



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

PAULO DA CUNHA TÔRRES JÚNIOR

**ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS NA SILAGEM DE SORGO: EFEITOS
SOBRE A QUALIDADE, O VALOR NUTRITIVO E O DESEMPENHO DE OVINOS
CONFINADOS**

AREIA

2026

PAULO DA CUNHA TÔRRES JÚNIOR

**ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS NA SILAGEM DE SORGO: EFEITOS
SOBRE A QUALIDADE, VALOR NUTRITIVO E O DESEMPENHO DE OVINOS
CONFINADOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba
como requisito final para obtenção do título de
Doutor em Zootecnia.

Orientador: Profa. Dra. Juliana Silva de Oliveira

Coorientadores: Prof. Dr. João Paulo da Farias
Ramos
Dr. Alberto Jefferson da Silva Macedo

AREIA

2026

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

T693a Tôrres Júnior, Paulo da Cunha.

Aditivos químicos e microbianos na silagem de sorgo: efeitos sobre a qualidade, o valor nutritivo e o desempenho de ovinos confinados / Paulo da Cunha Tôrres Júnior. - Areia:UFPB/CCA, 2026.

84 f. : il.

Orientação: Juliana Silva de Oliveira.

Coorientação: João Paulo da Farias Ramos, Alberto Jefferson da Silva Macedo.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCA.

1. Zootecnia. 2. Estabilidade aeróbia. 3. *Lentilactobacillus buchneri*. 4. Ácidos orgânicos. 5. Digestibilidade. I. Oliveira, Juliana Silva de. II. Ramos, João Paulo da Farias. III. Macedo, Alberto Jefferson da Silva. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636(043.2)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
UFPB – UFC**

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE TESE

TÍTULO: “ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS NA SILAGEM DE SORGO: EFEITOS SOBRE A QUALIDADE, O VALOR NUTRITIVO E O DESEMPENHO DE OVINOS CONFINADOS”

AUTOR: PAULO DA CUNHA TÔRRES JÚNIOR

ORIENTADORA: PROFA. DRA. JULIANA SILVA DE OLIVEIRA

J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:



Documento assinado digitalmente
JULIANA SILVA DE OLIVEIRA
Data: 13/04/2026 16:57:27-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Juliana Silva de Oliveira
Presidente
Universidade Federal da Paraíba - UFPB

Prof. Dr. Edson Mauro Santos
Examinador
Universidade Federal da Paraíba - UFPB



Documento assinado digitalmente
EDSON MAURO SANTOS
Data: 14/04/2026 07:05:02-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Fleming Sena Campos
Examinador
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB



Documento assinado digitalmente
FLEMING SENA CAMPOS
Data: 13/04/2026 17:12:40-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Francisco Naysson de Sousa Santos
Examinador
Universidade Federal Do Maranhão - UFMA



Documento assinado digitalmente
FRANCISCO NAYSSON DE SOUSA SANTOS
Data: 13/04/2026 18:19:29-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Danillo Marte Pereira
Examinador
Universidade Federal Do Maranhão - UFMA



Documento assinado digitalmente
DANILLO MARTE PEREIRA
Data: 13/04/2026 20:36:02-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Areia, 09 de abril de 2026

Dedico este trabalho a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, pela sabedoria, proteção e inspiração que iluminam cada passo da minha vida.

Dedico a memória do meu pai, Paulo da Cunha Tôres, por todo amor, apoio e sabedoria que continuam a me guiar, mesmo na sua ausência física, sendo seu legado e ensinamentos estão sempre presente em cada conquista.

À minha família, especialmente à minha esposa, Maria Clara Trajano, à minha filha, Aurora, à minha mãe, Diocemira Torres, à minha tia, Diocélia Sousa, à minha irmã, Pollyanna Torres, e ao meu sobrinho, Paulo Neto, por todo apoio, amor e encorajamento, que foram o alicerce dessa caminhada. Não poderia deixar de dedicar, com todo o meu coração

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus e Nossa Senhora Aparecida por todas as bênçãos concedidas, pela força, fé e orientação que me proporcionaram, por todos os livramentos e por me guiar ao longo de toda a vida. Aos meus pais, Paulo da Cunha Tôres (In Memoriam) e Diocemira Cunha, pelo amor, ensinamentos e apoio incondicionais ao longo de minha vida. À minha esposa, Maria Clara, por ser meu alicerce e companhia nas alegrias e desafios, e à minha filha, Aurora, pela inspiração e por me fazer acreditar no melhor de mim a cada dia. A minha tia, Diocélia Sousa, pela sabedoria e carinho que sempre me ofereceu, e à minha irmã, Pollyanna Torres, pela parceria e presença constante. Ao meu sobrinho, Paulo Neto, por me ensinar a olhar o mundo com os olhos de uma nova geração. A todos vocês, meu eterno amor e gratidão.

Agradeço à minha orientadora, Prof. Juliana Oliveira, por sua orientação, sabedoria e conselhos que não só contribuíram para minha trajetória acadêmica, mas também influenciaram bastante na minha vida pessoal. Sou grato por cada ensinamento e pela confiança depositada em mim. Ao Prof. Edson Mauro, por compartilhar sua experiência, paciência (que não foi pouca, kkk) e principalmente, a amizade ao longo de todos esses anos. Sou profundamente grato prof. pela forma como sempre me incentivou a seguir em frente, mesmo nos momentos mais desafiadores. Professores, suas orientações e seus conselhos foram mais do que apenas ensinamentos acadêmicos; eles foram lições de vida. Não sou apenas grato pela orientação, mas também pela amizade e pelo exemplo de seres humanos que são. Obrigado por serem mais do que orientadores.

Ao Grupo de Estudos em Forragicultura, quero expressar minha imensa gratidão por toda a ajuda e parceria durante esses anos de convivência. Obrigado a cada um que passou durante essa minha trajetória, passamos por muitos momentos bons e alguns mais desafiadores. Agradeço a partilha de histórias, experiências e, claro, pelos bons momentos que tornaram essa jornada mais leve. Aos amigos, Alberto Macêdo, Anderson Lopes, Evandro Sousa, Bruno Rocha, Davi Ribeiro, Luana Milena, Luana, Liliane Santana, Arthur Herculano, Luís Antônio, Robson Ferreira, por toda amizade construída, muito obrigado podem contar comigo sempre que precisarem!!!

Aos amigos Fleming Sena, Francisco Naysson e Danillo Marte pela amizade e por todo apoio durante a vida acadêmica em especial na qualificação e defesa do doutorado.

Aos amigos, que sempre estiveram ao meu lado, torcendo por mim e me apoiando em cada passo dessa jornada, quero expressar minha sincera gratidão. Obrigado por tudo!

Agradecer a EMPAER e a todos que fazem parte da estação experimental Benjamim Maranhão em Tacima – PB, pela disponibilidade da estrutura para que fosse possível o desenvolvimento do experimento

Ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia, e todo o seu corpo de docentes., por todo o ensinamento passado e por toda contribuição na minha vida acadêmica, Ao CNPq e a CAPES pela oportunidade de realização do Doutorado em Zootecnia.

As empresas Lallemand Animal Nutrition e Kemin industries pela disponibilização dos aditivos, ácidos orgânicos e o inoculante microbiano

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para essa realização. Agradeço o apoio, paciência e confiança. A cada um que esteve presente, seja com palavras de incentivo, conselhos ou gestos de amizade, meu sincero obrigado. Sem a colaboração de todos, essa conquista não seria possível. Sou grato a cada um de vocês.

**“A humildade é a parte mais bela da
sabedoria...”**

Autor desconhecido

ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS NA SILAGEM DE SORGO: EFEITOS SOBRE A QUALIDADE, O VALOR NUTRITIVO E O DESEMPENHO DE OVINOS CONFINADOS

RESUMO

A silagem é uma prática essencial para garantir a alimentação de ruminantes, especialmente em períodos de escassez de forragens, sendo o sorgo uma alternativa viável devido à resistência às condições adversas. A qualidade da silagem está relacionada ao processo fermentativo e à preservação de nutrientes, e a utilização de aditivos químicos e microbianos tem demonstrado potencial para melhorar esses aspectos. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de aditivos químicos à base de ácidos orgânicos e inoculantes microbianos contendo *Lentilactobacillus buchneri*, isoladamente e em combinação, sobre a qualidade fermentativa, perfil microbiológico, estabilidade aeróbia e desempenho de ovinos confinados com silagem de sorgo. O estudo foi desenvolvido em dois capítulos. No Capítulo 1, objetivou-se avaliar o efeito de dois aditivos, um à base de ácidos orgânicos (OA) e *L. buchneri* (Lb), isoladamente ou combinados. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial 4×3 , com cinco repetições por tratamento, quatro aditivos (Controle, Lb, OA e Blend) e três períodos de fermentação (15, 30 e 90 dias). Foram analisados o perfil fermentativo, quantificação das populações microbianas, produção de ácidos orgânicos, estabilidade aeróbia e diversidade do gene 16S rRNA. No Capítulo 2, foi realizado um ensaio com 40 ovinos alimentados com as mesmas silagens após 90 dias de fermentação. O ensaio também seguiu DIC, com quatro tratamentos e 10 repetições. Foram monitorados consumo, digestibilidade e perdas por descarte durante o confinamento. A análise da diversidade microbiana indicou que as silagens com aditivos apresentaram microbiota equilibrada, com maior predominância de *L. buchneri* e outras bactérias lácticas benéficas, além de menor presença de fungos e leveduras em comparação ao Controle. A contagem de fungos filamentosos foi consistentemente maior na silagem Controle, enquanto a silagem Lb apresentou maior estabilidade aeróbia em todos os períodos de fermentação. Os resultados do Capítulo 2 demonstraram que os tratamentos com aditivos, especialmente a combinação (Blend), promoveram melhorias significativas na qualidade da silagem, com menor perda de matéria seca, maior estabilidade aeróbia e melhor preservação nutricional. O consumo de matéria seca não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, porém os animais alimentados com silagens tratadas, sobretudo a Blend, mostraram maior ingestão de carboidratos não fibrosos e energia metabolizável. A digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e extrato etéreo foi superior com o uso de aditivos, especialmente no Blend, que também apresentou o maior teor de nutrientes digestíveis totais. O ganho de peso diário foi maior nos ovinos desse tratamento. Além disso, os aditivos melhoraram a estabilidade aeróbia e reduziram as perdas por descarte durante a alimentação. Conclui-se que a aplicação de aditivos químicos e microbianos, isolados ou combinados, melhora a conservação da silagem de sorgo, valor nutritivo e o desempenho de ovinos confinados, sendo a combinação entre os dois aditivos a alternativa mais vantajosa, principalmente pelo impacto positivo na estabilidade aeróbia, diversidade microbiana e produtividade animal, dentro das condições impostas nos experimentos.

Palavras – chaves: estabilidade aeróbia; *Lentilactobacillus buchneri*; ácidos orgânicos; digestibilidade.

CHEMICAL AND MICROBIAL ADDITIVES IN SORGHUM SILAGE: EFFECTS ON QUALITY, NUTRITIVE VALUE, AND THE PERFORMANCE OF CONFINED SHEEP

ABSTRACT

Silage is an essential practice to ensure the feeding of ruminants, especially during periods of forage scarcity, with sorghum being a viable alternative due to its resistance to adverse conditions. The quality of silage is related to the fermentative process and nutrient preservation, and the use of chemical and microbial additives has demonstrated potential to improve these aspects. The objective of this study was to evaluate the effects of chemical additives based on organic acids and microbial inoculants containing *Lentilactobacillus buchneri*, both individually and in combination, on fermentative quality, microbial profile, aerobic stability, and performance of sheep confined with sorghum silage. The study was conducted in two chapters. In Chapter 1, the aim was to assess the effect of two additives, one based on organic acids (OA) and *L. buchneri* (Lb), either individually or combined. The experiment followed a completely randomized design (CRD) in a 4×3 factorial arrangement, with five replications per treatment, four additives (Control, Lb, OA, and Blend), and three fermentation periods (15, 30, and 90 days). Analyses included fermentative profile, quantification of microbial populations, organic acid production, aerobic stability, and 16S rRNA gene diversity. In Chapter 2, a trial was conducted with 40 sheep fed the same silages after 90 days of fermentation. This trial also followed a CRD, with four treatments and 10 replications. Feed intake, digestibility, and losses due to discards were monitored during confinement. Microbial diversity analysis indicated that silages treated with additives exhibited a balanced microbiota, with greater predominance of *L. buchneri* and other beneficial lactic acid bacteria, as well as a lower presence of fungi and yeasts compared to the Control. Filamentous fungi counts were consistently higher in the Control silage, while the Lb-treated silage showed greater aerobic stability across all fermentation periods. The results from Chapter 2 demonstrated that treatments with additives, particularly the combination (Blend), significantly improved silage quality, with lower dry matter loss, higher aerobic stability, and better nutrient preservation. Dry matter intake did not differ significantly among treatments; however, animals fed treated silages, especially Blend, showed higher intake of non-fiber carbohydrates and metabolizable energy. Digestibility of dry matter, organic matter, crude protein, and ether extract was higher with the use of additives, particularly in the Blend, which also exhibited the highest total digestible nutrient content. Daily weight gain was greater in sheep receiving this treatment. Furthermore, additives improved aerobic stability and reduced losses due to feed discard during the feeding period. In conclusion, the application of chemical and microbial additives, either individually or combined, improves the conservation of sorghum silage, its nutritional value, and the performance of confined sheep. The combination of the two additives proved to be the most advantageous, primarily due to its positive impact on aerobic stability, microbial diversity, and animal productivity under the conditions imposed in the experiments.

Keywords: aerobic stability; *Lentilactobacillus buchneri*; organic acids; digestibility; bacterial microbiota.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – IMPACTO DE ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS NA QUALIDADE DA SILAGEM DE SORGO FORRAGEIRO AO LONGO DO PROCESSO FERMENTATIVO

- Figura 1 - Índices de diversidade alfa bacteriana (Observed, Shannon, Simpson, Pielou e Faith PD) em silagem de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra suplementada com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem.....40
- Figura 2 - Índices de diversidade beta bacteriana (UniFrac não ponderada e UniFrac ponderada) em silagem de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem.41
- Figura 3 - Abundância relativa em nível de filo bacteriano em silagem de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem (n = 4).42
- Figura 4 - Abundância relativa de famílias bacterianas em silagem de sorgo forrageiro com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem (n = 4).42
- Figura 5 - Abundância relativa de gêneros bacterianos em silagem de sorgo forrageiro com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem (n = 4).43
- Figura 6 - Abundância diferencial de gêneros bacterianos em silagem de sorgo forrageiro suplementada com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem.44

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – IMPACTO DE ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS NA QUALIDADE DA SILAGEM DE SORGO FORRAGEIRO AO LONGO DO PROCESSO FERMENTATIVO

Tabela 1 - Caracterização da composição química e das populações microbianas do sorgo forrageiro BRS Ponta Negra tratado com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações antes da ensilagem. 29

Tabela 2 - Significância (valor de *p*) dos efeitos testados e erro-padrão da média (EPM) das variáveis analisadas em silagens de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações, ensiladas por 15, 30 e 90 dias. 33

Tabela 3 - Análise da interação entre período de fermentação e aditivo sobre a composição química do sorgo forrageiro BRS Ponta Negra. As silagens foram tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações e ensiladas por 15, 30 e 90 dias. 35

Tabela 4 - Análise da interação entre período de fermentação e aditivo sobre características fermentativas, populações microbianas e perdas de matéria seca em silagens de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra. As silagens foram tratadas com aditivos químicos ou microbianos, isoladamente ou em combinação e ensiladas por 15, 30 e 90 dias. 36

Tabela 5 - Análise da interação entre período de fermentação e aditivo sobre os teores de ácidos orgânicos em silagens de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações e ensiladas por 15, 30 e 90 dias. 38

Tabela 6 - Análise da interação entre período de fermentação e aditivo sobre a estabilidade aeróbia de silagens de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações e ensiladas por 15, 30 e 90 dias. 39

CAPÍTULO II – DESEMPENHO DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS À BASE DE SILAGENS DE SORGO TRATADAS COM ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS

Tabela 1 - Composição química das silagens e dos ingredientes das dietas 64

Tabela 2 - Proporção dos ingredientes e composição química das dietas em g/kg, com base na matéria seca 64

Tabela 3 - Caracterização das populações microbianas e do perfil fermentativo das silagens de sorgo tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações 65

Tabela 4 - Consumo de nutrientes de ovinos confinados alimentados com dietas à base de silagens de sorgo tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações 70

Tabela 5 - Digestibilidade dos nutrientes de ovinos confinados alimentados com dietas à base de silagens de sorgo tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações 71

Tabela 6 - Desempenho de ovinos confinados alimentados com dietas à base de silagens de

sorgo tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações 71

Tabela 7 - Consumo de água de ovinos confinados alimentados com dietas à base de silagens de sorgo tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações..... 72

Tabela 8 -Temperatura (°C) das silagens de sorgo expostas ao ar após a abertura do silo e descarte total em função dos diferentes tratamentos. 72

LISTA DE ABREVIACÕES

AO	Ácidos Orgânicos
BAL	Bactérias Ácido-Lática
CHS	Carboidratos
Cm	Centímetro
CMS	Consumo de Matéria Seca
CNF	Carboidratos Não Fibrosos
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CONCEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CSA	Carboidratos Solúveis Em Água
DA	Digestibilidade Aparente
EF	Eficiência Alimentar
EA	Estabilidade Aeróbia
EE	Extrato Etéreo
EM	Energia Metabolizável
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
FDNi	Fibra em Detergente Neutro Indigestível
g/kg	Grama por Quilograma
GMD	Ganho Médio Diário
GPT	Ganho de Peso Total
Ha	Hectares
Kg	Quilograma
Lb	<i>Lentilactobacillus buchneri</i>
m	Metros
M ³	Metros quadrados
Min	Minutos
Mj	Megajoules
ML	Mililitro
MM	Matéria Mineral
MN	Matéria Natural
MS	Matéria Seca
N/ha	Nitrogênio por Hectare
NaCl	Cloreto de Sódio
°C	Graus Celsius
$p \leq 0,05$	Probabilidade ao Nível de Significância de 5%
P ₂ O ₅	Pentóxido de Fósforo
PB	Proteína Bruta
PBS	Solução Salina Padrão
PC	Peso Corporal
PCI	Peso Corporal Inicial
pH	Potencial Hidrogeniônico
PIDN	Proteína Insolúvel em Detergente Neutro
UFC	Unidade Formadora de Colônias

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS	15
	REFERÊNCIAS	20
	CAPÍTULO I	23
1	INTRODUÇÃO	26
2	MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1	LOCAL E EXECUÇÃO EXPERIMENTAL	27
2.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, COLHEITA E ENSILAGEM	28
2.3	PERFIL FERMENTATIVO E PERDAS DE MATÉRIA SECA	29
2.4	COMPOSIÇÃO QUÍMICA	30
2.5	POPULAÇÕES MICROBIANAS E ÁCIDOS ORGÂNICOS.....	30
2.6	ESTABILIDADE AERÓBIA	31
2.7	DIVERSIDADE DO GENE 16S RRNA BACTERIANO.....	31
3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
4	RESULTADOS.....	33
4.1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA	33
4.2	CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS	35
4.3	POPULAÇÕES MICROBIANAS	37
4.4	ÁCIDOS ORGÂNICOS	37
4.5	ESTABILIDADE AERÓBIA	39
4.6	DIVERSIDADE BACTERIANA NA SILAGEM.....	40
5	DISCUSSÃO	44
5.1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA	44
5.2	CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS	45
5.3	POPULAÇÕES MICROBIANAS	46
5.4	ÁCIDOS ORGÂNICOS	47
5.5	ESTABILIDADE AERÓBIA	48
5.6	DIVERSIDADE DA COMUNIDADE BACTERIANA	49
6	CONCLUSÃO.....	51
	FINANCIAMENTO	51
	REFERÊNCIAS	52
	CAPÍTULO II.....	57
1.	INTRODUÇÃO	60
2.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	61
2.1	LOCAL DO EXPERIMENTO E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	61
2.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	62
2.3	CULTIVO E ENSILAGEM.....	62
2.4	TEMPERATURA DA SILAGEM E DESCARTE.....	63

2.5	MANEJO DOS ANIMAIS.....	63
2.6	COMPOSIÇÃO QUÍMICA E BROMATOLÓGICA.....	65
2.7	CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E DESEMPENHO	66
2.8	PERFIL FERMENTATIVO E POPULAÇÕES MICROBIANAS	68
3	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	69
4	RESULTADOS	69
5	DISCUSSÃO	73
6	CONCLUSÃO.....	76
	FINANCIAMENTO	76
	REFERÊNCIAS	77
	CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES	81

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A conservação de forragens na forma de silagem constitui uma prática central para a sustentabilidade dos sistemas de produção de ruminantes, sobretudo em regiões marcadas pela sazonalidade da oferta de pastagem e pela irregularidade das chuvas. Nesses cenários, a ensilagem não representa apenas uma técnica de armazenamento, mas uma estratégia de estabilidade produtiva, pois permite reduzir a flutuação da disponibilidade de alimento ao longo do ano e sustentar níveis mais consistentes de desempenho animal. (Borba *et al.*, 2012; Führ *et al.*, 2023; Muck *et al.*, 2018)

Embora o milho seja historicamente considerado a cultura de referência para ensilagem, o sorgo forrageiro tem sido utilizado com bastante frequência, especialmente em ambientes tropicais e semiáridos, devido à sua maior eficiência no uso da água, tolerância ao déficit hídrico, menor exigência em fertilidade do solo e menor custo de implantação, quando comparado a outras culturas destinadas à produção de silagem. (Borba *et al.*, 2012; Muck *et al.*, 2018)

O interesse zootécnico pelo sorgo decorre, portanto, não apenas de sua adaptação agronômica, mas também de sua capacidade de compor sistemas de alimentação mais sustentável. Em regiões semiáridas, a escolha de volumosos adaptados às restrições edafoclimáticas é decisiva para a manutenção da produção animal, sobretudo na ovinocultura, em que a eficiência do aproveitamento dos nutrientes influencia diretamente a viabilidade econômica dos sistemas. (Führ *et al.*, 2023; Pires *et al.*, 2023)

Nesse contexto, o sorgo apresenta potencial relevante por associar produção de massa, estabilidade agronômica e aptidão para conservação, características que justificam seu uso crescente em dietas para ruminantes confinados ou suplementados em períodos críticos. (Borba *et al.*, 2012; Pires *et al.*, 2023)

Portanto, a aptidão do sorgo para ensilagem não elimina os desafios inerentes ao processo fermentativo. A qualidade da silagem resulta da interação entre fatores químicos, microbiológicos e físicos, de modo que o simples fechamento adequado do silo não garante, por si só, a preservação do alimento. (Kung Jr. *et al.*, 2018; Muck *et al.*, 2018)

A interpretação da qualidade da silagem envolve a avaliação integrada de pH, ácidos orgânicos, nitrogênio amoniacal, carboidratos solúveis residuais, perdas de matéria seca, estabilidade aeróbia e perfil microbiano, uma vez que todos esses componentes se relacionam com a conservação dos nutrientes e com a segurança de uso do material ensilado. (Kung Jr. *et al.*, 2018; Muck *et al.*, 2018; Queiroz *et al.*, 2013)

Em silagens com maior teor de umidade ou com condições fermentativas menos favoráveis, a permanência de substratos fermentescíveis pode sustentar o crescimento de microrganismos indesejáveis, como leveduras, enterobactérias e clostrídios, comprometendo o valor nutritivo do alimento e ampliando as perdas durante o armazenamento e após a abertura do silo. (Ranjit; Kung Jr., 2000; Tabacco *et al.*, 2009; Ferrero *et al.*, 2019)

Do ponto de vista microbiológico, a fermentação ideal depende da rápida dominância de bactérias ácido-láticas, com consequente acidificação do meio e restrição ao desenvolvimento de populações deterioradoras. Visto que, a fermentação quando não é eficiente, ocorre maior risco de fermentações secundárias, produção de compostos indesejáveis, degradação proteica e redução da estabilidade aeróbia. (Kleinschmit; Schmidt; Kung, 2005; Weiss; Kroschewski; Auerbach, 2016; Kung Jr. *et al.*, 2018)

Em materiais expostos ao oxigênio após a abertura do silo, leveduras e fungos filamentosos passam a ter papel central na deterioração, consumindo ácidos orgânicos e carboidratos residuais, promovendo elevação de temperatura, aumento do pH e intensificação das perdas de matéria seca e energia. (Kleinschmit; Schmidt; Kung, 2005; Kung Jr. *et al.*, 2018)

Assim, a qualidade da silagem deve ser compreendida em duas dimensões complementares: a eficiência fermentativa dentro do silo e a capacidade de manter estabilidade quando o material passa a ser manipulado no cocho.

É nesse ponto que os aditivos assumem relevância técnica e científica. O emprego de aditivos químicos e microbianos tem sido amplamente estudado como estratégia para modular a fermentação, reduzir perdas e melhorar a estabilidade da silagem. Entre os aditivos químicos, destacam-se compostos à base de ácidos orgânicos, como ácido propiônico, benzoico, sórbico, propionato de cálcio e diacetato de sódio, que apresentam reconhecida ação antimicrobiana, sobretudo contra fungos e leveduras. (Kleinschmit; Schmidt; Kung, 2005; Dai *et al.*, 2022; Gandra *et al.*, 2024)

O mecanismo de ação desses compostos está associado à capacidade de atravessar a membrana celular na forma não dissociada e acidificar o citoplasma microbiano, aumentando o gasto energético para manutenção da homeostase e, conseqüentemente, reduzindo ou inibindo o crescimento de microrganismos deterioradores. (Lambert; Stratford, 1999; Kovanda *et al.*, 2019)

Em termos práticos, isso tende a preservar carboidratos solúveis, reduzir perdas fermentativas, limitar a formação de metabólitos indesejáveis e favorecer a manutenção do valor nutritivo do alimento. (Dai *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2021; Gandra *et al.*, 2024)

Paralelamente, os aditivos microbianos, especialmente aqueles à base de bactérias heterofermentativas como *Lentilactobacillus buchneri*, têm demonstrado elevada importância na melhoria da estabilidade aeróbia da silagem. Diferentemente de inoculantes voltados apenas para intensificar a produção de ácido láctico, *L. buchneri* se destaca por converter parte do ácido láctico em ácido acético e 1,2-propanodiol, metabólitos com maior efeito antifúngico e, portanto, maior capacidade de restringir o crescimento de leveduras e fungos durante a exposição ao ar. (Ranjit; Kung Jr., 2000; Oude Elferink *et al.*, 2001; Tabacco *et al.*, 2009; Tabacco *et al.*, 2011)

Essa mudança no perfil fermentativo explica por que silagens inoculadas com essa bactéria frequentemente apresentam maior tempo de estabilidade aeróbia, menor aquecimento e menores perdas no momento do fornecimento aos animais. (Filya; Sucu, 2010; Kung Jr. *et al.*, 2018; Muck *et al.*, 2018)

A eficácia desse tipo de inoculante depende da dose aplicada, do substrato ensilado, do teor de matéria seca e das condições de armazenamento, o que reforça a necessidade de avaliar sua ação de forma contextualizada, e não como efeito universal e automático. (Ranjit; Kung Jr., 2000; Ferrero *et al.*, 2019)

Além da perspectiva estritamente fermentativa, a utilização de aditivos deve ser compreendida como intervenção sobre a ecologia microbiana da silagem. A ensilagem promove uma sucessão de comunidades bacterianas, na qual a microbiota epifítica original cede espaço, em condições ideais, a grupos mais adaptados ao ambiente ácido e anaeróbio. (Parvin *et al.*, 2010; Li; Nishino, 2011; Gharechahi *et al.*, 2017; Ni *et al.*, 2017)

Estudos sobre dinâmica microbiana em silagens têm mostrado que materiais não tratados tendem a manter maior heterogeneidade microbiana e maior participação de grupos

como *Enterobacter*, *Pseudomonas* e representantes de *Clostridiaceae*, enquanto silagens tratadas com aditivos frequentemente passam a ser dominadas por gêneros associados à fermentação desejável, especialmente dentro da família *Lactobacillaceae*. (Kung Jr. *et al.*, 2018; Muck *et al.*, 2018; Nascimento *et al.*, 2023)

Essa mudança não deve ser interpretada como mera redução de diversidade, mas como uma seleção orientada para um ambiente microbiologicamente mais estável, com menor risco de deterioração e maior previsibilidade quanto à preservação do alimento. (Kung Jr. *et al.*, 2018; Nascimento *et al.*, 2023)

A associação entre aditivos químicos e microbianos, por sua vez, é particularmente promissora porque articula mecanismos de ação distintos e potencialmente complementares. Enquanto os ácidos orgânicos atuam de forma mais imediata sobre fungos, leveduras e outros microrganismos sensíveis, os inoculantes heterofermentativos influenciam a trajetória da fermentação e a composição final dos metabólitos produzidos. Essa combinação pode favorecer tanto a conservação dentro do silo quanto a estabilidade pós-abertura, desde que haja compatibilidade entre os efeitos dos compostos aplicados e as características do material ensilado. (Adesogan; Salawu, 2002; Bumbieris-Junior *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2021; Führ *et al.*, 2023)

Sob o enfoque da nutrição de ruminantes, a importância dos aditivos transcende o ambiente do silo. A qualidade da silagem deve ser medida também por sua capacidade de manter o consumo, digestibilidade, disponibilidade energética e desempenho animal. Silagens com menor deterioração e maior preservação de carboidratos solúveis e compostos energéticos tendem a apresentar melhor aproveitamento ruminal, menor descarte no cocho e maior eficiência de conversão dos nutrientes em produto animal. (Bingöl *et al.*, 2009; Kung Jr. *et al.*, 2018; Muck *et al.*, 2018)

Além disso, a redução da atividade de fungos, leveduras e microrganismos proteolíticos contribui para preservar proteína verdadeira, limitar a formação de nitrogênio amoniacal e melhorar a qualidade bromatológica da dieta final. Em sistemas de confinamento de ovinos, essas respostas assumem papel ainda mais importante, porque pequenas diferenças na digestibilidade e na densidade energética da dieta podem se traduzir em alterações expressivas no ganho de peso e na eficiência alimentar. (Dai *et al.*, 2022; Mendonça *et al.*, 2020; Gandra *et al.*, 2024)

Outro ponto que merece destaque é que a estabilidade aeróbia, embora por vezes tratada como variável secundária, possui implicações diretas na rotina alimentar e no desempenho dos animais. A elevação da temperatura da silagem após a abertura do silo representa perda de energia, degradação de compostos nutritivos e redução da aceitabilidade do alimento. Esse processo, conduzido principalmente por leveduras e fungos, também favorece a formação de compostos que comprometem a palatabilidade e a higiene do material fornecido. (Kleinschmit; Schmidt; Kung, 2005; Weiss; Kroschewski; Auerbach, 2016; Muck *et al.*, 2018)

Assim, os achados do presente estudo reforçam a necessidade de se interpretar a qualidade da silagem de maneira integrada. Não basta avaliar apenas o pH ou ácidos orgânicos; é indispensável considerar como a fermentação afeta a microbiota, como isso influencia a preservação do alimento e como tudo isso repercute no desempenho animal. Dessa forma, o estudo contribui com uma visão mais abrangente da conservação forrageira e seu impacto no desempenho zootécnico. A silagem deve ser entendida como um processo contínuo e integrado, desde a sua preparação até o uso no sistema de alimentação. (Kung Jr. *et al.*, 2018; Muck *et al.*, 2018; Nascimento *et al.*, 2023)

Portanto, a aplicação isolada ou combinada de aditivos químicos e microbianos melhora a qualidade fermentativa, a estabilidade aeróbia e a preservação dos nutrientes da silagem de sorgo, resultando em maior desempenho produtivo dos ovinos confinados.

REFERÊNCIAS

- ADESOGAN, A. T.; SALAWU, M. B. **Effect of applying formic acid or *Lactobacillus buchneri* inoculants with or without homofermentative lactic acid bacteria on the fermentation characteristics and aerobic stability of intercropped pea-wheat silages and whole crop wheat or pea silages.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 84, n. 9, p. 983-992, 2002. DOI: 10.1002/jsfa.1745.
- Bingöl NT, *et al.* **Arpa hasılı ve korunga karışımı silaja farklı düzeylerde melas ilavesinin silaj kalitesi ve sindirilebilirliği üzerine etkileri.** Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 4(1):23–30, 2009.
- BORBA, L. F. P. *et al.* **Nutritive value of diferents silage sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) cultivars.** Acta Scientiarum. Animal Sciences, v. 34, n. 2, p. 123-129, 2012. DOI: 10.4025/actascianimsci.v34i2.12853.
- BUMBIERIS-JUNIOR, V. H. *et al.* **Ensilajes de triticale de alta humedad con aditivos químicos y biológicos: valores nutrimentales y comportamiento de ingesta en ovinos.** Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, v. 12, n. 2, p. 573-585, 2021. DOI: 10.22319/rmcp.v12i2.5623.
- DAI, T. *et al.* **Assessment of organic acid salts on fermentation quality, aerobic stability, and in vitro rumen digestibility of total mixed ration silage.** Tropical Animal Health and Production, v. 54, n. 5, p. 261, 2022. DOI: 10.1007/s11250-022-03249-w.
- FERRERO, F. *et al.* **Effects of conservation period and *Lactobacillus hilgardii* inoculum on the fermentation profile and aerobic stability of whole corn and sorghum silages.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 99, p. 2530-2540, 2019.
- FILYA, I.; SUCU, E. **The effects of lactic acid bacteria on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage.** Grass and Forage Science, v. 65, p. 446-455, 2010.
- FÜHR, C. A. *et al.* **Effect of different alternative additives on nutritional value, in vitro digestibility, and carbohydrate fractionation of whole-plant sorghum silage.** Research, Society and Development, v. 12, n. 7, e16512742666, 2023. DOI: 10.33448/rsd-v12i7.42666.
- GANDRA, J. R. *et al.* **Effect of chemical and microbial additives on fermentation profile, chemical composition, and microbial populations of whole-plant soybean silage.** Fermentation, v. 10, n. 4, p. 204, 2024. DOI: 10.3390/fermentation10040204.
- GHARECHAH, J. *et al.* **The dynamics of the bacterial communities developed in maize silage.** Microbial Biotechnology, v. 10, p. 1663-1676, 2017.
- KHOTA, W. *et al.* **Fermentation quality and in vitro methane production of sorghum silage prepared with cellulase and lactic acid bacteria.** Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, v. 30, n. 11, p. 1568-1574, 2017. DOI: 10.5713/ajas.16.0502.
- KLEINSCHMIT, D. H.; SCHMIDT, R. J.; KUNG JUNIOR, L. **The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage.** Journal of

Dairy Science, v. 88, p. 2130-2139, 2005.

KOVANDA, L. *et al.* **In vitro antimicrobial activities of organic acids and their derivatives on several species of gram-negative and gram-positive bacteria.** *Molecules*, v. 24, p. 3770, 2019.

KUNG JUNIOR, L. *et al.* **Silage review: interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages.** *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 5, p. 4020-4033, 2018. DOI: 10.3168/jds.2017-13909.

LAMBERT, R. J.; STRATFORD, M. **Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response.** *Journal of Applied Microbiology*, v. 86, p. 157-164, 1999.

LI, Y. *et al.* **Effect of microbial and chemical additives on the fermentation and aerobic stability of alfalfa silage ensiled at 2 dry matters and subjected to air stress during storage.** *Journal of Animal Science*, v. 99, n. 7, skab174, 2021. DOI: 10.1093/jas/skab174.

LI, Y.; NISHINO, N. **Bacterial and fungal communities of wilted Italian ryegrass silage inoculated with and without *Lactobacillus rhamnosus* or *Lactobacillus buchneri*.** *Letters in Applied Microbiology*, v. 52, p. 314-321, 2011a.

LI, Y.; NISHINO, N. **Monitoring the bacterial community of maize silage stored in a bunker silo inoculated with *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*.** *Journal of Applied Microbiology*, v. 110, p. 1561-1570, 2011b.

MENDONÇA, R. D. C. A. D. *et al.* **Effects of cutting height and bacterial inoculant on corn silage aerobic stability and nutrient digestibility by sheep.** *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 49, e20190231, 2020. DOI: 10.37496/rbz492019023.

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. DOI: 10.3168/jds.2017-13839.

NASCIMENTO, M. E. L. *et al.* **Effect of *Lactobacillus buchneri* and sodium benzoate on the fermentative profile, bacterial taxonomic diversity, and aerobic stability of sorghum silages at different fermentation times.** *Chilean Journal of Agricultural Research*, v. 83, n. 5, p. 539-552, 2023. DOI: 10.4067/S0718-58392023000500539.

NI, K. *et al.* **Effects of lactic acid bacteria and molasses additives on the microbial community and fermentation quality of soybean silage.** *Bioresource Technology*, v. 238, p. 706-715, 2017.

OUDE ELFERINK, S. J. W. H. *et al.* **Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*.** *Applied and Environmental Microbiology*, v. 67, p. 125-132, 2001.

PARVIN, S. *et al.* **Effects of inoculation with lactic acid bacteria on the bacterial communities of Italian ryegrass, whole crop maize, guinea grass and rhodes grass silages.** *Animal Feed Science and Technology*, v. 160, p. 160-166, 2010.

PIRES, F. P. A. *et al.* **Effect of the *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lentilactobacillus buchneri* on corn and sorghum silage quality and sheep energy partition under tropical conditions.** *Grass and Forage Science*, v. 78, n. 1, p. 224-235, 2023. DOI: 10.1111/gfs.12604.

QUEIROZ, O. C. M. *et al.* **Effects of 8 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage.** Journal of Dairy Science, v. 96, p. 5836-5843, 2013.

RANJIT, N. K.; KUNG JUNIOR, 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.

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

TABACCO, E. *et al.* **Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions.** Journal of Dairy Science, v. 94, n. 11, p. 5589-5598, 2011.

WEISS, K.; KROSCHEWSKI, B.; AUERBACH, H. **Effects of air exposure, temperature and additives on fermentation characteristics, yeast count, aerobic stability and volatile organic compounds in corn silage.** Journal of Dairy Science, v. 99, p. 8053-8069, 2016.

CAPÍTULO I

IMPACTO DE ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS NA QUALIDADE DA SILAGEM DE SORGO FORRAGEIRO AO LONGO DO PROCESSO FERMENTATIVO

IMPACTO DE ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS NA QUALIDADE DA SILAGEM DE SORGO FORRAGEIRO AO LONGO DO PROCESSO FERMENTATIVO

RESUMO

Aditivos são adicionados intencionalmente à silagem para reduzir o crescimento de microrganismos indesejáveis e controlar o curso da fermentação. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de dois aditivos, um produto comercial à base de ácidos orgânicos (OA) e *Lentilactobacillus buchneri* (Lb), isoladamente ou em combinação com OA. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4×3 , com cinco repetições por tratamento, quatro aditivos (controle, sem aditivo (Controle); inoculante comercial à base de *L. buchneri* (Lb); aditivo à base de ácidos orgânicos (OA) e; Lb combinado com OA (Blend)) e três períodos de fermentação (15, 30 e 90 dias). A contagem de fungos filamentosos foi maior na silagem Controle em todos os períodos de fermentação. A silagem Lb apresentou maior estabilidade aeróbia (144 h) em todos os períodos de fermentação. O padrão fermentativo também foi influenciado pela inoculação; *Lactobacillus* foi o gênero mais prevalente na silagem Blend, e *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus* e *Secundilactobacillus* predominaram na silagem OA, seguidos por *Lentilactobacillus*, que foi mais abundante na silagem Lb. A adição de Lb e a silagem Blend constituíram as estratégias mais eficientes, promovendo maior acúmulo de ácido acético e inibindo leveduras, e os aditivos contribuíram para um ambiente mais estável ao longo de 90 dias de armazenamento.

Palavras-chave: ácidos orgânicos. estabilidade aeróbia. *Lentilactobacillus buchneri*. gene 16S *rRNA*.

IMPACT OF CHEMICAL AND MICROBIAL ADDITIVES ON THE QUALITY OF FORAGE SORGHUM SILAGE THROUGHOUT THE FERMENTATION PROCESS

ABSTRACT

Additives are intentionally added to silage to reduce the growth of undesirable micro-organisms and to control the course of fermentation. This study aimed to evaluate the effect of two additives, a commercial product based on organic acids (OA) and *Lentilactobacillus buchneri* (Lb), alone or in combination with OA. The experiment was conducted in a 4×3 factorial completely randomized design, with five replicates per treatment, four additives (control, no additive (Control); commercial inoculant based on *L. buchneri* (Lb); additive based on organic acids (OA); Lb combined with OA (Blend)), and three fermentation periods (15, 30, and 90 days). The filamentous fungi count was higher in the Control silage during all fermentation periods. Lb silage showed greater aerobic stability (144 h) during all fermentation periods. The fermentation pattern was also influenced by inoculation; *Lactobacillus* was the most prevalent genus in Blend silage, and *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus*, and *Secundilactobacillus* were predominant in OA silage, followed by *Lentilactobacillus*, which was higher in Lb silage. The addition of Lb and the Blend silage were the most efficient strategies, promoting greater accumulation of acetic acid and inhibiting yeasts, and the additives contributed to a more stable environment over 90 days of storage.

Keywords: organic acids, aerobic stability; *Lentilactobacillus buchneri*, *16S rRNA gene*

1 INTRODUÇÃO

Aditivos são utilizados na silagem para impedir ou reduzir a proliferação de microrganismos indesejáveis, promovendo fermentação adequada, assegurando estabilidade aeróbia e preservando a composição nutricional da silagem (Queiroz *et al.*, 2013). Isso é particularmente vantajoso para forragens que, quando colhidas no estágio ideal, apresentam altos teores de carboidratos solúveis em água (>150 g de CHS/kg de MS) e baixos teores de matéria seca (<250 g de MS/kg de matéria natural), como ocorre com o sorgo forrageiro, *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Ferreira *et al.*, 2011)

Na silagem de sorgo, a rápida conversão de açúcares em ácido lático por bactérias ácido-láticas leva a uma queda acentuada do pH, o que ajuda a preservar a massa ensilada. Entretanto, sob determinadas condições, substratos fermentescíveis residuais ainda podem sustentar a proliferação de leveduras, especialmente quando a silagem é exposta ao ar. Essas leveduras são as principais responsáveis pela fermentação alcoólica e pela deterioração aeróbia da silagem (Ferrero *et al.*, 2019).

Embora diversos aditivos microbianos e químicos tenham sido desenvolvidos para enfrentar esses problemas, melhorando tanto o processo fermentativo quanto a estabilidade aeróbia após a abertura do silo (Ferrero *et al.*, 2019; Thomas *et al.*, 2010), seus benefícios nem sempre são significativos (Ferrero *et al.*, 2019; Py's; Karpowicz; Szalata, 2010; Rodrigues, 2020).

A aplicação desses aditivos em baixas doses podem ser insuficiente para prevenir fermentações secundárias indesejáveis. Aditivos contendo ácidos orgânicos, como os ácidos propiônico, benzoico e sórbico, apresentam elevada atividade antifúngica, o que explica sua ampla adoção para aumentar a estabilidade aeróbia da silagem (Kleinschmit; Schmidt; Kung, 2005). Os ácidos orgânicos exercem efeito antimicrobiano quando atravessam a membrana citoplasmática na forma não dissociada, liberando íons hidrogênio no citoplasma e reduzindo o pH intracelular (Ogunade, 2017; Kovanda, 2019).

Pesquisas anteriores mostraram que a eficiência desses compostos é proporcional à quantidade total aplicada à biomassa ensilada. Assim, a incorporação de ácidos reduz a população de leveduras, previne a produção de etanol, reduz perdas fermentativas e prolonga a estabilidade aeróbia, especialmente em silagens de milho (Kung Jr *et al.*, 2018). Em paralelo,

inoculantes comerciais à base de bactérias ácido-láticas heterofermentativas obrigatórias, como *Lentilactobacillus buchneri*, têm sido propostos para a conservação de silagens. Esses inoculantes produzem ácidos orgânicos com propriedades antifúngicas, incluindo os ácidos acético e propiônico, e inibem o desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras (Huisden *et al.*, 2009; Filya; Sucu, 2010). Kung Jr. *et al.* (2018) indicaram que inoculantes compostos por *L. buchneri* podem reduzir a atividade de leveduras e, consequentemente, prolongar a estabilidade aeróbia devido à produção de ácido acético. Embora inoculantes e aditivos químicos sejam amplamente utilizados, alguns estudos compararam a eficácia desses produtos isoladamente e em combinação na conservação de silagens (Queiroz *et al.*, 2013; Ranjit; Kung Jr, 2000).

Neste contexto, levantou-se a hipótese de que a aplicação de um aditivo químico à base de ácidos orgânicos e de um inoculante comercial à base de *L. buchneri*, isoladamente ou em combinação, melhora o perfil fermentativo, a estabilidade aeróbia e a qualidade nutricional de silagens de sorgo forrageiro ao longo do período de fermentação. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do Fresh CUT™ Plus e do inoculante *L. buchneri*, isolados ou em combinação com o aditivo químico, sobre as características fermentativas e nutricionais, a estabilidade aeróbia e a diversidade microbiana de silagens de sorgo forrageiro em função do período de fermentação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL E EXECUÇÃO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido no Laboratório de Forragicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, em Areia, estado da Paraíba, Brasil, localizado à latitude 6°58'12" S e longitude 35°42'15" O, a ±619 m de altitude. A cultivar de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra (Guansafra Sementes®, Fortaleza, CE, Brasil) foi implantada em área de 0,76 hectare no município de Riachão, estado da Paraíba, Brasil, localizado à latitude 06°32'25" S e longitude 35°39'35" O, com altitude média de ±175 m e precipitação média anual de 432 mm. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é As', caracterizado como semiárido quente e úmido, com chuvas do outono ao inverno (Alvares *et al.*, 2013).

O solo da área experimental foi caracterizado como solo arenoso de textura leve (EMBRAPA, 2013) e preparado por aração e gradagem, sendo adubado de modo a atender às exigências de fertilidade da cultura do sorgo. O sorgo forrageiro foi semeado com semeadora

manual (Semeadora Krupp®, São Leopoldo, RS, Brasil), a aproximadamente 1 cm de profundidade e no espaçamento de $0,10 \times 0,80$ m, com dez sementes por metro linear. A adubação de pré-semeadura foi realizada com aplicação de 100 kg de P_2O_5 /ha na forma de superfosfato simples (Fertilizantes Heringer®, São Paulo, SP, Brasil). A adubação de cobertura foi realizada no estágio V4, utilizando 45 kg de N/ha na forma de ureia (Fertilizantes Heringer®, São Paulo, SP, Brasil).

2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, COLHEITA E ENSILAGEM

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4×3 , totalizando 12 tratamentos (quatro aditivos $\times$ três períodos de fermentação), com cinco repetições por tratamento, totalizando 60 unidades experimentais. Os quatro tratamentos com aditivos consistiram em sem aditivo (Controle); inoculante comercial à base de *Lentilactobacillus buchneri* (Lb; NCIMB 40788—Lallemand®, Santa Helena de Goiás, GO, Brasil), aplicado a 3×10^{11} unidades formadoras de colônia (UFC/g), diluído em 500 mL de água destilada; aditivo à base de ácidos orgânicos (OA; Fresh CUT™ Plus—Kemin South America, Indaiatuba, SP, Brasil), aplicado a 0,5 kg/t de matéria natural; e a combinação de *L. buchneri* com OA (Blend)). Os três períodos de fermentação foram 15, 30 e 90 dias após a ensilagem.

O sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* L. Moench), cultivar BRS Ponta Negra foi colhido manualmente em julho de 2023. O material colhido foi picado em tamanho médio de partícula de aproximadamente 10 mm com picadora estacionária de forragem (EN9-F3B, Nogueira®, Itapira, SP, Brasil). Após homogeneização, a forragem picada foi distribuída uniformemente entre os tratamentos, e 60 silos experimentais foram preparados em baldes plásticos de 4 L (630EE, GrouPack®, Cabedelo, PB, Brasil), medindo 55 cm de diâmetro e 19 cm de altura. Os silos foram compactados manualmente até densidade de aproximadamente 600 kg/m³ de matéria natural, vedados com fita adesiva de 45 mm (3M-5802, Scotch®, Sumaré, SP, Brasil) e armazenados em temperatura ambiente até o respectivo dia de abertura. A composição química inicial da forragem fresca de sorgo é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização da composição química e das populações microbianas do sorgo forrageiro BRS Ponta Negra tratado com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações antes da ensilagem

Item	Controle	Lb	OA	Blend
Matéria seca (g/kg de matéria natural)	273,80	252,55	253,20	253,30
Matéria orgânica (g/kg de MS)	953,30	958,82	949,62	948,50
Matéria mineral (g/kg de MS)	46,69	41,18	50,37	51,50
Proteína bruta (g/kg de MS)	70,93	52,85	55,62	61,61
Fibra em detergente neutro (g/kg de MS)	569,27	586,84	578,56	529,03
pH	5,87	5,90	5,75	5,69
Carboidratos solúveis em água (g/kg de MS)	122,88	139,37	142,41	132,85
Capacidade tampão (Emg NaOH/100 g de MS)	0,135	0,161	0,167	0,162
Bactérias ácido-láticas (UFC/g)	5,38	5,36	6,14	5,98
Leveduras (UFC/g)	5,57	5,59	5,50	5,64
Fungos filamentosos (UFC/g)	5,25	5,19	5,09	5,03

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: Controle = sem aditivo; Lb = inoculante comercial à base de *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788; OA = aditivo químico à base de ácidos orgânicos Fresh CUT™ Plus; Blend = combinação Lb + OA. MS = matéria seca. UFC/g = unidade formadora de colônia por grama de forragem fresca em escala logarítmica de base 10

2.3 PERFIL FERMENTATIVO E PERDAS DE MATÉRIA SECA

Para a análise do perfil fermentativo e a quantificação das populações microbianas e dos ácidos orgânicos, amostras de 25 g da planta e das silagens aos 15, 30 e 90 dias de fermentação foram homogeneizadas em 225 mL de solução salina (0,85 g de NaCl (Dinâmica®, São Paulo, SP, Brasil) /100 mL de água destilada) em liquidificador industrial (LAR.2, Metvisa®, Brusque, SC, Brasil) por 1 min. O extrato aquoso obtido foi filtrado em gaze estéril de algodão e dividido em três alíquotas.

A primeira alíquota foi utilizada para medir o pH com potenciômetro digital (K39-1420A, Kasvi®, São José dos Pinhais, PR, Brasil). Em seguida, a segunda alíquota de 50 mL do extrato aquoso foi acidificada (H₂SO₄ 1:1 v/v, Neon®, Suzano, SP, Brasil) e armazenada a -20 °C. Para quantificar o nitrogênio amoniacal (N-NH₃) em relação ao Nitrogênio total, conforme método descrito por Bolsen *et al.* (1992), empregou-se método colorimétrico, utilizando sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄) como padrão de calibração. O padrão utilizado para a determinação dos carboidratos solúveis em água pelo método do ácido sulfúrico concentrado foi a glicose, seguindo a metodologia descrita por DuBois *et al.* (1956). As perdas de MS foram quantificadas pela diferença de peso dos baldes (peso final menos peso inicial), sendo calculadas de acordo com Magalhães *et al.* (2012) pela Equação (1).

$$\text{Perdas de MS (g de MS/kg de MN)} = 1000 - ((\text{MSab}/\text{MSfe}) \times 1000)$$

em que:

Perdas de MS (g de MS/kg de MN) = perdas de matéria seca em gramas por quilograma de matéria natural;

MSab = kg de matéria seca da silagem na abertura do silo (quantidade de silagem em kg $\times$ % de MS);

MSfe = kg de matéria seca da forragem no fechamento do silo (quantidade de forragem em kg $\times$ % de MS).

2.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

As amostras de planta e de silagem foram parcialmente secas em estufa de ventilação forçada (55 °C/72 h). Em seguida, as amostras foram moídas em moinho de facas (Wiley®, Arthur H. Thomas, Filadélfia, PA, EUA) com peneira de 1 mm para análise da composição química.

As amostras de planta, ingrediente e silagem foram analisadas para quantificação de MS (MS, método 934.01), matéria orgânica (MO, método 972.43), matéria mineral (MM, método 942.05), proteína bruta (PB, N $\times$ 6,25, método 984.13) e extrato etéreo (EE, método 920.39), conforme a AOAC (1990). O teor de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) dessas amostras foi determinado com uso de α -amilase termoestável, sem sulfito de sódio de acordo com a metodologia de Van Soest (1991).

2.5 POPULAÇÕES MICROBIANAS E ÁCIDOS ORGÂNICOS

A segunda alíquota do extrato aquoso foi utilizada para quantificar as populações microbianas de bactérias ácido-láticas, leveduras e fungos filamentosos. Foram realizadas diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-8} . O plaqueamento foi realizado em placas de Petri estéreis (90 $\times$ 15 mm, FirstLab®, São José dos Pinhais, PR, Brasil) pelo método pour-plate em meio de cultura (Kung Jr *et al.*, 2003).

O ágar De Man, Rogosa & Sharpe (K25-1043, Kasvi®, São José dos Pinhais, PR, Brasil) foi utilizado para o cultivo de bactérias ácido-láticas (37 °C/48 h), e o ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol (Oxoid™, Hampshire, Reino Unido) para o cultivo de leveduras (25 °C/72 h) e fungos filamentosos (25 °C/120 h). Para a quantificação de unidades formadoras de colônia (UFC), foram consideradas placas contendo de 25 a 250 colônias (Salfinger; Tortorello, 2015).

A terceira alíquota do extrato aquoso foi utilizada para quantificação dos ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico e butírico). Inicialmente, 10 mL do extrato aquoso foram transferidos para tubos de ensaio com tampa rosqueável (AJ03, PlenaLab®, Jundiaí, SP, Brasil) e homogeneizados em vórtex (Vórtex Mixer VX-200, LabNet®, Oakland, NJ, EUA); adicionaram-se 2,0 mL de ácido metafosfórico (Neon®, Suzano, SP, Brasil), e a solução resultante foi centrifugada (Mikro-120, Hettich Zentrifugen®, Tuttlingen, Alemanha) a $13.000 \times g$ por 15 min. Após esse procedimento, o sobrenadante foi coletado e colocado em tubos centrífugos tipo Eppendorf (Cral-Plast®, Cotia, SP, Brasil). A análise de ácidos orgânicos foi realizada por cromatografia gasosa (CG) (Shimadzu, Richmond Hill, ON, Canadá, SPD-10AVP), seguindo a metodologia descrita por Siegfried *et al.* (1984).

2.6 ESTABILIDADE AERÓBIA

Para avaliação da estabilidade aeróbia (EA), foram coletadas no momento da abertura 1 kg da silagem, foi pesado e retornou para seu respectivo balde sem compactação, onde foram expostos durante seis dias (144 horas) em sala com temperatura controlada ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Foi inserido um datalogger (AK285 New, AKSO®, São Leopoldo-RS, Brasil) no centro da massa de cada silagem, para que a temperatura da mesma fosse registrada a cada 10 min. Outros três dataloggers foram distribuídos na sala, para mensuração da temperatura média do ambiente. A EA foi definida como o número de horas que a silagem permaneceu estável, antes da temperatura da mesma elevar dois graus centígrados acima da temperatura ambiente (Kung Jr *et al.*, 2021).

2.7 DIVERSIDADE DO GENE 16S RNA BACTERIANO

As análises da comunidade bacteriana foram realizadas nas silagens após 90 dias de fermentação. Para isso, foram utilizadas 16 amostras de cada tratamento, com as seguintes identificações: Controle (Controle) – silagem exclusiva de sorgo; LB – silagem inoculada com *Lentilactobacillus buchneri*; OA – silagem tratada com ácidos orgânicos (Fresh Cut Plus); e Blend – combinação de *L. buchneri* e ácidos orgânicos.

Cada amostra, 25 g de silagem, macerada, foi homogeneizada em 225 mL de solução salina padrão (PBS), filtrada com uma gaze estéril, centrifugada a $6000 \times g$ por 4 minutos a 4°C , com o sobrenadante descartado e lavada novamente em PBS. O pellet foi ressuspensionado em 900 μL de PBS antes de ser armazenado a -20°C .

A extração de DNA foi feita com kit comercial (Power Soil DNA Isolation kit, MoBio, Carlsbad, CA) de acordo com o protocolo de fabricante, utilizando-se de pellet de 0,25 g obtido pela diluição de 25 g de silagem em 225 mL de solução salina (0,85% NaCl). As regiões hipervariáveis V3 e V4 do gene 16S rRNA foram amplificadas por PCR: desnaturação a 95 °C por 3 minutos, com 25 ciclos de desnaturação a 95 °C por 30 segundos, anelamento a 55 °C por 30 segundos, e extensão a 72 °C por 30 segundos, utilizando os primers 341F: 5'-TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG CCT ACG GGN GGC WGC AG-3' e 785R: 5'-GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GGA CTA CHV GGG TAT CTA ATC C-3', com o kit Illumina MiSeq V2 (2 × 250 ciclos).

A análise da diversidade das comunidades bacterianas foi realizada utilizando a plataforma QIIME2 v. 2023.2 e o software R v. 4.1.3 (Bolyen *et al.*, 2019). O denoising das reads e a geração das Amplicon Sequence Variants (ASVs) foram feitas com DADA2 (Callahan *et al.*, 2016). Foi usado o banco de dados Genome Taxonomy Database (GTDB) v. 207.0. Foram usados os índices de diversidade alfa: Shannon, Simpson, Pielou e para a diversidade beta: Weighted e Unweighted Unifrac (Lozupone; Knight, 2015; Thukral, 2017).

3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram avaliados pelo teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade e homogeneidade de variâncias. Os dados da avaliação microbiológica expressos em unidades formadoras de colônia (UFC) foram transformados para unidade logarítmica na base dez (UFC log₁₀). Os dados foram analisados de acordo com o delineamento experimental inteiramente casualizado, arranjado em esquema fatorial 4 × 3, com quatro aditivos e três períodos de fermentação, com 12 (doze) tratamentos fatoriais e cinco repetições, conforme o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + AD_i + PF_j + (AD*PF)_{ij} + e_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} = variável resposta;

μ = média geral;

AD_i = efeito do aditivo i (efeito fixo);

PF_j = efeito de período de fermentação j (efeito fixo);

$(AD*PF)_{ij}$ = efeito da interação entre aditivos e período de fermentação ij (efeito fixo);

e_{ijk} = erro experimental aleatório.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), quando se observou significância para o efeito do aditivo, do período de fermentação ou da interação entre ambos, sendo então realizado o desdobramento desses efeitos. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, como nível crítico de probabilidade para erro do tipo I, utilizando o software Sisvar (Ferreira, 2019).

A diversidade alfa microbiana foi avaliada utilizando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparações entre todos os grupos, enquanto o teste de soma de postos de Wilcoxon Mann-Whitney foi empregue para comparações pareadas entre os grupos. Para a análise da diversidade beta, o teste de Análise de Variância Multivariada por Permutação (PERMANOVA) foi aplicado com comparações pareadas e 999 permutações para testar a significância das dissimilaridades entre as matrizes de distância das amostras e seus respectivos grupos. Além disso, empregou-se análise discriminante linear do tamanho de efeito (LEfSe) para examinar a abundância diferencial de gêneros específicos entre os tratamentos (Segata *et al.*, 2011).

4 RESULTADOS

4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A Tabela 2 resume os valores de *p* das variáveis avaliadas, permitindo a interpretação dos efeitos dos tratamentos aplicados.

Tabela 2 - Significância (valor de *p*) dos efeitos testados e erro-padrão da média (EPM) das variáveis analisadas em silagens de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações, ensiladas por 15, 30 e 90 dias

Item ^a	<i>p</i> – Valor ^b			EPM ^c
	Período	Aditivo ^d	Período × Aditivo	
Matéria seca (g/kg de matéria natural)	<0,001	0,0012	<0,001	1,745
Matéria orgânica (g/kg de MS)	0,122	<0,001	0,041	0,460
Matéria mineral	<0,001	<0,001	0,017	0,013
Proteína bruta	<0,001	<0,001	<0,001	0,622
Fibra em detergente neutro	<0,001	<0,001	<0,001	0,163
pH	<0,001	0,046	<0,001	0,045
Bactérias ácido-láticas	<0,001	<0,001	<0,001	0,042
Leveduras	<0,001	0,085	0,010	0,496
Fungos filamentosos	0,002	0,004	0,843	0,276
Nitrogênio amoniacal	0,594	0,754	0,822	1,470
Ácido lático (g/kg de MS)	<0,001	<0,001	<0,001	0,771
Ácido acético (g/kg de MS)	<0,001	<0,001	<0,001	0,659

Item ^a	<i>p</i> – Valor ^b			EPM ^c
	Período	Aditivo ^d	Período × Aditivo	
Relação ácido láctico/ácido acético	<0,001	<0,001	<0,001	0,024
Ácido propiônico (g/kg de MS)	<0,001	<0,001	<0,001	0,917
Ácido butírico (g/kg de MS)	0,007	<0,001	0,023	0,001
Perdas de fermentação	0,122	<0,001	0,041	3,707
Carboidratos solúveis em água	<0,001	0,3224	0,0205	1,117
Estabilidade aeróbia	<0,001	<0,001	<0,001	5,454
Temperatura máxima	<0,001	<0,001	<0,001	0,163
Temperatura mínima	<0,001	0,046	<0,001	0,045
Temperatura média	<0,001	<0,001	<0,001	0,042
Tempo (h) para atingir a temperatura máxima	<0,001	0,085	0,010	3,383

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a MS=matéria seca; h=horas. ^b Probabilidade de efeito ($p \leq 0,05$) do período de fermentação, do aditivo e da interação entre período de fermentação e aditivo. ^c EPM = erro-padrão da média. ^d Aditivo Controle = sem aditivo; Lb = inoculante comercial baseado em *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB40788, Lallemand®, Brasil; OA=aditivo químico baseado em ácidos orgânicos FreshCUT™ Plus, Kemin Industries®, Brasil; Blend = combinação de Lb + OA

A silagem com adição de Lb apresentou o maior teor de MS aos 30 dias de fermentação (254,24 g/kg de MS), antes de apresentar declínio aos 90 dias. O menor valor foi registrado na silagem Controle aos 15 dias. Os teores de MO foram semelhantes entre as silagens aos 15 dias, exceto para a silagem com Blend. Aos 30 dias, as silagens Controle e Blend apresentaram os menores teores de MO (945,03 e 946,08 g/kg de MS), e aos 90 dias a silagem OA apresentou o menor teor de MO (939,39 g/kg de MS). As demais silagens não diferiram entre si (Tabela 3).

O teor de MM foi mais alto na silagem com Blend aos 15 dias, nas silagens Controle e Blend aos 30 dias (54,97 e 53,92 g/kg de MS) e na silagem com OA aos 90 dias (60,61 g/kg de MS). Quanto ao teor de PB, ele foi maior na silagem Lb aos 15 e 30 dias (71,22 e 72,15 g/kg de MS, respectivamente) e mais alto na silagem Blend aos 30 dias. Aos 90 dias, a silagem Blend apresentou o menor teor de PB (65,13 g/kg de MS). Os teores de FDN permaneceram estáveis aos 15 e 90 dias, mas aos 30 dias a silagem Controle apresentou o maior conteúdo (713,45 g/kg de MS), enquanto os tratamentos não diferiram entre si (Tabela 3).

Tabela 3 - Análise da interação entre período de fermentação e aditivo sobre a composição química do sorgo forrageiro BRS Ponta Negra. As silagens foram tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações e ensiladas por 15, 30 e 90 dias

Período de Fermentação	Aditivos ^a			
	Controle	Lb	OA	Blend
Matéria seca (g/kg de matéria natural)				
15 d	225,67 Cb	254,24 Ab	237,27 BCa	242,67 ABa
30 d	243,44 Ca	254,24 Aa	247,24 BCa	248,15 BCa
90 d	238,56 ABCab	224,15 Cc	241,45 ABa	244,95 Aa
Matéria orgânica (g/kg de MS) ^b				
15 d	949,22 Aa	949,78 Aab	949,57 Aa	944,56 Ba
30 d	945,03 Cb	952,17 Aa	949,59 ABa	946,08 BCa
90 d	948,78 Aa	947,97 Ab	939,39 Bb	947,97 Aa
Matéria mineral (g/kg de MS)				
15 d	50,78 Bb	50,22 Bab	50,42 Bb	55,44 Aa
30 d	54,97 Aa	47,83 Cb	50,41 BCb	53,92 ABa
90 d	51,22 Bb	52,03 Ba	60,61 Aa	52,03 Ba
Proteína bruta (g/kg de MS)				
15 d	57,06 Da	71,22 Aa	57,35 CDa	62,76 BCb
30 d	56,32 Ba	72,15 Aa	58,14 Ba	69,48 Aa
90 d	58,69 BCa	59,17 BCb	55,45 Ca	65,12 Aab
Fibra em detergente neutro (g/kg de MS)				
15 d	629,40 Ab	606,60 Ab	636,59 Aa	621,02 Aa
30 d	713,45 Aa	628,42 Bab	630,35 Ba	614,69 Ba
90 d	640,24 Ab	674,95 Aa	633,53 Aa	622,34 Aa

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a Aditivo Controle = sem aditivo; Lb = inoculante comercial baseado em *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB40788, Lallemand®, Brasil; OA=aditivo químico baseado em ácidos orgânicos FreshCUT™ Plus, Kemin Industries®, Brasil; Blend = combinação de Lb + OA. ^b MS = matéria seca. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre aditivos dentro de cada período de fermentação; letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre períodos de fermentação dentro de cada aditivo, ambas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

4.2 CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS

O pH das silagens diminuiu ao longo da fermentação, independentemente do tipo de aditivo utilizado. Entretanto, as silagens tratadas com Lb exibiram valores de pH mais altos nos períodos iniciais de fermentação (15 e 30 dias), com valores de 3,80 e 3,76, respectivamente. As silagens Controle apresentaram menores valores de pH após 90 dias de fermentação (Tabela 4). Embora tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas, é importante notar que, do ponto de vista biológico, a variação nos valores de pH entre os tratamentos é pequena e pouco provável de impactar a qualidade da silagem.

Os maiores valores de perdas de MS foram encontrados para as silagens Controle em todos os períodos de fermentação, com declínio ao longo do processo, seguidas pela silagem OA aos 15 dias (125,93 g/kg de MS) (Tabela 4). Os maiores valores de CHS foram observados para as silagens Lb e Blend aos 90 dias de fermentação, com valores de 39,36 e 42,11 g/kg de MS, respectivamente, seguidos pelas silagens OA e Blend aos 30 dias de fermentação, sem diferença significativa (Tabela 4).

Tabela 4 - Análise da interação entre período de fermentação e aditivo sobre características fermentativas, populações microbianas e perdas de matéria seca em silagens de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra. As silagens foram tratadas com aditivos químicos ou microbianos, isoladamente ou em combinação e ensiladas por 15, 30 e 90 dias

Período de Fermentação	Aditivos ^a			
	Controle	Lb	OA	Blend
pH				
15 d	3,59 Ca	3,70 Aa	3,67 BCa	3,64 Ca
30 d	3,63 Ba	3,76 Aa	3,64 Ba	3,60 Bab
90 d	3,46 Bb	3,51 ABb	3,58 ABa	3,50 ABb
Bactérias ácido-láticas (UFC/g) ^b				
15 d	6,96 Aa	6,97 ABba	6,81 ABa	7,03 Aa
30 d	6,87 Ba	7,53 Aa	6,50 Cb	6,65 BCb
90 d	6,07 Bb	6,41 Ac	6,18 ABc	6,10 Bc
Leveduras (UFC/g)				
15 d	3,40 Aa	2,78 Aa	2,76 Aa	2,50 Aa
30 d	2,07 Ab	1,53 Bb	1,63 Bb	2,32 Aab
90 d	1,50 Ab	1,03 Bb	1,10 Ab	1,38 Ab
Perdas de matéria seca (g/kg de MS) ^c				
15 d	168,74 Aa	91,86 Ca	125,93 Ba	92,68 BCa
30 d	134,45 Ab	94,20 ABa	96,96 Bb	93,52 Ba
90 d	132,54 Ab	91,86 Ba	97,03 Bb	94,89 Ba
Carboidratos solúveis em água (g/kg de MS)				
15 d	36,23 Ab	30,28 Ab	29,32 Ab	34,11 Aa
30 d	28,80 Bab	36,61 ABab	39,42 Aa	39,32 Aa
90 d	38,26 Aa	39,36 Aa	37,05 Aab	42,11 Aa
Fungos filamentosos (UFC/g) ^b				
15 d	4,05	2,20 a	1,70	0,92
30 d	2,63	1,77 a	1,96	1,37
90 d	2,21	0,55 b	0,00	0,00
Nitrogênio amoniacal (g de N-NH ₃ /kg de N total)				
15 d	15,84	17,48	18,15	21,46
30 d	18,58	15,89	17,86	13,30
90 d	16,29	19,70	16,26	28,91

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a Aditivo Controle = sem aditivo; Lb = inoculante comercial baseado em *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB40788, Lallemand®, Brasil; OA=aditivo químico baseado em ácidos orgânicos FreshCUT™ Plus, Kemin Industries®, Brasil; Blend = combinação de Lb + AO. ^b UFC/g = unidade formadora de colônia por grama de forragem fresca em escala logarítmica de base 10. ^c MS = matéria seca. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre aditivos dentro de cada período; letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre períodos dentro de cada aditivo, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

4.3 POPULAÇÕES MICROBIANAS

Vale notar que, antes da ensilagem, o tratamento Controle apresentou valor de PB mais elevado em comparação com os grupos tratados, indicando que os tratamentos podem ter influenciado a preservação ou degradação do teor proteico durante a fermentação. Também se observou que essa população diminuiu ao longo do período fermentativo, com menor valor para a silagem Blend aos 90 dias de fermentação, com média de 6,10 UFC/g (Tabela 4).

A população de leveduras não apresentou mudança nos valores médios para todas as silagens durante os 15 primeiros dias de fermentação. Contudo, a população de leveduras diminuiu durante a ensilagem, atingindo mínimo aos 30 dias na silagem Lb (1,03 UFC/g). No período de 90 dias, as silagens Controle, OA e Blend permaneceram com os mesmos valores; entretanto, a silagem Lb apresentou baixa população de leveduras (Tabela 4).

A população de fungos filamentosos foi maior na silagem Controle em todos os períodos de fermentação, com redução subsequente aos 90 dias. Destaca-se que a contagem de fungos filamentosos ficou abaixo do nível de detecção aos 90 dias de fermentação para todas as silagens com aditivos (Lb, OA e Blend) (Tabela 4).

4.4 ÁCIDOS ORGÂNICOS

Aos 15 dias de fermentação, todas as silagens exibiram concentrações equivalentes de ácido láctico. Aos 30 dias, as concentrações de ácido láctico foram menores na silagem Controle e mais altas nessa mesma silagem aos 90 dias (média de 72,80 g/kg de MS), seguida pela silagem Blend (60,16 g/kg de MS). Tendência semelhante foi verificada para o ácido acético aos 15 dias, enquanto aos 30 e 90 dias a silagem Lb apresentou os maiores teores de ácido acético (38,96 g/kg de MS e 49,69 g/kg de MS, respectivamente).

A relação ácido láctico/ácido acético foi comparável entre os aditivos aos 15 dias, exceto para OA, que apresentou menor relação ácido láctico/ácido acético. A silagem Blend manteve relação mais alta durante todo o processo fermentativo, com valor superior a 2 g de

ácido láctico para cada 1 g de ácido acético produzido (Tabela 5).

Tabela 5 - Análise da interação entre período de fermentação e aditivo sobre os teores de ácidos orgânicos em silagens de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações e ensiladas por 15, 30 e 90 dias

Período de Fermentação	Aditivos ^a			
	Controle	Lb	OA	Blend
Ácido láctico (g/kg de MS) ^b				
15 d	65,45 Ab	62,07 Aa	65,17 Aa	65,26 Aa
30 d	49,15 Bc	54,34 ABb	57,13 Ab	58,41 Ab
90 d	72,80 Aa	57,27 BCab	56,27 BCb	60,16 Aab
Ácido acético (g/kg de MS)				
15 d	32,29 ABa	32,76 ABc	35,31 Aa	31,38 ABa
30 d	26,74 Bb	38,96 Ab	28,29 Bb	26,18 Bb
90 d	35,68 Ba	49,69 Aa	27,94 Cb	27,13 Cab
Relação ácido láctico:ácido acético				
15 d	2,02 ABa	1,91 ABa	1,85 Ba	2,08 Aa
30 d	1,83 Bb	1,41 Cb	2,04 ABa	2,24 Aa
90 d	2,04 Aa	1,22 Bb	2,03 Aa	2,22 Aa
Ácido propiônico (g/kg de MS)				
15 d	14,99 BCa	7,09 Cb	25,76 Aa	16,13 Bb
30 d	11,81 Aa	8,42 Ab	15,17 Ab	9,72 Ab
90 d	14,10 Ca	26,42 Ba	25,39 Ba	30,59 ABa
Ácido butírico (g/kg de MS)				
15 d	0,020 Aa	0,010 Ba	0,020 Aa	0,020 Aa
30 d	0,017 Aa	0,010 Ba	0,017 Aa	0,017 Aab
90 d	0,017 Aa	0,010 Ba	0,010 Bb	0,012 ABb

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a Aditivo Controle = Controle sem aditivo; Lb = inoculante comercial baseado em *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB40788, Lallemand®, Brasil; OA=aditivo químico baseado em ácidos orgânicos FreshCUT™ Plus, Kemin Industries®, Brasil; Blend = combinação de Lb + AO. ^b MS = matéria seca. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre aditivos dentro de cada período; letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre períodos dentro de cada aditivo, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

A silagem OA apresentou a maior concentração de ácido propiônico aos 15 dias de ensilagem. Aos 30 dias, não houve diferença entre os aditivos. Entretanto, aos 90 dias a silagem Blend apresentou a maior média para ácido propiônico. Para o ácido butírico, a silagem Controle apresentou a maior concentração ao longo do período fermentativo, enquanto na silagem Lb os valores permaneceram constantes (Tabela 5).

4.5 ESTABILIDADE AERÓBIA

As silagens Lb exibiram maior estabilidade aeróbia (144 h) ao longo dos períodos de fermentação e valores semelhantes de temperatura máxima e média. Aos 30 e 90 dias de fermentação, as silagens Controle, OA e Blend não diferiram entre si em termos de estabilidade aeróbia e temperaturas máxima e média.

Aos 90 dias, as silagens Controle, OA e Blend registraram as maiores temperaturas máximas (36,46 °C, 34,26 °C e 35,50 °C, respectivamente) e as maiores temperaturas médias de 28,30 °C, 28,53 °C e 28,23 °C, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6 - Análise da interação entre período de fermentação e aditivo sobre a estabilidade aeróbia de silagens de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações e ensiladas por 15, 30 e 90 dias

Período de Fermentação	Aditivos ^a			
	Controle	Lb	OA	Blend
	Estabilidade aeróbia (h) ^b			
15 d	97,15 Ab	144,00 Aa	120,73 Aa	97,13 Ab
30 d	144,00 Aa	144,00 Aa	144,00 Aa	144,00 Aa
90 d	33,90 Bc	144,00 Aa	39,97 Bb	37,63 Bc
	Temperatura máxima (°C)			
15 d	25,12 Ab	25,06 Aa	24,90 Ac	24,80 Ac
30 d	25,14 Ab	25,38 Aa	26,32 Ab	26,36 Ab
90 d	36,46 Aa	25,58 Ca	34,26 Ba	35,60 ABa
	Temperatura mínima (°C)			
15 d	22,70 Cc	22,70 Cc	23,18 ABc	22,86 BCc
30 d	23,84 Ab	23,72 ABb	23,88 Ab	23,60 ABb
90 d	24,50 Aa	24,28 Aa	24,42 Aa	24,56 Aa
	Temperatura média (°C)			
15 d	24,32 Ab	24,36 Ab	24,40 Ab	24,20 Ac
30 d	24,63 Ab	24,54 Aab	24,71 Ab	24,53 Ab
90 d	28,30 Aa	24,83 Ba	28,53 Aa	28,23 Aa
	Tempo para atingir a temperatura máxima (h)			
15 d	53,82 Aa	36,52 Ab	36,35 Ab	30,17 Ac
30 d	55,65 Aa	93,66 Aa	84,25 Aa	94,28 Aa
90 d	68,12 Ba	96,62 Aa	70,77 ABa	62,60 Bb

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

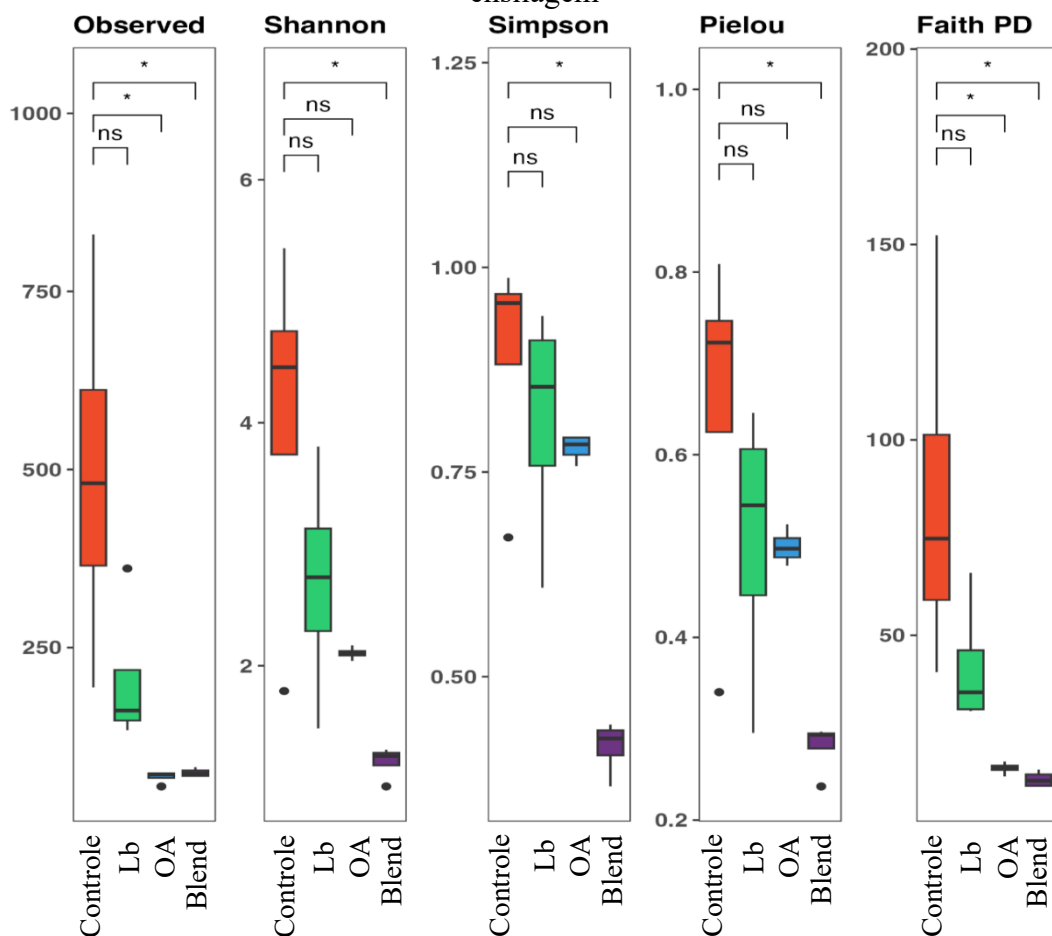
Nota: ^a Aditivo Controle = sem aditivo; Lb = inoculante comercial baseado em *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB40788, Lallemand ®, Brasil; OA=aditivo químico baseado em ácidos orgânicos FreshCUT™ Plus, Kemin Industries ®, Brasil; Blend = combinação de Lb + AO. ^b h = horas. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre aditivos dentro de cada período; letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre períodos dentro de cada aditivo, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

4.6 DIVERSIDADE BACTERIANA NA SILAGEM

Foi recuperado um total de 1.758 variantes de sequência de amplicons após a etapa de denoising dos conjuntos de dados bacterianos, o que foi suficiente para cobrir a diversidade bacteriana em todos os grupos aos 90 dias de fermentação.

Os índices de diversidade alfa mostraram que a silagem Controle apresentou comunidade bacteriana mais diversa, indicando maior riqueza e uniformidade. Em contraste, as silagens Lb, OA e Blend mostraram redução dos índices de diversidade alfa em todas as métricas. Essa redução indica maior dominância de grupos bacterianos específicos nas silagens tratadas, o que é desejável neste contexto, pois sugere comunidade microbiana mais seletiva e estável. Os dados ainda indicam que a inoculação altera a diversidade microbiana, levando à redução da riqueza e da uniformidade das silagens avaliadas (Figura 1).

Figura 1 - Índices de diversidade alfa bacteriana (Observed, Shannon, Simpson, Pielou e Faith PD) em silagem de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra suplementada com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem

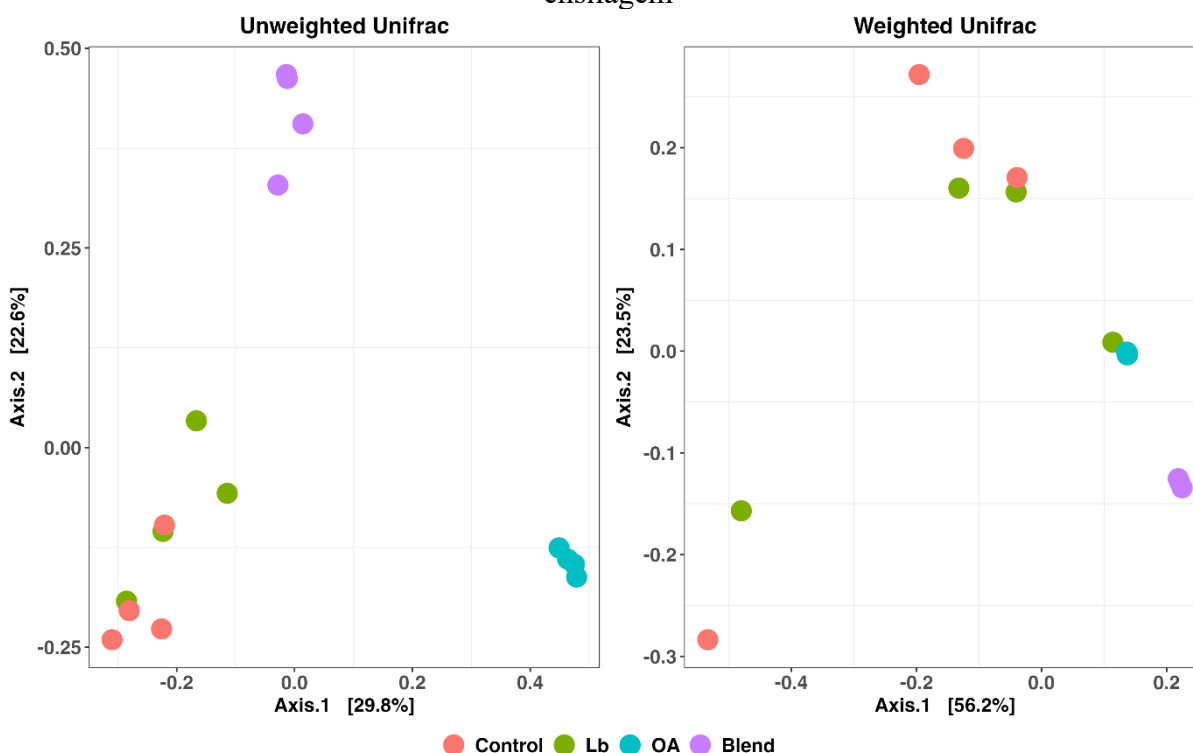


Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: Controle: sem aditivo; Lb: inoculante comercial à base de *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788; OA: aditivo químico à base de ácidos orgânicos Fresh CUT™ Plus; Blend: combinação de Lb + OA. Níveis de significância: ns = não significativo; * $p < 0,05$

A análise UniFrac não ponderada demonstrou que os aditivos influenciaram a composição filogenética das comunidades bacterianas, evidenciada pela separação clara entre os grupos (Figura 2). O índice ponderado revelou que as abundâncias relativas dos gêneros bacterianos nessas comunidades foram mais semelhantes entre alguns grupos, exceto para a silagem Blend, que permaneceu distinta dos demais tratamentos. A silagem com ácidos orgânicos apresentou diferenças significativas na estrutura microbiana, distinguindo-se das demais silagens (Figura 2).

Figura 2 - Índices de diversidade beta bacteriana (UniFrac não ponderada e UniFrac ponderada) em silagem de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem

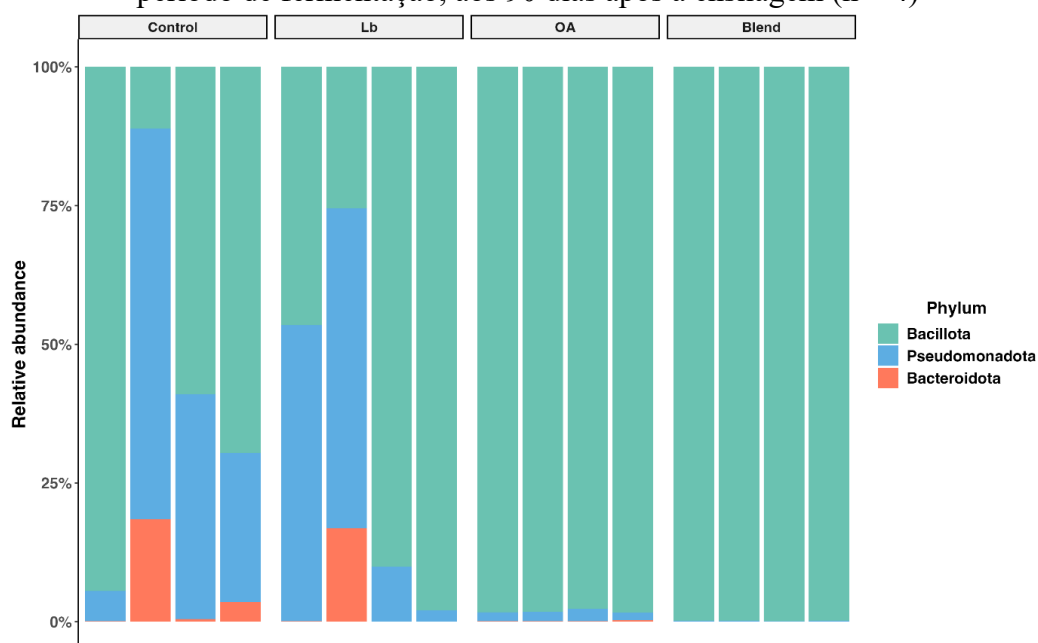


Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: Controle: sem aditivo; Lb: inoculante comercial à base de *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788; OA: aditivo químico à base de ácidos orgânicos Fresh CUT™ Plus; Blend: combinação de Lb + OA

A profundidade taxonômica dos grupos bacterianos foi caracterizada pela prevalência de três filos: *Bacillota*, *Pseudomonadota* e *Bacteroidota*. As silagens com OA e Blend apresentaram dominância de *Bacillota*, enquanto as silagens Controle e Lb mostraram comunidade bacteriana mais diversa entre as amostras (Figura 3).

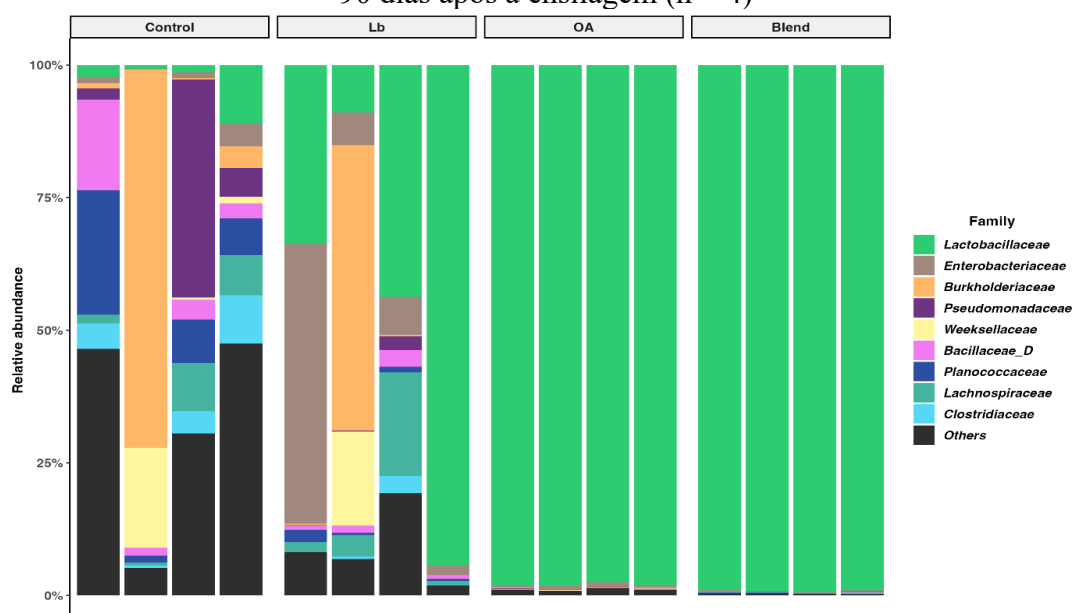
Figura 3 - Abundância relativa em nível de filo bacteriano em silagem de sorgo forrageiro BRS Ponta Negra com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem (n = 4)



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

A família *Lactobacillaceae* foi a principal responsável pela fermentação, dominando a diversidade metataxonômica nas silagens com Lb, OA e Blend. Em contraste, a silagem Controle exibiu aumento de outros táxons, como *Enterobacteriaceae*, *Burkholderiaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Bacillaceae_D*, *Planococcaceae* e *Clostridiaceae* (Figura 4).

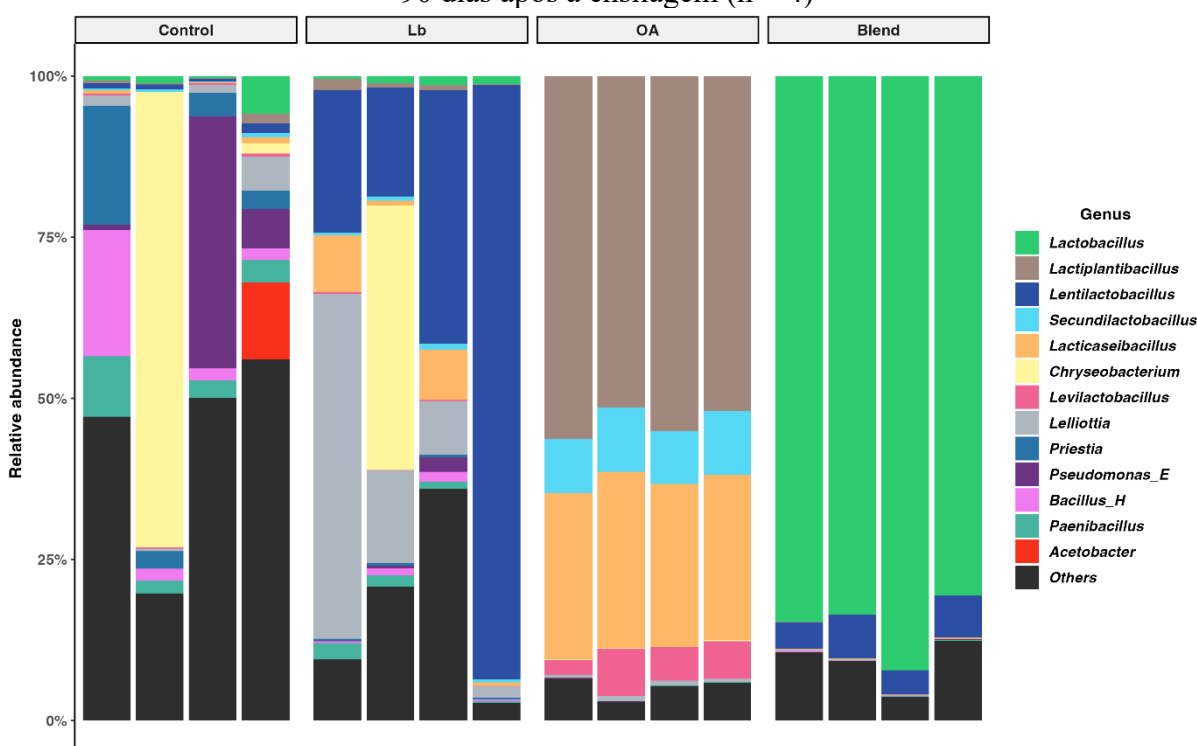
Figura 4 - Abundância relativa de famílias bacterianas em silagem de sorgo forrageiro com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem (n = 4)



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

O padrão fermentativo também foi influenciado pela inoculação, como mostrado pela abundância relativa dos gêneros bacterianos (Figura 5). O gênero *Lactobacillus* foi o mais prevalente nas silagens Blend, enquanto os gêneros *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus* e *Secundilactobacillus* predominaram na silagem OA, seguidos pelo gênero *Lentilactobacillus*, que foi mais predominante na silagem Lb. A silagem Controle apresentou mudança na diversidade metataxonômica, impulsionada por *Pseudomonas_E* e outros táxons não especializados em bactérias ácido-láticas, como o gênero *Priestia* (Figura 5).

Figura 5 - Abundância relativa de gêneros bacterianos em silagem de sorgo forrageiro com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem (n = 4)

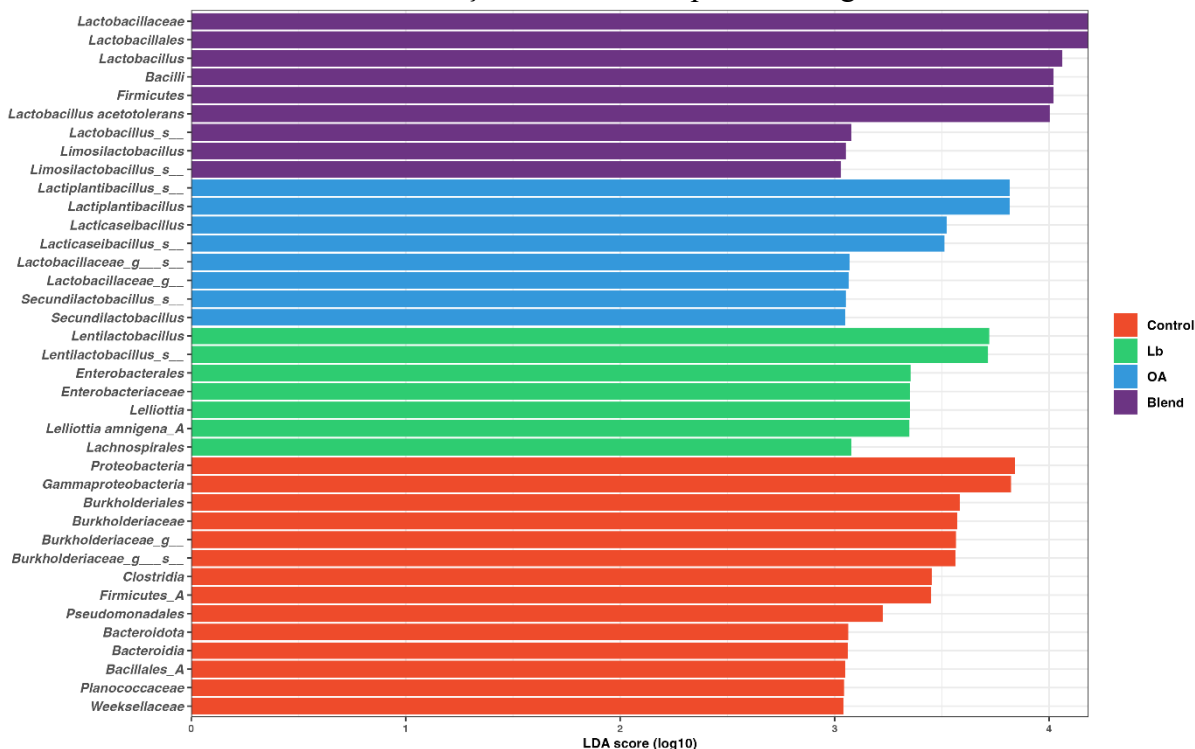


Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Conforme ilustrado na Figura 6, a análise de abundância diferencial revelou perfis taxonômicos distintos entre as silagens. A silagem Controle caracterizou-se pela predominância de táxons como *Proteobacteria* e *Bacteroidota*, ao passo que as silagens tratadas com Lb e OA promoveram gêneros específicos dentro da família *Lactobacillaceae*. O tratamento Blend também enriqueceu vários táxons relacionados a *Lactobacillus*, embora com composição diferente da observada nas demais silagens tratadas. Essa análise baseada em LEfSe (tamanho de efeito da LDA) destaca como a inclusão de inoculantes microbianos, aditivos químicos ou sua combinação influenciou seletivamente o enriquecimento de grupos bacterianos. É importante observar que a abundância diferencial foi avaliada entre grupos de tratamento e não

reflete índices globais de diversidade, como diversidade alfa ou beta.

Figura 6 - Abundância diferencial de gêneros bacterianos em silagem de sorgo forrageiro suplementada com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações durante o período de fermentação, aos 90 dias após a ensilagem



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

5 DISCUSSÃO

A hipótese de que aditivos químicos à base de ácidos orgânicos e inoculantes microbianos reduzem as perdas de MS, melhoram a composição química e aumentam a estabilidade aeróbia das silagens foi confirmada neste estudo.

5.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Embora os teores de Matéria seca (MS) observados tenham sido inferiores aos níveis recomendados por Kung Jr *et al.* (2018) para silagens de sorgo (280 a 320 g de MS/kg de matéria natural), o processo fermentativo não foi prejudicado. A redução do teor de MS durante o armazenamento pode ser atribuída ao aumento cumulativo das perdas de MS, fenômeno evidente nas silagens Controle, que apresentaram os menores teores de MS.

Nkosi *et al.* (2016) relataram que níveis de 250 g de MS/kg de matéria natural são suficientes para alcançar fermentação eficiente, sustentando a atividade da comunidade bacteriana em silagens de sorgo. Além disso, as menores perdas de MS em silagens tratadas

com aditivos químicos ou microbianos, em comparação com silagens não tratadas, são consistentes com os achados de Gandra *et al.* (2024). Vale destacar que a atividade microbiana de *L. buchneri* pode reduzir a conversão de PB em compostos nitrogenados solúveis, minimizando sua degradação durante a fermentação inicial (15 e 30 dias). Esse processo ajuda a preservar os níveis de PB nas silagens com aditivos, resultando em variação mínima dos níveis de nitrogênio amoniacal.

Umidade e tempo de armazenamento em silagens sem aditivos são fatores-chave que influenciam as perdas de proteína, pois favorecem a atividade de enterobactérias e, em alguns casos, de *Clostridium spp.* Nesse contexto, os aditivos testados demonstraram eficácia na preservação dos níveis de PB, sem diferenças significativas entre eles (Oliveira *et al.*, 2023). Nossos achados corroboram os resultados relatados por Nascimento *et al.* (2023), que avaliaram o efeito de *L. buchneri* e benzoato de sódio em silagens de sorgo e observaram que os aditivos contribuíram para a preservação dos níveis de PB na silagem.

As silagens tratadas com aditivos apresentaram menor teor de FDN, possivelmente devido à menor degradação de carboidratos não fibrosos (como açúcares, amido e pectinas) em comparação com a silagem Controle. Para aditivos à base de ácidos orgânicos, como o aditivo OA, sua ação pode acelerar a hidrólise de compostos estruturais, incluindo hemicelulose e pectinas. Esse processo aumenta sua solubilidade e promove sua degradação (Oliveira *et al.*, 2023). Como resultado, a fração mineral pode aumentar, levando à redução da proporção relativa de MO, o que explica os maiores teores de MM encontrados nas silagens OA e Blend.

5.2 CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS

Todas as silagens avaliadas apresentaram valores de pH abaixo de 4,0, o que indica fermentação adequada. Contudo, esses valores foram inferiores à faixa ideal sugerida por Kung Jr. *et al.* (2018). Silagens de sorgo são naturalmente ricas em carboidratos (CHS) e apresentam baixa capacidade tampão, resultando em rápida queda do pH nas fases iniciais da fermentação (Nascimento *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2023). Apesar disso, todos os aditivos reduziram o pH a níveis que inibem o crescimento de microrganismos indesejáveis, além de promoverem menores perdas de MS em comparação com a silagem Controle.

Foram observadas diferenças marcantes na eficiência fermentativa entre os aditivos testados. O aditivo Lb apresentou concentrações residuais de CHS semelhantes às observadas para os aditivos à base de ácidos orgânicos após 30 dias de fermentação. Entretanto, aos 90

dias, todos os aditivos foram eficazes na redução de perdas e no controle de fermentações secundárias. Destaca-se que a combinação de Lb com OA, resultando em Blend, promoveu maiores concentrações residuais de CHS, possivelmente devido a um efeito de diluição, já que os ácidos orgânicos limitam o crescimento de algumas espécies de bactérias ácido-láticas e de microrganismos indesejáveis. Esses achados corroboram estudos anteriores indicando que aditivos à base de ácidos orgânicos reduzem ou retardam a fermentação dos CHS em comparação com aditivos microbianos heterofermentativo (Salawu *et al.*, 2001; Adesogan *et al.*, 2002).

5.3 POPULAÇÕES MICROBIANAS

A análise das populações microbianas indicou que a adição do aditivo Lb à silagem resultou em predominância de bactérias ácido-láticas ao longo do período de armazenamento (30 e 90 dias), favorecendo a preservação desse grupo microbiano. O aumento inicial na população de bactérias ácido-láticas decorre da intensa acidificação, que estimula seu crescimento, como observado na silagem Blend após 15 dias de fermentação. Entretanto, à medida que o período fermentativo avança, a população de bactérias ácido-láticas tende a se estabilizar devido à acidez do meio (Li *et al.*, 2015).

Silagens com baixo pH apresentaram efeito inibitório sobre o crescimento de leveduras, especialmente aquelas tratadas com Lb e OA. Essa acidificação dificultou a degradação da proteína em nitrogênio amoniacal, criando ambiente favorável à produção de ácido láctico (Tyrolavá *et al.*, 2017). O efeito inibitório pode ser atribuído ao aumento das concentrações de ácido acético resultante da inoculação de Lb, que limita o desenvolvimento de leveduras. Além disso, o aditivo OA, composto por ácidos propiônico, benzoico e sórbico, apresentou fortes propriedades antifúngicas (Kleinschmit *et al.*, 2005).

A atividade antimicrobiana desses ácidos decorre de sua capacidade de atravessar a membrana celular na forma não dissociada, liberando íons hidrogênio no citoplasma. Isso resulta em queda do pH intracelular, levando a maior gasto energético para manutenção da homeostase celular e, por fim, à inibição ou interrupção do crescimento microbiano (Lambert; Stratford, 1999).

Todos os aditivos reduziram a população de fungos filamentosos após 90 dias de fermentação, com o aditivo Blend apresentando o melhor desempenho no controle de mofo. Como a fermentação da silagem é suscetível à proteólise e a danos fúngicos, especialmente

durante a exposição ao ar, os aditivos testados, compostos principalmente por sais de ácidos propiônico, benzoico e acético, parecem ter contribuído para mitigar esses efeitos (Junges *et al.*, 2017).

5.4 ÁCIDOS ORGÂNICOS

Silagens tratadas com Lb exibiram menores níveis de ácido láctico e maiores níveis de ácido acético. Isso se deve ao metabolismo heterofermentativo obrigatório de *L. buchneri*, capaz de converter ácido láctico em ácido acético, 1,2-propanodiol, ácido propiônico e, em menor extensão, dióxido de carbono. Esse processo justifica a menor relação ácido láctico/ácido acético observada neste estudo. Aos 30 e 90 dias, a relação dos ácidos láctico/acético permaneceu relativamente baixa no tratamento Lb, provavelmente devido ao aumento da produção de ácido acético resultante do metabolismo heterofermentativo de *L. buchneri*, que tende a direcionar a fermentação ao ácido acético ao longo do tempo, em vez do ácido láctico.

O teor de ácido propiônico foi mais alto na silagem tratada com OA devido à elevada concentração desse ácido orgânico no aditivo. Entretanto, níveis elevados de ácido propiônico também foram observados nos tratamentos Lb e Blend. Isso sugere produção ativa *in situ* de ácido propiônico, provavelmente por *L. buchneri*, conhecido por converter ácido láctico em ácido acético e 1,2-propanodiol, com subsequente produção de ácido propiônico sob determinadas condições. Essa via contribui para a melhora da estabilidade aeróbia observada nesses tratamentos (Oude Elferink *et al.*, 2001). Estudos anteriores demonstraram que o ácido propiônico inibe o crescimento microbiano, especialmente de fungos, e, em condições ácidas, reduz a taxa de crescimento e a atividade metabólica de leveduras, prolongando a estabilidade aeróbia (Weiss; Kroschewski; Auerbach, 2016; Torres *et al.*, 2021).

Para alcançar fermentação eficiente da silagem, propõe-se que os níveis de ácido butírico sejam mantidos abaixo de 5 g/kg de MS (Kung Jr *et al.*, 2018). No presente estudo, as concentrações de ácido butírico foram relativamente baixas e não tiveram efeito biológico significativo. Esses resultados concordam com os achados relatados por Wang *et al.* (2023), que avaliaram o uso de sais orgânicos como aditivos químicos na ensilagem, e por Gheller *et al.* (2021), que investigaram os efeitos do ácido propiônico durante o processo de ensilagem. Ambos os estudos observaram baixos níveis de ácido butírico na silagem, indicando processo fermentativo eficiente caracterizado pela predominância de bactérias ácido-láticas.

5.5 ESTABILIDADE AERÓBIA

Estudos anteriores mostraram que silagens de sorgo tipicamente apresentam baixa estabilidade aeróbia após a abertura do silo, resultando em perdas significativas e aumento de custos devido à necessidade de descartar silagem deteriorada, que frequentemente contém fungos ou outros sinais de degradação, como observado neste estudo para a silagem Controle. Essa instabilidade está ligada principalmente às grandes populações de leveduras e aos altos níveis residuais de CHS quando a silagem é exposta ao ar (Marte *et al.*, 2025).

No presente estudo, a silagem tratada com o aditivo Lb mostrou melhora da estabilidade aeróbia, mantendo-se por 144 h nos períodos de fermentação avaliados. Isso sugere que a taxa de aplicação do aditivo foi eficaz no controle de microrganismos deterioradores, principalmente por meio da produção de ácido acético. Além disso, as silagens com OA e Blend apresentaram melhora na estabilidade aeróbia em comparação com a silagem Controle. A eficácia desses aditivos em melhorar a estabilidade aeróbia é largamente determinada pelas doses aplicadas, que desempenham papel crucial no aprimoramento das características fermentativas da silagem.

Os resultados obtidos para OA e Blend são consistentes com os achados de Silva Neto *et al.* (2023), que demonstraram que o aditivo Mycoflake™, contendo ácido acético e ácido propiônico, também melhorou a estabilidade aeróbia em silagens de grão de milho. As propriedades antimicrobianas dos ácidos orgânicos inibem o crescimento de leveduras e fungos filamentosos, o que ajuda a preservar os nutrientes da silagem durante a exposição ao ar. Segundo Li *et al.* (2024), essa inibição da atividade de leveduras resulta em níveis aceitáveis de nitrogênio amoniacal e ácido butírico, reduzindo a deterioração da silagem em contato com o oxigênio.

Nesse contexto, Ranjit e Kung, Jr. (2000) relataram que a aplicação de *L. buchneri* na dose de 1×10^6 UFC/g proporcionou maior estabilidade à silagem de milho em comparação com aditivo à base de benzoato e propionato. Entretanto, quando aplicado em menor concentração, de 1×10^5 UFC/g, esse efeito foi reduzido. Ranjit e Kung, Jr. (2000) também observaram que doses abaixo de 2×10^5 UFC/g foram insuficientes para melhorar a estabilidade aeróbia da silagem de milho. No presente estudo, a taxa de aplicação de Lb foi de 3×10^5 UFC/g, o que produziu resultados satisfatórios. Contudo, a menor estabilidade aeróbia observada na silagem Blend pode ser atribuída ao fato de que, mesmo isoladamente, o aditivo

OA manteve estabilidade aeróbia aos 15 e 30 dias. Assim, em períodos prolongados, o aditivo pode perder eficácia antimicrobiana, possivelmente devido ao alto balanço de CHS residuais na silagem, o que favorece a atividade microbiana no material ensilado.

5.6 DIVERSIDADE DA COMUNIDADE BACTERIANA

A diversidade alfa foi elevada nas silagens Controle. Os índices de Simpson e Pielou foram menores nas silagens tratadas com Lb, indicando redução da diversidade microbiana, aspecto essencial para o sucesso da ensilagem (Kung Jr *et al.*, 2018). A resistência à sucessão microbiana observada nos tratamentos inoculados destaca a eficiência desses aditivos em melhorar a qualidade fermentativa.

Embora existam variações na composição das comunidades epifíticas em silagens de sorgo, a comunidade bacteriana que se desenvolve durante a fermentação difere significativamente da comunidade bacteriana inicial (Gharechahi *et al.*, 2017). Como esperado, a abundância relativa de bactérias ácido-láticas aumentou após a ensilagem, tornando-se o grupo dominante nas fases mais tardias da fermentação.

Na silagem Controle, os gêneros bacterianos dominantes foram semelhantes aos identificados por Parvin *et al.* (2010), Li e Nishino (2011a;2011b) e Ni *et al.* (2017). Esses estudos anteriores relataram *Enterobacter*, *Pseudomonadaceae* e *Clostridiaceae* como os principais grupos bacterianos encontrados em silagens de alta umidade. Esses microrganismos são bem adaptados a ambientes úmidos e de baixa acidez: *Enterobacter* e *Pseudomonadaceae* são anaeróbios facultativos que metabolizam rapidamente açúcares sob baixa tensão de oxigênio, enquanto *Clostridiaceae*, anaeróbios estritos, fermentam aminoácidos e carboidratos em compostos indesejáveis. Essa composição microbiana reflete processo fermentativo indesejável em silagens de alta umidade. A presença de *Clostridium* na silagem é problemática, pois suas atividades metabólicas convertem açúcares e proteínas em ácido butírico, afetando negativamente a qualidade fermentativa.

As mudanças na composição dos táxons bacterianos dominantes parecem estar correlacionadas com suas características fisiológicas e com sua adaptação às alterações ambientais induzidas pelos aditivos. Essa correlação explica a maior dominância de *Lactobacillus* nas silagens tratadas com a combinação de aditivos, como no caso do aditivo Blend. Em contraste, as silagens tratadas com OA mostraram prevalência de *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus* e *Secundilactobacillus*. Os gêneros bacterianos

identificados no estudo demonstraram correlação positiva com a produção de ácidos láctico, acético e propiônico.

Além disso, a abundância semelhante de *Lactobacillus*, *Lactiplantibacillus* e *Lacticaseibacillus*, combinada com a maior qualidade fermentativa das silagens tratadas com Blend e Lb, pode ser atribuída à maior produção de ácido láctico por bactérias ácido-láticas exógenas em comparação com as bactérias ácido-láticas epifíticas presentes na silagem Controle. Esse fenômeno explica os menores níveis de ácido láctico e a maior proporção de ácido acético nessas silagens, indicando processo fermentativo predominantemente heterofermentativo.

Estudos anteriores mostraram que tanto aditivos à base de ácidos orgânicos quanto inoculantes à base de *L. buchneri* aumentam a produção de ácidos acético e propiônico. Esses ácidos inibem a atividade de microrganismos indesejáveis, incluindo algumas bactérias ácido-láticas (Li e Nishiro, 2011b; Cai *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2016). Já Nascimento *et al.* (2023) relataram que a combinação de aditivos químicos e microbianos pode otimizar a dinâmica populacional de *Lactobacillus*. Essa combinação promove aumento significativo dessas bactérias no início da fermentação e prolonga sua atividade ao longo do período de armazenamento.

É importante destacar que *Lactobacillus*, *Lactiplantibacillus* e *Lacticaseibacillus* desempenham papéis importantes na modulação da microbiota durante a fermentação por meio da produção de compostos antimicrobianos. Esses metabólitos não apenas contribuem para a redução do pH, mas também exibem efeito antagônico contra várias bactérias intolerantes a ambiente ácidos. Isso aumenta a estabilidade aeróbia da silagem, otimiza a preservação de nutrientes e melhora a qualidade global da fermentação.

6 CONCLUSÃO

Aditivos químicos e microbianos melhoram a qualidade da silagem de sorgo forrageiro, reduzem perdas de matéria seca, preservam a composição química e aumentam a estabilidade aeróbia da silagem. A incorporação de *L. buchneri* e Fresh CUT™ Plus, seja individualmente ou em combinação, representa estratégia altamente eficaz para a produção de silagem de sorgo. Essa abordagem resulta em aumento substancial do acúmulo de ácido acético, ao mesmo tempo em que inibe de forma efetiva a proliferação de leveduras e fungos filamentosos. Tais modificações influenciam positivamente a dinâmica fermentativa, contribuindo para ambiente de silagem mais estável ao longo de 90 dias de armazenamento. Além disso, a avaliação do perfil de diversidade microbiana demonstra os efeitos benéficos desses aditivos na conservação da silagem, confirmando sua relevância para a manutenção da qualidade da silagem.

FINANCIAMENTO

Esta pesquisa foi financiada pelo apoio à produtividade em pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, código do projeto: PROCESS CNPQ-305017/2018-7.

REFERÊNCIAS

- ADESOGAN, A.T.; SALAWU, M.B. **Effect of Applying Formic Acid or *Lactobacillus buchneri* Inoculants with or without Homofermentative Lactic Acid Bacteria on the Fermentation Characteristics and Aerobic Stability of Intercropped Pea-Wheat Silages and Whole Crop Wheat or Pea Silages.** Journal of the Science of Food and Agriculture. 84, 983–992, 2002.
- ALVARES, C.A. *et al.* **Köppen's Climate Classification Map for Brazil.** Meteorologische Zeitschrift. 22, 711–728, 2002.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 15th ed.; AOAC International: Gaithersburg, MD, USA, 1990.
- BOLSEN, K.K. *et al.* **Effect of Silage Additives on the Microbial Succession and Fermentation Process of Alfalfa and Corn Silages.** Journal of Dairy Science, 75, 3066–3083, 1992.
- BOLYEN, E. *et al.* **Reproducible, Interactive, Scalable and Extensible Microbiome Data Science Using QIIME 2.** Nature Biotechnology. 37, 852–857, 2019.
- CAI, Y. *et al.* **Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage.** Journal of Dairy Science, 82, 520–526, 1999.
- CALLAHAN, B.J. *et al.* **DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data.** Nature Methods, 13, 581–583, 2016.
- DA SILVA NETO, A.B. *et al.* **Propionic acid-based additive with surfactant action on the feeding value of rehydrated corn grain silage for dairy cows performance.** Livestock Science 275, 105292, 2023.
- DUBOIS, M. *et al.* **Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances.** Analytical Chemistry. 28, 350–356, 1956.
- EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**, 3rd ed.; Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Ed.; Embrapa: Brasília, Brasil, 2013.
- FERREIRA, D.F. **Sisvar: A Computer Analysis System to Fixed Effects Split Plot Type Designs.** Brazilian Journal of Biometrics. 37, 529–535, 2019.
- FERREIRA, E. V. O. *et al.* **Ciclagem e balanço de potássio e produtividade de soja na integração lavoura-pecuária sob semeadura direta.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, v. 35, p. 161-169, 2011.
- FERRERO, F. *et al.* **Effects of Conservation Period and *Lactobacillus hilgardii* Inoculum on the Fermentation Profile and Aerobic Stability of Whole Corn and Sorghum Silages.** Journal of the Science of Food and Agriculture. 99, 2530–2540, 2019. DOI: 10.1002/jsfa.9463
- FILYA, I.; SUCU, E. **The Effects of Lactic Acid Bacteria on the Fermentation, Aerobic Stability and Nutritive Value of Maize Silage.** Grass and Forage Science. 65, 446–455, 2010.

GANDRA, J.R. *et al.* **Effect of Chemical and Microbial Additives on Fermentation Profile, Chemical Composition, and Microbial Populations of Whole-Plant Soybean Silage.** *Fermentation*. 10, 204, 2010.

GHARECHAHI, J. *et al.* **The dynamics of the bacterial communities developed in maize silage.** *Microbial Biotechnology*. 10, 1663–1676, 2017.

GHELLER, L.S. *et al.* **Different organic acid preparations on fermentation and microbiological profile, chemical composition, and aerobic stability of whole-plant corn silage.** *Animal Feed Science Technology*. 281, 115083, 2021.

HUISDEN, C.M. *et al.* **Effect of Applying Molasses or Inoculants Containing Homofermentative or Heterofermentative Bacteria at Two Rates on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage.** *Journal of Dairy Science*. 92, 690–697, 2009.

JUNGES, D. *et al.* **Short Communication: Influence of Various Proteolytic Sources during Fermentation of Reconstituted Corn Grain Silages.** *Journal of Dairy Science*. 100, 9048–9051, 2017.

KHOTA, W. *et al.* **Fermentation Quality and In Vitro Methane Production of Sorghum Silage Prepared with Cellulase and Lactic Acid Bacteria.** *Asian-Australas. Journal of Animal Science*. 30, 1568–1574, 2017. DOI: 10.5713/ajas.16.0502

KLEINSCHMIT, D.H.; SCHMIDT, R.J.; KUNG, L. **The Effects of Various Antifungal Additives on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage.** *Journal of Dairy Science*. 88, 2130–2139, 2005.

KOVANDA, L. *et al.* **In Vitro Antimicrobial Activities of Organic Acids and Their Derivatives on Several Species of Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria.** *Molecules*. 24, 3770, 2019.

KUNG, L. JR. *et al.* **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*. 86, 336–343, 2003.

KUNG, L. JR. *et al.* **The Effects of Air Stress during Storage and Low Packing Density on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage Inoculated with *Lactobacillus buchneri* 40788.** *Journal of Dairy Science*. 104, 4206–4222, 2021.

KUNG, L., JR. *et al.* **Silage Review: Interpretation of Chemical, Microbial, and Organoleptic Components of Silages.** *Journal of Dairy Science*. 101, 4020–4033, 2018.

LAMBERT, R.J.; STRATFORD, M. **Weak-Acid Preservatives: Modelling Microbial Inhibition and Response.** *Journal of Applied Microbiology*. 86, 157–164, 1999.

LI, D. *et al.* **Identification and Antimicrobial Activity Detection of Lactic Acid Bacteria Isolated from Corn Stover Silage.** *Asian-Australas. Journal of Animal Science*. 28, 620–631, 2015.

LI, P *et al.* **Effects of chemical additives on the fermentation quality and N distribution of alfalfa silage in south of China.** *Journal Animal Science*. 87, 1472–1479, 2016.

- LI, X. *et al.* **Improving total mixed ration silage: Effects of lactic acid bacteria inoculants and antimicrobial additives on fermentation quality and aerobic stability.** *Agronomy*. 14, 1602, 2024.
- LI, Y. NISHINO, N. **Monitoring the bacterial community of maize silage stored in a bunker silo inoculated with *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*.** *Journal of Applied Microbiology*. 110, 1561–1570, 2011b.
- LI, Y; NISHINO, N. **Bacterial and fungal communities of wilted Italian ryegrass silage inoculated with and without *Lactobacillus rhamnosus* or *Lactobacillus buchneri*.** *Letters in Applied Microbiology* 52, 314–321, 2011a.
- LIMA, R. *et al.* **Effect of Combined Ensiling of Sorghum and Soybean with or without Molasses and Lactobacilli on Silage Quality and In Vitro Rumen Fermentation.** *Animal Feed Science and Technology*. 155, 122–131, 2010. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2009.10.008
- LOZUPONE, C.A.; KNIGHT, R. **The Unifrac Significance Test Is Sensitive to Tree Topology.** *BMC Bioinformatics*. 16, 211, 2015.
- MAGALHÃES, F.A. *et al.* **Chemical Composition and Fermentative Losses of Sugar Cane Ensilage with Different Brix Degrees, with or without Calcium Oxide.** *Revista Brasileira de Zootecnia*. 41, 256–263, 2012.
- PEREIRA, D.M. *et al.* **Forage cactus as a modulator of forage sorghum silage fermentation: An alternative for animal feed in drylands.** *Chilean Journal of Agricultural Research*. 85, 47–56, 2025.
- NASCIMENTO, M.E.L. *et al.* **Effect of *Lactobacillus buchneri* and Sodium Benzoate on the Fermentative Profile, Bacterial Taxonomic Diversity, and Aerobic Stability of Sorghum Silages at Different Fermentation Times.** *Chilean Journal of Agricultural Research*. n. 83, 539–552, 2023.
- NI, K *et al.* **Effects of lactic acid bacteria and molasses additives on the microbial community and fermentation quality of soybean silage.** *Bioresource Technology*. 238, 706–715, 2017.
- NKOSI, B.D. *et al.* **Effects of Ensiling Forage Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) with or without Bacterial Inoculants on the Fermentation Characteristics, Aerobic Stability and Nutrient Digestion of the Silage by Damara Rams.** *Small Ruminant Research*. 134, 90–96, 2016.
- OGUNADE, I.M. *et al.* **Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and Bacterial Diversity in Corn Silage Contaminated with the Pathogen and Treated with Chemical or Microbial Additives.** *Journal of Dairy Science*. 100, 1780–1794, 2017.
- OLIVEIRA, K.S. *et al.* **Effect of Length of Storage and Chemical Additives on the Nutritive Value and Starch Degradability of Reconstituted Corn Grain Silage.** *Agronomy*. 13, 209, 2023.
- OUDE ELFERINK, S.J.W.H. *et al.* **Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*.** *Applied and Environmental Microbiology*. 67, 125–132, 2001.

- PARVIN, S. *et al.* **Effects of inoculation with lactic acid bacteria on the bacterial communities of Italian ryegrass, whole crop maize, guinea grass and rhodes grass silages.** *Animal Feed Science Technology*. 160, 160–166, 2010.
- PY'S, J.B.; KARPOWICZ, A.; SZALAŁATA, A. **THE Effect of Harvest Date and Additives on Chemical Composition and Aerobic Stability of Sorghum Silage.** *Slovak. Journal of Animal Science*. 43, 187–194, 2010.
- QUEIROZ, O.C.M. *et al.* **Effects of 8 Chemical and Bacterial Additives on the Quality of Corn Silage.** *Journal of Dairy Science*. 96, 5836–5843, 2013. DOI: 10.3168/jds.2013-6691;
- RANJIT, N.K.; KUNG, L., JR. **The Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a Chemical Preservative on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage.** *Journal of Dairy Science*. 83, 526–535, 2000.
- RODRIGUES, P.H.M. *et al.* **Sorghum Silage Quality as Determined by Chemical-Nutritional Factors.** *Grass and Forage Science*. 75, 462–473, 2020.
- SALAWU, M.B.; WARREN, E.H.; ADESOGAN, A.T. **Fermentation Characteristics, Aerobic Stability and Ruminal Degradation of Ensiled Pea/Wheat Bi-Crop Forages Treated with Two Microbial Inoculants, Formic Acid or Quebracho Tannins.** *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81, 1263–1268, 2001.
- SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M.L. (Eds.) **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**; American Public Health Association: Washington, DC, USA, 2015.
- SANTOS, A.C.P. *et al.* **Fermentation Profile, Microbial Populations and Aerobic Stability of Sorghum Silages Enriched with Urea and *Lactobacillus buchneri*.** *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 66, 128–144, 2023.
- SANTOS, A.P.M. *et al.* **Effects of Urea Addition on the Fermentation of Sorghum (*Sorghum bicolor*) Silage.** *African Journal of Range & Forage Science*. 35, 55–62, 2018.
- SEGATA, N. *et al.* **Metagenomic Biomarker Discovery and Explanation.** *Genome Biology*. 12, R60, 2011.
- SIEGFRIED, R.; RUCKEMANN, H.; STUMPF, G. **Method for the Determination of Organic Acids in Silage by High-Performance Liquid Chromatography.** *Landwirtsch. Forsch.* 37, 298–304, 1984.
- TABACCO, E. *et al.* **Clostridia Spore Formation during Aerobic Deterioration of Maize and Sorghum Silages as Influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* Inoculants.** *Journal of Applied Microbiology*. 107, 1632–1641, 2009. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04344.x
- THOMAS, M.E. *et al.* **Nutritive Value, Fermentation Characteristics, and in Situ Disappearance Kinetics of Sorghum Silage Treated with Inoculants.** *Journal of Dairy Science*. 96, 7120–7131, 2013. DOI: 10.3168/jds.2013-6635
- THUKRAL, A.K. **A Review on Measurement of Alpha Diversity in Biology.** *Agricultural Research Journal*. 54, 1–10, 2017.

TORRES, R.N.S. *et al.* **Meta-analysis of the effects of silage additives on high-moisture grain silage quality and performance of dairy cows.** *Livestock Science.* 251, 104618, 2021.

TYROLOVÁ, Y.; BARTOŠ N, L.; LOUČKA, R. **Effects of Biological and Chemical Additives on Fermentation Progress in Maize Silage.** *Czech Journal of Animal Science.* 62, 306–312, 2017.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. **Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition.** *Journal of Dairy Science.* 74, 3583–3597, 1991.

WANG, S. *et al.* **Influences of organic acid salts and bacterial additives on fermentation profile, aerobic stability, and in vitro digestibility of total mixed ration silage prepared with wet hulless barley distillers' grains.** *Agronomy.* 13, 672, 2023.

WEISS, K.; KROSCHEWSKI, B.; AUERBACH, H. **Effects of Air Exposure, Temperature and Additives on Fermentation Characteristics, Yeast Count, Aerobic Stability and Volatile Organic Compounds in Corn Silage.** *Journal of Dairy Science.* 99, 8053–8069, 2016.

CAPÍTULO II

DESEMPENHO DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS À BASE DE SILAGENS DE SORGO TRATADAS COM ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS

DESEMPENHO DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS À BASE DE SILAGENS DE SORGO TRATADAS COM ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIANOS

RESUMO

Este estudo avaliou os efeitos de silagens de sorgo tratadas com aditivos químicos, microbianos e combinados sobre a qualidade fermentativa, a estabilidade aeróbia, a composição nutricional e o desempenho produtivo de ovinos confinados. Foram utilizados quarenta ovinos machos não castrados, distribuídos em quatro tratamentos: (sem aditivo (Controle); inoculante comercial à base de *Lentilactobacillus. buchneri* (Lb); aditivo à base de ácidos orgânicos (OA) e; Lb combinado com OA (Blend)). As silagens foram avaliadas após 90 dias de armazenamento, e os animais permaneceram confinados por 60 dias, recebendo dietas ajustadas individualmente. As dietas foram fornecidas na forma de ração total misturada, composta por silagem de sorgo, milho moído, torta de algodão, ureia, suplemento mineral e sulfato de amônio, sendo os ingredientes concentrados misturados à silagem no momento do fornecimento. Não foram observadas diferenças significativas no consumo de matéria seca entre os tratamentos. Entretanto, os animais alimentados com silagens tratadas, especialmente com a combinação de aditivos, apresentaram maior ingestão de carboidratos não fibrosos e de energia metabolizável. A digestibilidade da matéria seca, da matéria orgânica, da proteína bruta e do extrato etéreo foi maior com o uso de aditivos, particularmente no tratamento combinado (Blend), que também apresentou o maior teor de nutrientes digestíveis totais. O ganho de peso diário foi maior nos ovinos alimentados com silagens tratadas com ambos os aditivos. Além disso, os aditivos melhoraram a estabilidade aeróbia e reduziram as perdas por descarte durante o período de alimentação. Portanto, a aplicação de aditivos químicos e microbianos à silagem de sorgo promoveu melhor preservação de nutrientes, melhor perfil fermentativo e maior estabilidade aeróbia, resultando em maior utilização de nutrientes e melhor desempenho produtivo em ovinos.

Palavras-chave: bactérias ácido-láticas. estabilidade aeróbia. produção animal. semiárido.

IMPACT OF CHEMICAL AND MICROBIAL ADDITIVES ON THE QUALITY OF FORAGE SORGHUM SILAGE THROUGHOUT THE FERMENTATION PROCESS

ABSTRACT

This study evaluated the effects of sorghum silages treated with chemical, microbial, and combined additives on fermentative quality, aerobic stability, nutritional composition, and productive performance of confined sheep. Forty uncastrated male sheep were used, distributed among four treatments: (no additive (Control); commercial inoculant based on *Lentilactobacillus buchneri* (Lb); additive based on organic acids (OA); Lb combined with OA (Blend)). The silages were evaluated after 90 days of storage, and the animals were confined for 60 days, receiving individually adjusted diets. The diets were provided as a total mixed ration composed of sorghum silage, ground corn, cottonseed cake, urea, mineral supplement, and ammonium sulphate, with the concentrate ingredients being mixed with the silage at the time of feeding. No significant differences in dry matter intake were observed among treatments. However, animals fed treated silages, especially with the combination of additives, showed greater intake of non-fibrous carbohydrates and metabolisable energy. The digestibility of dry matter, organic matter, crude protein, and ether extract was higher with the use of additives, particularly in the combined treatment (Blend), which also presented the highest total digestible nutrient content. Daily weight gain was greater in sheep fed silages treated with both additives. Furthermore, the additives improved aerobic stability and reduced discard losses during the feeding period. Therefore, the application of chemical and microbial additives to sorghum silage promoted better nutrient preservation, fermentative profile, and aerobic stability, resulting in greater nutrient utilisation and improved productive performance in sheep.

Keywords: lactic acid bacteria. aerobic stability. animal production. semiarid.

1 INTRODUÇÃO

A conservação de forragens por meio da ensilagem é uma prática amplamente adotada na pecuária, assegurando oferta contínua de alimento para ruminantes durante períodos de escassez de forragem. Embora o milho (*Zea mays*) seja tradicionalmente considerado uma cultura-padrão para silagem devido ao seu elevado valor energético e à boa fermentação, seu cultivo é limitado em regiões com déficit hídrico e solos menos férteis (Borba *et al.* 2012). Nesse contexto, o sorgo (*Sorghum bicolor*) destaca-se como alternativa ao milho por apresentar maior eficiência no uso da água, menor exigência em fertilidade do solo, tolerância ao estresse hídrico, alto potencial produtivo e menor custo de produção, especialmente em regiões semiáridas (Führ *et al.* 2023).

Embora a rápida queda do pH seja essencial para estabilizar a massa ensilada, valores excessivamente baixos, especialmente abaixo de 3,5, indicam fermentação alcoólica indesejável conduzida por leveduras, microrganismos acidotolerantes que permanecem ativos mesmo em ambientes muito ácidos. Esse tipo de fermentação resulta em maior consumo de carboidratos solúveis em água, produção de etanol e aumento das perdas de matéria seca (MS), comprometendo a estabilidade aeróbia após a abertura do silo. Assim, manter os valores de pH dentro da faixa ideal de 3,8 a 4,2 é essencial para assegurar bons padrões fermentativos, minimizar perdas e preservar o valor nutritivo da silagem (Pereira *et al.* 2025). Portanto, torna-se essencial o uso de aditivos para superar problemas durante o processo fermentativo e após a abertura do silo.

Entre os aditivos utilizados em silagem, destaca-se a linhagem *Lentilactobacillus buchneri*, comprovadamente eficaz em melhorar a estabilidade aeróbia da massa (Tabacco *et al.* 2009, 2011). Sua ação se deve à capacidade de inibir microrganismos deterioradores, como leveduras e fungos filamentosos (Gul *et al.* 2023). Por ser uma bactéria heterofermentativa, atua convertendo ácido láctico em ácido acético, composto com elevada propriedade antifúngica, o que resulta em aumento significativo do tempo de estabilidade aeróbia após a abertura do silo (Kung *et al.* 2018). Assim, ao inibir o desenvolvimento de fungos e leveduras, o ácido acético evita o aquecimento da silagem e o aumento do pH. Esse mecanismo é crucial para reduzir perdas por descarte, preservando o valor nutritivo e a qualidade higiênica do material após sua exposição ao oxigênio (Nascimento *et al.* 2023; Santos *et al.* 2023). Estudos recentes mostram que a aplicação desse inoculante pode elevar em até 40% a estabilidade aeróbia da silagem,

assegurando melhor conservação ao longo do período de armazenamento (Basso *et al.* 2014).

Os ácidos orgânicos também são amplamente utilizados em silagem como conservantes, por possuírem propriedades antimicrobianas que limitam a proliferação de microrganismos indesejáveis. Propionato de cálcio e diacetato de sódio são exemplos de aditivos químicos usados para melhorar a qualidade fermentativa e reduzir perdas nutricionais durante o armazenamento da silagem (Dai *et al.* 2022). Esses compostos ajudam a estabilizar o pH da silagem e a aumentar a digestibilidade dos nutrientes pelos ruminantes, favorecendo o desempenho animal. Estudos recentes indicam que a adição de ácidos orgânicos pode reduzir as concentrações de amônia na silagem, minimizar perdas proteicas e melhorar a conversão alimentar em ovinos confinados (Gandra *et al.* 2024).

A literatura sugere que a combinação dessas tecnologias pode produzir efeitos sinérgicos. Pesquisas com outras forragens indicam que a associação de *L. buchneri* com ácidos orgânicos melhora a qualidade fermentativa, reduz as perdas por deterioração e ajuda a manter o valor nutritivo (Bumbieris-Junior *et al.* 2021; Führ *et al.* 2023). Contudo, há escassez de estudos sistemáticos avaliando esses efeitos em silagens de sorgo destinadas à alimentação de ovinos.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da adição de *L. buchneri*, ácidos orgânicos e sua combinação sobre a qualidade fermentativa, a estabilidade aeróbia e o valor nutritivo da silagem de sorgo forrageiro, bem como sobre o desempenho produtivo de ovinos confinados. A hipótese é que o uso combinado desses aditivos melhora a qualidade da silagem e promove melhores respostas em consumo, digestibilidade e ganho de peso dos animais.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente ensaio foi conduzido em conformidade com os padrões éticos vigentes no Brasil para experimentação animal, estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal da Paraíba (Protocolo nº 5391070619/2019).

O experimento foi realizado na Estação Experimental Benjamim Maranhão, pertencente à Empresa Paraibana de Pesquisa, Extensão Rural e Regularização Fundiária

(EMPAER), localizada em Tacima-PB, Brasil (latitude 6°29'18,42" S, longitude 35°37'57,17" W, altitude 162 m). A região integra a Zona Semiárida Brasileira, conforme definida pelo Ministério da Integração Nacional (2005), com base em critérios como índice pluviométrico, índice de aridez e risco de seca. O clima local é classificado como tropical semiárido, com chuvas concentradas no verão e precipitação média anual de 432 mm.

2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Adotou-se delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e dez repetições por tratamento, considerando-se cada animal como uma unidade experimental. Os tratamentos foram os seguintes:

Os quatro tratamentos com aditivos consistiram sem aditivo (Controle); Inoculante comercial à base de *Lentilactobacillus buchneri* (Lb; NCIMB 40788—Lallemand®, Santa Helena de Goiás, GO, Brasil), aplicado a 3×10^{11} unidades formadoras de colônia (UFC/g), diluído em 500 mL de água destilada; aditivo à base de ácidos orgânicos (OA; Fresh CUT™ Plus—Kemin South America, Indaiatuba, SP, Brasil), aplicado a 0,5 kg/t de matéria natural; e a combinação de *L. buchneri* com AO (Blend).

2.3 CULTIVO E ENSILAGEM

O sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* L. Moench), cultivar BRS Ponta Negra, foi cultivado em uma propriedade localizada no município de Riachão-PB, Brasil (6°32'13,56" S; 35°39'4,85" W; altitude de 188 m), região com clima classificado como *As'* (semiárido quente com chuvas concentradas no outono-inverno), segundo a classificação de Köppen (Alvares *et al.* 2013). A semeadura ocorreu em 22 de março de 2023, com espaçamento entre linhas de 0,80 m e densidade de plantio de 74.100 sementes por hectare. O preparo do solo incluiu descompactação e gradagem com uso de trator equipado com grade hidráulica.

A semeadura foi realizada manualmente com matraca (Semeadora Krupp®, São Leopoldo-RS, Brasil). A adubação de base consistiu em 100 kg/ha de superfosfato simples (Fertilizantes Heringer®, São Paulo – SP, Brasil). A adubação de cobertura foi realizada no estádio V4, com aplicação de 45 kg/ha de nitrogênio na forma de ureia (Fertilizantes Heringer®, São Paulo – SP, Brasil), seguindo as recomendações da 5ª Aproximação para o Uso de Corretivos e Fertilizantes em Minas Gerais (Ribeiro *et al.* 1999).

A colheita foi realizada em 23 de julho de 2023, quando as plantas apresentavam grãos

em estágio pastoso, com teor de MS de aproximadamente 30%. A forragem foi colhida manualmente e picada com equipamento acoplado à tomada de potência do trator, regulado para produzir partículas com tamanho médio de 15 mm.

Para cada tratamento, foram utilizados 2.000 kg de forragem picada, distribuídos sobre piso de concreto para homogeneização e aplicação dos aditivos, seguindo as instruções do fabricante. A aplicação foi feita com pulverizador manual (1,5 L, Ducampo, Bartofil Distribuidora S/A, Ponte Nova – MG, Brasil), assegurando distribuição uniforme sobre a massa de forragem. O material foi então acondicionado em sacos plásticos laminados de polietileno com capacidade de 100 L, que serviram como silos experimentais. Foram preparados 22 silos por tratamento. O material foi compactado manualmente para atingir densidade final de aproximadamente 500 kg/m³, resultando em massa média de 90 kg de silagem por saco. Após o fechamento, os silos permaneceram vedados por período de ensilagem de 90 dias.

2.4 TEMPERATURA DA SILAGEM E DESCARTE

Após a abertura dos silos, a temperatura interna (°C) de seis sacos por tratamento foram medidas em 0, 24, 48 e 72 h de exposição ao ar. Além disso, os descartes de silagem foram quantificados com base em sinais visuais de deterioração, como a presença de fungos filamentosos, e os dados utilizados para estimar as perdas por descarte por saco.

2.5 MANEJO DOS ANIMAIS

Foram utilizados 40 ovinos machos, não castrados, mestiços, com idade média de 15 meses e peso corporal inicial de $15 \pm 2,5$ kg. Os animais foram identificados com coleiras numeradas, vermifugados, pesados e distribuídos aleatoriamente entre os tratamentos. Todos os animais alojados em baias individuais medindo 2,0 × 2,0 m, equipadas com comedouros, bebedouros e saleiros. As instalações higienizadas periodicamente.

Os animais permaneceram confinados por 60 dias, sendo os primeiros 10 dias destinados à adaptação às dietas e às instalações, seguidos por um período experimental de 50 dias. As dietas foram fornecidas como ração total misturada, composta por silagem de sorgo, milho moído, torta de algodão, ureia, suplemento mineral e sulfato de amônio (Tabelas 1 e 2). O alimento foi fornecido *ad libitum* duas vezes ao dia (às 7:00 e às 15:00h). A oferta foi ajustada diariamente para assegurar sobras equivalentes a aproximadamente 10% da quantidade total fornecida. As dietas experimentais foram formuladas para serem isonitrogenadas, atendendo às

exigências nutricionais de ovinos com ganho de peso diário estimado em 200 g, conforme recomendado pelo NRC (2007). O consumo de água foi monitorado diariamente por meio da pesagem do volume fornecido a cada manhã.

Tabela 1 - Composição química das silagens e dos ingredientes das dietas

Variável	Controle	OA	Lb	Blend	Milho	Torta de algodão
MS ^a (g/kg matéria fresca)	345	357	347	344	886	911
Cinzas (g/kg MS)	58,2	71,6	58,0	45,2	25,4	39,7
MO ^b (g/kg MS)	941	928	941	954	974	960
PB ^c (g/kg MS)	47,3	45,8	47,6	45,6	71,4	288
FDN ^d (g/kg MS)	697	671	694	677	134	470
FDA ^e (g/kg MS)	608	594	632	574	284	767
EE ^f (g/kg MS)	20,1	18,9	21,8	22,7	33,0	81,3
CNF ^g (g/kg MS)	177	192	177	209	735	120

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a MS = matéria seca; ^b MO = matéria orgânica; ^c PB = proteína bruta; ^d FDN = fibra em detergente neutro; ^e FDA = fibra em detergente ácido; ^f EE = extrato etéreo; ^gCNF = carboidratos não fibrosos

Tabela 2 - Proporção dos ingredientes e composição química das dietas em g/kg, com base na matéria seca

Ingredientes / Composição	Dietas Experimentais			
	Controle	OA	Lb	Blend
	Proporção de ingredientes (g/kg)			
Silagem Controle	538	—	—	—
Silagem OA	—	510	—	—
Silagem Lb	—	—	501	—
Silagem Blend	—	—	—	474
Milho	165	175	203	196
Torta de algodão	266	283	266	300
Ureia	8.97	9.54	8.95	8.68
Núcleo mineral	10.6	11.2	10.5	10.2
Sulfato de amônio	9.73	9.27	9.71	9.41
	Composição química			
MS ^a (g/kg matéria fresca)	483	507	512	535
Cinzas (g/kg MS)	56.8	63.5	62.2	61.2
MO ^b (g/kg MS)	943	936	937	938
PB ^c (g/kg MS)	152	156	152	158
FDNcp ^d (g/kg MS)	523	499	500	489
FDACP ^e (g/kg MS)	579	571	579	559
EE ^f (g/kg MS)	38.0	38.5	39.3	41.7
CNF ^g (g/kg MS)	249	261	270	280

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a MS = matéria seca; ^b MO = matéria orgânica; ^c PB = proteína bruta; ^d FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; ^e FDAcp = fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína; ^f EE = extrato etéreo; ^g CNF = carboidratos não fibrosos

Os animais foram pesados a cada 14 dias, a partir do primeiro dia do período experimental, sempre após jejum de 16 horas de alimento e água, para determinação do peso corporal (Thornton, 1969). As quantidades de alimento fornecido e das sobras foram registradas diariamente, com as pesagens realizadas na manhã subsequente ao fornecimento.

Amostras representativas das dietas fornecidas e das sobras foram coletadas semanalmente. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 h e, em seguida, moídas em moinho de facas tipo Willey, usando peneiras de 1 mm para ingredientes, dieta e sobras, e peneiras de 2 mm para amostras fecais. As amostras moídas foram armazenadas em recipientes apropriados para análises posteriores. Ao final do experimento, as amostras semanais de cada animal foram reunidas para formar uma única amostra composta representativa por unidade experimental, essas amostras compostas foram encaminhadas ao Laboratório de Análise de Alimentos do Instituto Nacional do Semiárido (INSA), em Campina Grande-PB, Brasil, para análise (Tabela 3).

Tabela 3 - Caracterização das populações microbianas e do perfil fermentativo das silagens de sorgo tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações

Variável	Dietas Experimentais			
	Controle	OA	Lb	Blend
pH ^a	3,56	3,62	3,70	3,58
CSA ^b (g/kg MS ^c)	34,5	35,3	35,4	38,1
NH ₃ -N ^d (g/kg N total)	8,1	7,9	8,5	9,7
BAL ^e (UFC ^f /g silagem)	6,76	6,54	6,91	6,64
Leveduras (UFC/g silagem)	2,71	1,89	1,92	2,38
Fungos (UFC/g silagem)	4,11	2,61	2,34	2,85
Ácido lático (g/kg MS)	62,4	59,5	57,9	61,2
Ácido acético (g/kg MS)	31,5	30,5	39,5	28,2
Relação AL:AA ^g	1,97	1,97	1,51	2,18
Ácido propiônico (g/kg MS)	13,6	22,1	13,9	18,8
Ácido butírico (g/kg MS)	0,02	0,02	0,01	0,02

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a pH = potencial hidrogeniônico; ^b CSA = carboidratos solúveis em água; ^c MS = matéria seca; ^d NH₃-N = nitrogênio amoniacal; ^e BAL = bactérias ácido lácticas; ^f UFC = unidades formadoras de colônia; ^g Relação AL:AA = relação ácido lático:ácido acético

2.6 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E BROMATOLÓGICA

As análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), Cinzas (CZ) e extrato etéreo

(EE) foram realizadas conforme os métodos analíticos descritos pela AOAC (2000): (MS, método 920.39); (PB, método 954.01); (MM, método 942.05); e (EE, método 920.39).

As frações de parede celular, fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), foram determinadas segundo a metodologia proposta por Van Soest *et al.* (1991), adaptada por Detmann *et al.* (2012). A FDN foi corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), com os resíduos das análises de FDN e FDA incinerados em mufla a 600 °C por 2 h. A correção para proteína insolúvel baseou-se na determinação da proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), conforme os procedimentos descritos por Mertens *et al.* (2002) e Licitra *et al.* (1996).

O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculado segundo Hall (2000), pela equação: $CNF = 100 - ((\%PB - \%PB \text{ derivada da ureia} + \% \text{ proveniente da ureia}) + \%FDNcp + \%EE + \%cinzas)$. A estimativa dos nutrientes digestíveis totais (NDT) foi realizada usando a equação descrita por Weiss (1999): $NDT = dPB + dCNF + dFDNcp + (dEE \times 2,25)$.

Em que:

dPB = proteína bruta digestível;

dCNF = carboidratos não fibrosos digestíveis;

dFDNcp = fração digestível da fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína bruta;

dEE = extrato etéreo digestível.

O fator 2,25 aplicado a dEE considera o maior valor energético da fração lipídica em comparação com as demais frações.

Para estimar a energia digestível (ED) e a energia metabolizável (EM), foram utilizadas as equações propostas por Sniffen *et al.* (1992), expressas em megajoules por kg de MS (MJ/kg MS):

$$ED \text{ (MJ/kg MS)} = (18,447 \times NDT)/100$$

$$EM \text{ (MJ/kg MS)} = 0,82 \times ED$$

2.7 CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E DESEMPENHO

O consumo de matéria seca (CMS) e o consumo de nutrientes (em kg/dia e porcentagem do peso corporal - PC) foram determinados por meio do registro diário do alimento fornecido e das sobras. O CMS foi calculado como a diferença entre a MS fornecida

e as recusas individuais ao longo de todo o período experimental.

Com base na diferença entre a quantidade fornecida e as sobras, foram calculados os consumos de matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro (CFDN), extrato etéreo (CEE) e carboidratos não fibrosos (CCNF), expressos em (g/dia). O consumo de água via alimento foi estimado pela fórmula: (consumo na matéria natural $\times$ % de água da dieta)/100), sendo o resultado expresso em (kg/dia). O consumo total de água foi medido diariamente como a diferença entre a água fornecida e a sobra, corrigida pelas perdas evaporativas. Para essa correção, três baldes foram distribuídos aleatoriamente no aprisco, preenchidos com volume semelhante ao ofertado aos animais; após 24 h, a perda evaporativa média foi subtraída do consumo bruto.

A digestibilidade aparente dos nutrientes foi estimada por meio de amostragem fecal e do uso de um marcador interno, a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). As amostras foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais (coleta pontual) nos dias 16, 17 e 18 dos períodos experimentais, em dois turnos, às 2, 4 e 6 h após a alimentação, segundo Silva *et al.* (2005). As amostras fecais foram congeladas (-18°C), homogeneizadas para formar uma amostra composta por animal, secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 h e moídas (peneira de 2 mm, moinho tipo Willey). Para determinação da FDNi, as amostras foram incubadas *in situ* por 240 h, em duplicata, utilizando-se sacos de tecido não tecido (TNT, 100 g/m^2 , $5 \times 5\text{ cm}$) colocados no rúmen de um bovino fistulado do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba. Após esse período, os sacos foram lavados, secos ($55^{\circ}\text{C}/72\text{ h}$) e pesados, conforme Casali *et al.* (2008).

A digestibilidade da matéria seca (DMS), da matéria orgânica (DMO), da proteína bruta (DPB), do extrato etéreo (DEE), da fibra em detergente neutro (DFDN) e dos carboidratos não fibrosos (DCNF) das silagens na forma de dieta foi obtida a partir do indicador interno escolhido, que neste estudo foi a FDNi. Utilizou-se a seguinte equação: (Digestibilidade = $100 - (100 \times (\% \text{ Indicador no alimento} / \% \text{ Indicador nas fezes}) \times (\% \text{ Nutriente no alimento} / \% \text{ Nutriente nas fezes}))$).

Para avaliação do desempenho, foram determinados os seguintes parâmetros: consumo de matéria seca (CMS), ganho de peso total (GPT), peso corporal inicial (PCI), peso corporal final (PCF), ganho médio diário (GMD), conversão alimentar (CA) e eficiência alimentar (EF), usando-se as seguintes fórmulas:

$$\text{GPT} = \text{PCF} - \text{PCI}$$

$$\text{GMD} = \text{GPT}/50 \text{ dias}$$

$$\text{CA} = \text{CMS}/\text{GMD}$$

$$\text{EF} = \text{GMD}/\text{CMS}$$

O CMS utilizado na equação para determinar EF e CA refere-se ao CMS médio por tratamento acumulado ao longo do período experimental de 50 dias.

2.8 PERFIL FERMENTATIVO E POPULAÇÕES MICROBIANAS

Para as análises microbiológicas e físico-químicas das silagens, foram coletadas amostras compostas de cinco sacos por tratamento, formando-se uma amostra única representativa para cada tratamento. De cada amostra composta, 25 g de silagem foram pesados e adicionados a 225 mL de solução salina estéril (0,85% NaCl) em liquidificador industrial (LAR.2, METVISA®, Brusque-SC, Brasil), com homogeneização por 60 segundos. O extrato aquoso obtido foi filtrado em gaze estéril, originando quatro alíquotas distintas para diferentes análises.

O primeiro extrato aquoso foi utilizado para mensuração do pH, com potenciômetro digital (K39-1420A, KASVI®, São José dos Pinhais-PR, Brasil). Em seguida, um segundo extrato aquoso de 50 mL foi acidificado (H_2SO_4 P.A. 1:1 v/v, Neon®, Suzano-SP, Brasil) e armazenado a (-20°C) para quantificação do nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$), segundo o método descrito por Bolsen *et al.* (1992). O teor de carboidratos solúveis em água (CSA) foi determinado pelo método do ácido sulfúrico concentrado, conforme Dubois *et al.* (1956).

A terceira alíquota foi utilizada para quantificação das populações microbianas de bactérias ácido lácticas (BAL), leveduras e fungos filamentosos. Foram preparadas diluições seriadas de 10^1 a 10^8 , seguidas de plaqueamento em placas de Petri estéreis (90×15 mm, FirstLab®, São José dos Pinhais-PR, Brasil) pelo método *pour plate*. Foi utilizado ágar MRS (De Man, Rogosa & Sharpe, K25-1043, Kasvi®, São José dos Pinhais-PR, Brasil) para BAL (incubação a 37°C por 48 h), ágar DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol, Oxoid™, Inglaterra) para leveduras (25°C por 72 h) e fungos filamentosos (25°C por 120 h). Apenas placas com contagens entre 25 e 250 unidades formadoras de colônia (UFC) foram consideradas, de acordo com metodologia de Salfinger e Tortorello (2015).

Outra alíquota foi utilizada para quantificação de ácido láctico (AL), ácido acético

(AA), ácido propiônico (AP) e ácido butírico (AB). Um volume de 10 mL do extrato aquoso foi colocado em tubos com tampa rosqueável (AJ03, PlenaLab®, Jundiaí-SP, Brasil), homogeneizado em agitador tipo vortex (Vortex Mixer VX-200, LabNet®, New Jersey, EUA), seguido da adição de 2,0 mL de ácido metafosfórico P.A. (Neon®, Suzano-SP, Brasil). Após centrifugação (15 min a $13.000 \times g$, Mikro-120, Hettich Zentrifugen®, Alemanha), o sobrenadante foi transferido para microtubos tipo Eppendorf (CralPlast®, Cotia-SP, Brasil), vedado, rotulado e congelado ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) até a análise. A quantificação dos ácidos orgânicos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC; SHIMADZU, modelo SPD-10A VP), conforme a metodologia descrita por Siegfried *et al.* (1984). A separação dos ácidos foi realizada em coluna de troca iônica (Bio-Rad Aminex HPX-87 H), utilizando-se ácido sulfúrico 0,005 M como fase móvel, com fluxo de $0,6\text{ mL min}^{-1}$ e detecção em UV a 210 nm.

3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados no software Statistical Analysis System (SAS, versão 4.0), adotando-se delineamento inteiramente casualizado. As variáveis-resposta foram submetidas à análise de variância (ANOVA) por meio do procedimento General Linear Model (GLM). Quando detectado efeito significativo pelo teste F ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

O modelo estatístico utilizado para análise das variáveis foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} = valor observado da variável dependente para o animal j submetido ao tratamento i;

μ = média geral;

T_i = efeito fixo do i-ésimo tratamento ($i = 1, 2, 3, 4$);

ϵ_{ij} = erro aleatório associado à observação ij.

4 RESULTADOS

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos para CMS ($p = 0,375$), CMO ($p = 0,390$), CPB ($p = 0,309$), CEE ($p = 0,759$) ou CFDN ($p = 0,761$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Consumo de nutrientes de ovinos confinados alimentados com dietas à base de silagens de sorgo tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações

Variável	Dietas Experimentais				EPM ^a	p-valor ^b
	Controle	OA	Lb	Blend		
CMS ^c (kg/dia)	1,10	1,12	1,18	1,21	0,04	0,375
CMO ^d (kg/dia)	1,04	1,05	1,10	1,14	0,43	0,390
CPB ^e (g/dia)	182	191	194	204	8,22	0,309
CEE ^f (g/dia)	44,9	46,1	46,4	48,6	2,45	0,759
CFDN ^g (g/dia)	532	547	549	564	21,2	0,761
CCNF ^h (g/dia)	292b	312ab	353a	367a	15,2	0,005
EM ⁱ (MJ ^j /dia)	10,2b	10,6ab	10,9ab	12,3a	0,11	0,045
EM (MJ/kg)	9,29b	9,41ab	9,25b	10,1a	0,45	0,008

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a EPM = erro-padrão da média; ^b p-valor = probabilidade ao nível de 5% de significância; ^c CMS = consumo de matéria seca; ^d CMO = consumo de matéria orgânica; ^e CPB = consumo de proteína bruta; ^f CEE = consumo de extrato etéreo; ^g CFDN = consumo de fibra em detergente neutro; ^h CCNF = consumo de carboidratos não fibrosos; ⁱ EM = energia metabolizável; ^j MJ = mega joules. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% ($p < 0,05$)

Por outro lado, foi observado efeito significativo ($p = 0,005$) para CCNF, com valores mais elevados registrados para as silagens Lb e o Blend, apresentando médias de 353 (g/dia) e 367 (g/dia), respectivamente (Tabela 4). O menor CCNF foi registrado no grupo Controle, com valor médio de 292 g/dia. Em relação ao consumo de energia metabolizável, foram observados valores mais elevados para as silagens OA e Lb (2,94 Mcal/dia e 2,43 Mcal/kg), superiores aos do tratamento Controle (Tabela 4).

A DMS diferiu significativamente ($p = 0,015$), com maior digestibilidade no tratamento Blend, média de 631 (g/kg), diferindo significativamente dos tratamentos Controle e Lb, que apresentaram médias de 579 e 577 (g/kg), respectivamente (Tabela 5). A DMO também apresentou diferença significativa ($p = 0,036$), com o tratamento Blend (636 g/kg) superando o tratamento Lb (585 g/kg).

Foram observados efeitos significativos ($p = 0,002$) para DPB e DEE, com o tratamento Blend apresentando valores superiores ao tratamento Controle (Tabela 5). Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) para DCNF e DFDN, que apresentaram médias de 839 (g/kg) e 443 (g/kg), respectivamente. Contudo, para NDT, observou-se maior percentual no tratamento Blend (67,21%), em comparação o Controle (61,49%) e Lb (61,34%) (Tabela 5).

Tabela 5 - Digestibilidade dos nutrientes de ovinos confinados alimentados com dietas à base de silagens de sorgo tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações

Variável (g/kg)	Dietas Experimentais				EPM ^a	p-valor ^b
	Controle	OA	Lb	Blend		
DMS ^c	579b	596b	577b	631a	12,2	0,015
DMO ^d	594ab	604ab	585b	636a	12,3	0,036
DPB ^e	678b	704ab	679b	743a	12,2	0,002
DEE ^f	652b	712ab	713ab	780a	117	0,050
DCNF ^g	847	839	821	848	18,4	0,706
DFDN ^h	444	439	415	474	15,3	0,850
NDT ⁱ (%)	61,4b	62,4ab	61,3b	67,2a	4,87	0,008

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a EPM = erro-padrão da média; ^b p-valor = probabilidade ao nível de 5% de significância; ^c DMS = digestibilidade da matéria seca; ^d DMO = digestibilidade da matéria orgânica; ^e DPB = digestibilidade da proteína bruta; ^f DEE = digestibilidade do extrato etéreo; ^g DCNF = digestibilidade dos carboidratos não fibrosos; ^h DFDN = digestibilidade da fibra em detergente neutro; ⁱ NDT = nutrientes digestíveis totais. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% ($p < 0,05$)

Não foram verificadas diferenças estatísticas para PCI ($p = 0,801$), PCF ($p = 0,391$) ou EF ($p = 0,100$) entre os tratamentos. Entretanto, os valores médios ao longo do experimento foram de 25,5 kg para PCI, 33,7 kg para PCF e 0,173 para EF (Tabela 6).

O GMD apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($p = 0,047$), com o maior valor registrado nos animais alimentados no tratamento Blend (0,23 kg/dia), diferindo significativamente do tratamento Controle (0,17 kg/dia) (Tabela 6).

Tabela 6 - Desempenho de ovinos confinados alimentados com dietas à base de silagens de sorgo tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações

Variável	Dietas Experimentais				EPM ^a	p-valor ^b
	Controle	OA	Lb	Blend		
PCI ^c (kg)	24,8	25,1	26,4	25,8	1,25	0,801
PCF ^d (kg)	31,7	33,8	34,2	35,1	1,40	0,391
GMD ^e (kg/dia)	0,17b	0,22ab	0,19ab	0,23a	0,01	0,047
EF ^f	0,16	0,19	0,16	0,19	0,01	0,100

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a EPM = erro-padrão da média; ^b p-valor = probabilidade ao nível de 5% de significância; ^c PCI = peso corporal inicial; ^d PCF = peso corporal final; ^e GMD = ganho médio diário; ^f EF = eficiência alimentar. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% ($p < 0,05$)

A Tabela 7 apresenta os dados de consumo de água dos ovinos alimentados com dietas à base de silagem de sorgo. Para o consumo de água via alimento ($p = 0,315$), não foi observada diferença estatística, com média geral de 1,12 (kg/dia). Entretanto, para o consumo de água via bebedouro ($p = 0,006$), observou-se efeito significativo, com maior consumo no tratamento Lb

(2,86 kg/dia), em comparação aos demais tratamentos. O consumo total de água ($p = 0,017$) seguiu tendência semelhante, com o grupo Lb apresentando o maior valor médio (4,00 kg/dia), diferindo significativamente dos demais grupos experimentais (Tabela 7).

Tabela 7 - Consumo de água de ovinos confinados alimentados com dietas à base de silagens de sorgo tratadas com aditivos químicos ou microbianos e suas combinações

Variáveis (kg/dia)	Dietas Experimentais				EPM ^a	p-valor ^b
	Controle	OA	Lb	Blend		
Água do alimento	1,20	1,10	1,13	1,07	0,05	0,315
Água do bebedouro	2,01b	2,15b	2,86a	2,11b	0,17	0,006
Consumo total de água	3,21b	3,25b	4,00a	3,21b	0,74	0,017

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a EPM = erro-padrão da média; ^b p-valor = probabilidade ao nível de 5% de significância.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% ($p < 0,05$)

A Tabela 8 apresenta as temperaturas (°C) das silagens após exposição ao ar em diferentes intervalos de tempo e a deterioração total por tratamento. Após 24 h de exposição ($p = 0,050$), observou-se maior aumento de temperatura na silagem do tratamento Controle (28,69 °C), estatisticamente diferente dos demais tratamentos. Nos demais tempos, 0 h ($p = 0,314$), 48 h ($p = 0,588$) e 72 h ($p = 0,286$), não foram detectadas diferenças estatísticas, com temperaturas médias de $27,3 \pm 0,545$ (°C), $28,5 \pm 1,29$ (°C) e $29,5 \pm 1,87$ (°C), respectivamente. quanto ao descarte total de silagem ($p = 0,009$), o tratamento Controle apresentou a maior perda, com valor médio de 4,08 kg por saco (Tabela 8).

Tabela 8 - Temperatura (°C) das silagens de sorgo expostas ao ar após a abertura do silo e descarte total em função dos diferentes tratamentos

Variáveis	Dietas Experimentais				EPM ^a	p-valor ^b
	Controle	OA	Lb	Blend		
0 horas	28,1	27,4	27,0	26,9	0,486	0,314
24 horas	28,6a	26,9b	25,1b	26,9b	0,835	0,050
48 horas	28,9	27,7	27,2	30,1	1,60	0,588
72 horas	28,7	29,4	27,7	32,1	1,62	0,286
Perdas por descarte (kg ^c)	4,08a	0,37b	0,85b	1,41b	0,737	0,009

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Nota: ^a EPM = erro-padrão da média; ^b p-valor = probabilidade ao nível de 5% de significância. ^c kg = quilograma. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% ($p < 0,05$)

5 DISCUSSÃO

O uso de aditivos na ensilagem do sorgo influenciou significativamente diversos parâmetros relacionados à qualidade fermentativa, ao desempenho animal e à estabilidade aeróbia, destacando a superioridade do tratamento Blend em comparação com os demais tratamentos, vale ressaltar que os são consistentes para as condições.

Os resultados de CMS são consistentes com aqueles relatados por Muck *et al.* (2018) e Pires *et al.* (2023), que verificaram que a inoculação com *L. buchneri* não afeta significativamente o CMS voluntário em dietas nutricionalmente balanceadas. Esses autores enfatizaram que os efeitos positivos desse aditivo sobre o consumo são, em geral, indiretos e associados a melhorias na estabilidade aeróbia da silagem. A maior estabilidade reduz a formação de metabólitos indesejáveis, como álcoois, ácidos graxos de cadeia curta e compostos voláteis que podem afetar negativamente a palatabilidade e comprometer o consumo.

A ausência de diferenças significativas em CPB, CEE e CFDN sugere que a inclusão de aditivos não alterou o perfil nutricional das dietas a ponto de afetar o consumo dos principais nutrientes. Os animais alimentados com silagens tratadas com o Blend apresentaram o maior CCNF (367,72 g/dia), seguidos pelos tratamentos tratados individualmente com Lb e OA, sendo o menor consumo registrado no tratamento Controle (292 g/dia).

Os resultados obtidos neste estudo corroboram aqueles encontrados por Adesogan e Salawu (2002), Dai *et al.* (2022) e Oliveira *et al.* (2023), que confirmam a eficácia da combinação de aditivos na melhoria da qualidade fermentativa e da estabilidade aeróbia da silagem. Esse efeito decorre principalmente da capacidade desses aditivos de inibir o desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras, principais agentes responsáveis pela deterioração após a abertura, contribuindo assim para a preservação dos carboidratos solúveis em água (CSA) residuais, impedindo sua degradação por microrganismos indesejáveis e, conseqüentemente, reduzindo perdas de MS e energia. Esse processo mantém maior disponibilidade de nutrientes para ruminantes, favorecendo o desempenho animal e a eficiência alimentar.

Além disso, nossos achados são consistentes com evidências consolidadas na literatura, que destacam a eficácia de *L. buchneri* e de inibidores fúngicos na preservação da qualidade da silagem e no prolongamento de sua estabilidade aeróbia (Muck *et al.* 2018).

O aumento da ingestão de CNF também pode indicar maior concentração de substratos rapidamente fermentáveis no rúmen, promovendo a taxa de crescimento microbiano e melhorando a eficiência de conversão alimentar (Kung *et al.* 2018; Führ *et al.* 2023). Isso é particularmente relevante em sistemas de confinamento, como o utilizado neste estudo, nos quais a densidade energética da dieta é fator crítico para o desempenho produtivo.

Os resultados de digestibilidade dos nutrientes confirmaram a superioridade das silagens tratadas com o Blend, que proporcionaram as maiores DMS, DMO, DPB, DEE e NDT. A maior DPB (743,79 g/kg) observada no tratamento Blend pode estar associada à redução da proteólise durante a ensilagem, mecanismo previamente documentado por Kung *et al.* (2018) e Mendonça *et al.* (2020). Os ácidos orgânicos inibem microrganismos proteolíticos, particularmente *Clostridium spp.*, e limitam a formação de compostos nitrogenados indesejáveis (como $\text{NH}_3\text{-N}$), preservando assim a proteína verdadeira.

Os valores de DCNF acima de 820 g/kg em todos os tratamentos indicam preservação eficaz da fração amilácea do sorgo. Esse achado concorda com Li *et al.* (2021) e Bingöl *et al.* (2009), que atribuíram a melhora na degradabilidade do amido à ação dos aditivos sobre o ambiente fermentativo, aumentando a digestão ruminal de carboidratos rapidamente fermentáveis.

O maior teor de NDT na silagem tratada com o Blend de aditivos (67,21%) reforça os efeitos sinérgicos dessa estratégia na melhoria da densidade energética da dieta. Essa sinergia melhora o processo fermentativo da silagem, que, segundo Pereira *et al.* (2025), solubiliza a fração fibrosa do alimento, aumentando sua digestibilidade e, consequentemente, a disponibilidade de nutrientes para o animal. Isso foi observado no presente estudo, pois o aumento do teor de NDT resultou em elevação significativa do GMD dos animais. Esse resultado corrobora os achados de Pires *et al.* (2023), que demonstraram maior eficiência energética em ovinos alimentados com silagem inoculada com *L. buchneri*.

A análise dos parâmetros produtivos e energéticos revelou que a aplicação de aditivos, particularmente em sua forma combinada, aumentou significativamente a disponibilidade energética da dieta. Os maiores valores de EM, tanto absolutos quanto por unidade de MS, provavelmente resultaram da melhora na digestibilidade dos nutrientes e da redução das perdas de energia durante a fermentação, como demonstrado por Li *et al.* (2021), Oliveira *et al.* (2023) e Pires *et al.* (2023).

Embora não tenham sido observadas diferenças significativas para EF e CMS como porcentagem do peso corporal, a tendência de maior eficiência nos grupos tratados com aditivos (OA, Lb e Blend) sugere melhor utilização da energia, em consonância com Bingöl *et al.* (2009). De forma semelhante, o consumo de NDT e o GMD responderam positivamente à inclusão dos aditivos, especialmente no tratamento Blend. Esses efeitos provavelmente estão relacionados à preservação dos nutrientes e à melhoria da fermentação ruminal, como descrito por Muck *et al.* (2018) e Kung *et al.* (2018).

O consumo de água, parâmetro sensível ao metabolismo animal e à composição da dieta, foi significativamente maior nos animais que consumiram silagem inoculada com *L. buchneri*, ou seja, do tratamento Lb. A ausência de diferenças no consumo de água via alimento sugere teores de MS semelhantes entre as dietas, como já demonstrado por Muck *et al.* (2018) e Li *et al.* (2021). Portanto, o aumento do consumo de água via bebedouro pode ser atribuído à maior produção de ácido acético decorrente do metabolismo de *L. buchneri*, o que pode elevar a osmolaridade ruminal e estimular mecanismos fisiológicos de tamponamento, como proposto por Dai *et al.* (2022).

A avaliação da estabilidade aeróbia revelou que, embora os valores de temperatura após 48 e 72 h não tenham diferido significativamente entre os tratamentos, a silagem do tratamento Controle apresentou aumento de temperatura após 24 h de exposição ao ar, indicando intensa atividade de microrganismos indesejáveis, como fungos filamentosos e leveduras.

Além disso, a redução significativa nos volumes de descarte das silagens tratadas com aditivos (OA, Lb e Blend) confirma a eficácia desses aditivos em inibir microrganismos deterioradores. Isso promoveu maior estabilidade aeróbia da silagem tratada e conservação de nutrientes durante o período de alimentação, em consonância com os relatos de Muck *et al.* (2018) e Kung *et al.* (2018) sobre a maior suscetibilidade à deterioração de silagens sem tratamento, e com Dai *et al.* (2022) e Khota *et al.* (2017) acerca da ação dos aditivos na supressão de microrganismos formadores de esporos.

6 CONCLUSÃO

A aplicação de aditivos químicos e microbianos, de forma isolada ou em combinação, promove melhorias significativas na qualidade nutricional e na estabilidade aeróbia das silagens de sorgo. Esses avanços refletem-se no desempenho de animais confinados, evidenciados pelo aumento do consumo de nutrientes e do ganho de peso corporal. Entre os tratamentos avaliados, o tratamento Blend mostrou-se a mais eficaz, representando estratégia promissora para otimizar a alimentação de ruminantes.

FINANCIAMENTO

Esta pesquisa foi financiada pelo apoio à produtividade em pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, código do projeto (Processo nº 305017/2018-7).

REFERÊNCIAS

- ADESOGAN, AT, SALAWU MB. **Effect of applying formic acid or *Lactobacillus buchneri* inoculants with or without homofermentative lactic acid bacteria on the fermentation characteristics and aerobic stability of intercropped pea-wheat silages and whole crop wheat or pea silages.** Journal of the Science of Food and Agriculture. 84(9):983–992, 2002. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1745>
- ALVARES, CA, *et al.* **Köppen's climate classification map for Brazil.** Meteorologische Zeitschrift. 22(6):711–728, 2013. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- AOAC, **Association of Official Analytical Chemists.** Official methods of analysis. 17th ed. AOAC International. 2000.
- BASSO, FC *et al.* **Effects of feeding corn silage inoculated with microbial additives on the ruminal fermentation, microbial protein yield, and growth performance of lambs** Journal of Animal Science. 92(12):5640–5650, 2014. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8258>
- BINGÖL, NT, *et al.* **Arpa hasılı ve korunga karışımı silaja farklı düzeylerde melas ilavesinin silaj kalitesi ve sindirilebilirliği üzerine etkileri.** Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi. 4(1):23–30, 2009.
- BOLSEN, KK *et al.* **Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages.** Journal of Dairy Science. 75(11):3066–3083, 1992. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78070-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78070-9)
- BORBA, LFP *et al.* **Nutritive value of diferents silage sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) cultivares.** Acta Scientiarum. Animal Sciences. 34(2):123–129, 2012. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v34i2.12853>
- BUMBIERIS-JUNIOR, VH *et al.* **Ensilajes de triticale de alta humedad con aditivos químicos y biológicos: valores nutrimentales y comportamiento de ingesta en ovinos.** Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. 12(2):573–585, 2021. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12i2.5623>
- CASALI, AO *et al.* **Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ.** Revista Brasileira de Zootecnia. 37(2):335–342, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000200021>
- DAI, T *et al.* **Assessment of organic acid salts on fermentation quality, aerobic stability, and in vitro rumen digestibility of total mixed ration silage.** Tropical Animal Health and Production. 54(5):261, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03249-w>
- DETMANN E, *et al.* **Métodos para análise de alimentos.** Visconde do Rio Branco. Brazil: Suprema, v. 214. 2012.
- DUBOIS M, *et al.* **Colorimetric method for determination of sugars and related substances.** Analytical chemistry. 28(3):350–356, 1956.
- FÜHR CA, *et al.* **Effect of different alternative additives on nutritional value, in vitro**

digestibility, and carbohydrate fractionation of whole-plant sorghum silage. Research, Society and Development. 12(7):e16512742666, 2023. <https://doi.org/10.33448/rsdv12i7.42666>

GANDRA, JR *et al.* **Effect of chemical and microbial additives on fermentation profile, chemical composition, and microbial populations of whole-plant soybean silage.** Fermentation. 10(4):204, 2024. <https://doi.org/10.3390/fermentation10040204>

GUL, S; *et al.* **Sorghum silajına farklı katkı maddeleri ilavesinin aerobik stabilite üzerine etkileri.** Journal of Agricultural Sciences. 7(3):681–692, 2023. <https://doi.org/10.18016/10.5281/zenodo.8361977>

HALL, MB. **Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen.** Gainesville: University of Florida, N 39, 2000.

KHOTA, W; *et al.* **Fermentation quality and in vitro methane production of sorghum silage prepared with cellulase and lactic acid bacteria.** Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 30(11):1568–1574, 2017. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0502>

KUNG, L; *et al.* **Silage review: interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages.** Journal of Dairy Science. 101(5):4020–4033, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13909>

LI, Y; *et al.* **Effect of microbial and chemical additives on the fermentation and aerobic stability of alfalfa silage ensiled at 2 dry matters and subjected to air stress during storage.** Journal of Animal Science. 99(7):skab174, 2021. <https://doi.org/10.1093/jas/skab174>

LICITRA, G; HERNANDEZ, TM; VAN SOEST, PJ. **Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds.** Animal feed science and technology. 57(4):347–358, 1996. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3)

MENDONÇA, RCA *et al.* **Effects of cutting height and bacterial inoculant on corn silage aerobic stability and nutrient digestibility by sheep.** Revista Brasileira de Zootecnia. 49, p. e20190231, 2020. <https://doi.org/10.37496/rbz492019023>

MERTENS DR *et al.* **Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study.** Journal of AOAC international. 85(6):1217–1240, 2002. <https://doi.org/10.1093/jaoac/85.6.1217>

MINISTRY OF NATIONAL INTEGRATION. Ordinance No. 89, of March 16, 2005. **Establishes the new delimitation of the Brazilian semi-arid region.** Brasília (DF) Brazil: Official Gazette of the Union: section 1, no. 52, p. 11, 2005.

MUCK, RE *et al.* **Silage review: recent advances and future uses of silage additives.** Journal of Dairy Science. 101(5):3980–4000, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13839>

NASCIMENTO, MEL *et al.* **Effect of *Lactobacillus buchneri* and sodium benzoate on the fermentative profile, bacterial taxonomic diversity, and aerobic stability of sorghum silages at different fermentation times.** Chilean journal of agricultural research. 83(5):539–552, 2023. <https://doi.org/10.4067/s0718-58392023000500539>

NRC. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world**

camelids. National Academy Press. p. 384, 2007.

OLIVEIRA, KDS *et al.* **Effect of length of storage and chemical additives on the nutritive value and starch degradability of reconstituted corn grain silage.** Agronomy. 13(1):209, 2023. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010209>

PEREIRA, DM *et al.* **Total mixed ration silage based on forage cactus and cottonseed meal in the feeding of lambs finished in feedlots.** Tropical Animal Health and Production. 57(2):1–13, 2025. <https://doi.org/10.1007/s11250-025-04297-8>

PIRES, FPA *et al.* **Effect of the *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lentilactobacillus buchneri* on corn and sorghum silage quality and sheep energy partition under tropical conditions.** Grass and Forage Science. 78(1):224–235, 2023. <https://doi.org/10.1111/gfs.12604>

RIBEIRO, AC; GUIMARÃES, PTGG; ALVARES, VH. **5ª Aproximação-Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais.** Editora UFV, Viçosa, Minas Gerais, 1999.

SALFINGER, Y; TORTORELLO, ML. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 5th ed. American Public Health Association, 2015.

SANTOS, ACP *et al.* **Fermentation profile, microbial populations and aerobic stability of sorghum silages enriched with urea and *Lactobacillus buchneri*.** New Zealand Journal of Agricultural Research. 66(2):128–144, 2023. <https://doi.org/10.1080/00288233.2021.2000437>

SIEGFRIED, R; RUCKEMANN, H; STUMPF, G. **Method for the determination of organic-acids in silage by high-performance liquid-chromatography.** Landwirtschaftl Forsch. 37(3):298–304, 1984.

SILVA, BCD *et al.* **Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes e ganho de peso de bovinos de corte alimentados com silagem de *Brachiaria brizantha* e concentrado em diferentes proporções.** Revista Brasileira de Zootecnia. 34(3):1060–1069, 2005. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982005000300039>

SNIFFEN, CJ; *et al.* **A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability.** Journal of Animal Science. 70(11):3562–3577, 1992. <https://doi.org/10.2527/1992.70113562x>

TABACCO, E; *et al.* **Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants.** Journal of Applied Microbiology. 107(5):1632–1641, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04344.x>

TABACCO, E, *et al.* **Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions.** Journal of Dairy Science. 94(11):5589–5598, 2011. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4286>

THORNTON, H. **Meat Inspection Compendium.** Londres: Bailliere Tindall and Cassel, v. 212, 1969.

VAN SOEST, PJ; ROBERTSON, JB; LEWIS, BA. **Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition.** Journal of Dairy Science. 74(10):3583–3597, 1991. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)

WEISS, WP. 1999. **Energy prediction equations for ruminant feeds. In Cornell nutrition conference for feed manufacturers;** In: Cornell nutrition conference for feed manufacturers. 1999. p. 176-185. 61, 1999.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

Os resultados obtidos mostram de forma clara que o uso de aditivos químicos e microbianos e suas combinações na silagem de sorgo contribuem significativamente para a melhoria da conservação da forragem e para o melhor desempenho dos animais. Portanto, o objetivo, com base nos resultados obtidos, considera-se que foi plenamente atendido, uma vez que os dois capítulos permitiram demonstrar, de forma complementar, que o uso dos aditivos promoveu melhorias consistentes no processo fermentativo, com redução das perdas de matéria seca, menor desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, maior estabilidade aeróbia e melhor preservação do valor nutritivo da silagem.

Entre as estratégias avaliadas, a combinação dos aditivos se destacou por apresentar o conjunto de resultados mais consistente. Essa associação mostrou maior capacidade de preservar a qualidade da silagem ao longo do armazenamento e após a abertura dos silos, além de contribuir para menor descarte e melhor desempenho dos ovinos. Esse achado reforça a importância de enxergar a ensilagem não apenas como uma técnica de conservação de forragem, mas como uma etapa determinante dentro do sistema de produção, com efeitos diretos sobre a eficiência alimentar e o desempenho zootécnico.

Os resultados obtidos com a silagem de sorgo sem aditivo, embora sua utilização seja possível, a ausência de aditivos esteve associada a maiores perdas durante a fermentação e após a abertura do silo, além de maior desenvolvimento de leveduras e fungos e menor estabilidade aeróbia. Na prática, isso compromete o aproveitamento da forragem produzida, aumentar o volume de material descartado e reduzir o potencial nutricional da dieta oferecida aos animais. Assim, ainda que a silagem sem aditivo possa representar menor custo inicial, ela tende a apresentar limitações que podem gerar perdas importantes ao longo do uso.

As implicações deste trabalho são particularmente relevantes para sistemas de produção em que o sorgo ocupa papel estratégico, sobretudo em regiões com restrições climáticas e maior irregularidade na disponibilidade de forragem. Nessas condições, melhorar a qualidade da silagem e consequentemente aumenta a segurança alimentar do rebanho, reduzir desperdícios e tornar o sistema mais estável e eficiente. Em sistemas intensivos, ou em períodos de escassez, esse cuidado se torna ainda mais importante, já que a qualidade do volumoso influencia diretamente o desempenho dos animais.

De forma ampla, é reforçado o potencial da silagem de sorgo como alternativa viável para a alimentação de ovinos confinados e demonstra que o uso de aditivos pode ampliar esse potencial de forma concreta. Os resultados indicam que a adoção dessas tecnologias, especialmente quando associadas, favorece um processo de ensilagem mais seguro, eficiente e previsível. Ao mesmo tempo, evidenciam que a silagem sem aditivo, embora viável, apresenta maior limitação quanto à conservação e ao aproveitamento. Dessa maneira, o estudo contribui para o avanço do conhecimento sobre estratégias de conservação de forragens, abrindo espaço para novas pesquisas voltadas à viabilidade econômica dessas práticas, sua aplicação em diferentes sistemas produtivos e seus efeitos em outras categorias animais.