAHLOW, G. et al. Microbiology of Ensiling. *Silage Science and Technology*. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, **Soil Science Society of America**, p. 63. 2003.
- PEDROSO, A.F. et al. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 62, n. 5, p. 427-432, 2005.
- PEREIRA, GILDENIA ARAUJO. **Prospecção e uso de culturas lácticas como inoculante na ensilagem de palma forrageira** / Gildenia Araujo Pereira. (TESE) - AREIA, 2019. 94 f.
- PEREIRA, L. E. T. et al. **Tecnologias para conservação de forragens: fenação e ensilagem**. Pirassununga, 2015.
- PINHO, R. M. A. et al. 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. et al. Sorghum cultivars of different purposes silage. **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 298–303, 2014.
- 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.
- RANJIT, N.K.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.526-535, 2000.
- REIS, R. A. et al. 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. 2008.
- REICH, J.; KUNG JUNIOR, L. Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.159, n.3, p.105-109, 2010.
- RODRIGUES, J. A. S.; PEREIRA FILHO, I. A. Cultivares. In: PEREIRA FILHO, I. A. (Ed.). Cultivo do milheto. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2009. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de Produção).
- RODRIGUES, W.M.E.; SALES, C.J.; MONÇÃO, F.P.; MARQUES, O.F.C.; RIGUEIRA, J.P.S.; PIRES, D.A.A.; RUFINO, L.D.A.; JUNIOR, V.R.R.; ALVES, D.D.; GOMES, V.M. pH, perdas por gases, efluentes e valor nutricional de silagens de milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] com diferentes níveis de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit) no semiárido. **Brazilian Journal of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 4, p.22001-22017, apr. 2020.

SANTIN, T. P. et al. 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.

SANTOS, R. D.; NEVES, A. L. A.; PEREIRA, L. G. R. SOLLENBERGER, L. E. MUNIZ, E. N. SOUZA, E. Y. B. SOBRAL, A. J. S. COSTA, N. V. AND GONÇALVES, L. C. Performance, agronomic traits, ensilability and nutritive value of pearl millet cultivar harvested at different growth stages. **The Journal of Agricultural Science**. 8p. 2020.

SANTOS, M.V.F.; GÓMEZ CASTRO, A.G.; PEREA, J.M.; GARCÍA, A.; GUIM, A.; PÉREZ HERNÁNDEZ, M. Fatores que afetam o valor nutritivo da silagens de forrageiras tropicais. **Archivos de Zootecnia**, v.59, p.25-43, 2010.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa, MG: Editora UFV, 231p. 2002. SAS. Statistical Analyses System. Statistical Analysis System user's guide. Version 9.2. Cary: StatisticalAnalyses System Institute, 2012.

SILVA, V.L.; FREITAS, P. V.D.X. OLIVEIRA, L.G; BASTO,D.C.; ALMEIDA,E.M.; NETO,C.M.S.; FRANÇA,A.F.S. Qualidade da silagem de milho aditivada com milho desintegrado com palha e sabugo. **Research, Society andDevelopment**, v. 9, n. 2 , 2020.

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.

SILVA, V.L. **Inclusão de milho desintegrado com palha e sabugo em silagem de milho forrageiro**. 78 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, (EVZ), Goiânia, 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.

TEIXEIRA, P.C., DONAGEMMA, G.K., FONTANA, A., TEIXEIRA, W.G., 2017. Manual de métodos de análise de solo. 3. ed. Brasília: **Embrapa**, 574p.

TONUCCI, R. G. Qualidade fermentativa e valor nutritivo das silagens com diferentes proporções de milho e girassol [recurso eletrônico]– Dados eletrônicos. 21 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Caprinos e Ovinos).– Sobral : **Embrapa Caprinos e Ovinos**, 2018.

TRANCOSO, P.F. **Torta de algodão como aditivo em silagens de capim Tanzânia**. 61p. Dissertação (Mestrado em Mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

TREVISOLI, F. C. A., FRANÇA, A. F. S., CORRÊA, D. S., TREVISOLI, P. A., Oliveira, L. G. Composição bromatológica de silagens de cultivares de milho com inclusão de casca de soja. **Revista Ciência Agronômica**, 48(3), 540-547. 2017.

VIANA, P. T. et al. 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.

WEINBERG, Zwi G. et al. 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.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 68, n. 2, p. 101-116, 1990.

YANG, Xia et al. 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.

ZANINE, A. D. M. et al. 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. et al. 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. et al. 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.

ZHANG, W. J. et al. 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.

ZIMMERMAN, W.B., KOKOO, R., Esterification for biodiesel production with aphantom catalyst: bubble mediated reactive distillation. **Appl. Energy** 221,28e40.2018.