



Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

**Dinâmica do perfil fermentativo e
comunidade microbiana de silagem de sorgo
biomassa inoculada com bactérias ácido-
láticas epifíticas**

Isadora Vieira Santos Araujo

2026

ISADORA VIEIRA SANTOS ARAUJO

**DINÂMICA DO PERFIL FERMENTATIVO E COMUNIDADE MICROBIANA DE SILAGEM DE SORGO
BIOMASSA INOCULADA COM BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS EPIFÍTICAS**

Dissertação apresentada a Universidade Estadual de Montes Claros, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Forragicultura, para obtenção do título de Mestre.

Orientador

Prof. Dr. João Paulo Sampaio Rigueira

Janaúba - MG

2026

FICHA CATALOGRÁFICA

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

	Araújo, Isadora Vieira Santos
A663d	Dinâmica do perfil fermentativo e comunidade microbiana de silagem de sorgo biomassa inoculada com bactérias ácido-láticas epifíticas [manuscrito] / Isadora Vieira Santos Araújo – 2026. 63 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Montes Claros – Janaúba, 2026. Orientador: Prof. D. Sc. João Paulo Sampaio Rigueira. 1. Biomassa. 2. Ensilagem. 3. Silagem. 4. Sorgo. I. Rigueira, João Paulo Sampaio. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título. CDD. 633.62

Catálogo: Joyce Aparecida Rodrigues de Castro Bibliotecária CRB6/2445



GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
Mestrado em Zootecnia

Montes Claros, 13 de fevereiro de 2026.

Declaramos para os devidos fins que no dia **13 de fevereiro de 2026**, a Senhora **Isadora Vieira Santos Araújo**, CPF **022.132.606-56**, defendeu sua Dissertação de Mestrado, Intitulada **“Dinâmica do perfil fermentativo e comunidade microbiana de silagem de sorgo biomassa inoculada com bactérias ácido-láticas epifíticas”** no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Unimontes – Universidade Estadual de Montes Claros, aprovada pela banca examinadora:

Dr. João Paulo Sampaio Rigueira/ Presidente/ UNIMONTES

Dr. Ronnie Antunes de Assis/ Membro Interno/ UNIMONTES

Dr. Pedro Henrique Ferreira da Silva/ Membro Interno/ UNIMONTES

Dra. Luciana Albuquerque Caldeira Rocha/ Membro Interno/ UNIMONTES

Dr. Alberto Jefferson da Silva Macêdo / Membro Externo/ UFMT

Considerando o disposto no Artigo 49 da Resolução Nº. 372 – CEPEX/2020 das Normas do Programa, o Mestrando somente poderá usufruir de todos os direitos e prerrogativas que o título de Mestre em Zootecnia lhe confere após a apresentação da Dissertação, devidamente aprovada em sua redação definitiva, à Secretaria do Programa, **no prazo final de 90 dias**, findo o qual esta declaração perde a validade.

A Mestranda foi orientada pelo **Prof. Dr. João Paulo Sampaio Rigueira**.

O curso é reconhecido e Homologado pelo CNE (Portaria MEC Nº 1.077- DOU de 13/09/2012 - Parecer CES/CNE 277/2007, 17/01/2008) Renovação do Reconhecimento: (RESOLUÇÃO SEDECTS Nº 15, de 14 DE MARÇO 2019, D.O.MG de 26/03/2019).



Documento assinado eletronicamente por **João Paulo Sampaio Rigueira, Professor(a)**, em 13/02/2026, às 11:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **PEDRO HENRIQUE FERREIRA DA SILVA, Usuário Externo**, em 13/02/2026, às 11:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alberto Jefferson da Silva Macêdo, Usuário Externo**, em 13/02/2026, às 11:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Albuquerque Caldeira Rocha, Professor(a)**, em 13/02/2026, às 12:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ronnie Antunes de Assis, Professor de Educação Superior**, em 13/02/2026, às 13:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.mg.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **133333229** e o código CRC **79F0FF31**.

Aos meus pais, Ederson e Maria das Graças, que com imenso amor e dedicação tiraram todas as pedras do caminho para que eu pudesse chegar aqui tranquilamente. Ao sol da minha vida, meu filho Ravi Ailton, que traz luz para os meus dias, força e sorte para o meu caminho, **dedico.**

AGRADECIMENTOS

Ao ser maior que me guia, protege e me abençoa todos os dias.

Aos meus pais Maria das Graças Vieira Santos Araujo e Ederson Fernandes Araujo e meu irmão Lucas Vieira Araujo por sempre estarem dispostos a ajudar, pelo o incentivo de cada dia e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu filho Ravi Ailton Vieira, que mesmo sem compreender completamente, me incentiva e me dá força para alcançar meus objetivos.

Aos meus parceiros de experimento Luiz Felipe, Pedro e Maria Izabel por todo auxílio, incentivo e parceria.

Aos colegas de laboratório que auxiliaram em todo experimento.

Ao meu orientador, Dr. João Paulo Sampaio Rigueira, pela paciência inabalável, pelos ensinamentos, auxílio e pelas conversas que incentivaram e aliviaram.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG pelo auxílio financeiro e a concessão de bolsa de estudos.

A todos que cruzaram meu caminho nesse período e que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	9
GENERAL ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.2. Processo de ensilagem e microbiologia da silagem.....	14
2.3. Uso de inoculantes na ensilagem do sorgo biomassa BRS 716	17
3. REFERÊNCIAS:	20
4. CAPÍTULO 1 - DINÂMICA DO PERFIL FERMENTATIVO E COMUNIDADE MICROBIANA DE SILAGE DE SORGO BIOMASSA INOCULADA COM BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS EPIFÍTICAS	29
RESUMO.....	29
ABSTRACT.....	31
4.1. INTRODUÇÃO.....	32
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
Local do experimento	34
Delineamento experimental	34
Cultivo e manejo do sorgo	34
Preparo dos inoculantes microbianos.....	35
Ensilagem do sorgo	36
Perfil fermentativo e populações microbianas.....	36
Análises químicas	37
Extração, purificação e sequenciamento de DNA.....	38
Análises estatísticas	39
4.3. RESULTADOS.....	41
4.4. DISCUSSÃO.....	49
4.5. CONCLUSÃO.....	52
4.6. REFERÊNCIAS	53
4.7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63

NORMAS DA REVISTA CIENTÍFICA

Esta dissertação segue as premissas básicas de revista "Journal of Dairy Science". Link: www.journalofdairyscience.org

RESUMO GERAL

O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de cepas epifíticas de bactérias ácido-láticas (BAL) isoladas do semiárido brasileiro na melhoria da qualidade fermentativa, microbiológica e bromatológica da silagem de sorgo biomassa BRS 716. O sorgo biomassa BRS 716 [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], inicialmente desenvolvido para fins energéticos, destaca-se como alternativa forrageira estratégica para ensilagem em regiões tropicais e semiáridas, devido à sua elevada produtividade de matéria seca, rusticidade, tolerância ao déficit hídrico e ampla adaptação edafoclimática. Embora apresente maiores teores de fibra e lignina em relação aos genótipos de sorgos forrageiros convencionais, este híbrido pode produzir silagens com adequado perfil fermentativo quando colhido no estágio ideal (aproximadamente 160 dias após a emergência) e submetido a práticas adequadas de ensilagem. A eficiência do processo fermentativo da produção de silagem é multifatorial, dependendo de parâmetros operacionais (tamanho de partícula, densidade de compactação e vedação do silo) e características intrínsecas da planta. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 × 6, com cinco inoculantes microbianos (controle, inoculante comercial e as cepas SF7, SF11 e SS18) e seis períodos de abertura (1, 3, 7, 14, 21 e 56 dias). O sorgo foi cultivado na Fazenda Experimental da UNIMONTES, em Janaúba-MG. As cepas epifíticas foram previamente isoladas e identificadas por MALDI-ToF, sendo SF11 e SS18 classificadas como *Lactiplantibacillus plantarum* e SF7 como *Leuconostoc mesenteroides*. Após a ensilagem, foram avaliados parâmetros fermentativos, composição química, populações microbianas e diversidade bacteriana. As cepas selvagens promoveram melhorias significativas no processo fermentativo da silagem. A cepa SF11 se mostrou mais efetiva na eficiência de acidificação da massa ensilada. Assim, se conclui que as cepas epifíticas SF7, SF11 e SS18 possuem elevado potencial como inoculantes microbianos para silagem de sorgo em condições semiáridas. Assim, a utilização de BAL autóctones adaptadas às condições locais constitui uma estratégia promissora para otimizar a conservação e a qualidade nutricional de silagens produzidas em regiões tropicais e semiáridas.

Palavras-chave: Fermentação; população epifítica; inoculante; *Lactiplantibacillus plantarum*.

GENERAL ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the potential of epiphytic lactic acid bacteria (LAB) strains isolated from the Brazilian semi-arid region to improve the fermentative, microbiological, and bromatological quality of BRS 716 biomass sorghum silage. BRS 716 biomass sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], initially developed for energy purposes, has emerged as a strategic forage alternative for silage production in tropical and semi-arid regions due to its high dry matter yield, rusticity, drought tolerance, and broad edaphoclimatic adaptation. Although it presents higher fiber and lignin contents compared to conventional forage sorghum genotypes, this hybrid can produce silages with an adequate fermentative profile when harvested at the ideal stage (approximately 160 days after emergence) and subjected to proper ensiling practices. The efficiency of the silage fermentation process is multifactorial, depending on operational parameters (particle size, compaction density, and silo sealing) and intrinsic plant characteristics. The experiment was conducted in a completely randomized design in a 5 × 6 factorial arrangement, consisting of five microbial inoculants (control, commercial inoculant, and the SF7, SF11, and SS18 strains) and six opening periods (1, 3, 7, 14, 21, and 56 days). BRS 716 biomass sorghum was cultivated at the Experimental Farm of UNIMONTES, located in Janaúba, Minas Gerais, Brazil. The epiphytic strains were previously isolated and identified by MALDI-ToF, with SF11 and SS18 classified as *Lactiplantibacillus plantarum* and SF7 as *Leuconostoc mesenteroides*. After ensiling, fermentative parameters, chemical composition, microbial populations, and bacterial diversity were evaluated. The wild strains promoted significant improvements in the silage fermentation process. The SF11 strain proved to be the most effective in acidifying the ensiled mass. Therefore, it can be concluded that the epiphytic strains SF7, SF11, and SS18 have high potential as microbial inoculants for BRS 716 biomass sorghum silage under semi-arid conditions. Thus, the use of autochthonous LAB adapted to local conditions represents a promising strategy to optimize the preservation and nutritional quality of silages produced in tropical and semi-arid regions.

Keywords: fermentation; epiphytic population; inoculant; *Lactiplantibacillus plantarum*.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A produção pecuária em regiões de clima semiárido enfrenta desafios constantes devido à estacionalidade na produção de forragens, intensificada pelas irregularidades pluviométricas e altas temperaturas. Nesse cenário, a conservação de forragens na forma de silagem é uma estratégia indispensável para garantir o aporte nutricional dos rebanhos durante os períodos de escassez (Kung Jr. et al., 2018; Queiroz et al., 2021).

Dentre as culturas forrageiras, o sorgo biomassa BRS 716 [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] tem ganhado destaque pela elevada produção de matéria seca, tolerância ao déficit hídrico e adaptação edafoclimática, características que favorecem seu uso para produção de silagem para alimentação animal (Queiroz et al., 2021; Da Hora et al., 2023). Porém, apesar de sua aptidão agrônômica, a fermentação da silagem de sorgo pode ser comprometida pela composição química da planta e por sua limitada população epifítica, principalmente bactérias ácido-láticas (BAL), essenciais para uma fermentação eficiente (Muck, 2010; Agarussi et al., 2022).

As BAL desempenham o principal papel na fermentação anaeróbia da silagem, promovendo a conversão de carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, principalmente ácido lático, que reduz rapidamente o pH e inibe o crescimento de microrganismos indesejáveis (Kim et al., 2021). Essas bactérias podem ser classificadas como homofermentativas e heterofermentativas, e seu uso na ensilagem pode melhorar significativamente a fermentação da silagem e seus parâmetros microbiológicos, intensificando a redução do pH e aumentando sua estabilidade (Kung Jr. et al., 2018).

Pesquisas recentes evidenciam que diferentes espécies e cepas de BAL, como *Lactiplantibacillus plantarum* e *Lentilactobacillus buchneri*, apresentam potencial para melhorar tanto a qualidade fermentativa quanto a estabilidade aeróbia de silagens, embora a eficácia dependa de fatores como a dose inoculada, as condições ambientais e fatores operacionais (Tôrres Júnior et al., 2025). Para a otimização dessa fermentação deve-se escolher cepas com alta produção de ácido lático e adaptadas a forragem a que se vai ensilar, resultando em silagens de maior qualidade e estabilidade.

O uso de inoculantes microbianos tem sido amplamente adotado para mitigar perdas fermentativas e melhorar o valor nutritivo das silagens. Contudo, a eficácia de inoculantes comerciais, frequentemente formulados com cepas provenientes de climas temperados, é frequentemente questionada quando aplicados em ecossistemas tropicais. A baixa persistência dessas linhagens comerciais frente às altas temperaturas ambientes podem resultar em fermentações secundárias indesejáveis (Agarussi et al., 2019; Alves et al., 2025).

Nesse contexto, a bioprospecção e seleção de BAL epifíticas, adaptadas às condições edafoclimáticas locais e ao substrato específico, emerge como uma fronteira biotecnológica promissora. Cepas epifíticas adaptadas possuem maior competitividade biológica, permitindo uma modulação mais precisa da sucessão microbiana e uma conservação superior dos nutrientes da planta (Rigueira et al., 2013; Agarussi et al., 2025). Diante do exposto, este estudo propõe o isolamento e a caracterização de BAL epifíticas do semiárido brasileiro, avaliando seu potencial em otimizar a dinâmica fermentativa e a microbiota da silagem de sorgo biomassa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Sorgo biomassa BRS 716 [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] e seu uso na ensilagem

Devido à irregularidade das chuvas nas regiões semiáridas, torna-se necessário adotar estratégias de armazenamento de forragens que garantam a oferta de alimento de qualidade ao longo do ano na produção animal (Santos; Moraes; Nussio, 2017). Nesse contexto, a ensilagem é a alternativa mais utilizada pelos produtores rurais, consistindo na preservação da forragem por meio da fermentação anaeróbia de carboidratos solúveis em água realizada por BAL (Kung Jr. et al., 2018; Queiroz et al., 2021). As principais culturas utilizadas para esse fim são o milho (*Zea mays* L.) e o sorgo, que se destacam por apresentarem características favoráveis à fermentação, como elevado valor nutritivo, baixo poder tampão e bons rendimentos de matéria seca (Fabris et al., 2022).

Para a obtenção de silagens de qualidade, é fundamental que a forrageira apresente parâmetros adequados, tais como teor de matéria seca entre 280 e 350 g/kg da MS, concentração de carboidratos solúveis superior a 60 g/kg da MS, baixo poder tampão e resistência ao acamamento (Silva et al., 2015). Em condições de baixa pluviosidade e altas temperaturas, o sorgo se destaca por reunir características desejáveis para a ensilagem, incluindo elevada produção de biomassa, capacidade de rebrota, resistência ao acamamento, baixo poder tampão, teores adequados de carboidratos solúveis e matéria seca, além de boa mecanização (Menezes et al., 2021).

O sorgo pertence à família Poaceae e ao gênero *Sorghum* Moench, sendo uma gramínea de ciclo anual, tolerante à seca e a solos ácidos, com metabolismo fotossintético C4, sensível ao fotoperíodo (planta de dias curtos) e elevada taxa fotossintética (Magalhães; Durães; Schaffert, 2000; Almeida et al., 2015; Queiroz et al., 2021).

O sorgo biomassa, especificamente o híbrido BRS 716 foi lançado pela Embrapa Milho e Sorgo em 2014, com o objetivo inicial de geração de energia por meio da queima de biomassa, visando contribuir para a demanda energética nacional e para a produção de etanol de segunda geração. Esse híbrido apresenta elevado potencial produtivo, com produtividade média de aproximadamente 50 t ha⁻¹ de matéria seca, além de boa sanidade, resistência ao acamamento e ampla adaptação às diferentes regiões do Brasil. Sua composição química inclui teores de matéria seca entre 250 e 260 g/kg, proteína bruta variando de 30 a 50 g/kg da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro e lignina entre

630 e 670 g/kg e 70 a 100g/kg da MS respectivamente (Tôrres, 2014; Queiroz et al., 2021; Santana et al., 2022; Da Hora et al., 2023).

O elevado potencial produtivo do sorgo biomassa tem impulsionado sua utilização na alimentação animal como alternativa forrageira (Queiroz et al., 2021). Embora apresente menor digestibilidade e maior concentração de fibra à de genótipos de sorgo forrageiro, o sorgo biomassa BRS 716 pode ser adequado para ensilagem, sobretudo em regiões semiáridas, podendo substituir até 100% os genótipos de sorgo forrageiro convencionais (Rodrigues, 2002; Queiroz et al., 2021; Ramos et al., 2021; Souza et al., 2021; Da Hora et al., 2023). Estudos indicam que o momento ideal para a ensilagem do sorgo BRS 716 ocorre aos 160 dias após a emergência das plântulas, fase em que a planta apresenta cerca de 30 a 35% de MS, teor adequado ao processo de ensilagem (Queiroz et al., 2021; Menezes et al., 2022).

2.2. Processo de ensilagem e microbiologia da silagem

A ensilagem consiste na prática de promover o crescimento microbiano em ambiente anaeróbio, com o objetivo de estimular a produção de ácidos orgânicos, principalmente o ácido lático, promovendo a redução do pH e inibindo o desenvolvimento e a proliferação de microrganismos indesejáveis (Kharazian et al., 2024). Diversos fatores podem influenciar o processo fermentativo da silagem, os quais podem ser classificados como operacionais ou relacionados à planta.

Assim, para a obtenção de silagem de qualidade, é essencial a realização de uma compactação eficiente. Para isso, a forragem deve ser cortada em partículas de até 2 cm, favorecendo a exclusão do oxigênio da massa ensilada e possibilitando o crescimento das BAL. A vedação do silo deve ocorrer no menor tempo possível, utilizando lona com espessura igual ou superior a 200 μ m, a fim de garantir a manutenção da anaerobiose (Cardoso et al., 2011; Silva et al., 2021; Wang, 2025).

Além dos fatores operacionais, as características da planta exercem papel fundamental na qualidade da silagem. Valores inferiores de MS favorecem perdas de nutrientes por efluentes e aumentam o risco de contaminação por microrganismos indesejáveis, resultando em fermentação butírica. Por outro lado, teores elevados de MS dificultam a compactação da massa, comprometendo a fermentação. Adicionalmente, a planta deve apresentar concentração de carboidratos solúveis em água entre 60 a 80 g/kg

da MS, que servem como substrato para o crescimento dos microrganismos anaeróbios, além de baixo poder tampão, favorecendo a rápida redução do pH da massa ensilada (Silva et al., 2015; Borreani et al., 2018; Zanine et al., 2020; Silva et al., 2025).

Todas as plantas apresentam uma população epifítica composta por microrganismos naturalmente presentes em sua superfície. Essa microbiota é predominantemente formada por microrganismos aeróbios ou anaeróbios facultativos, sendo que, frequentemente, as BAL encontram-se em menor proporção em relação a outros grupos microbianos (Muck, 2010; Agarussi et al., 2022). A composição dessa população epifítica varia de acordo com a espécie e variedade vegetal, condições climáticas e estágio de maturação da planta. Após a ensilagem, ocorre uma sucessão microbiana, na qual inicialmente predominam microrganismos aeróbios e facultativos. Entretanto, com o estabelecimento da anaerobiose, observa-se redução desses grupos e aumento de BAL homo e heterofermentativas (Kharazian et al., 2024). Esses microrganismos são responsáveis pela fermentação anaeróbia no silo, sendo que os fatores operacionais determinam quais grupos microbianos irão predominar na massa ensilada, influenciando diretamente a qualidade final da silagem (Pedroso; Freitas; Souza, 2000; Macêdo et al., 2017).

Os microrganismos presentes na silagem podem ser classificados em desejáveis e indesejáveis. Entre os desejáveis, destacam-se as BAL, que podem ser homofermentativas ou heterofermentativas. As BAL homofermentativas apresentam elevada taxa de fermentação anaeróbia, promovendo rápida redução do pH da silagem por meio da produção de ácido lático, o principal responsável pela inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis. As principais espécies desse grupo incluem *Lactococcus lactis* e *Lactiplantibacillus plantarum* (Kharazian et al., 2024; Lai et al., 2025).

As BAL heterofermentativas, por sua vez, produzem, além do ácido lático, ácido acético, etanol e dióxido de carbono a partir dos carboidratos solúveis em água. Esse grupo possui a capacidade de converter ácido lático em ácido acético, 1,2-propanodiol e traços de etanol na ausência de oxigênio, promovendo maior estabilidade aeróbia da silagem em razão da ação antifúngica do ácido acético, reduzindo perdas após a abertura do silo. A principal espécie heterofermentativa utilizada em inoculantes é *Lentilactobacillus buchneri* (Oude Elferink et al., 2001; Rabelo et al., 2017; Da Silva et al., 2018; Gallo et al., 2018).

Os microrganismos indesejáveis incluem enterobactérias, leveduras, fungos filamentosos e bactérias do gênero *Clostridium*, os quais competem com as BAL pelo

substrato disponível, reduzindo a qualidade nutricional da silagem e produzindo compostos potencialmente tóxicos (Macêdo et al., 2017; Tôrres et al., 2025).

As enterobactérias são os primeiros microrganismos a se multiplicarem no interior do silo; contudo, seu crescimento é rapidamente inibido pela redução do pH promovida pelas BAL. Em silos mal compactados ou vedados, essas bactérias podem retardar a acidificação da massa, favorecendo o crescimento de outros microrganismos indesejáveis e a produção de compostos prejudiciais, como amônia, que reduz o valor nutritivo, a qualidade e a aceitabilidade da silagem (Ridwan et al., 2023). Além disso, as enterobactérias são importantes produtoras de gases no interior do silo, utilizando açúcares fermentescíveis como substrato e convertendo-os em ácido acético, etanol e CO₂ (Jiajie et al., 2025). Algumas espécies também produzem toxinas prejudiciais aos animais e contribuem para a deterioração da silagem após a abertura do silo, reduzindo sua estabilidade aeróbia (Östling; Lindgren, 1995; Muck, 2010; Macêdo et al., 2017).

As leveduras são consideradas totalmente indesejáveis na silagem. Trata-se de microrganismos anaeróbios facultativos capazes de se desenvolver em ampla faixa de pH, utilizando carboidratos solúveis em água e ácido lático como substratos, promovendo fermentação alcoólica e produzindo principalmente etanol e CO₂. Esse processo resulta em elevadas perdas de MS e energia, originando silagens de baixa qualidade e menor aceitabilidade pelos animais, devido à presença de álcool (Muck, 2010; Ridwan et al., 2023). Silagens com elevada população de leveduras apresentam maiores perdas e maior deterioração, especialmente quando ocorre entrada de oxigênio em decorrência de má vedação ou manejo inadequado do silo (Spoelstra, 1987; Ridwan et al., 2023).

Os fungos filamentosos constituem um dos principais grupos produtores de substâncias tóxicas na silagem. Esses microrganismos degradam ácido lático e carboidratos solúveis em água, além de metabolizarem celulose e outros componentes da parede celular, reduzindo o teor de MS e o valor nutritivo da silagem. Ademais, promovem aquecimento da massa ensilada, favorecendo o crescimento de outros microrganismos indesejáveis e reduzindo a estabilidade aeróbia (Del Palácio et al., 2016; Gonda et al., 2024).

Os gêneros mais frequentemente encontrados em silagens são *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* e *Fusarium spp.*, produtores de aflatoxinas, que são altamente prejudiciais aos animais, podendo causar imunossupressão, distúrbios reprodutivos e danos hepáticos, além de possibilitar a contaminação do leite (Gonda et al., 2024). A ocorrência de fungos é

favorecida por baixos teores de MS, atraso no fechamento do silo e falhas na vedação e compactação (Whitlow; Hangler, 2005; Ponts, 2015). Desta forma, um teor de MS adequado, uma compactação eficiente e boa vedação, em conjunto ao uso de inoculantes impede sua disseminação e sobrevivência (Führ et al., 2023; Venturini et al., 2024).

As bactérias do gênero *Clostridium* são microrganismos anaeróbios cuja atividade no silo ocorre, geralmente, quando há baixa atividade das BAL na massa ensilada. Esses microrganismos utilizam carboidratos solúveis em água, ácido lático e aminoácidos como substratos, resultando na produção de ácido butírico, ácido acético, amônia, ácido propiônico e CO₂, elevando o pH da silagem e intensificando a degradação proteica e as perdas de MS. A proliferação de *Clostridium* é favorecida em silagens com pH superior a 5, alta umidade (MS < 30%) e elevada capacidade tampão da planta (Driehuis; Ellerink, 2000; Oliveira et al., 2010; Jiajie et al., 2025). O consumo de silagens contaminadas por *Clostridium* pode reduzir a ingestão de MS, comprometer a eficiência alimentar e a produção animal, além de apresentar efeitos tóxicos (Zhao et al., 2025).

2.3. Uso de inoculantes na ensilagem do sorgo biomassa BRS 716

O sorgo apresenta estabilidade aeróbia relativamente reduzida em comparação a genótipos forrageiros, atribuída principalmente ao elevado teor de carboidratos solúveis em água, os quais são fermentados predominantemente por BAL homofermentativas, resultando na produção majoritária de ácido lático. Esse perfil fermentativo limita a formação de ácidos acético e propiônico, compostos que apresentam maior atividade antifúngica, contribuindo para a menor estabilidade aeróbia da silagem de sorgo (Wilkinson; Davies, 2013; Leite et al., 2025).

Durante a abertura do silo, a quebra da estabilidade aeróbia promove alterações na população microbiana da silagem, com proliferação inicial de leveduras, seguida pelo desenvolvimento de fungos filamentosos e bactérias aeróbias. Esse processo resulta na deterioração da massa ensilada, com redução da qualidade sanitária e nutricional, aumento das perdas de MS e diminuição da aceitabilidade pelos animais (Brüning et al., 2018; Auerbach; Nadeau, 2020).

O uso de inoculantes microbianos tem sido amplamente empregado como estratégia para otimizar a fermentação anaeróbia no silo, reduzir perdas nutricionais, aumentar a

digestibilidade da massa ensilada e melhorar a estabilidade aeróbia da silagem (Bernades; Rêgo, 2014; Kharazian et al., 2024). Essa prática consiste na adição de colônias de BAL homofermentativas ou heterofermentativas à forragem no momento da ensilagem, promovendo fermentações láctica e acética de forma controlada. Esse processo favorece a rápida redução do pH do material ensilado, inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis (Santos et al., 2020; Leite et al., 2025). No entanto, para que os benefícios do uso de inoculantes sejam efetivamente alcançados, é indispensável a adoção de manejo adequado durante a ensilagem, incluindo o respeito às doses recomendadas, a colheita da forragem no estágio ideal e a correta picagem, compactação e vedação do silo. Dessa forma, o uso de inoculantes não substitui as boas práticas de manejo no processo de ensilagem (Muck et al., 2020; Tôrres et al., 2025).

Atualmente, encontram-se disponíveis no mercado diferentes formulações de inoculantes microbianos. Inoculantes compostos por bactérias homofermentativas, são amplamente utilizados com o objetivo de melhorar a eficiência fermentativa da silagem. Por outro lado, inoculantes contendo bactérias heterofermentativas são empregados principalmente para aumentar a estabilidade aeróbia, destacando-se as espécies *Lentilactobacillus buchneri* e *Propionibacterium acidipropionici*. Há ainda inoculantes que combinam ambos os grupos bacterianos, visando simultaneamente a melhoria da fermentação e da estabilidade aeróbia da silagem (Muck, 2010; Queiroz et al., 2021; Arriola et al., 2021; Kung Jr. et al., 2021).

Entretanto, estudos indicam que a diversidade de inoculantes disponíveis comercialmente ainda é limitada, sendo muitos deles desenvolvidos para regiões de clima frio ou temperado e para culturas amplamente difundidas, como o milho. Essa limitação pode comprometer sua eficiência em regiões semiáridas, uma vez que condições ambientais específicas influenciam a fisiologia e o metabolismo das estirpes inoculadas, afetando seu desempenho no processo fermentativo. Esses aspectos reforçam a necessidade de seleção e utilização de cepas adaptadas às condições locais e ao tipo de forragem a ser ensilada (Agarussi et al., 2019; Leite et al., 2025).

Nos últimos anos, tem-se observado um aumento no número de estudos envolvendo o uso de isolados de BAL na ensilagem de gramíneas. A seleção de microrganismos eficientes tem proporcionado efeitos positivos, como melhoria da qualidade fermentativa, manutenção dos teores de proteína bruta e aumento do valor nutricional das silagens (Wang

et al., 2019; Kuppusamy et al., 2019; Soundharrajan et al., 2021). Esses resultados decorrem da elevada capacidade dessas bactérias em converter carboidratos solúveis em água em ácidos orgânicos, promovendo rápida redução do pH e reduzindo a degradação da massa ensilada.

Na inoculação com BAL, são utilizadas tanto bactérias homofermentativas quanto heterofermentativas. As espécies heterofermentativas produzem uma combinação de ácido láctico e ácido acético, sendo essa mistura particularmente eficiente no controle de fungos filamentosos e leveduras. Já as espécies homofermentativas produzem predominantemente ácido láctico, apresentam maior resistência e tendem a dominar o processo fermentativo, sendo essenciais para a rápida acidificação da massa ensilada. Para a seleção de BAL eficientes no processo fermentativo, são considerados critérios como elevada produção de ácido láctico, rápido crescimento, capacidade de promover rápida redução do pH e aumento da estabilidade aeróbia da silagem (Agarussi et al., 2019; Carvalho et al., 2021; Soundharrajan et al., 2021). Para utilização dessas bactérias como inoculantes, recomenda-se a aplicação em concentrações entre 10^5 e 10^6 unidades formadoras de colônia por grama de forragem (Weinberg et al., 2002).

3. REFERÊNCIAS:

- Agarussi, M. C. N., Gomes Pereira, O., Paula, R. A. de, Silva, V. P. da, Santos Roseira, J. P., & Fonseca e Silva, F. (2019). Novel lactic acid bacteria strains as inoculants on alfalfa silage fermentation. *Scientific Reports*, *9*(1), 8007. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44520-9>
- Agarussi, M. C. N., Pereira, O. G., Pimentel, F. E., Azevedo, C. F., da Silva, V. P., & e Silva, F. F. (2022). Microbiome of rehydrated corn and sorghum grain silages treated with microbial inoculants in different fermentation periods. *Scientific Reports*, *12*(1), 16864. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21461-4>
- Arriola, K. G., Oliveira, A. S., Jiang, Y., Kim, D., Silva, H. M., Kim, S. C., Amaro, F. X., Ogunade, I. M., Sultana, H., Pech Cervantes, A. A., Ferraretto, L. F., Vyas, D., & Adesogan, A. T. (2021). Meta-analysis of effects of inoculation with *Lactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability, and performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *104*(7), 7653–7670. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19647>
- Auerbach, H., & Nadeau, E. (2020). Effects of Additive Type on Fermentation and Aerobic Stability and Its Interaction with Air Exposure on Silage Nutritive Value. *Agronomy*, *10*(9), 1229. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091229>
- Bernardes, T. F., & do Rêgo, A. C. (2014). Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, *97*(3), 1852–1861. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7181>
- Borreani, G., Tabacco, E., Schmidt, R. J., Holmes, B. J., & Muck, R. E. (2018). Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science*, *101*(5), 3952–3979. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>
- Brüning, D., Gerlach, K., Weiß, K., & Südekum, K. -H. (2018). Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on forage choice and short-term intake of maize silage by goats. *Grass and Forage Science*, *73*(2), 392–405. <https://doi.org/10.1111/gfs.12345>
- Cardoso, D. A. D. B., Oliveira, J. S. e, & José, J. F. (2011). Produção e uso de silagem. In *Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde* (pp. 279–296). Embrapa.
- Carvalho, B. F., Sales, G. F. C., Schwan, R. F., & Ávila, C. L. S. (2021). Criteria for lactic acid bacteria

screening to enhance silage quality. *Journal of Applied Microbiology*, 130(2), 341–355.
<https://doi.org/10.1111/jam.14833>

da Hora, F. F., Rocha Júnior, V. R., Pinto Monção, F., Paulo Sampaio Rigueira, J., Silva Cordeiro, M. W., Albuquerque Caldeira, L., Fogaça da Cruz, F. N., Silva Alencar, A. M., Albuquerque, C. J. B., Barbosa Leal, D., Cunha Siqueira Carvalho, C. da, & Dulcineia da Costa, M. (2023). Nutritional parameters and performance of crossbred heifers fed with millet and BRS 716 biomass sorghum silages. *Journal of Applied Animal Research*, 51(1), 74–83.
<https://doi.org/10.1080/09712119.2022.2155172>

da Silva, G. M., da Silva, F. F., Schio, A. R., Meneses, M. de A., Balisa, D. L., de Souza, D. D., Soares, M. S., Silva, L. G., Viana, P. T., & Caires, R. S. (2007). *Pubvet*. 9, 502–510.

da Silva, J. M. (2001). Silagem de Forrageiras . In *Embrapa Gado de Corte* .

de Menezes, C. B., Fernandes, E. de A., Parrela, R. A. da C., Schaffert, R. E., & Rodrigues, J. A. S. (2021). Importância do sorgo para o abastecimento de grãos, forragem e bioenergia no Brasil. In *Melhoramento genético de sorgo*. (pp. 13–58). Embrapa.

del Palacio, A., Mionetto, A., Bettucci, L., & Pan, D. (2016). Evolution of fungal population and mycotoxins in sorghum silage. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33(12), 1864–1872.
<https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1244732>

dos Santos, G., de Moraes, J. M. M., & Nussio, L. G. (2017). Custo e análise de sensibilidade na produção de silagem. *Revista IPecege*, 3(1), 39–48.
<https://doi.org/10.22167/r.ipecege.2017.1.39>

Driehuis, F., & Elferink, S. J. W. H. O. (2000). The impact of the quality of silage on animal health and food safety: A review. *Veterinary Quarterly*, 22(4), 212–216.
<https://doi.org/10.1080/01652176.2000.9695061>

Gallo, A., Bernardes, T. F., Copani, G., Fortunati, P., Giuberti, G., Bruschi, S., Bryan, K. A., Nielsen, N. G., Witt, K. L., & Masoero, F. (2018). Effect of inoculation with *Lactobacillus buchneri* LB1819 and *Lactococcus lactis* O224 on fermentation and mycotoxin production in maize silage compacted at different densities. *Animal Feed Science and Technology*, 246, 36–45.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.09.009>

Gonda, M., Rufo, C., Gonzalez-Andujar, J. L., & Vero, S. (2024). Mitigating aflatoxin B1 in high-

moisture sorghum silage: *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin B1 prediction. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1360343>

Jensen, T., de Boevre, M., de Saeger, S., Preußke, N., Sönnichsen, F. D., Kramer, E., Klink, H., Verreet, J.-A., & Birr, T. (2020). Effect of ensiling duration on the fate of deoxynivalenol, zearalenone and their derivatives in maize silage. *Mycotoxin Research*, 36(2), 127–136. <https://doi.org/10.1007/s12550-019-00378-4>

Jiajie, Z., Xiaochen, D., Junfeng, H., Mingjiu, W., & Gentu, G. (2025). Analysis of the formation mechanism and regulation pathway of oat silage off-flavor based on microbial-metabolite interaction network. *BMC Microbiology*, 25(1), 464. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04166-2>

Kharazian, Z. A., Xu, D., Su, R., & Guo, X. (2024). Effects of inoculation and dry matter content on microbiome dynamics and metabolome profiling of sorghum silage. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 257. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13096-4>

Kim, D., Dong Lee, K., & Choon Choi, K. (2021). Role of LAB in silage fermentation: Effect on nutritional quality and organic acid production—An overview. *AIMS Agriculture and Food*, 6(1), 216–234. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2021014>

Kung Jr., L., Savage, R. M., da Silva, E. B., Polukis, S. A., Smith, M. L., Johnson, A. C. B., & Miller, M. A. (2021). 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(4), 4206–4222. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19746>

Kung Jr., L., Shaver, R. D., Grant, R. J., & Schmidt, R. J. (2018). Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4020–4033. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13909>

Kuppusamy, P., Soundharrajan, I., Park, H. S., Kim, J. H., Kim, W. H., Jung, J. S., & Choi, K. C. (2019). Effects of Lactic Acid Bacteria Inoculants on Fermentation of Low Moisture Fresh Rice Straw Silage at Different Storage Periods. *Journal of The Korean Society of Grassland and Forage Science*, 39(3), 165–170. <https://doi.org/10.5333/KGFS.2019.39.3.165>

Lai, X., Wang, H., Peng, R., Chen, Z., Xiang, Y., & Yan, L. (2025). Different Commercial Microbial

Additives Influence Fermentation Quality and Microbial Community of King Grass Silage. *Fermentation*, 11(5), 264. <https://doi.org/10.3390/fermentation11050264>

Leite, G. M., Santos, E. M., de Oliveira, J. S., Pereira, D. M., de Oliveira, C. J. B., Cavalcanti, J. V. F. L., de Lima, V.M. R., de Lima, J. P. V. de M. F., Gomes, P. G. B., Edvan, R. L., Miranda, R. de S., Ferreira, D. de J., Negrão, F. de M., & Zanine, A. de M. (2025). Isolation of Acetic Acid-Producing Bacterial Strains and Utilization as Microbial Inoculants in Sorghum Silages. *Agriculture*, 15(3), 241. <https://doi.org/10.3390/agriculture15030241>

Macêdo, A. J. da S., César Neto, J. M., da Silva, M. A., & Santos, E. M. (2019). Potencialidades e limitações de plantas forrageiras para ensilagem: Revisão. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 13(2), 320–337

Macêdo, A. J. da S., Santos, E. M., de Oliveira, J. S., & Perazzo, A. F. (2017a). Produção de silagem na forma de ração à base de palma: Revisão de Literatura . *Revista Eletrônica de Veterinária*, 18(9), 1–11.

Macêdo, A. J. da S., Santos, E. M., de Oliveira, J. S., & Perazzo, A. F. (2017b, September). Microbiologia de silagens: Revisão de Literatura. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 1–11.

Magalhães, P. C., Durães, F. O. M., & Shaffert, R. E. (2000). *Fisiologia da planta de sorgo*.

Menezes, G. L., Gonçalves, L. C., Sousa, P. G. de, Michel, P. H. F., Oliveira, R. B. P. de, Oliveira, A. F. de, Melo, D.

F. de O., Pire, F. P. A. de A., & Jayme, D. G. (2022). Corn silage quality under delayed sealing and microbial inoculant use. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 57(02831).

Muck, R. E. (2010). Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(suppl spe), 183–191. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300021>

Muck, R. E., Kung Jr., L., & Collins, M. (2020). Silage Production. In *Forages* (pp. 767–787). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119436669.ch42>

Nazar, M., Ullah, M. W., Wang, S., Zhao, J., Dong, Z., Li, J., Kaka, N. A., & Shao, T. (2022). Exploring the Epiphytic Microbial Community Structure of Forage Crops: Their Adaptation and Contribution to the Fermentation Quality of Forage Sorghum during Ensiling. *Bioengineering*, 9(9), 428. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9090428>

Olias, C. O. (2022). Qualidade e produtividade de diferentes híbridos de sorgo destinados à ensilagem: Revisão. *Pubvet*, 16(03). <https://doi.org/10.31533/pubvet.v16n03a1064.1-5>

Oliveira, L. B. de, Pires, A. J. V., Carvalho, G. G. P. de, Ribeiro, L. S. O., Almeida, V. V. de, & Peixoto, C. A. de M. (2010). Perdas e valor nutritivo de silagens de milho, sorgo-sudão, sorgo forrageiro e girassol. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(1), 61–67. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000100008>

ÖSTLING, C., & LINDGREN, S. (1995). Influences of enterobacteria on the fermentation and aerobic stability of grass silages. *Grass and Forage Science*, 50(1), 41–47. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1995.tb02292.x>

Oude Elferink, S. J. W. H., Krooneman, J., Gottschal, J. C., Spoelstra, S. F., Faber, F., & Driehuis, F. (2001). Anaerobic Conversion of Lactic Acid to Acetic Acid and 1,2-Propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1), 125–132. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.125-132.2001>

Pedroso, A. de F., Freitas, A. R. de, & Souza, G. B. de. (2000). Efeito de inoculante bacteriano sobre a qualidade da silagem e perda de matéria seca durante a ensilagem de sorgo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29(1), 48–52. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000100007>

Ponts, N. (2015). Mycotoxins are a component of *Fusarium graminearum* stress-response system. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01234>

Queiroz, F. E. de, Rocha, V. R., Monção, F. P., Rigueira, J. P. S., Parrella, R. A. da C., Rufino, L. D. de A., Santos, A.

S. dos, & Cordeiro, M. W. S. (2021). 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*, 50. <https://doi.org/10.37496/rbz5020200254>

Rabelo, C. H. S., Basso, F. C., Lara, E. C., Jorge, L. G. O., Härter, C. J., Mari, L. J., & Reis, R. A. (2017). Effects of *Lactobacillus buchneri* as a silage inoculant or probiotic on in vitro organic matter digestibility, gas production and volatile fatty acids of low dry-matter whole-crop maize silage. *Grass and Forage Science*, 72(3), 534–544. <https://doi.org/10.1111/gfs.12273>

Ramos, J. C. P., Júnior, V. R. R., Monção, F. P., da Costa Parrela, R. A., Caxito, A. M., Cordeiro, M. W. S., da Hora, F. F., & de Assis Pires, D. A. (2021). Effect of replacing forage sorghum silage with biomass sorghum silage in diets for F1 Holstein × Zebu lactating cows. *Tropical Animal Health and Production*, 53(1), 99. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02503-3>

Ridwan, R., Abdelbagi, M., Sofyan, A., Fidriyanto, R., Astuti, W. D., Fitri, A., Sholikin, M. M., Rohmatussolihat, Sarwono, K. A., Jayanegara, A., & Widyastuti, Y. (2023). A meta-analysis to observe silage microbiome differentiated by the use of inoculant and type of raw material. *Frontiers in Microbiology*, 14.

Rodrigues, J. A. S. (2015). Cultivo do Sorgo. In *Sistema de Produção* (Issue 9). Embrapa.

Rodrigues, P. H. M., Senatore, A. L., Andrade, S. J. T. de, Ruzante, J. M., Lucci, C. de S., & Lima, F. R. de. (2002). Efeitos da adição de inoculantes microbianos sobre a composição bromatológica e perfil fermentativo da silagem de sorgo produzida em silos experimentais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31(6), 2373–2379. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982002000900028>

Santana, I. A., Albuquerque, C. J. B., Monção, F. P., Rigueira, J. P. S., Rocha Júnior, V. R., Parrela, R. A. da C., Vieira, E. M., Gomes, M. L. R., Leal, D. B., & Lima, R. P. de. (2022). Yield and nutritional value of sorghum genotype silages using *Azospirillum brasilense* in the northern region of the state of Minas Gerais. *Semina: Ciências Agrárias*, 43(4), 1721–1736. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2022v43n4p1721>

Santos, A. P. M. dos, Santos, E. M., Araújo, G. G. L. de, Oliveira, J. S. de, Zanine, A. de M., Pinho, R. M. A., Cruz,

G. F. de L., Ferreira, D. de J., Perazzo, A. F., Pereira, D. M., & Santos, F. N. de S. (2020). Effect of Inoculation with Preactivated *Lactobacillus Buchneri* and Urea on Fermentative Profile, Aerobic Stability and Nutritive Value in Corn Silage. *Agriculture*, 10(8), 335. <https://doi.org/10.3390/agriculture10080335>

Silva, C. de S., Araújo, G. G. L. de, Santos, E. M., Oliveira, J. S. de, Silva, T. G. F. da, Araújo, C. de A., Novaes, J. J. da S., de Macedo, A., de Araújo, J. S., Lima, D. O., Santos, F. N. de S., Campos, F. S., & Gois, G. C. (2025a).

Fermentative Characteristics, Nutritional Aspects, Aerobic Stability, and Microbial Populations of Total Mixed Ration Silages Based on Relocated Sorghum Silage and Cactus Pear for Sheep Diets.

Agronomy, 15(2), 506. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020506>

Silva, C. de S., Araújo, G. G. L. de, Santos, E. M., Oliveira, J. S. de, Silva, T. G. F. da, Araújo, C. de A., Novaes, J. J. da S., de Macedo, A., de Araújo, J. S., Lima, D. O., Santos, F. N. de S., Campos, F. S., & Gois, G. C. (2025b).

Fermentative Characteristics, Nutritional Aspects, Aerobic Stability, and Microbial Populations of Total Mixed Ration Silages Based on Relocated Sorghum Silage and Cactus Pear for Sheep Diets. *Agronomy*, 15(2), 506. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020506>

Silva, J. T., Valentim, J. K., Monção, F. P., Pires, D. A. de A., Leite, G. D. O., Rocha Júnior, V. R., Junqueira, E. C., & Durães, H. F. (2022). Aspectos Relacionados à Qualidade da Silagem de Sorgo. *Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e Da Saúde*, 25(5-esp.), 597–602. <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2021v25n5-esp.p597-602>

Soundharrajan, I., Park, H. S., Rengasamy, S., Sivanesan, R., & Choi, K. C. (2021). Application and Future Prospective of Lactic Acid Bacteria as Natural Additives for Silage Production—A Review. *Applied Sciences*, 11(17), 8127. <https://doi.org/10.3390/app11178127>

Souza, Í. D. A. dos S., Rocha Júnior, V. R., Monção, F. P., Parrella, R. A. da C., Cordeiro, M. W. S., Carvalho, C. da

C. S., Rigueira, J. P. S., Aspiazú, I., Silva, F. V. e, & Delvaux Júnior, N. de A. (2021). Yield and nutritional value of biomass sorghum (BRS 716) managed in different row spacing and maturity at harvest in the semiarid region of Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 42(6), 3463–3484. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n6p3463>

Spoelstra, S. F. (1987). Degradation of nitrate by enterobacteria during silage fermentation of grass.

Netherlands Journal of Agricultural Science, 35(1), 43–54. <https://doi.org/10.18174/njas.v35i1.16757>

Tôrres Júnior, P. da C., Rodrigues, L. M. P., Macêdo, A. J. da S., Oliveira, J. S. de, Lemos, M. L. P., Santos, F. N. de S., Moura, B. R. de, Pereira, A. L., Silva, E. de S. da, Correia, T. B. D., Costa, G. A. da, Mantovani, H. C., & Santos,

E. M. (2025). Impacts of Chemical and Microbial Additives on the Quality of Forage Sorghum Silage During the Fermentation Process. *Agronomy*, 15(5), 1176.

<https://doi.org/10.3390/agronomy15051176>

Venturini, T., Neres, M. A., Tinini, R. C. dos R., Dessbessell, J. G., Schneider, P. R., Schneider, C. R., Muxfeldt, L., Baungratz, A. R., Fischer, M. L., & Zambom, M. A. (2024). Fermentative characteristics, agronomic evaluation and microbial populations of sorghum silage with additives. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 59. <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2024.v59.03687>

Wang, S. (2025). Silage Preparation, Processing and Efficient Utilization. *Agriculture*, 15(2), 128. <https://doi.org/10.3390/agriculture15020128>

Wang, S., Dong, Z., Li, J., Chen, L., & Shao, T. (2019). *Pediococcus acidilactici* strains as silage inoculants for improving the fermentation quality, nutritive value and *in vitro* ruminal digestibility in different forages. *Journal of Applied Microbiology*, 126(2), 424–434. <https://doi.org/10.1111/jam.14146>

Wang, Y., Wang, C., Zhou, W., Yang, F., Chen, X., & Zhang, Q. (2018). Effects of Wilting and *Lactobacillus plantarum* Addition on the Fermentation Quality and Microbial Community of *Moringa oleifera* Leaf Silage. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01817>

Weinberg, Z., Ashbell, G., Hen, Y., Azrieli, A., Szakacs, G., & Filya, I. (2002). Ensiling whole-crop wheat and corn in large containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 28(1), 7–11. <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000207>

Whitlow, L. W., & Hagler Jr., W. M. (2005). Mycotoxins in Dairy Cattle: Occurrence, Toxicity, Prevention and Treatment. *Conferência de Nutrição Do Sudoeste*, 124–138.

Wilkinson, J. M., & Davies, D. R. (2013). The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*, 68(1), 1–19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2012.00891.x>

Zanine, A. de M., de Sene, O. A., de Jesus Ferreira, D., Parente, H. N., de Oliveira Maia Parente, M., Pinho, R. M. A., Santos, E. M., Nascimento, T. V. C., de Oliveira Lima, A. G. V., Perazzo, A. F., Portela, Y. N., & Bandeira, D. M. (2020). Fermentative profile, losses and chemical composition

of silage soybean genotypes amended with sugarcane levels. *Scientific Reports*, 10(1), 21064.

Zhao, Y., Liu, D., Chen, Y., Lei, Y., Li, M., Wang, J., He, X., Yang, Y., Zhang, Xinyi, Liu, S., Zhang, Xiaoqing, Cheng, Q., & Chen, C. (2025). Enhancing alfalfa and sorghum silage quality using agricultural wastes: fermentation dynamics, microbial communities, and functional insights. *BMC Plant Biology*, 25(1), 728. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06722-4>

4. CAPÍTULO 1 - DINÂMICA DO PERFIL FERMENTATIVO E COMUNIDADE MICROBIANA DE SILAGEM DE SORGO BIOMASSA INOCULADA COM BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS EPIFÍTICAS

RESUMO

O sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] constitui uma alternativa estratégica para a produção de silagem em regiões tropicais e semiáridas, destacando-se o sorgo biomassa BRS 716 devido à elevada produção de matéria seca, rusticidade e tolerância ao déficit hídrico. Entretanto, suas características morfoquímicas, como alto teor de fibra, maior lignificação e menor concentração de carboidratos solúveis em água podem comprometer a fermentação láctica e a rápida redução do pH. Nesse contexto, o uso de inoculantes microbianos, especialmente cepas de bactérias ácido-láticas isoladas da própria cultura e às condições edafoclimáticas locais, surge como estratégia promissora para melhorar a qualidade da silagem. Objetivou-se isolar e avaliar o potencial de bactérias ácido-láticas epifíticas, provenientes da cultura do sorgo cultivado em clima semiárido, como inoculantes sobre a composição química, perfil fermentativo e dinâmica da comunidade microbiana da silagem de sorgo biomassa BRS 716. O experimento foi conduzido em DIC, em esquema fatorial 5 × 6, com cinco inoculantes (Controle, sem inoculante; Inoculante comercial; isolado SF7; isolado SF11; isolado SS18), seis períodos de fermentação (1, 3, 7, 14, 21 e 56 dias) e três repetições. Os isolados foram identificados a nível de espécie pela técnica de MALDI-TOF. Os isolados foram identificados como SF11 e SS18 sendo *Lactiplantibacillus plantarum*, e SF7 sendo *Leuconostoc mesenteroides*. As silagens foram avaliadas quanto a composição química, ao perfil fermentativo e a diversidade microbiana. As silagens inoculadas com cepas selvagens apresentaram melhor padrão fermentativo em comparação ao controle e ao inoculante comercial. A cepa SF11 destacou-se pela maior produção de ácido láctico, promovendo aumento de 92,21% em relação à silagem controle e de 24,12% em relação ao inoculante comercial, além de apresentar rápida estabilização fermentativa e menor população de microrganismos indesejáveis. Conclui-se que as cepas epifíticas SF7, SF11 e SS18 são eficientes em melhorar a fermentação e a microbiota da silagem de sorgo biomassa BRS 716, sendo a cepa SF11 a mais promissora devido à elevada produção de ácido láctico, rápida acidificação da massa ensilada e maior controle de microrganismos indesejáveis, demonstrando potencial para uso como inoculante microbiano adaptado às condições do semiárido.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*; diversidade microbiana; ensilagem; inoculantes microbianos.

ABSTRACT

Sorghum [(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)] is a strategic alternative for silage production in tropical and semi-arid regions, with biomass sorghum BRS 716 standing out due to its high dry matter yield, rusticity, and tolerance to water deficit. However, its morphochemical characteristics, such as high fiber content, greater lignification, and lower concentration of water-soluble carbohydrates, may impair lactic fermentation and rapid pH reduction. In this context, the use of microbial inoculants, especially lactic acid bacteria strains adapted to the crop and local edaphoclimatic conditions, emerges as a promising strategy to improve silage quality. This study aimed to isolate and evaluate the potential of epiphytic lactic acid bacteria from semi-arid conditions as inoculants on the chemical composition, fermentative profile, and microbial community dynamics of biomass sorghum BRS 716 silage. The experiment was conducted in a completely randomized design in a 5 × 6 factorial arrangement, with five inoculants (Control, without inoculant; commercial inoculant; SF7 isolate; SF11 isolate; SS18 isolate), six fermentation periods (1, 3, 7, 14, 21, and 56 days), and three replicates. The isolates were identified by MALDI-TOF. The native isolates SF11 and SS18 were identified as *Lactiplantibacillus plantarum*, while SF7 was identified as *Leuconostoc mesenteroides*. The silages were evaluated for chemical composition, fermentative profile, and microbial diversity. Silages inoculated with wild strains showed a better fermentative pattern compared to the control and commercial inoculant. Strain SF11 stood out for its higher lactic acid production, promoting an increase of 92.21% compared to the control silage and 24.12% compared to the commercial inoculant, in addition to presenting rapid fermentative stabilization and lower populations of undesirable microorganisms. It is concluded that the epiphytic strains SF7, SF11, and SS18 are effective in improving the fermentation and microbiota of biomass sorghum BRS 716 silage, with strain SF11 being the most promising due to its high lactic acid production, rapid acidification of the ensiled mass, and greater control of undesirable microorganisms, demonstrating potential for use as a microbial inoculant adapted to semi-arid conditions.

Keywords: *Sorghum bicolor*; microbial diversity; ensiling; microbial inoculants.

4.1. INTRODUÇÃO

O sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] constitui-se em uma alternativa estratégica para a produção de silagem em regiões tropicais e semiáridas, por apresentar rusticidade, elevada produção de biomassa e tolerância ao déficit hídrico. Nessas condições, o milho, tradicionalmente utilizado para ensilagem, muitas vezes apresenta limitações de produtividade, o que reforça a importância do sorgo como fonte de volumoso para a alimentação animal (Tôrres, 2014; Souza et al., 2021).

Dentre os genótipos disponíveis, destaca-se o sorgo biomassa BRS 716, desenvolvido pela Embrapa, com o objetivo de geração de energia por meio da queima de biomassa. Entretanto, em função de seu elevado potencial produtivo e rápido estabelecimento, sua utilização na alimentação animal tem se intensificado, especialmente na forma de silagem. O uso desse genótipo contribui para a redução do custo de produção por tonelada de matéria seca por hectare e, conseqüentemente, para a diminuição do custo final das dietas (Rodrigues, 2015; Ramos et al., 2021; Da Hora et al., 2023; De Souza et al., 2025).

Entretanto, o sorgo biomassa apresenta limitações fermentativas importantes quando comparado aos genótipos plenamente forrageiros, principalmente em função de suas características morfoquímicas e estruturais. Selecionados prioritariamente para alto rendimento de biomassa, esses materiais possuem maior proporção de colmo, elevada lignificação da parede celular e reduzida concentração de carboidratos solúveis em água (CHOs) (Van Soest, 1994; Neumann et al., 2010; Silva et al., 2025). Essa composição reduz a disponibilidade de substratos fermentescíveis para as bactérias ácido-láticas (BAL), comprometendo a taxa de declínio do pH e favorecendo fermentações secundárias (Muck, 2010; Kung Jr. et al., 2018).

Para a ensilagem desses genótipos em regiões de clima semiárido, a utilização de inoculantes microbianos torna-se importante para a obtenção de silagens de alta qualidade, uma vez que as condições ambientais adversas frequentemente comprometem a fermentação natural, especialmente em função das elevadas temperaturas, da variabilidade no teor de matéria seca e da menor concentração de CHOs (Bernades; do Rêgo, 2014; Muck et al., 2018). Nessas condições, a microbiota epifítica naturalmente presente nas plantas nem sempre é suficiente para promover uma fermentação láctica rápida e eficiente, resultando em atraso na queda do pH, aumento das perdas por fermentações secundárias e maior risco de deterioração aeróbia (Kung Jr. et al., 2018; Nazar et al., 2022).

Pela dificuldade de controlar a população epifítica no momento da ensilagem, o uso de cepas de BAL como aditivo tem sido foco de diversas pesquisas. Entretanto, tem se observado inconsistência nos resultados devido a generalização das estirpes recomendadas, independente da espécie forrageira e da região geográfica (Agarussi; Ferreira; Paula, 2019; You et al., 2021; Leite et al., 2025). Segundo Bolsen, Ashbell e Wilkinson (1995), inoculantes comerciais são utilizados em determinadas regiões com sucesso, porém podem não ser eficientes em outras, indicando possível influência das condições do local sobre o efeito do inoculante na ensilagem. Desta forma, conhecer a biodiversidade microbiana do semiárido é importante para que seus recursos possam ser aproveitados de maneira sustentável (Zopollato; Daniel; Nussio, 2009).

Bactérias isoladas a partir da própria espécie que se deseja ensilar têm revelado melhor padrão fermentativo e maior recuperação de matéria seca do que inoculantes confeccionados com isolados de outras espécies de plantas (Puntillo et al., 2020). Isto demonstra a necessidade de estudos da microbiota epifítica nas plantas comumente utilizadas para ensilagem na região, haja vista que, os microrganismos contidos nos inoculantes comerciais foram isolados em outros países, sendo a maioria deles de clima temperado (Pedroso; Freitas; Souza, 2000; Dong et al., 2020).

Adicionalmente, o uso de cepas isoladas da própria cultura ou da mesma região de cultivo apresenta vantagem adaptativa, uma vez que esses microrganismos já se encontram ajustados às condições edafoclimáticas locais e às características físico-químicas do material ensilado, potencializando sua eficiência fermentativa, melhorando a estabilidade aeróbia e contribuindo para a obtenção de silagens mais estáveis e de melhor valor nutritivo (Jobim et al., 2007; Oliveira et al., 2017; Agarussi et al., 2022).

Diante disso, a fim de promover fermentação mais eficiente, maior estabilidade aeróbia e melhor conservação da silagem. objetiva-se com este estudo avaliar a eficiência da inoculação de cepas de bactérias lácticas epifíticas isoladas da cultura do sorgo no semiárido, sobre a qualidade fermentativa, composição microbiológica e diversidade microbiana das respectivas silagens.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

O cultivo do sorgo biomassa BRS 716 foi conduzido na safra agrícola de verão no ano 2024/2025 na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, localizada em Janaúba, Minas Gerais, Brasil (15°43'53" S, 43°19'40" O) (Google Earth, 2025). O solo do local é classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo com textura média (Santos et al., 2018). O clima da região é predominantemente tropical mesotérmico, caracterizado por ser subúmido e semiárido com precipitações irregulares com média anual de 800 mm, temperatura média anual de 28 °C e umidade relativa de aproximadamente 65%. De acordo com a classificação de Köppen, o clima predominante na região é Aw (tropical com estação seca) (Alvares et al., 2013).

O experimento foi realizado nas dependências dos Laboratórios de Microbiologia Zootécnica, Forragicultura e Análises de Alimentos da UNIMONTES, Campus de Janaúba-MG, região Sudeste, no Norte de Minas Gerais (15°48'09" S, 43°18'32" O).

Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 × 6, sendo cinco inoculantes microbianos (controle, comercial, SF7, SF11 e SS18) com três repetições e seis períodos de abertura (1, 3, 7, 14, 21 e 56 dias).

Cultivo e manejo do sorgo

Antes da implantação do campo experimental, foi realizado coletas de solo para formação de uma amostra composta e envio ao Laboratório de Análise de Solo. O pH, a saturação por bases (V%) e a caracterização física na camada de 0 a 20 cm, foram: pH em H₂O ou CaCl₂ = 5,8; V% = 69%; e a proporção de areia, silte e argila foram 59, 8 e 33 dag kg⁻¹ respectivamente. A adubação de semeadura foi realizada com a fórmula comercial NPK (08-28-16) na dosagem de 300 kg ha⁻¹. Entre os estádios vegetativos V6 a V8, foi realizada adubação de cobertura utilizando 150 kg ha⁻¹ de ureia. A colheita ocorreu após 150 dias da semeadura de forma manual e logo em seguida, o sorgo foi processado em desintegrador de forragem (Modelo, Marca e Local de Fabricação) com tamanho médio de partícula de 1,5 cm. Após o processamento, o material foi transportado ao Laboratório de Forragicultura para ensilagem.

Preparo dos inoculantes microbianos

As cepas selvagens de BAL epifíticas (SF7, SF11 e SS18) utilizadas nesse estudo, pertencem à coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Zootécnica do Departamento de Ciências Agrárias da UNIMONTES, e foram isoladas da silagem (SS18) e da planta do sorgo biomassa (SF7 E SF11).

Para a identificação, foram selecionadas colônias com características morfológicas distintas quanto ao tamanho, cor e aspecto. Os isolados foram transferidos para microtubos tipo eppendorf, contendo caldo Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (K25-1215, Kasvi®, Difco™ Lactobacilli MRS Agar, Detroit, MI, USA) e 40% de glicerina para conservação sob congelamento. Posteriormente ao descongelamento, as colônias foram ativadas em caldo MRS e estriadas em placas com ágar MRS (K25-1043, Kasvi®, Difco™ Lactobacilli MRS Agar, Detroit, MI, USA) para isolamento.

Após o crescimento das bactérias, o material foi encaminhado ao Laboratório de Pesquisa em Qualidade do Leite - Qualileite da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo para realização das análises pela técnica de espectrometria de massas por dessorção-ionização a laser, assistida por matriz - tempo de voo (MALDI-ToF) utilizando Microflex™ Bruker Daltonics. Uma única colônia bacteriana, fresca, foi retirada por vez das placas de Petri e transferida para uma placa alvo de aço inoxidável (alvo de aço polido MSP 384; Bruker Daltonik, Bremen, Alemanha). Antes das medições, uma solução de proteína padrão (Bacterial Test Standard, BTS; Bruker) foi usada para calibração. Tendo um controle positivo (*Escherichia coli*) e um controle negativo (ácido fórmico e matriz), que foram analisados em cada placa. A análise foi realizada usando o software FlexControl (Bruker Daltonik, Bremen, Alemanha), operado em modo linear e equipado com um laser de nitrogênio de 337 nm. Os espectros de massa foram coletados em uma faixa de massa de 2.000 a 20.000 m/z em modo automático, com 3.000 disparos de laser coletados para gerar cada espectro. O algoritmo usado comparou os espectros da amostra com um banco de dados de referência online para a identificação de microrganismos. Pontuações ≥ 2.000 foram consideradas para identificação de espécies. As cepas SF11 e SS18 foram identificadas como *Lactoplantibacillus Plantarum*, e a cepa SF7 foi identificada como *Leuconostoc mesenteroides*.

Para a ativação e posterior multiplicação, as cepas previamente estocadas a -80 °C, foram cultivadas em caldo MRS, durante 16 horas. Em seguida, foi realizado o plaqueamento

em meio ágar MRS (K25-1043, Kasvi®, Difco™ Lactobacilli MRS Agar, Detroit, MI, USA) e determinado o número de unidades formadoras de colônia (UFC). Com base na contagem, foi realizado os cálculos para determinar o volume de meio necessário para atingir a taxa de aplicação de 1×10^6 UFC g⁻¹. A cultura ativa foi submetida à centrifugação (1000 g × 10 minutos, 4 °C), e, imediatamente após, o sobrenadante foi eliminado e o sedimento de células obtido foi ressuscitado em 50 mL de água destilada, de acordo com Silva et al. (2020).

O inoculante comercial usado apresenta a seguinte formulação: *Lentilatobacillus buchneri*, *Propionibacterium acidipropionici*, *Enterococcus faecium*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus acidilactici*, todas na concentração de 1×10^{11} UFC/g e Celulase 10⁶ u/g. No preparo, a mesma quantidade de água utilizada no preparo das cepas selvagens (50 mL) foi usada para a reidratação. O inoculante comercial também foi ajustado para aplicação na taxa de 1×10^6 UFC g⁻¹ de forragem, com base na matéria natural. A taxa foi ajustada pela determinação prévia da população de BAL presentes no inoculante, observado através da contagem de colônias de BAL em placas, utilizando-se o meio de cultura ágar MRS.

Ensilagem do sorgo

O material triturado foi dividido em pilhas de 4 kg cada, para a aplicação dos respectivos inoculantes. O inoculante foi diluído em 50 mL de água destilada e as pilhas foram tratadas individualmente, sendo o inoculante aplicado com auxílio de borrifadores manuais. O mesmo volume de água destilada foi aplicado na ensilagem controle.

O material inoculado foi ensilado em sacos de polietileno 35×40 cm, sendo 500 g por saco. Foram retirados o ar com auxílio de seladora a vácuo (Propack +CPVS 400 R) e posteriormente selados e mantidos à temperatura ambiente cobertos com lona plástica até o momento da abertura. Os silos foram abertos nos respectivos períodos de abertura propostos. Após homogeneização, amostras foram coletadas para a avaliação de perfil fermentativo, populações microbianas, composição química e diversidade microbiana.

Perfil fermentativo e populações microbianas

As análises referentes ao perfil fermentativo e à contagem das populações microbianas foram realizadas nas respectivas silagens. Para isso, foi obtido um extrato

aquoso, a partir de 25 g de amostra homogeneizada em 225 mL de solução estéril (Modelo, Ring Solution®, Oxoid, Local de Fabricação), por 1 min., em homogeneizador de amostras tipo stomacher (Modelo, Marca, Local de Fabricação). O extrato aquoso obtido foi filtrado em camada dupla de gaze estéril e, imediatamente após, foi mensurado o pH, com o auxílio de um potenciômetro digital (Modelo, Hanna, Cidade-SP, Brasil).

Uma alíquota de 15 mL do extrato aquoso foi acondicionada em tubos contendo 1 mL de ácido sulfúrico 50%, e armazenada em freezer a -20 °C, para posteriores análises nitrogênio amoniacal (N-NH₃) pelo método INCT-CA N-007/1 descrito por Detmann et al. (2012) e ácidos orgânicos. Para a quantificação de ácidos orgânicos, as amostras foram tratadas com hidróxido de cálcio e sulfato cúprico e analisadas de acordo com Siegfried et al. (1984), por meio de cromatografia líquida. Utilizou-se o equipamento Waters alliance (e2695, Marca, Local de Fabricação) com Detector PAD 2998 (photodiode array detector), em sistema de separação, constituído de coluna de reversa C18 ODS 80A (150×4,6 mm×5 µm). As condições de análise foram: Fase móvel isocrática constituída de 100% de solução aquosa de fosfórico, pH 2,35-2,55, temperatura do forno de 50±2 °C, volume de injeção de amostra de 20 microlitros, tempo de corrida de 20 minutos e detector com comprimento de excitação de onda em 210 nm.

Uma segunda alíquota do extrato aquoso foi submetida a diluições seriadas, variando de 10¹ a 10⁸, para contagem da população microbiana. O plaqueamento foi realizado pela técnica *pour plate* em placas de Petri estéreis. A população de BAL foi determinada em meio ágar MRS (K25-1043, Kasvi®, Difco™ Lactobacilli MRS Agar, Detroit, MI, USA) e as placas foram incubadas a 37 °C, por 48 h. O cultivo de enterobactérias foi realizado em meio ágar VRBG (K25-1092, Kasvi®, Violet Red Bile Glicose Agar, Detroit, MI, USA) e incubadas a 37 °C, por 24 h. Fungos filamentosos e leveduras foram cultivados em meio ágar DRBC (K25-1160, Kasvi®, Dichloran Rose Bengal Agar base, Oxoid™, Hampshire, Inglaterra) a 25 °C, por 120 h e 72 h, respectivamente. Foram consideradas passíveis de contagem, as placas contendo entre 30 e 300 UFC. Para avaliação e interpretação dos dados referentes à contagem microbiana, os resultados obtidos foram convertidos para base logarítmica (Log₁₀ UFC).

Análises químicas

As análises químicas foram realizadas apenas no último período de abertura dos silos. Amostras da planta e da silagem com 56 dias de fermentação foram submetidas à secagem

em estufa com ventilação forçada de ar, a 55 °C, por 72 horas, e moídas em moinho de facas tipo Wiley (Modelo, Tecnal, Piracicaba-SP, Brasil) com peneira de 1 mm. Posteriormente, as amostras foram analisadas quanto aos seus teores de matéria seca (MS, método INCT-CA G001/1), matéria mineral (MM, método INCT-CA M-001/1), proteína bruta (PB, método INCT-CA N-001/1), extrato etéreo (EE, método INCT-CA G-005/), fibra em detergente ácido (FDA, método INCT-CA F-003/1), lignina (LIG, método INCT-CA F-007/1) e os carboidratos não fibrosos foram determinadas conforme Detmann et al. (2012). As concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) foram determinadas com a adição de α -amilase termoestável, sem a utilização de sulfito de sódio, conforme Van Soest et al. (1991), modificado por Senger et al. (2008) para autoclave, com as devidas correções para cinzas (método INCT-CA M-002/1) e proteína (método INCT-CA N 004/1 (Detmann et al., 2012). O NDT foi calculado de acordo com Weiss et al. (1992). Os resultados para a planta in natura estão na tabela 1.

Tabela 1. Composição química sorgo biomassa BRS 716 In natura (g/kg MS)

Item	Sorgo BRS 716 In natura
MS	258,7
Cinzas	55,4
PB	80,3
EE	28,6
CNF	198,2
FDN	661,4
FDA	388,0
FDNcp	637,5
Lignina	28,5
NDT	579,0

*FDN – Fibra insolúvel em detergente neutro; FDA – Fibra insolúvel em detergente ácido; FDNcp – Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; NDT – Nutrientes digestíveis totais.

Extração, purificação e sequenciamento de DNA

A terceira alíquota do extrato aquoso referente apenas às silagens com 56 dias de fermentação foi utilizada para a extração do DNA para avaliação da diversidade microbiana.

A extração do DNA seguiu um método manual, protocolo desenvolvido internamente pela Neopropecta Microbiome Technologies® (Florianópolis-SC, Brasil), através de soluções tampões e *beads* magnéticas.

Para o processo de sequenciamento Nanopore Oxford as amostras brutas foram extraídas com ZymoBIOMICSTM DNA Miniprep kit (Zymo Research). As amostras de DNA foram submetidas a amplificação do gene 16S rRNA inteiro utilizando os primers 27F e 1492R (fragmento de ~1,6 kb) e do gene ITS, regiões ITS1-ITS2, utilizando-se os primers 1737F e 2409R (fragmento de 650-950pb). Os amplicons foram analisados em gel de agarose e quantificados. Os fragmentos resultantes foram utilizados para construção de bibliotecas utilizando o kit SQK-LSK114 (Oxford Nanopore Technologies) e sequenciados em Flongles Flow Cell (FLO-FLG114) na plataforma MinION (Oxford Nanopore Technologies).

Para análise de microbiota 16S e ITS, após sequenciamento, as reads resultantes foram submetidas a basecalling usando Dorado Basecaller (v 0.5.3) versão GPU. As reads produzidas foram filtradas para controle de qualidade em Q10 usando NanoFilt (v 2.8.0) e demultiplexadas pelo Dorado (v 0.5.3) versão GPU. As reads foram mapeadas contra o banco de dados interno da empresa de referência de 16S e ITS utilizando a ferramenta KMA (v 1.4.15). As análises de dados foram geradas usando Python 3.12.

Para identificação de microrganismos as reads filtradas foram utilizadas para construção de fragmentos consenso com o NGSpeciesID (v 0.3.0). A sequência com maior de número de reads consenso foi alinhada contra o banco coreNT do NCBI com a ferramenta BlastN para identificar os 10 microrganismos mais semelhantes.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à ANOVA e teste de normalidade dos resíduos de Shapiro-wilk com auxílio do PROC GLM do SAS OnDemand for Academics (SAS System Inc., Cary, NC, USA). Os dados de contagens das populações microbianas foram transformados para a base logarítmica (Log10). O efeito de tempo de fermentação foi submetido à testes de regressão linear e quadrática. Os dados foram analisados seguindo o delineamento inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 5×6, considerando-se cinco inoculantes, seis períodos de abertura e três repetições. As médias foram comparadas pelo teste Tukey, considerando-se 0,05 como nível crítico para ocorrência do erro tipo I. O modelo matemático foi:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + I_j + (P \times I)_{ij} + e_{ijk}$$

Onde, Y_{ijk} = variável dependente; μ = média geral; P_i = efeito do período de abertura i ; I_j = efeito de inoculante j ; $(P \times I)_{ij}$ = interação entre os fatores i e j ; e_{ijk} = erro experimental aleatório, assumindo uma distribuição normal dos resíduos, com o teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$).

Para avaliação dos dados de diversidade microbiana as comparações que apresentaram significância estatística na ANOVA, foi usado o teste Tukey para realizar as comparações pareadas usando a função `glht {multcomp (Bretz et al., 2011)}` em ambiente R (R Core Team, 2018). Um estudo de abundância diferencial dos táxons foi realizado, usando o Microbiome Analyst no ambiente R, para a obtenção do objeto com formato adequado para o pacote *phyloseq*, seguido das análises de acordo com a pipeline (McMurdie & Holmes, 2013). Com isso, ASVs que tiveram \log_2 (fator de correção) $> 1,5$ ou $\leq 1,5$ e P-valor $< 0,05$ foram consideradas com abundância diferencial entre as condições comparadas e destacadas no volcano plot. Nas comparações das idades de rebrotação um P-valor mais restrigente foi empregado (0,001).

4.3. RESULTADOS

Após 56 dias de ensilagem observou-se diminuição no teor de carboidratos não fibrosos e aumento nos teores de FDN, FDA, FDNcp e lignina, assim como diminuição no NDT. O teor de matéria seca médio das silagens foi de 259,0 g/ matéria natural. As silagens SF7 e SF11 apresentaram menores teores de cinzas, proteínas e NDT, enquanto a silagem S18 apresentou menores teores de fibra e maior teor de PB (Tabela 2). O tratamento comercial apresentou maior teor de ácido acético, seguida da silagem inoculada com a cepa SF11 (Tabela 1). O isolado SF11 promoveu um aumento de 92,21% na concentração de ácido láctico, apresentando maior média em comparação à silagem controle e de 24,12% em relação ao tratamento comercial. A maior relação ácido acético/láctico foi observada na silagem inoculada com SS18, enquanto a menor foi para a silagem controle com. A maior presença de ácido butírico foi na silagem SF7, seguida pela SF11, e a menor na silagem SS18.

Tabela 2. Composição química e valores de ácido acético, láctico, butírico e relação ácido láctico/acético das silagens de sorgo biomassa BRS 716 após 56 dias de fermentação (g/kg MS)

Itens	Tratamentos					EPM	P-Valor
	Controle	Comercial	SF7	SF11	SS18		
MS	254,3 a	265,9 a	260,3 a	252,1 a	262,4 a		0,20
Cinzas	63,9 a	59,6 ab	53,8 b	54,9 b	64,2 a		<0,01
PB	82,4 b	78,8 b	58,3 c	62,6 c	95,9 a		<0,01
EE	28,0 a	32,1 a	31,7 a	24,6 a	25,9 a		0,02
CNF	123,7 b	110,2 b	117,2 b	142,0 a	110,7 b		<0,01
FDN	727,5 a	755,6 a	7766,9 a	740,8 ab	728,0 b		<0,01
FDA	446,4 bc	458,0 bc	492,1 a	461,9 b	429,7 d		<0,01
FDNcp	701,9 ab	731,1 ab	745,9 a	720,0 ab	703,2 b	0,26	<0,01
Lignina	36,9 a	30,7 a	37,1 a	38,1 a	30,5 a		0,03
NDT	532,3 bc	523,1 bc	495,8 d	519,9 c	545,7 a		<0,01
Acético	1,52 bc	2,11 a	1,61 bc	1,92 ab	1,29 c		<0,01
Láctico	17,30 c	26,65 b	27,10 ab	33,08 a	26,07 b		<0,01
Butírico	1,0 bc	0,91 bc	1,32 a	1,08 ab	0,80 c		<0,01
Láctico/acético	11,46 c	12,72 bc	16,92 ab	17,26 ab	20,17 a		<0,01

Médias seguidas por mesma letra minúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro ($p < 0,05$). * FDN – Fibra insolúvel em detergente neutro; FDA – Fibra insolúvel em

detergente ácido; FDNcp – Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; NDT – Nutrientes digestíveis totais.

Observou-se efeito de interação tempo de fermentação x inoculante para o nitrogênio amoniacal (N-NH₃). Não houve variação nos teores de N-NH₃ em função do tempo dentro dos tratamentos controle, comercial e SF7 (Tabela 3). Para os tratamentos SF11 e SS18 observou-se efeito quadrático, com valores máximos de 2,88 e 3,88% aos 24 dias e 29 dias respectivamente.

Observou-se efeito de interação tempo de fermentação x inoculante para a variável pH (Tabela 3). Houve efeito quadrático em função do tempo de fermentação, com valores mínimos aos 20; 18; 19; 12 e 17 dias para os tratamentos controle, comercial, SF7, SF11 e SS18 respectivamente. Destaca-se o menor valor de pH para o tratamento SF11 com apenas 1 dia de fermentação. Observou-se que os tratamentos com cepas selvagens foram mais efetivos para acidificação da massa ensilada em relação aos tratamentos controle e o inoculante comercial em todos os tempos de fermentação.

Houve efeito de interação entre tempo de fermentação e inoculante para população de bactérias lácticas (Tabela 4). Os valores se ajustaram a equação quadrática para todos os tratamentos em função do tempo de fermentação. Houve diferença na população de BAL entre os inoculantes após 7 dias de fermentação, sendo as maiores populações nos tratamentos controle e SF11. Ao final dos 56 dias de fermentação observou-se menor população de BAL no tratamento controle em relação aos demais. Na média, ao longo do processo fermentativo, observou-se maior população de BAL nos tratamentos com cepas SF11 e SS18 em relação ao tratamento controle e ao comercial. Os pontos de mínimo das equações foram 49; 42; 48; 47 e 48 dias respectivamente para controle, comercial, SF7, SF11 e SS18.

Observou-se efeito de interação ($P < 0,05$) tempo de fermentação e inoculante para população de enterobactérias (Tabela 4). Observou-se ausência de enterobactérias a partir de 21 dias de fermentação para todos os tratamentos. A silagem inoculada com a cepa SF11 apresentou a menor população de enterobactérias (1,53 ufc/g) com um dia de fermentação e ausência a partir de três dias.

Constatou-se efeito de interação entre tempo de fermentação e inoculante para população de leveduras (Tabela 4). Para os tratamentos controle e comercial não houve

efeito de tempo, com média de 5,42 Log UFC/g para ambos os tratamentos. Para os tratamentos com cepas selvagens observou-se efeito quadrático em função do tempo, com ponto de máximo de 38; 35 e 30 dias para as cepas SF7, SF11 e SS18, respectivamente. Observou-se que o tratamento com a cepa SF11 apresentou menor população média de leveduras em relação aos demais tratamentos.

Houve efeito de interação tempo de fermentação e inoculante para população de fungos filamentosos (Tabela 4). Para os tratamentos controle e comercial não houve efeito de tempo, com média de 5,87 e 5,69 Log UFC/g respectivamente. Para os tratamentos com cepas selvagens observou-se efeito quadrático em função do tempo, com ponto de máximo de 36; 41 e 27 dias para as cepas SF7, SF11 e SS18 respectivamente. Observou-se que tratamento com a cepa SF11 apresentou menor população média de fungos em relação aos demais tratamentos.

Tabela 3. Teor de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e valores de pH em silagens de sorgo tratadas com diferentes inoculantes microbianos, em diferentes tempos de abertura do silo

Inoculante	N-NH ₃ (g/kg N total)						Média	EPM	R ²	Equação de Regressão	P-valor				
	Período de abertura (Dias)										L	Q	I	T	IxT
	1	3	7	14	21	56									
Controle	27,74a	24,1 ab	15,7 b	20,5 ab	32,1 a	19,2ab	23,2		0,14	Y=2,32	0,5979	0,3881			
Comercial	15,7 ab	24,1 ab	30,2 a	20,5 ab	33,4 a	21,8 a	24,3		0,21	Y=2,43	0,0915	0,0680			
SF7	26,5 a	37,4 a	15,7 b	16,9 b	33,4 a	15,4 ab	24,2	0,5124	0,02	Y=2,42	0,8276	0,9367	0,2050	<0,0001	0,0014
SF11	18,1 ab	24,1 ab	20,5 ab	20,5 ab	29,5 a	6,4 b	19,9		0,69	Y=1,688+0,098x-0,002x ²	0,0026	0,0003			
SS18	12,1 b	22,9 ab	20,5 ab	32,6 a	34,6 a	10,3 ab	22,2		0,75	Y=1,301+0,176x-0,003x ²	<0,0001	<0,0001			
Média	2,00 BC	2,65 AB	2,05 BC	2,21 B	3,25 A	1,46 C									
pH															
Controle	4,25 a	4,04 a	3,81 a	3,70 a	3,69 a	3,77 b	3,88 a		0,82	Y=4,182-0,040x+0,001x ²	<0,0001	<0,0001			
Comercial	4,28 a	3,97 ab	3,79 a	3,76 a	3,72 a	3,89 a	3,90 a		0,71	Y=4,160-0,037x+0,001x ²	<0,0001	<0,0001			
SF7	4,15 b	3,90 bc	3,63 b	3,60 b	3,59 b	3,68 c	3,76 b	0,0079	0,74	Y=4,042-0,038x+0,001x ²	<0,0001	<0,0001	<0,000	<0,0001	<0,000
													1		1
SF11	3,82 c	3,86 cd	3,57 b	3,54 b	3,56 b	3,61 c	3,66 c		0,70	Y=3,839-0,024x+0,001x ²	<0,0001	0,0002			
SS18	4,17 b	3,82 d	3,62 b	3,61 b	3,61 b	3,67 c	3,75 b		0,64	Y=4,014-0,035x+0,001x ²	0,0002	0,0005			
Média	4,13 A	3,91 B	3,68 D	3,64 E	3,63 E	3,72 C									

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro (p<0,05) para efeito inoculante microbiano. Regressões lineares e quadráticas foram consideradas significativas a 5% de probabilidade do erro (p<0,05) para o efeito de tempo de fermentação. EPM – Erro médio padrão; R² - coeficiente de determinação; L – efeito linear do efeito de fermentação; Q – efeito quadrático dos tempos de fermentação; I – efeito de inoculante microbiano; T – efeito de tempo de fermentação; IxT – efeito de interação entre inoculante e tempo de fermentação.

Tabela 4. Populações microbianas em silagem de sorgo tratadas com diferentes inoculantes microbianos em diferentes tempos de abertura.

Bactérias ácido-láticas Log UFC/g de forragem															
Inoculante	Período de abertura (Dias)						Média	EPM	R ²	Equação de Regressão	P-valor				
	1	3	7	14	21	56					L	Q	I	T	IxT
Controle	8,66 aA	8,95 aA	8,82 aA	7,76 abB	5,17 bcC	3,33	7,11 C		0,9112	Y=9,479-0,196x+0,002x ²	0,0001	0,0361			
						bD									
Comercial	8,72 aAB	9,00 aA	8,21 bB	7,29 bC	4,94 cD	5,23 aD	7,23 BC		0,8950	Y=9,516-0,251x+0,003x ²	<0,0001	<0,0001			
SF7	8,66 aA	9,01 aA	8,50 abA	7,80 abB	5,35 bcC	5,28 aC	7,43 AB	0,0554	0,8919	Y=9,390-0,191x+0,002x ²	<0,0001	0,0007	<0,0001	<0,0001	<0,0001
SF11	8,81 aA	8,72 aA	8,77 aA	7,95 aB	5,59 abC	5,57 aC	7,57 A		0,8421	Y=9,423-0,189x+0,002x ²	<0,0001	0,0022			
SS18	8,72 aAB	9,26 aA	8,47 abB	7,50 abC	6,00 aD	5,62 aD	7,60 A		0,9314	Y=9,458-0,192x+0,002x ²	<0,0001	<0,0001			
Média	8,71 b	8,99 a	8,55 b	7,65 c	3,38 e	5,00 d									
Enterobactérias Log UFC/g de forragem															
Controle	6,29 aA	4,08 aB	1,87 bC	0 bD	0 aD	0 aD	2,04 A		0,8549	Y=5,693-0,452x+0,006x ²	<0,0001	<0,0001			
Comercial	6,01 aA	3,82 aB	1,43 bcC	0 bC	0 aC	0 aC	1,88 A		0,8459	Y=5,319-0,428x+0,006x ²	<0,0001	<0,0001			
SF7	5,91 aA	2,61 aB	1,33	2,23 aB	0 aC	0 aC	2,02 A	0,1650	0,6858	Y=4,629-0,301x+0,004x ²	0,0005	0,0038	<0,0001	<0,0001	<0,0001
			bcBC												1
SF11	1,53 bA	0 bA	0 cA	0 bA	0 aA	0 aA	0,26 B		0,1175	Y= 0,26	0,2162	0,2830			
SS18	5,94 aA	3,56 aB	3,92 aB	0,67 bC	0 aC	0 aC	2,35 A		0,8930	Y=5,747-0,401x+0,005x ²	<0,0001	<0,0001			
Média	5,13 a	2,81 b	1,71 c	0,58 d	0 d	0 d									
Leveduras Log UFC/g de forragem															
Controle	4,35 aC	6,32 aA	6,05	5,59 cB	5,64 aB	4,56 bC	5,42 AB	.	0,2946	Y=5,42	0,2229	0,0996			
			abAB												
Comercial	4,09 abC	6,25 aA	5,66 bAB	5,52 cC	5,58 aD	5,40 aB	5,42 AB		0,1092	Y=5,42	0,1654	0,2130			

SF7	3,64 bcC	5,39 bB	5,80 bAB	6,34 abA	5,95 aAB	5,51 aB	5,44 AB	0,0601	0,5856	$Y=4,379+0,152x-0,002x^2$	0,0004	0,0007	0,0616	<0,000	<0,0001
														1	
SF11	3,56 bcC	4,79 cB	5,76 bA	5,80 bcA	5,78 aA	5,86 aA	5,26 B		0,6812	$Y=4,125+0,142x-0,002x^2$	0,0002	0,0008			
SS18	3,32 cE	5,05	6,50 aAB	6,57 aA	5,95 aBC	5,68 aC	5,51 A		0,5272	$Y=4,216+0,183x-0,003x^2$	0,0011	0,0020			
		bcD													
Média	3,79 d	5,55 bc	5,90 a	5,75 ab	3,53 d	5,35 c									
Fungos filamentosos Log UFC/g de forragem															
Controle	4,35 aC	6,46 aA	6,51	5,94 cB	6,17aB	5,78	5,87 A		0,1875	$Y=5,87$	0,0827	0,0889			
			abAB			abC									
Comercial	4,22 aC	6,42 aA	5,95 cAB	5,70 cB	5,92 aB	5,92 aB	5,69 AB		0,1672	$Y=5,69$	0,1405	0,2053			
SF7	3,98 abD	5,65	6,14 bcA	6,58 abA	6,12 aAB	5,42 bc	5,65 B	0,0679	0,5522	$Y=4,710+0,145x-0,002x^2$	0,0006	0,0007	<0,0001	<0,000	<0,0001
		bBC												1	
SF11	3,64 bc	4,83 cB	6,13bcA	6,12 bcA	6,04 aA	5,72	5,41 C		0,6538	$Y=4,206+0,164x-0,002x^2$	0,0001	0,0004			
						abA									
SS18	3,90 abD	5,17 cC	6,91 aA	6,67 aA	6,03 aB	5,62	5,72 AB		0,4660	$Y=4,595+0,164x-0,003x^2$	0,0025	0,0034			
						abBC									
Média	3,99 c	5,70 ab	6,27 a	5,06 b	3,63 c	5,29 b									

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna e letras maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro ($p < 0,05$) para efeito inoculante microbiano. Regressões lineares e quadráticas foram consideradas significativas a 5% de probabilidade do erro ($p < 0,05$) para o efeito de tempo de fermentação. EPM – Erro médio padrão; R^2 - coeficiente de determinação; L – efeito linear do efeito de fermentação; Q – efeito quadrático dos tempos de fermentação; I – efeito de inoculante microbiano; T – efeito de tempo de fermentação; IxT – efeito de interação entre inoculante e tempo de fermentação.

Segundo o Índice de Shannon, a silagem inoculada com a cepa SS18 promoveu a maior diversidade microbiana. Para o índice Chao 1 observou-se maior valor para o tratamento controle, demonstrando a grande diversidade epifítica da população microbiana na cultura do sorgo biomassa. No índice de Simpson, a maior diversidade foi para o tratamento controle e menor para a silagem SF11(Tabela 6).

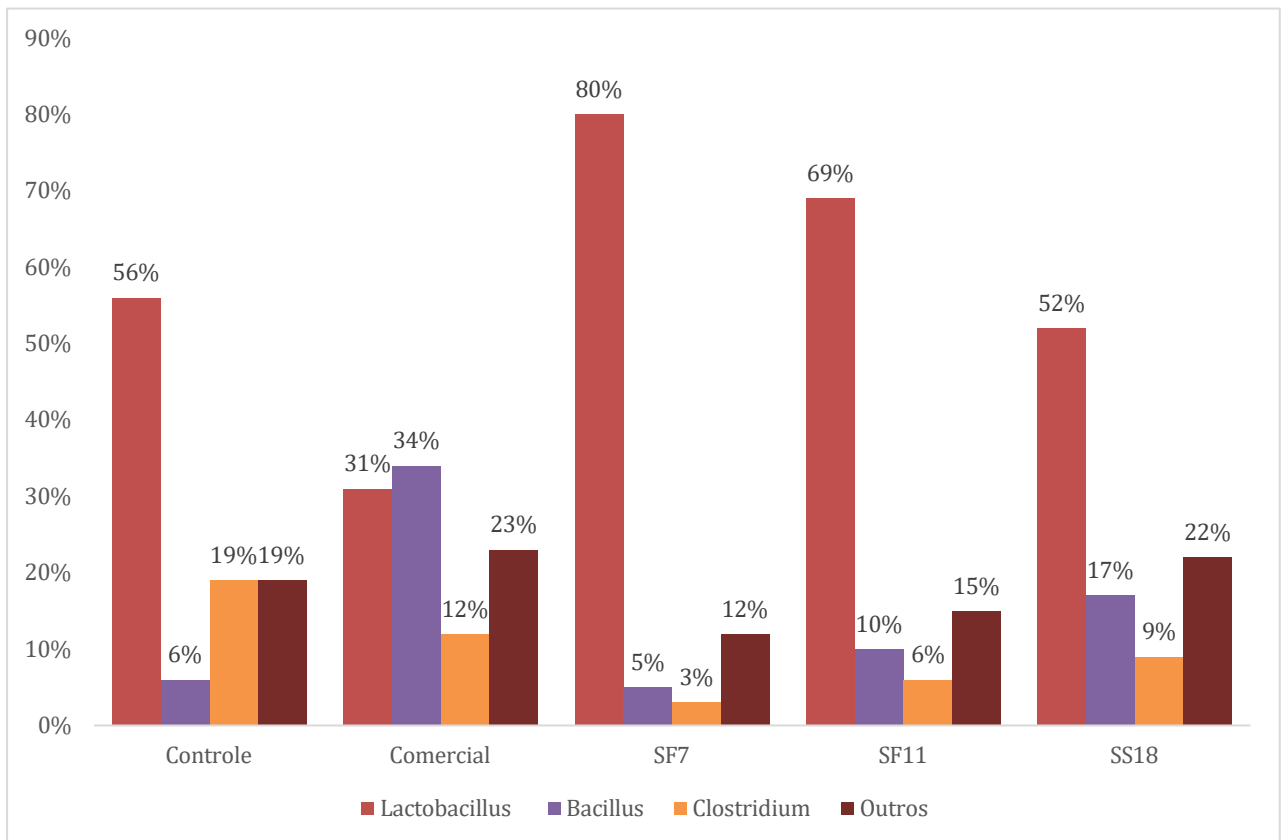
Tabela 6. Índices de diversidade Shannon, Chao 1 e Simpson em silagens de sorgo inoculadas com diferentes inoculantes microbianos

Itens	Shannon	Chao 1	Simpson
Controle	2.89	266	0.82
Comercial	2.50	250.7	0.79
SF7	2.17	246.7	0.81
SF11	2.45	251	0.65
SS18	3.19	216.5	0.78

Índice de Shannon: Quanto maior o valor do Índice de Shannon, maior é a diversidade. Índice de Chao: Leva em consideração as espécies que podem ter sido subestimadas ou não detectadas. Quanto maior o valor, mais diversos. Índice de Simpson: Varia de 0 a 1. Quanto maior seu valor, maior é a diversidade.

Na silagem controle (Imagem 1. a) é possível observar a prevalência de *lactobacillus* (56%), elevada população de *clostridium* (19%) e *Bacillus* (6%). O tratamento comercial (Imagem 1. b) obteve população de 34% por *bacillus*, além de apresentar 12% de *clostridium*, e 31% de *lactobacillus*. Já as silagens inoculadas com as cepas SF7 e SF11 (Imagem 1. c, d) demonstraram a maior porcentagem de *lactobacillus*, média de 80% e 69% desse gênero respectivamente, além de menor população de *clostridium* (3 e 6% respectivamente) e *bacillus* (5% e 10%). O tratamento SS18 apresentou aproximadamente 17% de *bacillus* e 9% de *clostridium*, competindo com a população de *lactobacillus* dessa silagem (52%). Isso se explica pela rápida queda do pH e produção de ácido lático pelos *Lactobacillus* no início do processo de fermentação, impedindo o crescimento desses microrganismos indesejáveis (Queiroz et al., 2018; Alhaag et al., 2019; Zao et al., 2022).

Imagem 1. Diversidade bacteriana das silagens de sorgo após 56 dias de fermentação



4.4. DISCUSSÃO

O aumento nos teores de FDN, FDA, FDNcp e lignina após a ensilagem pode estar relacionado à redução no teor de CNF com o tempo de armazenamento, aumentando a proporção de fibra no material, conseqüentemente diminuindo os teores de NDT (Diepersloot et al., 2021). Os valores de PB em todas as silagens indicam baixa proteólise por *clostridium* sp., fator esse, que diminui a qualidade da silagem (Li et al., 2020).

A variação dos teores de N-NH₃ durante os dias de fermentação pode ser explicada pela retirada dos gases nos sacos de silagem nos primeiros 14 dias devido à alta produção de gases, com diminuição de N-NH₃ por volatilização (da Silva et al., 2017). Silagens com teores de N-NH₃ menores que 10% são consideradas de qualidade fermentativa satisfatória (Ribeiro et al., 2007). O valor médio de 2,28% observado indica que o processo fermentativo ocorreu adequadamente, havendo pouco crescimento de microrganismos proteolíticos.

O tempo necessário para que o pH alcance a estabilidade é indicativo de controle de microrganismos indesejáveis e menores perdas durante o processo fermentativo. O pH no entanto, isoladamente, não é considerado como critério seguro para avaliação das silagens, porque seu efeito inibidor sobre as bactérias e enzimas das plantas depende da velocidade do declínio da concentração iônica e do grau de umidade do meio (Vieira et al., 2004). Valores de pH entre 3,6 e 4,2 são citados na literatura para classificar silagens bem fermentadas (Ribeiro et al., 2007). Os valores de pH e de nitrogênio amoniacal precisam ser analisados juntos, porque baixos teores de nitrogênio amoniacal combinado com baixos valores de pH indicam uma rápida estabilização da silagem. Essa combinação ocorreu para todos os tratamentos, com destaque para as cepas selvagens, em especial a SF11, que apresentou estabilização do pH com apenas um dia de fermentação, e isso se dá devido a alta produção de ácido láctico (AL) pelas *Lactobacillus plantarum*, demonstrando efetividade na conversão de CHO's solúveis (Guo et al., 2018; Dong et al., 2020).

Durante as fases iniciais da ensilagem, os açúcares solúveis (principalmente glicose, frutose e sacarose) encontram-se disponíveis em maiores concentrações, favorecendo a rápida multiplicação das BAL e intensa produção de ácido láctico, resultando em elevação da população microbiana e queda acelerada do pH. Já o maior valor de pH para a silagem controle está ligada ao menor teor de AL e menor concentração de BAL na massa ensilada, o que aponta para o menor poder fermentativo das bactérias epifíticas presentes no sorgo em relação ao inoculante comercial e as cepas selvagens (Xu et al., 2024). Entretanto, à medida

que a fermentação avança, esses carboidratos são consumidos e convertidos em ácidos orgânicos, esgotando a disponibilidade de substrato fermentescível, diminuindo assim as populações de BAL (Xu et al., 2024; Sun et al., 2025).

A silagem comercial apresentou maior teor de AA, indicando maior presença e fermentação por bactérias heterofermentativas podendo apresentar maior perda de matéria orgânica na composição dessa silagem (Sun et al., 2021). De acordo Kung Jr. et al., (2018) os valores de ácido butírico aceitos para uma fermentação adequada são abaixo de 5g/kg MS, e todas as silagens apresentaram valores abaixo disso, com a silagem SS18 sobressaindo com apenas 0,80 g/kg MS, indicando processo fermentativo eficiente.

Os valores semelhantes de pH obtidos por diferentes autores (Rosa et al., 2000; Martins et al., 2002; Vieira et al., 2004) em silagens de sorgo, com ou sem uso de inoculante microbiano, podem ser interpretados como consequência da presença de concentrações adequadas de açúcares fermentescíveis, de populações suficientes de bactérias lácticas no material vegetal e baixos valores tamponantes, condições fundamentais para redução do pH.

Segundo Yang et al., 2016 a população de BAL deve ser maior que 10^5 UFC/g para adequada preservação da silagem. Em todos os tratamentos esta população foi atendida, demonstrando adequada fermentação na silagem de sorgo, porém as cepas autóctones apresentaram maior presença dessa bactéria. Roseira et al. (2025) avaliaram a dinâmica de BAL em silagem de sorgo ao longo de diferentes períodos de fermentação (7, 14, 28, 45, 90 dias) com inoculantes nativos e observou variação de 10^7 UFC/g no tratamento controle a 10^9 UFC/g nas silagens inoculadas.

A baixa quantidade de enterobactérias nas silagens inoculadas com cepas selvagens, principalmente SF11, está relacionada aos menores valores de pH, e a alta concentração de AL, que afeta o crescimento dessas bactérias comprovando a maior eficiência de acidificação dessa cepa em relação aos outros inoculantes (Pahlow et al., 2003; Muck, 2010; Queiroz et al., 2018). Essas bactérias são identificadas como grupos epifíticos anaeróbios facultativos, que competem com as BAL's pelos carboidratos solúveis no início da fermentação, podendo afetar negativamente a acidificação e favorecer fermentações indesejáveis, especialmente quando a queda de pH ainda é insuficiente para inibir seu crescimento, estudos revelam que em um pH abaixo de 4,5 as enterobactérias não se desenvolvem (Bai et al., 2022; Ridwan et al., 2023).

O aumento da população de leveduras em função do tempo nas silagens está possivelmente associado a queda do pH, que diminui a população de microrganismos sensíveis, possibilitando a proliferação deste grupo. A alta quantidade de leveduras podem aumentar a deterioração aeróbica da massa ensilada, devido a oxidação do ácido láctico, isso resulta no aumento do pH e crescimento de fungos. Essa deterioração é maior em locais com climas quentes, e pode ser amenizada com o uso de inoculantes de bactérias produtoras de ácido acético e propiônico, que auxiliam no controle desses microrganismos (Vissers et al., 2007; Kung Jr. et al., 2018; Queiroz et al., 2018; You et al., 2021).

O aumento da população de fungos filamentosos em função do tempo pode estar relacionado a maior permeabilidade de oxigênio do saco plástico e da maior superfície de contato em relação a silos maiores, que devido a anaerobiose e ausência de luz limita o crescimento deste grupo microbiano, além do aumento de leveduras que facilita o crescimento de fungos na massa ensilada (Xia et al., 2023).

A maior diversidade microbiana pela silagem SS18 se dá possivelmente por esta ser uma cepa homofermentativa que atua no início do processo fermentativo, permitindo assim uma maior diversificação microbiana durante todo o processo fermentativo. Isso se deve principalmente pelo elevado potencial de acidificação da massa por se tratar de uma bactéria homofermentativa.

A não adição de cepas adaptadas na silagem controle e comercial contribui para a menor proporção de *Lactobacillus*, que resulta em uma menor produção de ácido láctico e consequentemente maior pH da massa ensilada, resultando em uma maior competição com *clostridium* e *Bacillus* (Alhaag et al., 2019). Já em silagens inoculadas com cepas adaptadas ocorre uma rápida queda do pH e alta produção de ácido láctico pelos *Lactobacillus* no início do processo de fermentação, impedindo o crescimento desses microrganismos indesejáveis (Queiroz et al., 2018; Alhaag et al., 2019; Zao et al., 2022).

4.5. CONCLUSÃO

As cepas selvagens SF7, SF11 e SS18, aplicadas como aditivo microbiano, são eficientes em melhorar o padrão fermentativo e aumentar a diversidade microbiana na silagem do sorgo biomassa BRS716. Além disso, a cepa SF11 destaca-se pela alta produção de ácido láctico e grande população de BALs em comparação ao inoculante comercial. Por isso, recomenda-se escolhê-la dentre as 3 cepas selvagens.

4.6. REFERÊNCIAS

Agarussi, M. C. N, Gomes Pereira, O., Paula, R. A. de, Silva, V. P. da, Santos Roseira, J. P., & Fonseca e Silva, F. (2019). Novel lactic acid bacteria strains as inoculants on alfalfa silage fermentation. *Scientific Reports*, 9(1), 8007. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44520-9>

Agarussi, M. C. N., Pereira, O. G., Pimentel, F. E., Azevedo, C. F., da Silva, V. P., & e Silva, F. F. (2022). Microbiome of rehydrated corn and sorghum grain silages treated with microbial inoculants in different fermentation periods. *Scientific Reports*, 12(1), 16864. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21461-4>

Andrews, S., Krueger, F., Segonds-Pichon, A., Biggins, L., Krueger, C., & Wingett, S. (2010). FastQC. Uma ferramenta de controle de qualidade para dados de sequenciamento de alto rendimento , 370 .

Alhaag, H., Yuan, X., Mala, A., Bai, J., & Shao, T. (2019). Fermentation Characteristics of *Lactobacillus Plantarum* and *Pediococcus* Species Isolated from Sweet Sorghum Silage and Their Application as Silage Inoculants. *Applied Sciences*, 9(6), 1247. <https://doi.org/10.3390/app9061247>

Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., de Moraes Gonçalves, J. L., & Sparovek, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), 711–728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>

Alves, W. S., de Lima Cruz, G. F., de Freitas, R. L., da Silveira, T. C., Coutinho, D. N., Roseira, J. P. S.,

Teixeira, T. N., Rigueira, J. P. S., Pereira, O. G., & Ribeiro, K. G. (2025). Fermentability coefficient of tropical forages and fermentative profile and in vitro degradability of silages. *Scientific Reports*, 15(1), 31213. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-16231-x>

Alves, W. S., Pereira, O. G., Macêdo, A. J. da S., Leite, G. D. O., da Silva, V. P., Leite, P. S., Ribeiro, K. G., & Valadares Filho, S. de C. (2025). Effect of new strains of *Lentilactobacillus buchneri* as inoculants in sorghum silage on the fermentative profile, aerobic stability, and voluntary intake in lambs. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 68(3), 613–629. <https://doi.org/10.1080/00288233.2023.2287717>

Backsman, C. F. da C, Monção, F. P., Aspiazú, I., Júnior, V. R. R., Figueiredo Portugal, A., Kesia

Oliveira de Jesus Silva, R., Rigueira, J. P. S., Maida de Albuquerque Maranhão, C., Soares dos Santos, A., da Cunha Siqueira Carvalho, C., & de Abreu Delvaux Júnior, N. (2025). Agronomic traits, fermentation quality, chemical composition, and silage digestibility of different forage sorghum genotypes and biomass in the semi-arid region of Brazil. *Journal of Applied Animal Research*, 53(1). <https://doi.org/10.1080/09712119.2025.2462573>

Bai, C., Pan, G., Leng, R., Ni, W., Yang, J., Sun, J., Yu, Z., Liu, Z., & Xue, Y. (2022). Effect of Ensiling Density and Storage Temperature on Fermentation Quality, Bacterial Community, and Nitrate Concentration of Sorghum-Sudangrass Silage. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.828320>

Bernardes, T. F., & do Rêgo, A. C. (2014). Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 97(3), 1852–1861. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7181>

Bolsen, KK, Ashbell, G., & Wilkinson, JM (1995). Aditivos para silagem. *Biotecnologia em rações e alimentação animal*, 33-54.

Bonaldi, D. S., Carvalho, B. F., Ávila, C. L. d. S., & Silva, C. F. (2021). Effects of *Bacillus subtilis* and its metabolites on corn silage quality. *Letters in Applied Microbiology*, 73(1), 46–53. <https://doi.org/10.1111/lam.1347422>

Bretz, F., Posch, M., Glimm, E., Klinglmueller, F., Maurer, W., & Rohmeyer, K. (2011). Graphical approaches for multiple comparison procedures using weighted Bonferroni, Simes, or parametric tests. *Biometrical Journal*, 53(6), 894–913. <https://doi.org/10.1002/bimj.201000239>

Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., Owens, S. M., Betley, J., Fraser, L., Bauer, M., Gormley, N., Gilbert, J. A., Smith, G., & Knight, R. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal*, 6(8), 1621–1624. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.8>

Chong, J., Liu, P., Zhou, G., & Xia, J. (2020). Using MicrobiomeAnalyst for comprehensive statistical, functional, and meta-analysis of microbiome data. *Nature Protocols*, 15(3), 799–821. <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0264-1>

da Hora, F. F., Rocha Júnior, V. R., Pinto Monção, F., Paulo Sampaio Rigueira, J., Silva Cordeiro,

M.W., Albuquerque Caldeira, L., Fogaça da Cruz, F. N., Silva Alencar, A. M., Albuquerque, C. J. B., Barbosa Leal, D., Cunha Siqueira Carvalho, C. da, & Dulcineia da Costa, M. (2023). Nutritional parameters and performance of crossbred heifers fed with millet and BRS 716 biomass sorghum silages. *Journal of Applied Animal Research*, 51(1), 74–83. <https://doi.org/10.1080/09712119.2022.2155172>

da Silva, T., & Santos, E. M. (2016). *Advances in Silage Production and Utilization* (T. da Silva & E. M. Santos, Eds.). InTech. <https://doi.org/10.5772/61574>

de Souza, J. M. S., Neto, A. B., da Rosa, M. A. B., Tardin, F. D., Galati, R. L., Chaves, C. S., & Pereira, D. H. (2025). Nutritional value and fermentability of sorghum silages grown in the Amazon biome. *Grassland Science*, 71(2), 86–94. <https://doi.org/10.1111/grs.12440>

Detmann, E., Souza, M. D., Valadares Filho, S. D. C., Queiroz, A. D., Berchielli, T. T., Saliba, E. D. O., ... & Azevedo, J. A. G. (2012). Métodos para análise de alimentos. *Visconde do Rio Branco: Suprema*, 214.

Dhariwal, A., Chong, J., Habib, S., King, I. L., Agellon, L. B., & Xia, J. (2017). MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. *Nucleic Acids Research*, 45(W1), W180–W188.

Diepersloot, E. C., Pupo, M. R., Ghizzi, L. G., Gusmão, J. O., Heinzen, C., McCary, C. L., Wallau, M. O., & Ferraretto, L. F. (2021). Effects of Microbial Inoculation and Storage Length on Fermentation Profile and Nutrient Composition of Whole-Plant Sorghum Silage of Different Varieties. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.660567>

Dong, M., Li, Q., Xu, F., Wang, S., Chen, J., & Li, W. (2020). Effects of microbial inoculants on the fermentation characteristics and microbial communities of sweet sorghum bagasse silage. *Scientific Reports*, 10(1), 837. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57628-0>

dos Santos Leandro, E., Ginani, V. C., de Alencar, E. R., Pereira, O. G., Rose, E. C. P., do Vale, H. M. M., Pratesi, R., Hecht, M. M., Cavalcanti, M. H., & Tavares, C. S. O. (2021). Isolation, Identification, and Screening of Lactic Acid Bacteria with Probiotic Potential in Silage of Different Species of Forage Plants, Cocoa Beans, and Artisanal Salami. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(1), 173–

186. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09679-y23>

Guo, X., Guo, W., Yang, M., Sun, Y., Wang, Y., Yan, Y., & Zhu, B. (2022). Effect of Bacillus Additives on Fermentation Quality and Bacterial Community during the Ensiling Process of Whole-Plant Corn Silage.

Processes, 10(5), 978. <https://doi.org/10.3390/pr10050978>

Guo, X. S., Ke, W. C., Ding, W. R., Ding, L. M., Xu, D. M., Wang, W. W., Zhang, P., & Yang, F. Y. (2018). Profiling of metabolome and bacterial community dynamics in ensiled *Medicago sativa* inoculated without or with *Lactobacillus plantarum* or *Lactobacillus buchneri*. *Scientific Reports*, 8(1), 357.

<https://doi.org/10.1038/s41598-017-18348-0>

Hassan, Z. U., al Thani, R., Alsafran, M., Migheli, Q., & Jaoua, S. (2021). Selection of Bacillus spp. with decontamination potential on multiple Fusarium mycotoxins. *Food Control*, 127, 108119. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108119>

Jin, Y., Wang, P., Li, F., Yu, M., Du, J., Zhao, T., Yi, Q., Tang, H., & Yuan, B. (2024). The Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation Quality, In Vitro Digestibility, and Aerobic Stability of *Silphium perfoliatum* L. Silage. *Animals*, 14(15), 2279. <https://doi.org/10.3390/ani14152279>

Jobim, C. C., Nussio, L. G., Reis, R. A., & Schmidt, P. (2007). Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(suppl), 101–119. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007001000013>

Kung Jr., L., Shaver, R. D., Grant, R. J., & Schmidt, R. J. (2018). Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4020–4033. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13909>

Leite, G. M., Santos, E. M., de Oliveira, J. S., Pereira, D. M., de Oliveira, C. J. B., Cavalcanti, J. V. F. L., de Lima, V.

M. R., de Lima, J. P. V. de M. F., Gomes, P. G. B., Edvan, R. L., Miranda, R. de S., Ferreira, D. de J., Negrão, F. de M., & Zanine, A. de M. (2025). Isolation of Acetic Acid-Producing Bacterial Strains and Utilization as Microbial Inoculants in Sorghum Silages. *Agriculture*, 15(3), 241. <https://doi.org/10.3390/agriculture15030241>

Li, R., Jiang, D., Zheng, Mingli, Tian, P., Zheng, Menghu, & Xu, C. (2020). Microbial community dynamics during alfalfa silage with or without clostridial fermentation. *Scientific Reports*, 10(1), 17782. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74958-1>

Martins, L., Fernandes, A. C., Valeiro, S., Crise, M., & Rossi Jr, P. (2002). Efeito do uso de inoculantes sobre o pH e composição bromatológica da silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). XXXIX REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. Anais... UFRRP/Recife-PE.

McLaren, M. R.; Callahan, B. J. Silva 138.1 dados de treinamento taxonômico de SSU procariótico formatados para DADA2. Zenodo , v. 10, p. 5281, 2021

McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>

Muck, R. E. (2010). Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(suppl spe), 183–191. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300021>

Muck, R. E., Nadeau, E. M. G., McAllister, T. A., Contreras-Govea, F. E., Santos, M. C., & Kung Jr., L. (2018). Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3980–4000. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13839>

Nazar, M., Ullah, M. W., Wang, S., Zhao, J., Dong, Z., Li, J., Kaka, N. A., & Shao, T. (2022). Exploring the Epiphytic Microbial Community Structure of Forage Crops: Their Adaptation and Contribution to the Fermentation Quality of Forage Sorghum during Ensiling. *Bioengineering*, 9(9), 428. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9090428>

Neumann, M., Restle, J., Nörnberg, J. L., Oliboni, R., de Pellegrini, L. G., Faria, M. V., & Marafon, F. (2010). Influência do espaçamento entre linhas e da densidade de semeadura no cultivo do sorgo em manejo de cortes. *Pesquisa Aplicada & Tecnologia*, 3(3), 65–73.

Okuda, T., Fujii, S., & Kawashima, Y. (1965). The Tokushima journal of experimental medicine. *The Tokushima Journal of Experimental Medicine*, 12, 11–23.

Oliveira, A. S., Weinberg, Z. G., Ogunade, I. M., Cervantes, A. A. P., Arriola, K. G., Jiang, Y., Kim,

D., Li, X., Gonçalves, M. C. M., Vyas, D., & Adesogan, A. T. (2017). Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(6), 4587–4603. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11815>

Pahlow, G., Muck, R. E., Driehuis, F., Elferink, S. J. W. H. O., & Spoelstra, S. F. (2003). *Microbiology of Ensiling* (pp. 31–93). <https://doi.org/10.2134/agronmonogr42.c2>

Puntillo, M., Gaggiotti, M., Oteiza, J. M., Binetti, A., Massera, A., & Vinderola, G. (2020). Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated From Different Forages as Silage Inoculants for Improving Fermentation Quality and Aerobic Stability. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.586716>

Queiroz, O. C. M., Ogunade, I. M., Weinberg, Z., & Adesogan, A. T. (2018). Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4132–4142. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13901>

Ramos, J. C. P., Júnior, V. R. R., Monção, F. P., da Costa Parrela, R. A., Caxito, A. M., Cordeiro, M. W. S., da Hora, F. F., & de Assis Pires, D. A. (2021). Effect of replacing forage sorghum silage with biomass sorghum silage in diets for F1 Holstein × Zebu lactating cows. *Tropical Animal Health and Production*, 53(1), 99. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02503-3>

R Core Team. (2018). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <https://www.R-project.org/>

Rêgo, A. C. do, Siqueira, G. R., Almeida, G. B. D. S., Signoretti, R. D., & Resende, F. D. de. (2016). EFFECT OF PARTICLE SIZE AND BACTERIAL INOCULANT ON THE TEMPERATURE, DENSITY AND pH OF PEARL MILLET SILAGES. *Revista Caatinga*, 29(4), 984–995. <https://doi.org/10.1590/1983-21252016v29n424rc>

Ribeiro, M. G., Costa, K. A. D. P., Souza, W. F. de, Cruvinel, W. S., Silva, J. T. da, Santos Júnior, D. R. dos. (2017). Silage quality of sorghum and *Urochloa brizantha* cultivars monocropped or intercropped in different planting systems. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 39(3), 243.

<https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i3.33455>

Ridwan, R., Abdelbagi, M., Sofyan, A., Fidriyanto, R., Astuti, W. D., Fitri, A., Sholikin, M. M., Rohmatussolihat, Sarwono, K. A., Jayanegara, A., & Widyastuti, Y. (2023). A meta-analysis to observe silage microbiome differentiated by the use of inoculant and type of raw material. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1063333>

Rodrigues, J. A. S. (2015). Cultivo do Sorgo. Embrapa Milho e Sorgo. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/994083>

Roseira, J. P. S., Pereira, O. G., Silveira, T. C. da, Pinho, R. M. A., Cascardo, R. S., Paula, R. A. de, Zerbini, P. A.,

Mantovani, H. C., Alves, W. S., Ribeiro, K. G. (2025). Isolation of lactic acid bacteria and quantification of *Lentilactobacillus buchneri* using qPCR in sorghum silage inoculated with native strains in tropical conditions. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 97(1). <https://doi.org/10.1590/0001-3765202520240783>

Senger, C. C. D., Kozloski, G. v., Bonnacarrère Sanchez, L. M., Mesquita, F. R., Alves, T. P., & Castagnino, D.

S. (2008). Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 146(1–2), 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.12.008>

Siegfried, V. R.; Ruckemann, H.; Stumpf, G. Method for the determination of organic acids in silage by high performance liquid chromatography. *Landwirtschaftliche Forsch*, p. 298-304, 1984.

Silva, V. P., Pereira, O. G., Leandro, E. S., Paula, R. A., Agarussi, M. C. N., & Ribeiro, K. G. (2020). Selection of lactic acid bacteria from alfalfa silage and its effects as inoculant on silage fermentation. *Agriculture (Switzerland)*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/agriculture10110518>

Silva, Y. A. da, Orrico Junior, M. A. P., Retore, M., Ceccon, G., Amaral, I. P. de O., Orrico, A. C. A., Muglia, G. R. P., & Fernandes, T. (2025). Productivity, Fermentation Parameters, and Chemical Composition of Silages from Biomass Sorghum Hybrids in Ratoon Crop. *Fermentation*, 11(9), 540. <https://doi.org/10.3390/fermentation11090540>

Souza, Í. D. A. dos S., Rocha Júnior, V. R., Monção, F. P., Parrella, R. A. da C., Cordeiro, M. W. S., Carvalho, C. da C. S., Rigueira, J. P. S., Aspiazú, I., Silva, F. V. e, & Delvaux Júnior, N. de A. (2021). Yield and nutritional value of biomass sorghum (BRS 716) managed in different row spacing and maturity at harvest in the semiarid region of Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 42(6), 3463–3484. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n6p3463>

Sun, H., Cui, X., Li, R., Guo, J., & Dong, R. (2021). Ensiling process for efficient biogas production from lignocellulosic substrates: Methods, mechanisms, and measures. *Bioresource Technology*, 342, 125928. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125928>

Sun, Z., Li, Y., Li, Shuangye, Wang, S., Li, Siyi, Ke, Y., Gao, R., Wang, L., Zhou, Z., Wu, Z., & Yu, Z. (2025). Pretreatment of sweet sorghum silages with *Lactobacillus plantarum* and cellulase with two different raw material characteristics: fermentation profile, carbohydrate composition, in vitro rumen fermentation and microbiota communities. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 12(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s40538-025-00749-3>

Torres, M. (2014). Sorgo biomassa é ótima opção para geração de energia. Embrapa milho e sorgo. <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2246665/sorgo-biomassa-e-otima-opcao-para-geracao-de-energia>

Van Soest, P. J. . (1994). Nutritional ecology of the ruminant. Comstock Publishing Associates.

Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)

Veriato, F. T., Pires, D. A. D. A., Tolentino, D. C., Alves, D. D., Jayme, D. C., & Moura, M. M. A. (2018). Fermentation characteristics and nutritive values of sorghum silages. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 40(1), 34458. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.34458>

Vieira, F. A. P., Borges, I., Stehling, C. A. V., Gonçalves, L. C., Coelho, S. G., Ferreira, M. I. C., & Rodrigues,

J. A. S. (2004). Qualidade de silagens de sorgo com aditivos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 56(6), 764–772. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352004000600011>

Vissers, M. M. M., Driehuis, F., te Giffel, M. C., de Jong, P., & Lankveld, J. M. G. (2007a). Concentrations of Butyric Acid Bacteria Spores in Silage and Relationships with Aerobic Deterioration. *Journal of Dairy Science*, 90(2), 928–936. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71576-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71576-X)

Wallace, R. John., & Chesson, A. . (1995). *Biotechnology in animal feeds and animal feeding*. VCH.

Wang, S., Li, J., Dong, Z., Chen, L., Yuan, X., & Shao, T. (2018). The effects of lactic acid bacteria strains isolated from various substrates on the fermentation quality of common vetch (*Vicia sativa* L.) in Tibet. *Grass and Forage Science*, 73(3), 639–647. <https://doi.org/10.1111/gfs.12363>

Wang, Y., & Qian, P.-Y. (2009). Conservative Fragments in Bacterial 16S rRNA Genes and Primer Design for 16S Ribosomal DNA Amplicons in Metagenomic Studies. *PLoS ONE*, 4(10), e7401. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007401>

Xia, G., Huang, Y., Wu, C., Zhang, M., Yin, H., Yang, F., Chen, C., & Hao, J. (2023). Characterization of mycotoxins and microbial community in whole-plant corn ensiled in different silo types during aerobic exposure. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1136022>

Xu, H., Wu, N., Na, N., Ding, H., Sun, L., Fang, Y., Li, D., Li, E., Yang, B., Wei, X., & Xue, Y. (2024). Dynamics of fermentation quality, bacterial communities, and fermentation weight loss during fermentation of sweet sorghum silage. *BMC Microbiology*, 24(1), 429. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03573-1>

Xu, J., Ma, J., Sa, R., Sui, H., Wang, X., Li, Q., Zhu, X., Wu, B., Hu, Z., & Niu, H. (2024). Effects of lactic acid bacteria inoculants on the nutrient composition, fermentation quality, and microbial diversity of whole-plant soybean corn mixed silage. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1347293>

Yang, J., Tan, H., & Cai, Y. (2016). Characteristics of lactic acid bacteria isolates and their effect on silage fermentation of fruit residues. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5325–5334. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10952>

You, S., Du, S., Ge, G., Wan, T., & Jia, Y. (2021). Selection of lactic acid bacteria from native

grass silage and its effects as inoculant on silage fermentation. *Agronomy Journal*, 113(4), 3169–3177. <https://doi.org/10.1002/agj2.20720>

Zanine, A. de M., Bonelli, E. A., Souza, A. L. de, Ferreira, D. de J., Santos, E. M., Ribeiro, M. D., Geron, L. J. V., & Pinho, R. M. A. (2016). Effects of *Streptococcus bovis* Isolated from Bovine Rumen on the Fermentation Characteristics and Nutritive Value of Tanzania Grass Silage. *The Scientific World Journal*, 2016, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2016/8517698>

Zhao, J., Yin, X.-J., Wang, S.-R., Li, J.-F., Dong, Z.-H., & Shao, T. (2022). Changes in the fermentation products, taxonomic and functional profiles of microbiota during high-moisture sweet sorghum silage fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.967624>

Zopollatto, M., Daniel, J. L. P., & Nussio, L. G. (2009). Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(spe), 170–189. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001300018>.

4.7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de inoculantes na silagem de sorgo biomassa BRS 716 melhorou a dinâmica fermentativa e alterou a composição química em comparação à silagem controle, demonstrando a importância do uso desses aditivos na produção de silagens. Entretanto, as silagens tratadas com as cepas autóctones apresentaram melhores resultados, especialmente a cepa SF11, que promoveu rápida acidificação da silagem, maior produção de ácido láctico, menores valores de pH e redução nas populações de enterobactérias, fungos filamentosos e leveduras ao longo da fermentação, demonstrando maior eficiência em comparação aos demais tratamentos. Além disso, as silagens inoculadas com as cepas selvagens apresentaram maior predominância de *Lactobacillus*, demonstrando maior eficácia na competitividade contra microrganismos indesejáveis.

Já a cepa SF7 destacou-se pela elevada produção de BAL e pela predominância de *Lactobacillus* na microbiota da massa ensilada, além de contribuir para a redução do pH e para o controle de enterobactérias ao longo da fermentação, demonstrando grande potencial para uso como inoculante adaptado às condições semiáridas.

O tratamento SS18 destacou-se por favorecer a composição bromatológica da silagem, com maiores valores de PB e maior teor de NDT, além de maior diversidade microbiana.

De modo geral, todas as silagens tratadas com inoculantes apresentaram bons parâmetros fermentativos, com teores ideais de N-NH₃ (menores que 100 g/kg N total), baixas concentrações de ácido butírico e altos teores de ácido láctico e acético, além de valores de pH compatíveis com silagens bem conservadas. Porém, as silagens tratadas com as cepas autóctones demonstraram superioridade em relação a esses fatores, quando comparadas aos tratamentos comercial e controle.

Os resultados confirmam o potencial de utilização de BAL's autóctones como alternativa promissora no desenvolvimento de inoculantes adaptados às condições edafoclimáticas do semiárido, contribuindo para maior eficiência na conservação de forragens.