

PATRÍCIA SIQUEIRA LEITE

**PERFIL FERMENTATIVO, VALOR NUTRITIVO E ESTABILIDADE AERÓBIA DE
SILAGENS DE SORGO TRATADAS COM *Lentilactobacillus buchneri***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

Orientador: Odilon Gomes Pereira

Coorientadora: Karina Guimarães Ribeiro

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

L533p
2022

Leite, Patrícia Siqueira, 1995-

Perfil fermentativo, valor nutritivo e estabilidade aeróbia de silagens de sorgo tratadas com *Lentilactobacillus buchneri* / Patrícia Siqueira Leite. – Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (37 f.): il.

Orientador: Odilon Gomes Pereira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 34-37.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.081>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Sorgo - Silagem. 2. Sorgo - Inoculação. 3. Fermentação. I. Pereira, Odilon Gomes, 1960-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 633.174

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto Pires CRB-6/2523

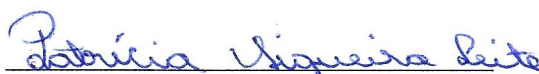
PATRÍCIA SIQUEIRA LEITE

**PERFIL FERMENTATIVO, VALOR NUTRITIVO E ESTABILIDADE AERÓBIA DE
SILAGENS DE SORGO TRATADAS COM *Lentilactobacillus buchneri***

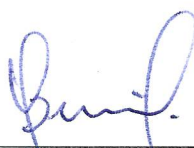
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

APROVADA: 15 de junho de 2022.

Assentimento:



Patrícia Siqueira Leite
Autora



Odilon Gomes Pereira
Orientador

Aos meus pais e irmão,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado força e sabedoria para seguir.

Aos meus pais, Antônio e Terezinha, pelo apoio e amor incondicional e pelas palavras que nunca me desampararam nos momentos difíceis.

Ao meu querido irmão Edivaldo por todo apoio e ajuda durante este projeto.

Ao meu noivo Edinael por todo amor e incentivo que me possibilitou realizar este trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pelo ensino e pela vaga a mim concedida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao professor Odilon Gomes Pereira pela orientação e confiança na condução deste projeto.

À professora Karina Guimarães Ribeiro pelo suporte essencial durante a elaboração deste estudo.

À Heralda e ao Alberto por todo o suporte durante as ensilagens e análises. A amizade de vocês fez os meus dias mais leves.

À Vanessa e ao Maurício por todo o suporte nas análises estatísticas, sempre presentes e dispostos a tirar minhas dúvidas.

Ao meu amigo Rafael Lelis pela ajuda e, principalmente, pela amizade que torna meus dias infinitamente mais divertidos

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia pela colaboração por todo auxílio sempre que precisei.

RESUMO

LEITE, Patrícia Siqueira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2022. **Perfil fermentativo, valor nutritivo e estabilidade aeróbia de silagens de sorgo tratadas com *Lentilactobacillus buchneri***. Orientador: Odilon Gomes Pereira. Coorientadora: Karina Guimarães Ribeiro.

Avaliou-se o perfil fermentativo, o valor nutritivo e a estabilidade aeróbia de silagens de sorgo Volumax e Agri 002 tratadas com *Lentilactobacillus buchneri* em duas colheitas distintas. Foi utilizado um arranjo fatorial 2 x 2 x 2 (colheita (C) x genótipo de sorgo (S) x inoculante (I)), com quatro repetições, no delineamento inteiramente casualizado. Antes da ensilagem, os sorgos foram colhidos e picados em partículas de 1,5 cm. O inoculante usado foi o Lalsil As (LB) (Lallemand®, Brasil), o qual foi aplicado na taxa de 10^5 ufc/g de forragem, e o tratamento controle (CTRL) recebeu água destilada. Após a aplicação dos tratamentos, os sorgos foram ensilados em baldes de 10 kg de capacidade e armazenados em temperatura ambiente por 60 dias. A forragem e respectivas silagens foram submetidas a análises de composição química, perfil fermentativo e populações microbianas. As médias foram comparadas pelo teste F ($\alpha = 0,05$). Observou-se efeito ($P < 0,05$) da interação $C \times S \times I$ sobre os conteúdos de matéria seca (MS), proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), bactérias ácido lácticas (BAL) e carboidratos solúveis em água (CSA). Observou-se menor teor de MS na silagem aditivada com LB em relação ao CTRL (258,57 x 261,65 g/kg MS), no genótipo Volumax, na colheita 2. A população de BAL foi maior nas silagens aditivadas com LB [$8,97 \times 6,94$ Ufc/g matéria natural (MN)] em relação ao CTRL na colheita 1, para o genótipo Volumax. A população de fungos e o teor de ácido láctico foram afetados ($P < 0,05$) pela interação $C \times I$, e a população de leveduras apenas pelo efeito individual de inoculante. Foram observadas maiores ($P < 0,05$) contagens de fungos filamentosos ($4,74 \times 3,14$ Ufc/g) e teor de ácido láctico ($31,45 \times 18,35$ g/Kg MS) nas silagens do tratamento CTRL em comparação às tratadas com LB, na colheita 1. A estabilidade aeróbia (EA) foi afetada pela interação $S \times I$, sendo observado maior EA nas silagens tratadas com LB, em ambos os tipos de sorgo. O inoculante microbiano avaliado foi efetivo em reduzir o crescimento de fungos e leveduras, proporcionando melhorias na estabilidade aeróbia das silagens. A silagem de sorgo Volumax apresentou maior digestibilidade *in vitro* da MS e da fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), indicando grande potencial para uso na alimentação animal.

Palavras-chave: Inoculante microbiano. Bactérias lácticas. Volumax. Agri 002.

ABSTRACT

LEITE, Patrícia Siqueira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2022. **Fermentative profile, nutritive value and aerobic stability of sorghum silages treated with *Lentilactobacillus buchneri***. Adviser: Odilon Gomes Pereira. Co-adviser: Karina Guimarães Ribeiro.

The fermentative profile, nutritional value and aerobic stability of Volumax and Agri 002 sorghum silages treated with *Lentilactobacillus buchneri* were evaluated in two different harvests. A 2 x 2 x 2 factorial arrangement (crops (C) x sorghum genotype (S) x inoculant (I)) was used, with four replications, in a completely randomized design. Before ensiling, the sorghums were harvested and chopped into 1.5 cm particles. The inoculant used was Lalsil As (LB) (Lallemand®, Brazil), which was applied at a rate of 105 cfu/g of forage, and the control treatment (CTRL) received distilled water. After the treatments were applied, the sorghums were ensiled in 10 kg capacity buckets and stored at room temperature for 60 days. The forage and respective silages were submitted to analysis of chemical composition, fermentative profile and microbial populations. Means were compared using the F test ($\alpha = 0.05$). There was an effect ($P < 0.05$) of the C x S x I interaction on dry matter (DM), neutral detergent insoluble protein (NDIP), lactic acid bacteria (LAB) and water-soluble carbohydrates (WSC). A lower DM content was observed in the silage added with LB in relation to the CTRL (258.57 x 261.65 g/kg DM), in the Volumax genotype, in harvest 2. The LAB population was higher in the silage added with LB [8.97 x 6.94 Cfu/g natural matter (NM)] in relation to CTRL in harvest 1, for the Volumax genotype. The fungal population and lactic acid content were affected ($P < 0.05$) by the C x I interaction, and the yeast population only by the individual inoculant effect. Higher ($P < 0.05$) counts of filamentous fungi (4.74 x 3.14 Cfu/g) and lactic acid content (31.45 x 18.35 g/Kg DM) were observed in the silages of the CTRL treatment in compared to those treated with LB, in harvest 1. Aerobic stability (AE) was affected by the S x I interaction, with greater AE being observed in silages treated with LB, in both types of sorghum. The evaluated microbial inoculant was effective in reducing the growth of fungi and yeasts, providing improvements in the aerobic stability of silages. Volumax sorghum silage showed higher in vitro digestibility of DM and insoluble neutral detergent fiber (NDF), indicating great potential for use in animal feed.

Keywords: Microbial inoculant. Lactic bacteria. Volumax. Agri 002.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estande final de plantas (EFP), altura de plantas (AP), produção de matéria verde (PMV), produção de matéria seca (PMS), Produção de matéria seca digestível (PMSD) dos sorgos Volumax e Agri 002, com respectivos valores de erro padrão da média (EPM).	13
Tabela 2. Composição química e populações microbianas dos sorgos Volumax e Agri 002, antes da ensilagem	18
Tabela 3. <i>P-valor</i> e erro padrão da média das variáveis, da composição química das silagens de sorgo Volumax e Agri 002 em duas colheitas distintas.....	19
Tabela 4. Teores de matéria seca, proteína insolúvel em detergente neutro e carboidratos solúveis em água residuais de silagens de sorgo, em função de inoculante microbiano dentro de cada genótipo e colheita.....	20
Tabela 5. Teores de proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, nitrogênio amoniacal, e nitrogênio insolúvel em detergente ácido em função de colheita e genótipo de sorgo.....	21
Tabela 6. <i>P-valor</i> e erro padrão da média das variáveis populações microbianas e perfil fermentativo das silagens de sorgo Volumax e Agri 002 em duas colheitas distintas.....	22
Tabela 7. População de fungos filamentosos e teor de ácido lático de silagens de sorgo em função de inoculante e colheita.....	23
Tabela 8. <i>P-valor</i> e erro padrão da média das variáveis, referentes às perdas de matéria seca e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca e da fibra em detergente neutro de silagens de sorgo Volumax e Agri 002 em duas colheitas.....	24
Tabela 9. Perdas de matéria seca, DIVMS e DIVFDN de silagens de sorgo em função de colheita e genótipo.....	24
Tabela 10. <i>P-valor</i> e erro padrão da média das variáveis referentes à estabilidade aeróbia, populações microbianas e perfil fermentativo de silagens de sorgo Volumax e Agri 002 em duas colheitas após 7 dias de exposição aeróbia.....	25

Tabela 11. Estabilidade aeróbia (h) de silagens de sorgo em função de genótipos e inoculantes.....26

Tabela 12. Ácidos orgânicos e pH das silagens após estabilidade aeróbia em função de colheitas e inoculantes.....27

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	ácido acético
AB	ácido butírico
AL	ácido láctico
BAL	bactérias ácido lácticas
CSA	carboidratos solúveis em água
DIVMS	digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
DIFDN	digestibilidade <i>in vitro</i> da fibra insolúvel em detergente neutro
ENT	enterobactérias
EPM	erro padrão da média
EST	estabilidade aeróbia
FDA	fibra insolúvel em detergente ácido
FDN	fibra insolúvel em detergente neutro
LIG	lignina
MS	matéria seca
NH ₃ /NT	nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total
NIDA	nitrogênio insolúvel em detergente ácido
PB	proteína bruta
PIDA	proteína insolúvel em detergente ácido
PIDN	proteína insolúvel em detergente neutro
UFC	unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
2.1. Local do experimento e clima.....	12
2.2. Plantio, colheita e ensilagem	12
2.3. Delineamento experimental	14
2.4. Composição química.....	14
2.5. Perfil fermentativo	14
2.6. Quantificação das populações microbianas	15
2.7. Avaliação da estabilidade aeróbia.....	15
2.8. Perdas totais de matéria seca	16
2.9 Digestibilidade <i>in vitro</i>	16
2.10. Análises estatísticas	17
3. RESULTADOS	18
3.1. Composição química e populações microbianas dos genótipos de sorgo antes da ensilagem	18
3.2. Composição química das silagens	18
3.3. Populações microbianas e perfil fermentativo das silagens.....	21
3.4. Perdas totais de matéria seca e digestibilidade em vitro das silagens	23
3.5. Estabilidade aeróbia.....	25
4. DISCUSSÃO.....	27
4.1. Composição química das plantas de sorgo e das silagens	27
4.2. Populações microbianas e perfil fermentativo das silagens.....	30
4.3. Perdas de matéria seca e digestibilidade in vitro das silagens	31
4.4. Estabilidade aeróbia.....	32
5. CONCLUSÃO.....	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1. INTRODUÇÃO

Em regiões de clima tropical, como no Brasil, a produção de forragem varia ao longo do ano devido a fatores climáticos, impactando diretamente na produção de carne e leite dos rebanhos mantidos em pastagens. Os produtores, no intuito de reduzir os impactos negativos da baixa oferta de forragem, adotam práticas de conservação de forragem, como a ensilagem, para fornecer alimento nutritivo e de qualidade para o gado durante a estação seca (Khota *et al.*, 2017).

Dentre as plantas com potencial de ensilagem, o sorgo se destaca por ser um alimento nutritivo, com teor de carboidratos solúveis em água adequado para uma boa fermentação e com alta capacidade de rebrotação, que viabiliza uma segunda colheita sem a necessidade de reimplantar a cultura (Carvalho *et al.*, 2020).

O sorgo é fonte de diversos nutrientes (fósforo, potássio, zinco e ferro), sendo, portanto, amplamente utilizado para compor a alimentação humana e animal. Além disso, essa cultura apresenta características de rusticidade, adaptabilidade e versatilidade, as quais são responsáveis pelo seu cultivo em diferentes regiões e climas (Campelo *et al.*, 2020; De Moraes Cardoso *et al.*, 2017). Entre as estratégias de adaptação utilizadas para tolerar o estresse hídrico, as folhas e caules são recobertos por uma cutícula cerosa e cera epicuticular que reduzem a perda de água por transpiração (Verma; Kumar; Nath, 2018). Um sistema radicular profundo e denso é outra estratégia que possibilita a exploração de uma área maior de superfície do solo, aumentando a absorção de água e nutrientes minerais (Gano *et al.*, 2021).

A silagem de sorgo, em comparação à de milho, apresenta menor produção de grãos e, conseqüentemente, menor concentração de amido (14,85 e 24,95% da MS, respectivamente), sendo menos energética, bem como maiores concentrações de fibra em detergente neutro (57,94 e 54,98% da MS), as quais refletem diretamente na sua digestibilidade (Bernard; Tao, 2015; Valadares Filho *et al.*, 2018). Contudo, pesquisas demonstraram que os resultados em ganho de peso e produção de leite para animais consumindo silagem de sorgo são semelhantes aos obtidos com silagem de milho, desde que seja utilizada uma ração balanceada (Bean *et al.*, 2013).

A silagem de sorgo é uma alternativa mais assertiva para condições de veranicos e de solos menos férteis (Samarappuli; Berti, 2018), pois as plantas de sorgo são mais eficientes na utilização da água do que as de milho (Getachew *et al.*, 2016), além de exigirem menos fertilização e controle de pragas (Rodrigues *et al.*, 2020).

Embora possuam características que promovam adequada fermentação, ao serem expostas ao ar, as silagens de sorgo podem se deteriorar e perder valor nutricional, devido ao crescimento de certos microrganismos indesejáveis, como as leveduras (Dos Anjos *et al.*, 2018).

As leveduras são tidas como responsáveis pelo início da deterioração aeróbia nas silagens. Elas competem por substratos fermentáveis e aumentam exponencialmente sua população durante as primeiras semanas após a ensilagem, com diminuição gradual dessa população durante as etapas seguintes do processo fermentativo (Nascimento Agarussi *et al.*, 2022). Sob condições aeróbicas na abertura da silagem, as leveduras tornam-se ativas, assim como oxidam açúcares e ácido láctico, causando elevação do pH e permitindo que outros microrganismos oportunistas cresçam (Santos *et al.*, 2017).

Nesse contexto, o uso de inoculantes contendo bactérias lácticas heterofermentativas obrigatórias, como o *Lentilactobacillus buchneri*, pode proporcionar maior estabilidade da silagem, devido à conversão de ácido láctico a acético, o qual é um potente fungicida, controlando, assim, os microrganismos deterioradores (Zhang *et al.*, 2019).

A hipótese levantada neste trabalho é a de que o *Lentilactobacillus buchneri* promoverá melhoria da estabilidade aeróbia e modificará o perfil fermentativo das silagens em ambas as colheitas. Portanto, objetivou-se avaliar o efeito de um inoculante contendo *Lentilactobacillus buchneri* sobre o perfil fermentativo, valor nutritivo e estabilidade aeróbia das silagens de sorgo (Volumax e Agri 002), em duas colheitas distintas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Local do experimento e clima

O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. A cidade de Viçosa encontra-se a 20° e 45' de latitude sul, 42° e 51' de longitude oeste e 657 metros de altitude, com precipitação média anual de 1341 mm.

2.2. Plantio, colheita e ensilagem

O experimento foi conduzido de outubro de 2019 a julho de 2020, utilizando-se os genótipos de sorgo Agri 002 e Volumax, os quais foram estabelecidos em uma área de 1500 m², no setor de Agrostologia do Departamento de Zootecnia-UFV, em 14 de outubro e 6 de novembro de 2019, respectivamente.

Na semeadura foi utilizada uma semeadora mecânica de arraste com 3 linhas (Knapik®) e engate de 3 pontos em trator (John Deere® 5600 4x4), considerando a taxa de semeadura de 15 sementes por metro linear e espaçamento entre linhas de 0,7 m. No plantio, foram aplicados 375 kg/ha da formulação 8-28-16 (NPK). Após 30 dias da semeadura, foi realizada a adubação de cobertura com a aplicação de 100 kg N/ha, utilizando ureia como fonte. Na colheita 2, referente à rebrota, não foi realizada nenhuma adubação.

Foram realizadas duas colheitas: uma referente ao período de verão (colheita 1) e outra à rebrotação (colheita 2). A colheita 1 ocorreu aos 125 e 154 dias pós-semeadura para os sorgos Volumax e Agri 002, respectivamente. A colheita 2 ocorreu aos 90 e 107 dias após a colheita 1. O material foi colhido manualmente a 10 cm acima do solo e picado em máquina forrageira estacionária (JF 60®) acoplada em tomada de potência do trator (Valmet 785®), em partículas de 1,5 cm.

As características agrônômicas dos sorgos foram avaliadas 4 dias antes da ensilagem e estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Estande final de plantas (EFP), altura de plantas (AP), produção de matéria verde (PMV), produção de matéria seca (PMS), produção de matéria seca digestível (PMSD) dos sorgos Volumax e Agri 002, com respectivos valores de erro padrão da média (EPM).

	Colheita 1		Colheita 2		EPM
	Volumax	Agri 002	Volumax	Agri 002	
EFP (n.º ha ⁻¹)	113.000	195.000	146.667	230.000	2,57
AP (m)	2,31	5,00	1,84	2,07	0,73
PMV (t / ha)	39,14	119,60	30,19	37,04	21,1
PMS (t/ ha)	10,57	31,25	7,94	10,79	5,40
PMSD (t/ ha)	6,40	14,70	4,99	6,90	2,19

O material processado foi pesado e dividido em oito pilhas de 10 kg cada, para a aplicação do inoculante Lalsil AS (LB) (Lallemand®, Aparecida de Goiânia, Goiás, Brasil), composto pela cepa *Lentilactobacillus buchneri* CNCM-I 4323. O inoculante foi aplicado com o auxílio de um pulverizador manual, na dose de 1×10^5 unidades formadoras de colônias (ufc/g) por grama de material e diluído em 300 mL de água destilada. A mesma quantidade de água destilada foi adicionada ao tratamento controle (CTRL). Após a homogeneização do material com os respectivos tratamentos, aproximadamente 7 kg de forragem foram ensilados

em baldes com capacidade de 10 kg. O material foi compactado e, em seguida, os baldes foram fechados e selados com fita adesiva em volta da tampa, pesados e armazenados em local protegido de raios solares em temperatura ambiente, por 60 dias.

2.3. Delineamento experimental

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$ (colheita (C) x genótipo de sorgo (S) x inoculante (I)) com quatro repetições. Os genótipos avaliados foram o Agri 002 e Volumax, e os inoculantes foram: controle (sem inoculante) e Lalsil AS (LB) *Lentilactobacillus buchneri*. As colheitas corresponderam à colheita no verão (colheita 1) e à colheita da rebrota (colheita 2)

2.4. Composição química

Amostras das plantas de sorgo e suas respectivas silagens foram pré-secas em estufa com circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas e processadas em moinho de facas tipo Willey, com peneira de crivo circular de 1 mm. As análises dos teores de matéria seca (MS) (método 934,01), proteína bruta (PB) pelo método de Kjeldahl (método 984,13) e fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) (método 973,18) foram realizadas conforme descrição da AOAC (1990). A análise de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) foi realizada adicionando-se α -amilase termoestável e sem o uso de sulfito de sódio. As correções dos teores de FDN e FDA para compostos nitrogenados foram realizadas conforme Licitra et al. (1996) e Mertens (2002), respectivamente.

2.5. Perfil fermentativo

Amostras de 25 g de silagem de cada balde foram coletadas e homogeneizadas em 225 mL de ringer solution estéril (Oxoid BR0052G; Oxoid Ltd., Cambridge, UK), usando um liquidificador industrial por 1 minuto, para obtenção de um extrato aquoso para a determinação do perfil fermentativo. Em seguida, o extrato aquoso foi filtrado em duas camadas de gases, e uma alíquota de 10 mL foi retirada, acidificada com 3 gotas de ácido sulfúrico 50%. A alíquota foi armazenada a -20°C para posteriores análises de carboidratos solúveis em água (CSA) (Nelson, 1988), ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico e butírico) e nitrogênio amoniacal

(Okuda; Fujii; Kawashima, 1965). O pH do extrato aquoso foi mensurado imediatamente, utilizando-se um potenciômetro digital (Tecnal, SP, Brasil).

A quantificação de ácidos orgânicos foi realizada em cromatógrafo líquido de alto desempenho (HPLC; modelo SPD-10A VP, SHIMADZU) acoplado ao detector ultravioleta (UV), utilizando-se um comprimento de ondas de 210 nm, com coluna HPX-87H (BIORAD) de 30 cm× 4,5 mm de diâmetro, pressão de 63 kgf. A fase móvel utilizada foi o ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,05 mM com fluxo de 0,8mL/min com um volume injetado de 20 µL. Para a realização desta análise, o extrato aquoso da silagem foi centrifugado a 12000 g por 10 minutos (Siegfried; Ruckemann; Stumpf, 1984).

Os ácidos orgânicos utilizados para calibração da curva padrão foram: ácido lático (AL), ácido acético (AA), ácido propiônico e ácido butírico (AB), todos na concentração inicial de 10 mM, com exceção do ácido acético, cuja concentração inicial foi de 20 mM.

2.6. Quantificação das populações microbianas

A partir do extrato aquoso, foram realizadas diluições seriadas (10^{-1} até 10^{-7}), sendo estas plaqueadas pela técnica *pour plate* em diferentes meios de cultivo, para determinação das populações de enterobactérias, bactérias ácido lácticas (BAL), fungos filamentosos e leveduras. O cultivo de enterobactérias foi realizado em meio VRB ágar (Violet Red Bile Agar Difco, Oxoid CM01107, Basingstoke, Hampshire, England) a 37°C por 24h; as BAL foram cultivadas em meio MRS ágar (De Man, Rogosa and Sharpe Oxoid CM361, Oxoid Ltd.) e incubadas a 37°C por 48h; O cultivo de fungos filamentosos e leveduras ocorreu em meio DRBC (Oxoid CM0727, Wade Road, Basingstoke, Hants, RG24 8PW, UK) a 25°C, sendo incubadas por 120h e 72h, respectivamente. As placas contendo entre 25 a 250 Ufc/g foram consideradas para a contagem, e os dados obtidos foram convertidos em \log^{10} e expressos em log de Ufc/g, com base na forragem fresca.

2.7. Avaliação da estabilidade aeróbia

A avaliação da estabilidade aeróbia ocorreu após 60 dias de fermentação. Após a abertura dos silos e homogeneização da silagem, amostras de 2,0 kg foram alocadas novamente em seus respectivos baldes e expostas ao ar por 7 dias, em sala com temperatura controlada a 22°C. As temperaturas foram mensuradas por *data loggers* (Cryopak iMini) colocados no centro geométrico da massa de silagem em cada balde. A estabilidade aeróbia foi definida como

o tempo em horas que a silagem permaneceu estável antes de atingir 2°C acima da temperatura ambiente.

2.8. Perdas totais de matéria seca

As perdas totais de matéria seca (PMS) durante o armazenamento foram calculadas por diferença entre o peso bruto inicial e final de MS dos silos, relativo à quantidade de material ensilado, de acordo com a equação descrita em Jobim *et al.* (2007), conforme vem abaixo.

$$PMS = \frac{[(MS_i - MS_f)]}{MS_i} \times 100$$

Onde:

PMS = Perda total de MS.

MS_i = Quantidade de matéria seca inicial. Peso do silo após o enchimento – peso do conjunto vazio antes do enchimento x teor de MS do material na ensilagem.

MS_f = Quantidade de MS final. Peso do silo cheio antes da abertura – peso do conjunto vazio x teor de MS do material na abertura.

2.9 Digestibilidade *in vitro*

As digestibilidades *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN) foram avaliadas utilizando-se a metodologia proposta pela ANKOM Daisy Incubator (Ankom® Technology Corporation, Fairport, NY), descrita por Holden (1999).

Amostras de 0,5 g das silagens foram acondicionadas em sacos F57 (ANKOM F57®), previamente limpos e pesados, e depois seladas a quente. Em cada jarro da incubadora foram colocados 25 sacos, distribuídos de forma aleatória.

O inóculo ruminal foi obtido de duas vacas adultas (peso corporal médio 594 ± 40 kg), fistuladas no rúmen. A dieta dos animais doadores foi composta de cana-de-açúcar e concentrado, na proporção de 70:30, na base da matéria seca. Os animais tiveram acesso irrestrito à água e foram adaptados à dieta padrão por 14 dias antes do início das coletas (Machado; Detmann; Mantovani, 2016). Os procedimentos relacionados ao uso dos animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP, protocolo 059/2020).

A digesta ruminal foi coletada em vários pontos da interface líquido-sólido do ambiente ruminal, antes do início da incubação. Logo após a coleta, a digesta foi transferida para o interior de garrafas térmicas pré-aquecidas à temperatura de 39°C. Posteriormente, a digesta ruminal foi acondicionada em liquidificador industrial, em sala climatizada (39°C), sendo homogeneizada por 30 segundos com injeção contínua de CO₂ através de uma mangueira acoplada ao liquidificador. O material homogeneizado foi filtrado em camadas de gaze em frasco Erlenmeyer.

Foram utilizados 1600 mL de solução tampão, proposta por McDougall (1948), com pH 6,8, reduzido via borbulhamento de CO₂, por 20 minutos. Adicionou-se à solução tampão 400 mL de digesta ruminal previamente filtrada nos jarros da incubadora e, posteriormente, foi realizada a infusão de CO₂ por 30 segundos nos mesmos. As amostras permaneceram na incubadora por 48 horas a 39°C. Ao final da incubação, o líquido foi drenado e os sacos F57 lavados em água corrente, secos em estufa (105°C/16h) e pesados, obtendo-se o resíduo aparentemente não digerido da MS.

Para a avaliação da DIVFDN, os sacos foram acondicionados em coletores universais autoclaváveis e adicionou-se 80 mL de solução de detergente neutro e 250µL de α-amilase termoestável, como previamente descrito. Posteriormente, os sacos foram lavados com água destilada quente (temperatura superior a 90°C) e acetona. Após a lavagem, eles foram secos (105°C/16h) e pesados para obtenção do resíduo de FDN.

2.10. Análises estatísticas

Os dados foram analisados segundo o delineamento inteiramente casualizado em um fatorial 2 × 2 × 2, por intermédio do procedimento GLM do SAS 9.4 (SAS Inst., Cary, NC, USA). Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), ao nível de probabilidade de 5% para o erro tipo I, e as médias comparadas pelo teste F, utilizando-se o pacote estatístico SAS. Para o caso de interação significativa entre os fatores, os mesmos foram desdobrados e as médias foram comparadas dentro de cada fator.

3. RESULTADOS

3.1. Composição química e populações microbianas dos genótipos de sorgo antes da ensilagem

A composição química dos sorgos Volumax e Agri 002 antes da ensilagem nas diferentes colheitas estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química e populações microbianas dos sorgos Volumax e Agri 002, antes da ensilagem.

Itens	Colheita 1		Colheita 2		EPM
	Volumax	Agri 002	Volumax	Agri 002	
MS (g/Kg MN)	269,70	260,00	268,50	271,01	0,82
PB (g/Kg MS)	80,80	54,30	84,21	92,64	2,63
FDN (g/Kg MS)	653,60	808,70	647,11	668,30	12,40
FDA (g/Kg MS)	357,50	501,30	333,41	370,62	11,90
CSA (g/Kg MS)	132,60	95,51	129,20	91,60	4,07
LIG (g/Kg MS)	62,01	107,01	54,00	54,03	3,39
ENT (UFC/g)	7,35	6,57	7,15	5,89	0,11
BAL (UFC/g)	7,21	6,79	5,50	5,23	0,16
LEV (UFC/g)	7,30	6,89	7,21	5,74	0,11
FUN (UFC/g)	5,64	6,28	4,87	4,62	0,16

MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido; CSA = carboidratos solúveis em água; LIG = lignina; ENT = enterobactérias; BAL = bactérias do ácido lático; LEV = leveduras; FUN = fungos; EPM = erro padrão da média.

3.2. Composição química das silagens

Foi observado efeito ($P < 0,05$) da interação $C \times S \times I$ sobre os conteúdos de MS, proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e CSA, enquanto os conteúdos de PB, FDN, FDA, NIDA e $N-NH_3$ foram afetados ($P < 0,05$) pela interação $C \times S$. A proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) foi afetada pelos efeitos individuais de inoculante, genótipo e colheita (Tabela 3).

Tabela 3. *P*-valor e erro padrão da média das variáveis, da composição química das silagens de sorgo Volumax e Agri 002 em duas colheitas distintas.

<i>Item</i>	<i>P</i> -valor							EPM
	C	S	I	C x S	C x I	S x I	C x S x I	
MS	<0,0001	<0,0001	0,0100	0,0234	0,6085	0,1956	0,0404	0,52
PB	0,4990	0,0002	0,7194	<0,0001	0,3053	0,0598	0,4416	2,26
FDN	<0,0001	<0,0001	0,9005	<0,0001	0,5025	0,0840	0,8573	11,41
FDA	<0,0001	<0,0001	0,1795	<0,0001	0,0826	0,1447	0,1891	9,26
NIDA	<0,0001	0,2123	0,0094	<0,0001	0,3869	0,7311	0,1220	5,10
PIDN	0,0722	0,0271	0,0152	<0,0001	0,3475	0,1652	0,0386	0,40
PIDA	<0,0001	0,0011	0,0043	0,8237	0,8663	0,0900	0,0900	0,22
CSA	<0,0001	0,0025	0,8418	0,1736	0,2411	<0,0001	<0,0001	0,76
NH ₃ /NT	0,1756	0,0100	0,4558	0,0458	0,0839	0,5881	0,1950	0,71

C = efeito de colheita; S = efeito de genótipo de sorgo; I = efeito de inoculante; C x S = efeito da interação entre colheita e genótipo de sorgo; C x I = efeito da interação entre colheita e inoculante; S x I = efeito da interação entre genótipo de sorgo e inoculante; C x S x I = efeito da interação entre colheita, genótipo de sorgo e inoculante; MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido; PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido; CSA = carboidratos solúveis em água; NH₃/NT = nitrogênio amoniacal em função do N total; EPM = erro padrão da média.

A interação C x S x I foi desdobrada, fixando-se a interação C x S. Dessa forma, foi realizada a comparação do efeito de inoculante dentro de cada colheita e para cada genótipo de sorgo. Para a colheita 2 e para o genótipo Volumax, observou-se menor ($P < 0,05$) teor de MS na silagem tratada com inoculante Lalsil As. No entanto, para o genótipo Agri 002, observou-se menor ($P < 0,05$) teor de PIDN para a silagem tratada com Lalsil As em relação ao tratamento controle. A concentração de CSA foi menor ($P < 0,05$) para a silagem tratada com o inoculante controle para o genótipo Volumax, na colheita 2. Por outro lado, não houve efeito de inoculante sobre a concentração de CSA das silagens do genótipo Agri 002, colheita 1, embora na colheita 2 a silagem tratada com inoculante tenha apresentado menor teor de CSA (Tabela 4).

Tabela 4. Teores de matéria seca, proteína insolúvel em detergente neutro e carboidratos solúveis em água residuais de silagens de sorgo, em função de inoculante microbiano dentro de cada genótipo e colheita.

Item (g/Kg)	Silagem	Inoculante				EPM
		CTRL		Lalsil		
		Colheita		Colheita		
		1	2	1	2	
MS	Volumax	265,09 a	264,44 a	261,65 a	258,57 b	0,73
	Agri 002	267,91 a	266,51 a	264,7 a	264,78 a	0,43
PIDN	Volumax	18,10 a	16,82 a	13,87 a	13,90 a	0,55
	Agri 002	13,87 a	13,40 a	17,12 a	13,25 b	0,56
CSA	Volumax	5,59 a	4,05 a	6,43 b	13,88 a	1,5
	Agri 002	2,35 a	2,47 a	12,38 a	5,94 b	1,08

CTRL = tratamento controle; MS = matéria seca; CSA = carboidratos solúveis em água; EPM = erro padrão da média; Lalsil As = *Lentilactobacillus buchneri* a 1×10^5 UFC/g. Médias seguidas de letras minúsculas distintas na linha para cada colheita e genótipo de sorgo diferem entre si pelo Teste F a 5% de significância.

O desdobramento da interação C x S foi realizado para as variáveis afetadas (Tabela 3). Ao comparar os genótipos de sorgo dentro de cada colheita, observou-se maior teor de PB para a silagem do genótipo Volumax na colheita 1. No entanto, para a colheita 2, a silagem do genótipo Agri 002 apresentou maior teor de PB. Os teores de FDN, FDA e N-NH₃ foram maiores na silagem do sorgo Agri 002 quando comparados à silagem do Volumax na colheita 1. Contudo, não se observou diferença entre os genótipos para essas variáveis na colheita 2. O genótipo Agri 002 apresentou maior ($P < 0,05$) teor NIDA na colheita 1. Efeito inverso ocorreu na colheita 2, em que o genótipo Volumax apresentou maiores teores desta variável (Tabela 5).

Tabela 5. Teores de proteína bruta, fibra insolúvel em detergente neutro, fibra insolúvel em detergente ácido, nitrogênio amoniacal, e nitrogênio insolúvel em detergente ácido, em função de colheita e genótipo de sorgo.

Item (g/ Kg)	Colheita	Silagem		EPM
		Volumax	Agri 002	
PB	1	83,98 Aa	54,18 Bb	4,23
	2	64,14 Bb	76,68 Aa	1,79
FDN	1	632,60 Ab	780,91 Aa	20,5
	2	640,90 Aa	655,90 Ba	4,23
FDA	1	369,01 Ab	472,53 Aa	15,2
	2	368,90 Aa	357,96 Ba	4,77
NH ₃ /NT	1	14,91 Bb	20,77 Aa	10,36
	2	19,10 Aa	19,92 Aa	10,82
NIDA/NT	1	105,97 Ab	149,18 Aa	6,30
	2	113,01 Aa	83,25 Bb	4,99

PB = proteína bruta; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido; NH₃/NT = nitrogênio amoniacal em função do N total; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido; EPM = erro padrão da média. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

O teor de PIDA foi afetado pelos efeitos individuais de genótipo de sorgo, inoculante e colheita. Foi observado menor valor ($P < 0,05$) de PIDA nas silagens inoculadas em relação às do tratamento controle (7,20 x 7,99 g/kg MS). O genótipo Volumax apresentou maior ($P < 0,05$) teor de PIDA em relação à Agri 002 (8,01 x 7,13 g/kg MS). Maior ($P < 0,05$) teor também foi observado na colheita 1 em comparação à colheita 2 (8,39 x 6,80 g/kg MS).

3.3. Populações microbianas e perfil fermentativo das silagens

Foi observado efeito ($P < 0,05$) da interação C x S x I apenas sobre a população de bactérias ácido lácticas. A interação C x I afetou ($P < 0,05$) a população de fungos filamentosos e o teor de ácido láctico das silagens. O pH foi afetado ($P < 0,05$) pela interação S x I, e os teores de ácido acético e butírico pelo efeito individual de genótipo de sorgo. A população de leveduras foi afetada ($P < 0,05$) apenas pelo efeito individual de inoculante (Tabela 6).

Tabela 6. *P-valor* e erro padrão da média das variáveis populações microbianas e perfil fermentativo das silagens de sorgo Volumax e Agri 002 em duas colheitas distintas.

Item	<i>P-valor</i>							EPM
	C	S	I	C x S	C x I	S x I	C x S x I	
pH	0,9095	0,7091	0,6852	0,9095	0,2967	0,0418	0,6384	0,01
BAL	<0,0001	0,4622	0,0001	0,1187	0,0044	0,0339	0,0184	0,15
FUN	0,0012	0,4105	0,0167	0,3660	0,0355	0,9979	0,5382	0,40
LEV	0,1962	0,2305	0,0026	0,7332	0,5840	0,6619	-	0,29
AL	0,1762	0,9301	0,2056	0,4449	0,0205	0,0536	0,1908	1,71
AA	0,2463	0,0281	0,6945	0,7611	0,4656	0,2703	0,8370	1,36
AB	0,3520	0,0300	0,4130	0,4880	0,2995	0,3138	0,3700	1,01

C = efeito de colheita; S = efeito de genótipo de sorgo; I = efeito de inoculante; C x S = efeito da interação colheita e genótipo de sorgo; C x I = efeito da interação entre colheita e inoculante; S x I = efeito da interação entre genótipo de sorgo e inoculante; C x S x I = efeito da interação entre colheita, genótipo de sorgo e inoculante; BAL = bactérias do ácido lático ; FUN = fungos filamentosos ; LEV= leveduras ; AL= ácido lático; AA= ácido acético AB = ácido butírico; EPM= erro padrão da média.

A interação C x S x I foi desdobrada para a variável BAL, fixando-se a interação C x S. Dessa forma, foi realizada a comparação do efeito de inoculante dentro de cada colheita e para cada genótipo de sorgo. Observou-se efeito de inoculante apenas para o genótipo Volumax na colheita 1, com maior contagem de BAL para a silagem inoculada com Lalsil AS em relação ao tratamento controle (8,97 x 6,94 Ufc/g).

O estudo do desdobramento da interação C x I foi realizado para as variáveis população de fungos filamentosos e teor de ácido lático das silagens. Avaliando-se o fator inoculante dentro de cada colheita, observou-se para a colheita 1, maior população de fungos e maior teor de ácido lático (P < 0,05) na silagem controle. No entanto, não houve efeito (P > 0,05) de inoculante na colheita 2 sobre essas duas variáveis. Para o estudo do fator colheita dentro de cada inoculante, observou-se menor (P < 0,05) população deste grupo microbiano na silagem controle da colheita 2 quando comparada à da colheita 1. Entretanto, essa diferença não foi verificada para a silagem tratada com Lalsil AS, que não apresentou diferença (P > 0,05) entre as colheitas 1 e 2. O teor de ácido lático não diferiu (P > 0,05) entre as silagens do controle nas

colheitas 1 e 2. No entanto, a silagem tratada com Lalsil As na colheita 2 apresentou maior ($P < 0,05$) teor de ácido láctico quando comparada à silagem da colheita 1 (Tabela 7).

Tabela 7. População de fungos filamentosos e teor de ácido láctico de silagens de sorgo em função de inoculante e colheita.

Item	Colheita	Inoculante		
		CTRL	Lalsil As	EPM
FUN (Ufc/g)	1	4,74 Aa	3,14 Ab	0,55
	2	2,73 Ba	2,61 Aa	0,24
AL (g/Kg MS)	1	31,45 Aa	18,35 Bb	2,05
	2	27,25 Aa	31,77 Aa	1,97

FUN = fungos filamentosos (log ufc/g); AL = ácido láctico., EPM = erro padrão da média; Lalsil AS = *Lentilactobacillus buchneri* a 1×10^5 UFC/g; CTRL = tratamento controle. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

Houve tendência de interação S x I para o pH. No entanto, ao desdobrar este efeito, não foram encontradas diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$). A média de pH para a silagem do genótipo Volumax foi de 3,68 e a do genótipo Agri 002 de 3,69.

Os teores dos ácidos acético (9,39 x 12,51 Kg/MS) e butírico (6,49 x 8,28 Kg/MS) foram afetados apenas pelo efeito individual de genótipo de sorgo, com menores valores reportados para a silagem de sorgo Volumax, quando esta foi comparada à de Agri 002, respectivamente.

A população de leveduras foi afetada apenas pelo efeito individual de inoculante, com maior ($P < 0,05$) contagem observada para a silagem controle (5,54 x 3,38 ufc/g), em comparação ao inoculado com Lalsil As.

3.4. Perdas totais de matéria seca e digestibilidade em vitro das silagens

Foi observado efeito da interação C x S sobre perdas de matéria seca, DIVMS e DIVFDN (Tabela 8).

Tabela 8. *P*-valor e erro padrão da média das variáveis, referentes às perdas de matéria seca, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da fibra em detergente neutro de silagens de sorgo Volumax e Agri 002 em duas colheitas.

Item	<i>P</i> -valor							EPM
	C	S	I	C x S	C x I	S x I	C x S x I	
PER	0,0084	0,0051	0,1374	0,0160	0,4967	0,5769	0,0573	2,32
DIVMS	<0,0001	<,0001	0,3913	<0,0001	0,9820	0,5420	0,8091	12,70
DIVFDN	<0,0001	0,0049	0,5878	<0,0001	0,5800	0,6823	0,5440	10,45

C = efeito de colheita; S = efeito de genótipo de sorgo; I = efeito de inoculante; C x S = efeito da interação entre colheita e genótipo de sorgo; C x I = efeito da interação entre colheita e inoculante; S x I = efeito da interação entre genótipo de sorgo e inoculante; C x S x I = efeito da interação entre colheita, e genótipo de sorgo e inoculante; PER = perdas totais de matéria seca; DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; DIVFDN = digestibilidade *in vitro* da fibra insolúvel em detergente neutro; EPM = erro padrão da média.

A interação C x S foi desdobrada, e avaliou-se o efeito de colheita dentro de cada genótipo de sorgo. Observou-se maiores ($P < 0,05$) DIVMS, DIVFDN e perdas de MS na colheita 2 em comparação à colheita 1, nas silagens de ambos os genótipos. Ao comparar os genótipos de sorgo dentro de cada colheita, observou-se maior ($P < 0,05$) DIVMS e DIVFDN para a silagem do genótipo Volumax quando comparada à de Agri 002 na colheita 1. No entanto, para a colheita 2 os genótipos não diferiram ($P > 0,05$) entre si com relação à DIVMS e DIVFDN, mas observou-se maior perda ($P < 0,05$) de MS na silagem de Volumax quando comparada à de Agri 002 nesta colheita (Tabela 9).

Tabela 9. Perdas de matéria seca, DIVMS e DIVFDN em função de colheita e genótipo

Item (g/Kg)	Silagem	Colheita		EPM
		1	2	
DIVMS	Volumax	604,13 Ab	627,72 Aa	6,39
	Agri 002	469,53 Bb	639,38 Aa	22,4
DIVFDN	Volumax	508,35 Ab	553,22 Aa	8,42
	Agri 002	432,68 Bb	569,21 Aa	18,7

Perdas	Volumax	31,90 Ab	50,82 Aa	3,28
	Agri 002	30,19 Aa	31,16 Ba	3,48

DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; DIVFDN = digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro; Perdas = perdas de matéria seca. EPM = erro padrão da média. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

3.5. Estabilidade aeróbia

Foi observado efeito ($P < 0,05$) da interação S x I para a variável estabilidade aeróbia. Os teores de ácido láctico, acético e pH foram afetados pela interação C x I, enquanto as variáveis leveduras e NH_3/NT foram afetadas pelo efeito individual de inoculante ($P < 0,05$). A população de fungos filamentosos foi afetada ($P < 0,05$) pelos efeitos individuais de colheita e inoculante, (Tabela 10).

Tabela 10. *P*-valor e erro padrão da média das variáveis referentes à estabilidade aeróbia, populações microbianas e perfil fermentativo de silagens de sorgo Volumax e Agri 002 em duas colheitas após 7 dias de exposição aeróbia.

Item	<i>P</i> -valor							EPM
	C	S	I	C x S	C x I	S x I	C x S x I	
EST	0,7861	0,0875	<0,0001	0,4638	0,2008	0,0129	0,8346	12,1
pH	<0,0001	0,6806	<0,0001	0,0872	<0,0001	0,4677	0,1154	0,31
AL	0,9925	0,0961	0,3821	0,1426	0,0416	0,4383	0,3196	0,19
AA	0,3220	0,8361	0,0055	0,1798	0,0149	0,9907	0,5200	0,15
LEV	0,8812	0,3900	<0,0001	0,3214	0,6803	0,2148	0,7398	0,28
FUN	0,0290	0,4489	0,0008	0,2382	0,4479	0,4479	-	0,29
NH_3/NT	0,3827	0,7784	0,0001	0,6784	0,5235	0,7252	0,1048	0,11

C = efeito de colheita; S = efeito de genótipo de sorgo; I = efeito de inoculante; C x S = efeito da interação entre colheita e genótipo de sorgo; C x I = efeito da interação entre colheita e inoculante; S x I = efeito da interação entre genótipo de sorgo e inoculante; C x S x I = efeito da interação entre colheita e genótipo de sorgo e inoculante; EST = estabilidade aeróbia; FUN= fungos filamentosos; LEV= leveduras; AA = ácido acético AL = ácido láctico. NH_3/NT = nitrogênio amoniacal; EPM = erro padrão da média.

A interação S x I foi desdobrada e, avaliando-se o efeito de inoculante dentro de cada genótipo de sorgo, observou-se que silagens de sorgo tratadas com Lalsil As apresentaram maior estabilidade aeróbia comparadas às do controle para ambos os genótipos. Ao se avaliar genótipo de sorgo dentro de cada inoculante, observou-se maior ($P < 0,05$) estabilidade aeróbia para as silagens do sorgo Volumax quando comparadas à do genótipo Agri 002, no tratamento controle. No entanto, não foi observado ($P > 0,05$) efeito de genótipo para as silagens inoculadas com Lalsil As (Tabela 11).

Tabela 11. Estabilidade aeróbia (h) de silagens de sorgo em função de genótipos e inoculantes.

Item (h)	Silagem	Inoculante		EPM
		CRTL	Lalsil As	
EST	Volumax	41,93 Ab	163,60 Aa	15,90
	Agri 002	25,03 Bb	167,17 Aa	18,70

EST= estabilidade aeróbia/ horas. LALSIL AS = *Lentilactobacillus buchneri* a 1×10^5 UFC/g; CTRL = tratamento controle; EPM = erro padrão da média. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

A interação C x I foi desdobrada para as variáveis pH, ácido acético e lático. Avaliando-se o efeito de inoculante dentro de cada colheita, observou-se maior ($P < 0,05$) pH para as silagens do tratamento controle em relação às tratadas com Lalsil As, em ambas as colheitas. Os teores de AA diferiram na colheita 2, com maiores valores ($P > 0,05$) registrados nas silagens inoculadas com Lalsil As em relação ao tratamento controle. Maiores ($P > 0,05$) teores de AL foram observados no tratamento controle em relação ao tratamento com Lalsil As em ambas as colheitas. Avaliando-se o fator colheita dentro de cada inoculante, observou-se maiores ($P > 0,05$) teores de AA e AL na colheita 1 em comparação à colheita 2 para as silagens do tratamento controle (Tabela 12).

Tabela 12. Ácidos orgânicos e pH das silagens após estabilidade aeróbia em função de colheitas e inoculantes.

Item	Colheita	Inoculante		EPM
		Controle	Lalsil As	
pH	1	4,97 Ba	3,63 Ab	0,21
	2	7,66 Aa	3,66 Ab	0,53
AA	1	7,18 Aa	8,61 Aa	0,22
	2	2,03 Bb	9,92 Aa	0,32
AL	1	16,26 Aa	8,78 Ab	0,36
	2	13,90 Ba	7,60 Ab	0,15

AA = ácido acético; AL = ácido lático; EPM = erro padrão da média; LALSIL AS = *Lentilactobacillus buchneri* a 1×10^5 UFC/g. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo Teste F a 5% de significância.

A população de leveduras foi afetada pelo efeito individual de inoculante. Menores ($P < 0,05$) populações desses microrganismos foram observadas nas silagens tratadas com Lalsil As em comparação às do tratamento controle (8,39 x 5,41 ufc/g), respectivamente. A população de fungos filamentosos foi menor nas silagens tratadas com Lalsil As em comparação às do tratamento controle (4,31 x 2,32 ufc/g) e na colheita 1 em relação à colheita 2 (3,05 x 3,58 ufc/g). O nitrogênio amoniacal foi maior nas silagens inoculadas com Lalsil As em comparação às do tratamento controle (22,51 x 14,38 g/kg NT), respectivamente.

4. DISCUSSÃO

4.1. Composição química das plantas de sorgo e das silagens

O teor de matéria seca da planta no momento da colheita é uma das variáveis mais importantes para o êxito da fermentação da massa ensilada. Os híbridos usados no nosso estudo apresentaram valor médio de 26,7% de MS, o que pode ser considerado adequado no caso da silagem de sorgo, uma vez que esta pode variar conforme a maturidade à colheita (WANNASEK *et al.*, 2017). Em relação à produção de matéria seca, o genótipo Agri 002 se destacou, com rendimento total (incluindo a rebrotação) de 42 t/ha, comparado às 18,5 do Volumax.

Além do teor de MS, outro fator importante é o teor de CSA, que deve ser superior a 8% na base da MS (Pasteris *et al.*, 2021), para assegurar uma boa fermentação da silagem. Ambos os genótipos apresentaram teores de CSA superiores a esse, cujas médias foram 13,1 e 9,3% para os genótipos Volumax e Agri 002, respectivamente. Destacamos, ainda, que a população de BAL na forragem antes da ensilagem foi superior aos 10^5 ufc/g, considerada adequada para uma boa fermentação (Khota *et al.*, 2017). O teor de CSA da planta e a população epifítica de BAL são determinantes para o rápido declínio do pH durante os estágios iniciais da ensilagem e produção de silagem de qualidade (Amer *et al.*, 2012).

O menor teor de MS da silagem de Volumax, na segunda colheita, tratada com Lalsil As, provavelmente se deve a perdas de matéria seca durante o processo de fermentação, pela produção de dióxido de carbono, em decorrência da inoculação com a espécie *L. buchneri* (Arriola *et al.*, 2021 b).

O NIDN e o NIDA representam os compostos nitrogenados ligados aos constituintes da parede celular da planta, sendo o primeiro digestível, porém de degradação lenta, e o segundo praticamente indigestível, ligado à lignina e a outros compostos (Van Soest, 1994). O maior teor de NIDA na silagem de Agri 002 na colheita 1 poderia indicar maior aquecimento desta durante a fermentação em relação à silagem do genótipo Volumax. No entanto, valores de NIDA na faixa de 3% a 15% na base da MS são considerados dentro da normalidade (Van Soest, 1994), uma vez que altos teores de NIDA, em decorrência da elevação da temperatura no silo, estão associados à reação de Maillard

O PIDN é a fração digestível da proteína do alimento degradada mais lentamente no rúmen, enquanto o PIDA é indigestível e está associado a compostos na matriz da parede celular, limitando o acesso dos microrganismos ruminais e, conseqüentemente, afetando a digestibilidade do alimento (Henriques *et al.*, 2007). Os valores de PIDN encontrados no nosso estudo são inferiores aos registrados por Bernard e Tao (2015) em silagem de sorgo forrageiro colhido em duas estações. Apesar de ter sido encontrado maior teor de PIDA na silagem controle comparada à inoculada (7,99 vs 7,20 g/kg MS), biologicamente esses valores são muito próximos e inferiores aos 12,9 g/kg MS encontrados por Dos Anjos *et al.* (2018) em silagem de sorgo não inoculada.

A diminuição do teor de CSA na silagem em relação à planta é um indicativo de que ocorreu atividade microbiana e enzimática durante a fermentação, contribuindo para manter um baixo pH (Zhang *et al.*, 2016). A silagem tratada com Lalsil As apresentou melhor eficiência na degradação dos carboidratos solúveis, possivelmente devido ao aumento da população de BAL, bem como da atividade dos mesmos.

O maior teor de PB na silagem do híbrido Volumax na colheita 1, em comparação ao Agri 02, provavelmente se deve à ausência de panícula no híbrido Agri 002, bem como ao porte alto (5m), que elevou a participação de colmo em relação à folha. A panícula é um componente da planta que pode alterar a qualidade da silagem, pois tem altas concentrações de PB e MS e maior DIVMS, além de menores concentrações de fibra, cuja participação no sorgo pode resultar em mudanças no valor nutricional da silagem (Perazzo *et al.*, 2017). Por outro lado, na colheita 2, o maior teor de PB na silagem de sorgo Agri 002 em comparação ao Volumax possivelmente se deve à altura muito próxima entre os híbridos (Tabela 1).

As variações na PB se devem a diversos fatores, como estágio de maturidade a colheita, presença ou ausência de panícula, genótipo e condições edafoclimáticas da área de plantio (Costa *et al.*, 2016). O maior teor de PB da silagem de Volumax na primeira colheita, em relação à segunda (83,9 x 64,1 g/kg MS), provavelmente se deve às condições climáticas prevalecentes no período de rebrota das plantas. Por outro lado, o maior teor de PB na silagem de sorgo Agri 002 na segunda colheita em relação à primeira (76,6 x 54,1 g/kg MS) provavelmente se deve ao menor porte da planta, conforme já reportado. Tal comportamento poderia explicar também os maiores teores de FDN e FDA na silagem desse híbrido na segunda colheita.

Na colheita 1, o maior teor de FDN na silagem do sorgo Agri 002 em relação ao Volumax se deve ao maior porte do primeiro (5,0 vs 2,31m) em decorrência da colheita mais tardia (154 dias), bem como da ausência de grãos. O porte alto desse híbrido reflete em uma maior porcentagem de colmos em relação às folhas, com mais tecidos de sustentação e aumento dos teores de fibra (Perazzo *et al.*, 2014), explicando, também, o maior teor de FDN deste híbrido na colheita 1 em relação à 2. Os maiores teores de FDA na silagem de Agri 002 na colheita 1 provavelmente se devem ao porte elevado das plantas, conforme já reportado. Maiores teores de FDA e lignina estão associados ao desenvolvimento da parede celular e ao espessamento da mesma, sendo de extrema importância para o suporte estrutural, principalmente das plantas de porte alto, que têm maior requerimento de tecidos de sustentação (Queiroz *et al.*, 2021).

Os teores de FDA encontrados no nosso estudo para o sorgo biomassa são semelhantes aos 450,78 g/kg MS encontrados por Venturini (2019) em silagem de sorgo Agri 002. O Agri 002 é sensível ao fotoperíodo e a sua rebrota ocorreu entre os meses de março a junho, com dias mais curtos, o que induziu a diferenciação floral, adiantando o ciclo de maturação do mesmo, afetando negativamente a altura das plantas e, conseqüentemente, os teores de FDA na colheita 2.

Embora tenha sido detectado efeito da interação colheita x genótipo de sorgo sobre o teor de nitrogênio amoniacal das silagens, destaca-se que os valores encontrados nas silagens no presente estudo se encontram abaixo do valor de 10%, o qual é considerado adequado para silagem de boa qualidade (Kung Jr. *et al.*, 2018).

4.2. Populações microbianas e perfil fermentativo das silagens

As bactérias lácticas (BAL) compõem a microbiota epifítica das plantas forrageiras; sua quantidade e diversidade iniciais ditam o sentido da fermentação e a produção dos ácidos orgânicos, influenciando a qualidade da silagem (Ávila; Carvalho, 2020). A maior população de BAL na silagem de Volumax tratada com Lalsil As, na primeira colheita, em relação ao tratamento controle, provavelmente se deve à capacidade de crescimento dos microrganismos adicionados pelo inoculante, em relação à população epifítica de BAL, contribuindo para que esta fosse dominante do processo fermentativo.

Os fungos são microrganismos indesejáveis nas silagens, pois utilizam os CSA residuais e o ácido láctico como substrato, cujo crescimento resulta em perda de nutrientes e potencial contaminação por micotoxinas, quando as concentrações de ácidos orgânicos presentes na silagem são insuficientes para inibir esses microrganismos (Filya, 2003). No entanto, contagens de até 4 log ufc/g de fungos nas silagens são consideradas aceitáveis para fornecimento aos animais, sem causar problemas (Alonso *et al.*, 2013).

A maior população de fungos na silagem controle (4,74 ufc/g) em relação àquela tratada com Lalsil As (3,14 ufc/g) provavelmente se deve a uma menor concentração de ácidos orgânicos com potencial antifúngico nessa silagem, cuja concentração não foi suficiente para inibir o crescimento destes microrganismos (Arriola *et al.*, 2021 a). Os fungos podem ser ensilados juntamente ao material, e, embora boa parte seja inativada pela produção de ácido láctico e decréscimo de pH, outra parte volta a se proliferar assim que as condições de crescimento estejam propícias (Wambacq *et al.*, 2016).

A presença de leveduras na silagem pode ser um indicativo de baixa estabilidade aeróbia. As leveduras sobrevivem em uma ampla faixa de condições de temperatura, osmolaridade e pH, utilizando o ácido láctico como uma fonte de energia para seu crescimento (Ávila; Carvalho, 2020).

Uma vez que o ácido lático é assimilado, a temperatura começa a subir, acima de 45°C. A partir desse ponto a quantidade de leveduras diminui e outros organismos microbianos, como fungos, começam a se proliferar (Tabacco *et al.*, 2009). A menor contagem de leveduras na silagem tratada com Lalsil As pode ter como justificativa a maior produção de ácido acético nessa silagem, que suprimiu o crescimento destes microrganismos (Heinl *et al.*, 2011).

A qualidade da silagem pode ser avaliada com base em seus produtos finais, como concentrações de ácidos orgânicos, pH, N-NH₃ e populações microbianas. O ácido lático produzido pelas bactérias lácticas é o principal responsável pelo abaixamento do pH e, conseqüentemente, pela redução no ritmo de crescimentos dos microrganismos deletérios (Alhaag *et al.*, 2019), suas concentrações tipicamente encontradas em silagens variam de 2 a 4% da MS (Kung Jr. *et al.*, 2018).

As silagens não tratadas apresentaram pH e concentrações de AL suficientes para uma preservação adequada, indicativo de que a população de bactérias epifíticas do material se encontrava em quantidade suficiente para promover boa fermentação, conforme já reportado. A menor concentração de AL na silagem tratada com Lalsil As na primeira colheita pode ser reflexo da maior produção de ácido acético nessa silagem.

O ácido acético encontrado em segunda maior concentração nas silagens (1 a 3% da MS) apresenta fortes características antifúngicas, inibindo leveduras e contribuindo, assim, para melhor estabilidade aeróbia da silagem (Kung Jr. *et al.*, 2018). O menor teor de AA na silagem de Volumax pode ser em decorrência da maior eficiência das BAL em dominar o processo fermentativo e causar rápido declínio de pH, desfavorecendo outros microrganismos produtores de ácido acético (ÁVILA; CARVALHO, 2020).

A presença de ácido butírico nas silagens é um indicador negativo de qualidade, devido à presença de clostrídios, que levam a perdas de MS, energia e reduz a palatabilidade da dieta (Muck, 2010). O conteúdo de ácido butírico nas silagens foi inferior a 1% MS, e, embora possa ser reflexo de alguma fermentação indesejável, as concentrações presentes sugerem que foi a atividade de um número pequeno de clostrídios (Diepersloot *et al.*, 2021).

4.3. Perdas de matéria seca e digestibilidade *in vitro* das silagens

A digestibilidade é tida como uma fonte de variação do valor energético dos alimentos para ruminantes (Silva *et al.*, 2020). As técnicas de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN) são mais baratas, pois reduzem o uso de animais e permitem a avaliação de um número maior de amostras por vez, em comparação com

as técnicas *in vivo*. Além disso, têm fortes correlações com a digestibilidade *in vivo* dos alimentos, permitindo sua estimativa via equações de regressão (SILVA *et al.*, 2017).

A maior DIVMS da silagem de Volumax na colheita 1, comparada à silagem de Agri 002 (604,13 vs 469,53 g/kg MS), possivelmente se deve à maior percentagem de grãos na primeira colheita e período de crescimento adequado do sorgo, durante o verão. Por outro lado, a maior DIVMS na colheita 2, em relação à 1, em ambos os genótipos, pode ser atribuída ao menor porte das plantas, bem como à menor fração fibrosa das mesmas. A DIVMS da silagem do genótipo Agri 002 pode ter sido afetada pelo maior teor de lignina e FDN presentes nestas plantas, pois segundo Silva *et al.* (2011) a lignina forma uma barreira que impede a aderência microbiana e a hidrólise enzimática da celulose e hemicelulose, indisponibilizando os carboidratos estruturais potencialmente degradáveis, diminuindo a digestibilidade da MS.

A digestibilidade da FDN reflete no consumo de MS, uma vez que forragens mais digestíveis permanecem menos tempo no rúmen, influenciando o consumo e a produção animal (Mahyuddin; Purwantari, 2009). A maior DIVFDN (508,35 g/kg MS) na silagem de Volumax em relação à de Agri 002 (432,68 g/kg MS) na colheita 1 pode ser reflexo da menor concentração de FDN e de lignina encontrados no genótipo Volumax.

Perdas de matéria seca durante a fermentação estão ligadas à produção de dióxido de carbono e geralmente se encontram na faixa de 2% a 4% de MS (Borreani *et al.*, 2018). A maior perda de MS na silagem de Volumax na colheita 2, pode ser atribuída ao desenvolvimento e atividade de leveduras e clostrídios, uma vez que foi encontrado ácido butírico nestas silagens. Sabe-se que a fermentação de glicose e lactato por clostrídios resulta, além da produção de ácido butírico, em grandes perdas de MS via CO₂ (Rodrigues *et al.*, 2020).

4.4. Estabilidade aeróbia

A estabilidade aeróbia compreende o período que transcorre entre a abertura do silo até fungos e leveduras oxidarem os ácidos orgânicos e demais substratos, levando à deterioração aeróbia e à elevação de temperatura da massa (Wilkinson; Davies, 2013).

A maior estabilidade aeróbia nas silagens tratadas com Lalsil As pode ser atribuída à maior concentração de ácido acético nessas silagens, pelo fato de suas propriedades fungicidas inibirem o crescimento de microrganismos deterioradores, promovendo maior EA. Arriola *et al.* (2021 b), em uma meta-análise sobre os efeitos do *Lentilactobacillus buchneri*, concluíram que o inoculante melhorou a estabilidade aeróbia e reduziu as contagens de leveduras nas silagens. Portanto, a inoculação com *L. buchneri* proporciona silagens mais estáveis

aerobiamente e redução significativa de microrganismos deletérios que podem comprometer a segurança microbiológica das mesmas (Fabiszewska; Zielińska; Wróbel, 2019).

5. CONCLUSÃO

O inoculante microbiano avaliado foi efetivo em reduzir o crescimento de leveduras e fungos, proporcionando melhorias na estabilidade aeróbia das silagens dos sorgos Volumax e Agri 002. Apesar da maior digestibilidade *in vitro* da MS e da FDN da silagem de sorgo Volumax na colheita 1, o alto rendimento de matéria seca do híbrido Agri 002 pode ser fator determinante na escolha do híbrido a ser cultivado, dependendo também do tipo de animal e desempenho esperado.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALHAAG, H. *et al.* Fermentation characteristics of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus* species isolated from sweet sorghum silage and their application as silage inoculants. **Applied Sciences**, v. 9, n. 1247, p. 1-17, 2019.

ALONSO, V.A. *et al.* Fungi and mycotoxins in silage: an overview. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, p. 637–643, 2013.

AMER, S. *et al.* Effects of water-soluble carbohydrate content on ensiling characteristics, chemical composition and in vitro gas production of forage millet and forage sorghum silages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 177, n.1-2, p. 23-29, 2012.

AOC, Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of Analysis**, 15.ed. Arlington, Virginia, USA. 1990.

ARRIOLA, K. G. *et al.* Effect of *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus buchneri*, or their combination on the fermentation and nutritive value of sorghum silage and corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 9, p. 9664-9675, 2021 (a).

ARRIOLA, K.G. *et al.* Meta-analysis of effects of inoculation with *Lentilactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 7, p. 7653-767, 2021 (b).

ÁVILA, C. L. S., CARVALHO, B. F. Silage fermentation—updates focusing on the performance of micro-organisms. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, n. 4, p. 966-984, 2020.

BEAN, B. W. *et al.* Comparison of sorghum classes for grain and forage yield and forage nutritive value. **Field Crops Research**, v. 142, p. 20-26, 2013.

BERNARD, J.K.; TAO, S. Production response of lactating dairy cows to brachytic forage sorghum silage compared with corn silage from first or second harvest. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 12, p. 8994-9000, 2015.

BORREANI, G. *et al.* Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3952-3979, 2018.

CAMPELO, F.A. *et al.* Study of Thermoplastic Extrusion and Its Impact on the Chemical and Nutritional Characteristics and Two Sorghum Genotypes SC 319 and BRS 332. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 4, p. 788-802, 2020.

CARVALHO, A. P. *et al.* Chemical composition, kinetics of degradation, and digestibility of forage of different purpose sorghum cultivars. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 2, p. 607-620, 2020.

COSTA, R. F. *et al.* Agronomic characteristics of sorghum genotypes and nutritional values of silage. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, p. 127-133, 2016.

DE MORAIS CARDOSO, L. *et al.* Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. **Critical reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 2, p. 372-390, 2017.

DIEPERSLOOT, E. C. *et al.* Effects of microbial inoculation and storage length on fermentation profile and nutrient composition of whole-plant sorghum silage of different varieties. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, n.660567, p.1-16, 2021.

DOS ANJOS, G. V. S. *et al.* Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 7, p. 6047-6054, 2018.

FABISZEWSKA, A.U., ZIELIŃSKA, K.J.; WRÓBEL, B. Trends in designing microbial silage quality by biotechnological methods using lactic acid bacteria inoculants: a minireview. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 5, p. 1-8, 2019.

FILYA, I. The effect of *Lentilactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 11, p. 3575-3581, 2003.

GANO B. *et al.* Adaptation Responses to Early Drought Stress of West Africa Sorghum Varieties. **Agronomy**, v. 11, n. 443, p. 1-21, 2021.

GETACHEW, G. *et al.* Potential of sorghum as an alternative to corn forage. **American Journal of Plant Sciences**, v. 7, n. 7, p. 1106-1121, 2016.

HEINL, S. *et al.* Sequence analysis and characterization of two cryptic plasmids derived from *Lentilactobacillus buchneri* CD034. **Plasmid**, v. 66, n. 3, p. 159-168, 2011.

HENRIQUES, L. T. *et al.* Frações dos compostos nitrogenados associados à parede celular em forragens tropicais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 1, p. 258-263, 2007.

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

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

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.

KUNG JR. *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.

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

MACHADO, M.G.; DETMANN, E.; MANTOVANI, H.C. et al. Evaluation of the Length of adaptation period for changeover and crossover nutritional experiments with cattle fed tropical forage-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 222, p. 133-148, 2016.

MAHYUDDIN, P., PURWANTARI, N. D. The neutral detergent fiber digestibility of some tropical grasses at different stage of maturity. **Animal production**, v. 11, n. 3, 2009.

MCDOUGALL, E. I. The composition and output of sheep's saliva. **The Biochemical Journal**, v. 43, n. 1, p. 99-109, 1948.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC international**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.

MUCK, R. E. Microbiologia da silagem e seu controle por meio de aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p. 183-191, 2010.

NASCIMENTO AGARUSSI, M. C. *et al.* Effect of Various Strains of *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation Quality and Aerobic Stability of Corn Silage. **Agriculture**, v. 12, n. 95, p. 1-11, 2022.

NELSON, N. A. photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v. 153, n. 2, p. 375-380, 1944.

OKUDA, H., FUJII, S., KAWASHIMA, Y. A direct colorimetric determination of blood ammonia. **Tokushima Journal of Experimental Medicine**, v. 12, p. 11-23, 1965.

PASTERIS, A. M. *et al.* Effects of sorghum biomass quality on ensilability and methane yield. **GCB Bioenergy**, v. 13, n. 5, p. 803-822, 2021.

PERAZZO, A.F. *et al.* Agronomic evaluation of sorghum hybrids for silage production cultivated in semiarid conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1088, p.1-8, 2017.

PERAZZO, A. F. *et al.* Agronomic evaluation of 32 sorghum cultivars in the Brazilian semi-arid region. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 43, p. 232-237, 2014.

QUEIROZ, F. E. D. *et al.* Effect of row spacing and maturity at harvest on the fermentative profile, aerobic stability, and nutritional characteristics of biomass sorghum (BRS 716) silage in the semiarid region of Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 50, 2021.

RODRIGUES, P. H. M. *et al.* Sorghum silage quality as determined by chemical–nutritional factors. **Grass and Forage Science**, v. 75, n. 4, p. 462-473, 2020.

SAMARAPPULI, D.; BERTI, M. T. Intercropping forage sorghum with maize is a promising alternative to maize silage for biogas production. **Journal of Cleaner Production**, v. 194, p. 515-524, 2018.

SANTOS, M. *et al.* Identification of the major yeasts isolated from high moisture corn and corn silages in the United States using genetic and biochemical methods. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 2, p. 1151-1160, 2017.

SIEGFRIED, V. R., RUCKEMANN, H., STUMPF, G. Eine HPLC-Methode zur Bestimmung organischer Säuren in Silagen. **Landwirtsch. Forsch**, v. 37, p. 298-304. 1984.

SILVA, B.C. *et al.* In situ and in vitro techniques for estimating degradation parameters and digestibility of diets based on maize or sorghum. **The Journal of Agricultural Science**, v. 158, n. 1-2, p. 150-158, 2020.

SILVA, M. A. *et al.* Rendimento forrageiro e valor nutritivo de clones de Pennisetum sob corte, na zona da mata seca. **Archivos de Zootecnia**, v. 229, n. 60, p. 64-74, 2011.

SILVA, T. E. *et al.* Comparação de métodos in vitro para a quantificação da digestibilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro de forragens e concentrados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, p. 1635-1644, 2017.

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

VALADARES FILHO, S.C. *et al.* **Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Ruminantes**. CQBAL 4.0. 2018.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. New York: Cornell University, 1994. 476 p.

VENTURINI, T. Caracterização da silagem do sorgo forrageiro Agri 002E e utilização na alimentação de bovinos. **Universidade Estadual do Oeste do Paraná**. 2019.

VERMA, R.; KUMAR, R.; NATH, A. Drought resistance mechanism and adaptation to water stress in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Int. J. Bio-Resour. Stress Manag*, 9, 167-172. 2018.

WAMBACQ, E. *et al.* Occurrence, prevention and remediation of toxigenic fungi and mycotoxins in silage: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 7, p. 2284-2302, 2016.

WANNASEK, L. *et al.* Sorghum, a sustainable feedstock for biogas production? Impact of climate, variety and harvesting time on maturity and biomass yield. **Biomass and Bioenergy**, v. 106, p. 137-145, 2017.

WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v. 68, n. 1, p. 1-19. 2013.

ZHANG, F. *et al.* Improved quality of corn silage when combining cellulose-decomposing bacteria and *Lentilactobacillus buchneri* during silage fermentation. **BioMed Research International**, 2019.

ZHANG, S. J. *et al.* Chemical composition and in vitro fermentation characteristics of high sugar forage sorghum as an alternative to forage maize for silage making in Tarim Basin, China. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 15, n. 1, p. 175-182, 2016.