



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Fundação Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Agrárias



# **Influência da adição de monensina e óleo essencial sobre os parâmetros fermentativos de silagens de TMR com elevado teor de umidade**

**Caroline Mattu Farias**

Dourados – MS  
Julho – 2024



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Fundação Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Agrárias



# **Influência da adição de monensina e óleo essencial sobre os parâmetros fermentativos de silagens de TMR com elevado teor de umidade**

**Acadêmica: Caroline Mattu Farias**  
**Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior**

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção do grau de bacharel em Zootecnia

Dourados - MS  
Julho – 2024



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Fundação Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Agrárias



## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** Influência da adição de monensina e óleo essencial sobre os parâmetros fermentativos de silagens de TMR com elevado teor de umidade

**AUTOR:** Caroline Mattu Farias

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior

Aprovado como parte das exigências para a obtenção do grau de bacharel em **ZOOTECNIA** pela comissão examinadora.

Documento assinado digitalmente

 **MARCO ANTONIO PREVIDELLI ORRICO JUNIOR**  
Data: 23/07/2024 19:52:07-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior

(Orientador)

Documento assinado digitalmente

 **ANA CAROLINA AMORIM ORRICO**  
Data: 24/07/2024 18:07:37-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Carolina Amorim Orrico

Documento assinado digitalmente

 **RONNIE COELHO DE ANDRADE**  
Data: 24/07/2024 17:51:40-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Msc. Ronnie Coêlho de Andrade

Data de realização: 15 de Julho de 2024

Documento assinado digitalmente

 **RODRIGO GAROFALLO GARCIA**  
Data: 02/08/2024 12:09:32-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rodrigo Garófallo Garcia  
Presidente da comissão do TCC-Zootecnia

## Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

F224i Farias, Caroline Mattu

Influência da adição de monensina e óleo essencial sobre os parâmetros fermentativos de silagens de TMR com elevado teor de umidade [recurso eletrônico] / Caroline Mattu Farias. -- 2024.  
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior.

TCC (Graduação em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2024.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Ensilagem. 2. monensina. 3. limoneno. 4. umidade. 5. perfil fermentativo. I. Orrico Junior, Prof. Dr. Marco Antonio Previdelli . II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

## DEDICATÓRIA

*Dedico primeiramente à Deus, pela sua vontade vim a existir, aos seu filho Jesus Cristo, autor e consumidor da minha fé;*

*Aos meus pais, Ana Maria e Mateus, mesmo sendo falhos, deram o melhor que possuíam para o meu desenvolvimento físico, psicológico e educacional. Willian, meu irmão, sendo mais velho ajudou a cuidar de mim.*

## AGRADECIMENTO

*Agradeço à Deus pelo seu amor (revelado em Jesus Cristo), por todas as bênçãos concedidas a mim e a minha família, por ser meu refúgio e fortaleza nos momentos de aflição. O SEU amor me constrange e me faz querer ser melhor a cada dia, cumprindo com propósito DELE na minha vida.*

*Agradeço aos meus pais, com o apoio de vocês, principalmente financeiro, pude me dedicar sem preocupações aos meus estudos. As palavras de motivação, sempre lembrando que sou capaz, o que faz a diferença é o tempo de dedicação, priorizando as coisas importantes.*

*Ao meu pai que me ensinou a importância da leitura e o aprendizado constante que é o remédio para evitar declínio cultural.*

*À minha mãe que desde sempre buscou em Deus ser uma boa esposa e mãe, senti e ainda sinto os resultados da sua dedicação como mãe e minha confidente.*

*Agradeço meu irmão pelo apoio, orientação nos estudos e as descontrações que me ajudou a distrair depois de longas horas de estudos.*

*Agradeço aos meus orientadores, professora Dra. Ana Carolina Amorim Orrico, a primeira orientação que tive ao ingressar no curso e pelos conhecimentos passados durante as aulas.*

*Ao professor Dr. Marco Antônio Previdelli Orrico Júnior, meu atual orientador, agradeço pela oportunidade em fazer parte do grupo MAFRA, pelo tempo, ensinamentos e paciência.*

*A todos os professores que contribuíram para o meu aprendizado, cada um fornecendo um tijolo para a construção da minha formação acadêmica.*

*Agradeço ao grupo PET/ZOOTECNIA, por tem contribuído com meu crescimento pessoal e acadêmico desde meu segundo ano de curso.*

*Agradeço as amigas de curso, pela ajuda mútua que demos umas às outras, compartilhando conhecimentos para tentando esclarecer as dúvidas uma das outras para realização dos trabalhos e provas.*

## SUMÁRIO

<b>DEDICATÓRIA .....</b>	<b>v</b>
<b>AGRADECIMENTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>SUMÁRIO .....</b>	<b>vii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>ix</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Ração mista total na alimentação de vacas leiteiras .....</b>	<b>2</b>
<b>2.2 Ensilagem de TMR e sua influência sobre os nutrientes da dieta .....</b>	<b>3</b>
<b>2.3 Monensina (MON) .....</b>	<b>5</b>
<b>2.4 Óleos essenciais.....</b>	<b>6</b>
<b>2.5 Óleo essencial Limoneno (OEL) .....</b>	<b>7</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>8</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>6 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>16</b>

## RESUMO

As silagens de TMR têm a qualidade nutricional e viabilidade econômica comprovadas por muitos trabalhos, com foco principal na avaliação do efeito dos macros ingredientes na formulação das silagens de rações mistas totais (TMRs). No entanto, poucos são os trabalhos que testam as possíveis interferências dos aditivos moduladores de fermentação sobre a qualidade do processo fermentativo TMRs, uma vez que podem prejudicar o crescimento de microrganismos fundamentais para a qualidade do processo fermentativo da silagem. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes doses de monensina e de óleo essencial limoneno sobre os parâmetros fermentativos de silagens de TMRs com elevado teor de umidade (30% de MS). Os tratamentos testados foram: controle (TMR sem uso de aditivo), MON35 (TMR com 35 mg monensina/kg MS), MON45 (TMR com 45 mg monensina/kg MS), OEL300 (TMR com 300 mg OE/ kg MS) e OEL600 (TMR com 600 mg OE/kg MS). A TMR foi formulada com base nas exigências nutricionais de vacas leiteiras para uma produção média de 25 litros de leite/dia (NRC, 2001). Os parâmetros avaliados foram as perdas fermentativas, pH (TMR ensilada), concentrações de ácidos orgânicos (TMR ensilado) e a estabilidade aeróbia. As maiores perdas por efluentes foram observadas nos tratamentos que receberam MON35, MON45 e OEL300 (69,07 kg/t MS, 66,25 kg/t MS e 66,52 kg/t MS, respectivamente), porém foram os tratamentos que apresentaram maiores produções de ácido láctico (6,78% MS, 6,94% MS, 8,1% de MS. Entre os tratamentos testados OEL600 resultou com menor teor de ácido láctico (4,87% MS), entretanto, promoveu uma maior estabilidade aeróbia do que o OEL300 (91,88 e 86,06 horas, respectivamente), essa maior estabilidade aeróbia pode ser associada ao ácido acético, pois OEL600 forneceu maior teor de ácido acético em relação aos demais tratamentos testados. Diante disso, os aditivos foram benéficos para a produção das silagens de TMRs, controlaram a presença e atividades de microrganismos prejudiciais no processo de ensilagem, apresentando um perfil fermentativo adequado para qualidade das TMRs ensiladas. Entretanto, para uma silagem de TMR com alto teor de umidade a dosagem 600 mg/kg MS do OEL não é recomendada, pois forneceu a menor produção de ácido láctico, as duas dosagens de MON não demonstraram muitas diferenças sobre efeitos ao processo de ensilagem, sendo recomendado a dosagem 35mg/kg MS, pois a despesa da produção reduziria, visto que a monensina é um produto de alto custo.

Palavras-chaves: Ensilagem, monensina, limoneno, umidade, perfil fermentativo.

## ABSTRACT

The nutritional quality and economic viability of TMR silages have been proven by many studies, with the main focus on evaluating the effect of macro-ingredients in the formulation of total mixed ration silages (TMRs). However, few studies have tested the possible effects of fermentation modulating additives on the quality of the TMR fermentation process, since they can jeopardise the growth of microorganisms that are fundamental to the quality of the silage fermentation process. The aim of this study was to assess the influence of different doses of monensin and limonene essential oil on the fermentation parameters of TMR silages with a high moisture content (30 per cent DM). The treatments tested were: control (TMR with no additive), MON35 (TMR with 35 mg monensin/kg DM), MON45 (TMR with 45 mg monensin/kg DM), OEL300 (TMR with 300 mg OE/kg DM) and OEL600 (TMR with 600 mg OE/kg DM). The TMR was formulated based on the nutritional requirements of dairy cows for an average production of 25 litres of milk/day (NRC, 2001). The parameters assessed were fermentation losses, pH (ensiled TMR), organic acid concentrations (ensiled TMR) and aerobic stability. The highest effluent losses were observed in the treatments that received MON35, MON45 and OEL300 (69.07 kg/t DM, 66.25 kg/t DM and 66.52 kg/t DM, respectively), but these were the treatments that showed the highest lactic acid yields (6.78% DM, 6.94% DM, 8.1% DM). Among the treatments tested, OEL600 resulted in a lower lactic acid content (4.87% DM), however, it promoted greater aerobic stability than OEL300 (91.88 and 86.06 hours, respectively). This greater aerobic stability may be associated with acetic acid, as OEL600 provided a higher acetic acid content than the other treatments tested. In view of this, the additives were beneficial for the production of TMR silage, controlled the presence and activities of harmful microorganisms in the ensiling process, and presented an adequate fermentation profile for the quality of ensiled TMR. However, for TMR silage with a high moisture content, the 600 mg/kg DM dosage of OEL is not recommended, as it provided the lowest production of lactic acid. The two dosages of MON did not show many differences in their effects on the ensiling process, and the 35mg/kg DM dosage is recommended, as production costs would be reduced, given that monensin is a high-cost product.

**Keywords:** Silage, monensin, limonene, moisture, fermentation profile.

## 1 INTRODUÇÃO

A apresentação da alimentação para gado leiteiro mudou nos últimos 30 anos, com o uso de misturadores de rações para preparação de rações mistas totais (TMR) (Kristensen, 2017). A TMR fornece uma ingestão uniforme de dietas completas, devido ao uso de variados ingredientes a sua durabilidade é baixa, sendo necessário o preparo diário e várias vezes ao dia. Diante disso, o processo de ensilagem agrega a TMR benefícios, como destacado por Bueno et al., (2020) ao relatarem que a ensilagem de TMR oferece otimização do trabalho e uso de maquinário, aproveitamento de subprodutos, maior estabilidade aeróbia e aumento da degradabilidade da proteína ruminal. A qualidade nutricional e econômica da silagem de TMR já foi considerada viável por muitos trabalhos (Bueno et al., 2020; Chen et al., 2017; Lazzari et al., 2021).

A monensina, aditivo modulador da fermentação ruminal é amplamente utilizado para melhorar a eficiência alimentar de ruminantes (Júnior et al., 2020), porém são poucos os trabalhos que relatam os possíveis efeitos sobre a atuação da monensina no desenvolvimento do processo fermentativo. Segundo Davison, (1984) a monensina inibe preferencialmente o crescimento de bactérias Gram-positivas, o que pode prejudicar o crescimento dos *Lactobacillus spp* que estão presentes no processo de ensilagem, assim, quando se pretende utilizar esse aditivo na produção das silagens de TMR isso se torna um alerta. Os óleos essenciais apresentam comportamento semelhante ao da monensina e por ser um composto natural, o interesse como modulador de fermentação ruminal vem aumentando (Calsamiglia et al., 2007). No entanto, ainda são escassos os trabalhos sobre os efeitos causados ao perfil fermentativo e valor nutricional para ruminantes da silagem de TMR com o uso de aditivos (monensina e óleos essenciais).

De acordo com Bueno et al., (2020) o maior acúmulo de produtos e proteólise resultam na maior perda de MS, que ocorrem devido ao aumento dos teores de umidade nas silagens de TMR, afetando assim o padrão de fermentação. Tanto a monensina quanto o óleo essencial tem ação sobre a permeabilidade das membranas celulares das bactérias, interferindo no transporte dos íons, deduz-se que o efeito dos aditivos sobre os microrganismos pode ser intensificado quando os íons estão na solução (presença de água). Por esse motivo, o objetivo desse estudo é avaliar a influência de diferentes doses de monensina e de óleo essencial de limoneno sobre os parâmetros fermentativos de silagens de TMRs com elevado teor de umidade.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Ração mista total na alimentação de vacas leiteiras

As vacas leiteiras possuem diversas fases ao longo de sua vida produtiva, que vai desde a fase de crescimento até as fases de gestação e lactação. Em cada uma destas fases, as exigências nutricionais mudam e são necessários ajustes na dieta para evitar que a subnutrição leve a transtornos na saúde e no desempenho dos animais.

O consumo adequado de nutrientes pelos animais é fator determinante para o sucesso de uma pecuária leiteira e, uma das formas de garantir isso, é o uso de TMR. A TMR é produzida pela mistura de forragens verdes, subprodutos, concentrados, vitaminas, minerais e aditivos (Bueno et al., 2020), objetivando sempre atender as exigências nutricionais dos animais. Segundo Schingoethe et al., (2017), a alimentação com TMR oferece várias vantagens, incluindo: 1) **Dieta Completamente Balanceada**: Cada porção consumida é essencialmente uma dieta completa e nutricionalmente equilibrada; 2) **Fornecimento Fácil e Seguro de Aditivos**: Facilita a inclusão e administração de aditivos de forma mais segura; 3) **Redução da Separação de Ingredientes**: Minimiza problemas relacionados à separação de ingredientes devido à mistura inadequada; 4) **Diminuição da Seleção de Ingredientes Menos Palatáveis**: Reduz a seletividade dos animais, garantindo que todos os componentes da dieta sejam consumidos; 5) **Desempenho Melhorado dos Animais**: Contribui para um maior desempenho e eficiência produtiva dos animais; 6) **Menor Incidência de Distúrbios Digestivos**: Diminui a ocorrência de distúrbios digestivos, promovendo a saúde geral do rebanho.

Embora a alimentação com TMR ofereça várias vantagens, também apresenta algumas desvantagens, conforme destacado por Schingoethe et al., (2017) e outros pesquisadores. As principais desvantagens incluem: 1) **Custo Inicial Elevado**: O investimento em equipamentos para mistura e distribuição de TMR pode ser alto; 2) **Manutenção de Equipamentos**: A necessidade de manutenção regular dos equipamentos pode aumentar os custos operacionais; 3) **Complexidade da Formulação**: A formulação de uma TMR balanceada exige conhecimento técnico e pode ser complexa, especialmente para produtores menores ou com menos recursos; 4) **Variedade de Ingredientes**: A indisponibilidade constante de alguns ingredientes necessários para garantir uma dieta equilibrada pode ser um desafio; 5) **Controle de Qualidade**: É essencial garantir a consistência da mistura para evitar variações na dieta que possam afetar a saúde e o desempenho dos animais; 6) **Armazenamento e Manuseio**: A necessidade de armazenar e manusear grandes volumes de diferentes ingredientes pode exigir

espaço e trabalho adicionais; 7) **Risco de Fermentação:** Se a TMR não for consumida rapidamente, há um risco de fermentação indesejada, que pode comprometer a qualidade da dieta.

Esses pontos destacam a importância de considerar tanto os benefícios quanto os desafios ao implementar uma dieta baseada em TMR na gestão de um rebanho.

## 2.2 Ensilagem de TMR e sua influência sobre os nutrientes da dieta

De acordo com Bueno et al., (2020), a ensilagem de TMR começou nos Estados Unidos na década de 1960 e oferece vários benefícios, como otimização do trabalho e uso de maquinário, aproveitamento de subprodutos, maior estabilidade aeróbia e aumento da degradabilidade da proteína ruminal. Restelatto et al., (2019) afirmam que a silagem de TMR em fardos com filme plástico mantém baixa perda de nutrientes, mesmo quando o filme é danificado. Bueno et al., (2020) destacam que a compra de silagem de TMR em sacos ou fardos é uma estratégia interessante para pequenos produtores, devido à maior conservação e facilidade de transporte, melhorando a gestão da fazenda e otimizando o tempo para outras atividades (Schmidt et al., 2017).

Segundo Xie et al., (2022), a silagem de TMR pode enfrentar problemas de fermentação, pois formulações inadequadas podem resultar em processo fermentativo indesejável. A silagem de TMR deve ser utilizada logo após ser desembalada, pois a entrada de oxigênio leva ao crescimento de microrganismos aeróbios responsáveis pela degradação dos nutrientes presentes na silagem.

Durante o processo de ensilagem, os nutrientes (carboidratos, amido, proteínas, lipídios, entre outros) nos alimentos que compõem as silagens passam por transformações que podem impactar positiva ou negativamente sua qualidade e disponibilidade ao longo do consumo. Segundo Bueno et al., (2020), a umidade é um fator que pode afetar o padrão de fermentação, o fracionamento de nutrientes e a sua digestibilidade. Weinberg et al., (2011) avaliaram TMR ensilada úmida e semisseca com teor de MS 500 ou 650 g.kg<sup>-1</sup>, respectivamente, e constataram que após 140 dias de armazenamento na silagem mais úmida a recuperação de MS (988 vs. 999 g.kg<sup>-1</sup> de MS) e o teor de açúcar (10 vs. 28 g.kg<sup>-1</sup> de MS) foram menores.

Para que a fermentação da silagem ocorra, o teor de umidade, a qualidade e quantidade de carboidratos (carboidratos solúveis em água), o conteúdo proteico e o poder tampão da forragem, são fatores importantes para promover o crescimento de microrganismos (Pedroso, 1998). Durante 144 dias de armazenamento, Weinberg et al., (2011) relataram uma redução

contínua de carboidratos solúveis em silagens de TMR armazenadas em fardos. De acordo com Bueno et al., (2020), o conteúdo final de carboidratos solúveis em silagens de TMR dependerá do conteúdo inicial e do tipo de fermentação. No entanto, durante as primeiras semanas de fermentação, a maioria dos carboidratos solúveis é consumida.

Segundo Rooke et al., (2003), Der Bedrosian et al., (2012) & Ferraretto et al., (2015), o teor de amido normalmente não diminui durante a ensilagem, pois a maioria das bactérias responsáveis pela fermentação não apresenta atividade amilolítica. Entretanto, Miyaji et al., (2016) demonstraram que em silagens de TMR contendo milho floculado a vapor ou arroz integral, armazenadas por 210 dias, houve uma perda média de 22,8% de amido. Na silagem de TMR e na TMR fresca, a concentração de amido tende a ser semelhante devido ao consumo de outros nutrientes durante a fermentação (Bueno et al., 2020).

Na silagem de TMR, todos os ingredientes são ensilados, expondo todas as proteínas à ação de microrganismos proteolíticos (Bueno et al., 2020). Em dietas com alto teor de proteína bruta a proteólise é indesejável, sendo observado uma menor eficiência de utilização do nitrogênio (Huhtanen et al., 2008 & Hymes-Fecht et al., 2013). A degradação da proteína durante a ensilagem ocorre em duas fases: 1) Hidrólise da proteína, com ação de proteases vegetais e microbianas, resultando em peptídeos e aminoácidos livres (AA) (Rooke et al., 2003); e 2) Descarboxilação e desaminação dos AA, formando aminas biogênicas e dióxido de carbono,  $\text{NH}_3$  e ácidos orgânicos, respectivamente (Scherer et al., 2015).

Em silagens bem conservadas, espera-se que o conteúdo de lipídeos não sofra alterações significativas, uma vez que os lipídeos não são combustíveis comuns para a fermentação (Bueno et al., 2020). Segundo Liu et al., (2019), silagens bem conservadas apresentam um teor de gordura total semelhante ao do material fresco, no entanto, é comum observar um aumento dos ácidos graxos livres. Elgersma et al., (2003) relataram que apenas 20% dos ácidos graxos de cadeia longa estavam em sua forma livre no azevém fresco, enquanto, após a ensilagem, esse nível aumentou para 50% na silagem de azevém.

Os animais alimentados com silagem de TMR apresentam maior eficiência alimentar quando comparado aos animais alimentados com a TMR convencional. Hibbs & Conrad (1976) compararam TMR fresca com TMR ensilada (sem aditivos na silagem) para vacas leiteiras, formuladas com os mesmos ingredientes, nas mesmas proporções e fornecido para os animais nas mesmas quantidades. As vacas alimentadas com silagem TMR tiveram um aumento na digestibilidade total da MS (767 vs. 791  $\text{g.kg}^{-1}$  MS para TMR fresca e ensilada, respectivamente) e uma diminuição da ingestão de MS (18,1 vs. 16,3  $\text{kg.d}^{-1}$  para TMR fresca e ensilada, respectivamente). No entanto, não foram observadas diferenças na produção de leite (18,8 vs.

19,0 kg.d<sup>-1</sup> para TMR fresca e ensilada, respectivamente). Portanto, a eficiência alimentar (consumo MS/produção de leite) foi maior para vacas alimentadas com silagem de TMR (1,01 vs. 1,15, para TMR fresca e ensilada, respectivamente) (Bueno et al., 2020).

### 2.3 Monensina (MON)

A monensina pertence a um grupo de antibióticos poliéteres produzidos naturalmente por determinadas cepas de *Streptomyces* (Blanchflower & Kennedy 1996). Aditivo alimentar amplamente utilizado para melhorar a eficiência alimentar de ruminantes (Júnior et al., 2020) por ser um ionóforo antimicrobiano que deprime ou inibe seletivamente o crescimento de microrganismos do rúmen. Desde a sua descoberta em 1969 tem sido usada mundialmente na pecuária como coccidiostático (Mammi et al., 2021).

O mecanismo de ação da MON se dá pela capacidade seletiva, reduzindo as bactérias Gram-positivas no rúmen, favorecendo as bactérias Gram-negativas, devido a maior facilidade de causar dano a permeabilidade da membrana celular da bactérias Gram-positivas, melhorando a eficiência do metabolismo energético com diversos benefícios para a saúde e produção dos animais (Duffield & Bagg 2000). Essa capacidade de melhorar a eficiência alimentar alterando a fermentação ruminal ocorre pelo aumento na produção de propionato enquanto diminui a perda de carbono na forma de dióxido de carbono e metano (Russel et al., 1989; Duffield & Bagg 2000).

Lazzari et al., (2021) compararam silagem TMR com TMR convencional com adição de premix contendo 1.500 mg de monensina sódica. Foi observado, nesse estudo, que a silagem de TMR apresentou boa conservação e estabilidade a exposição do ar (estabilidade aeróbia >240 h), os autores consideraram desenvolvimento satisfatório das bactérias ácido láctica (BAL) com nível de ácido láctico em torno de 3% MS, na literatura teor adequado de ácido láctico é superior a 4,5% (McDonald et al., 1991). Segundo os autores, as concentrações de monensina sódica na TMR convencional e silagem de TMR tinha aproximadamente 33 mg/kg MS e 31 mg/kg MS, respectivamente, sendo observado uma ligeira redução das concentrações de monensina na silagem de TMR (- 6%) em comparação com TMR convencional. Os mesmos autores concluíram que durante a fermentação da silagem a monensina suplementada foi parcialmente metabolizada, porém de acordo com (NASEM, 2016) as concentrações finais ficaram dentro dos níveis recomendados para bovinos de corte em terminação. No entanto, não tem como afirmar que durante a ensilagem a monensina não levou a uma modificação da composição dos nutrientes e na população microbiana, pois na pesquisa de Lazzari et al., (2021)

todos os tratamentos possuíam monensina em sua composição (sem grupo controle) e os teores de umidade foram baixos nas TMRs utilizadas pelos autores (média 60% de MS), segundo Borreani et al., (2018) a atividade de água está diretamente ligada com o crescimento microbiano e a intensidade de fermentação.

Apesar da monensina apresentar benefícios, o uso deste ionóforo foi proibido por muitos países, sendo necessário o estudo de alternativas, principalmente de compostos naturais que apresentem os mesmos benefícios e não causem danos ao meio ambiente. Os óleos essenciais, através de pesquisas, têm demonstrado sua eficiência contra bactérias Gram-positivas (Hyldgaard et al., 2012).

## 2.4 Óleos essenciais

Segundo Burt, (2004) os óleos essenciais (OEs) são metabólicos secundários de plantas que têm potencial como aditivos alimentares por serem lipofílicos, voláteis e possuírem propriedades antimicrobianas. Os compostos ativos mais importantes estão incluídos em dois grupos químicos: terpenoides (monoterpenoides e sesquiterpenoides) e fenilpropanoides (Calsamiglia et al., 2007). Segundo Gershenzon & Croteau (1991) na literatura já foram descritos mais de 1500 compostos diferentes de terpenoides, sendo o grupo mais numeroso e diversificado dos metabólicos secundários de plantas. As atividades mais importantes desses compostos são como antissépticas e antimicrobianas (Calsamiglia et al., 2007). Isso se deve a capacidade de causar danos às propriedades estruturais e funcionais da membrana celular, sendo identificado como o mais importante mecanismo de ação contra microrganismos (BD da Silva et al., 2021).

De acordo com Smith-Palmer et al., 1998 & Chao e Young (2000) as bactérias gram-positivas são mais susceptíveis a esse mecanismo de ação do que as gram-negativas, porque a membrana celular das gram-positivas pode interagir diretamente com compostos hidrofóbicos dos OEs. As bactérias gram-negativas possuem uma parede celular externa ao redor da membrana celular hidrofílica o que dificulta a interação com os compostos hidrofóbicos dos OEs. Atualmente muitos compostos de OEs com fortes atividades antimicrobianas já foram estudados (Burt, 2004), alguns deles que afetam as bactérias gram-positivas e gram-negativas são: a) *Anethum graveolens* (endro), compostos ativos limoneno e carvona (Deans & Ritchie, 1987); b) *Origanum vulgare* (orégano), composto ativo carvacrol e timol (Sivropoulou et al., 1996; Dorman & Deans, 2000); c) *Zingiber officinale* (gingibre), compostos ativos zingibereno, zingerona (Chao & Young, 2000).

As propriedades antissépticas e antimicrobianas dos OEs podem favorecer o desenvolvimento de microrganismos benéficas ao processo de ensilagem, promovendo uma melhora na qualidade da fermentação com redução na perda de nutrientes e uma melhora na estabilidade aeróbia da silagem após abertura do silo (Chen et al., 2023). Ainda segundo Chen et al., (2023) a utilização do OE de cominho (*Cuminum cimo*) em dose adequada durante a ensilagem inibem significamente o crescimento de *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* e *Actinobacteria* beneficiando o desenvolvimento de *Firmicutes* proporcionando melhora na qualidade da silagem. A melhora na qualidade ocorre porque *Bacteroidetes* como *Palidibacter propionicigenes* e *Prevotella ruminocola* degradam com maior facilidade do que *Firmicutes* substâncias moleculares pequenas, como monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos não celulósicos na silagem (Klang et al., 2015).

Turan e Önenç et al., (2018) observaram que o OE de cominho de acordo com a dose aumentou o número de BAL e diminuiu o número de leveduras e bolores evitando a decomposição aeróbia, mantendo a estabilidade aeróbia por três dias. Entretanto, o OE de cominho não impediu completamente o desenvolvimento de leveduras e bolores, segundo Weinberg et al., (1993) existe uma relação positiva entre a população de leveduras, bolores e carboidratos solúveis em água com ácido láctico e BAL, antes da exposição ao oxigênio, o alto teor de carboidratos solúveis em água fornece condições para o desenvolvimento de leveduras e bolores.

## 2.5 Óleo essencial Limoneno (OEL)

O limoneno é um dos principais constituintes presentes nas plantas aromáticas e principalmente em óleos essenciais de cascas de *frutas cítricas spp.* como limão, laranja, toranja, lima e tangerina, sendo o terpeno mais comum presente na natureza e ligeiramente solúvel em água (13,8mg/L a 25° C). Apresenta propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais e anti-biofilme (Gupta et al., 2021).

Kung et al. (2008) utilizaram para ensilagem um composto de OEs que continha limoneno, em seu trabalho observaram que a mistura de OEs pode ser útil como aditivo não prejudicando as BAL. No entanto, o limoneno segundo Adegoke et al.,(2000) demonstrou efeito contra espécies de *Candida* e *Aspergillus flavus*, identificadas como causadoras do início da deterioração aeróbia em silagens, porém de acordo com Kung et al., (2008) o estudo revelou que a mistura de OEs não afetou o número de leveduras e bolores, enterobactérias ou BAL quando comparadas com a silagem não tratada durante os estágios iniciais da ensilagem se

mantendo com os mesmos resultados após 256 dias de ensilagem. Kung et al., (2008) concluíram que pode ter ocorrido uma inativação dos OEs no ambiente complexo da silagem, pois a inibição da concentração de OEs usada foi demonstrada em cultura pura.

Cantoia Júnior, et al., (2020) relataram em seu estudo com adição de óleo essencial de capim limão (limoneno como um dos constituintes) na ensilagem de cana-de-açúcar, o óleo reduziu a contagem de leveduras e fungos, concentração de ácido butírico e ácido láctico. Também foi observado um maior pH da silagem com a menor dose de OE de capim limão.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa, foi desenvolvida em março de 2023, na Fazenda Experimental de Ciências Agrárias (FAECA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) (22° 13' 52,44' 95" S 54° 59' 10, 53' 72" W), localizada no município de Dourados, MS-Brasil (22 ° 11'55" S, 54°56'7 " W e 452 m de altitude). O clima da região é o Cwa (mesotérmico úmido, com verão chuvoso), de acordo com a classificação de Köppen (Fietz E Fisch, 2008).

Para o ensaio foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos experimentais, contendo formas diferentes de adição de monensina sódica e óleo essencial de limoneno: 1) TMR sem uso de aditivo (controle), 2) TMR com 35mg monensina/kg MS, 3) TMR com 45 mg monensina/kg MS, 4) TMR com 300 mg do OE /kg MS (OEL300) e 5) TMR com 600 mg do OE /kg MS. Foram realizadas quatro repetições por tratamento (silos experimentais).

A massa de TMR de cada tratamento foi armazenada em silos experimentais construídos a partir tubos de PVC (10 cm de diâmetro e 50 cm de altura) com volume útil de 3,8 L. O material foi compactado manualmente com auxílio de bastões de madeira. A TMR com alta umidade apresentou densidade de compactação de 897 kg de matéria verde (MV)/m<sup>3</sup>. No fundo de cada silo, havia uma camada de aproximadamente 4,5 cm de areia (300 g) para a drenagem dos efluentes. Utilizou-se uma malha fina de tecido de algodão para evitar o contato da forragem com a areia. Após o enchimento, os silos foram lacrados com lona plástica dupla-face (preta e branca) e fita adesiva e armazenados em laboratório à temperatura ambiente (média de 25,15°C) por 90 dias.

A TMR foi formulada para atender as exigências nutricionais de vacas leiteiras com produção média de 25 litros de leite/dia (NRC, 2001). A TMR foi composta por sorgo forrageiro, grão de milho triturado, farelo de soja, calcário calcítico, fosfato bicálcico e sal comum, além das doses dos aditivos descritas anteriormente. A proporção dos ingredientes

utilizados para atender as exigências nutricionais de vacas lactantes e a composição química da dieta estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Proporção dos ingredientes e composição química das silagens de TMR de alta umidade para vacas leiteiras em cada um dos ensaios experimentais.

Ingredientes	% da MS
Sorgo Forrageiro	46,56
Milho grão triturado	28,67
Farelo de soja	22,46
Calcário calcítico	1,18
Fosfato bicálcico	1,11
Sal comum	0,02
<b>Total</b>	<b>100,00</b>
MS, % MN	30,48
PB, % MS	16,76
FDN, % MS	37,74
Amido, % MS	20,00
EE, % MS	3,59
MM, % MS	7,13
Lignina, % MS	3,77
CNF, % MS	36,18
CT, meqg NaOH/100g MS	29,32
pH	6,3

MN = matéria natural; MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; EE = extrato etéreo; MM = matéria mineral; CNF = carboidrato não fibroso; CT = capacidade tampão.

O concentrado foi misturado com o volumoso para a formulação da TMR. Os aditivos a serem testados e suas respectivas doses foram previamente incorporados ao concentrado para facilitar a mistura e garantir uma distribuição mais homogênea em toda massa a ser ensilada. A mistura do volumoso com o concentrado proporcionou uma TMR com teores médios de MS de 41% muito próximo ao teor de MS formulado (40% de MS). Para obter TMR com teor de MS de 30% foi adicionado 171 mL de água destilada sobre o material que foi utilizado para o enchimento de cada silo experimental (média de 4,25 kg). Para evitar a formação de efluente o material foi sendo homogeneizado durante a adição de água destilada.

Após a abertura dos silos foram calculadas a recuperação de MS (g/kg de MS ensilada) e as perdas fermentativas, todos os componentes dos silos (silo, areia e pano), bem como a massa de TMR ensilada, foram pesados antes e depois da ensilagem. A recuperação de MS (g/kg de MS ensilada), a perda por gases (g/kg de MS ensilada) e a produção de efluente (g/kg de forragem ensilada) foram calculadas de acordo com as equações de (Jobim et al., 2007). A recuperação de MS foi calculada pela fórmula:

$$RMS = 100 - \left( \frac{MSI - MSF}{MSI} \times 100 \right)$$

Onde: RMS = recuperação de matéria seca (% da massa seca inicial); MSI = massa seca inicial (kg MS colocada nos silos); MSF = massa seca final (kg MS retirada dos silos).

As perdas por gases foram calculadas pela fórmula:

$$PG = \frac{PSI - PSF}{MSI} \times 100$$

Onde: PG = Perdas por gases durante o armazenamento (% da massa seca inicial); PSI = peso do silo fechado no início (kg), PSF = peso do silo fechado na abertura (kg); e MSI = massa seca inicial (kg MS colocada nos silos).

As produções de efluentes foram calculadas pela fórmula:

$$PE = \frac{Pf - Pi}{MSI} \times 1000$$

Onde: PE = produção de efluente (kg/t de massa seca); Pf = peso final conjunto (silo + areia + pano) em kg; Pi = peso inicial do conjunto (silo + areia + pano) em kg; MSI = massa seca inicial (kg MS colocada nos silos).

Amostra de material *in natura* (depois da ensilagem) de aproximadamente 300 g de cada silo experimental foi retirada e congelada. A amostra foi utilizada para determinar o pH (TMR ensilada) e a concentração de ácidos orgânicos (TMR ensilada). A amostra congelada foi processada para a produção de um extrato aquoso, foram diluídos 25 g da TMR em 225 mL de água destilada e homogeneizados manualmente por aproximadamente 20 min. O pH do extrato foi determinado usando um potenciômetro digital, e os teores de ácidos orgânicos foi feito por meio de cromatografia líquida.

A estabilidade aeróbica foi determinada em todas as silagens após a abertura do silo. Amostras ( $2 \pm 0,005$  kg) de cada repetição experimental foram colocadas livremente nos silos experimentais limpos. Sensores térmicos foram colocados no centro geométrico das silagens e uma dupla camada de gaze foi colocada sobre cada silo experimental para evitar o ressecamento e a contaminação, mas permitindo a penetração do ar. A temperatura ambiente, bem como a temperatura de cada silagem, foi registrada a cada minuto e calculada a média a cada 20 minutos

por um datalogger (RC-4, Elitech®). A estabilidade aeróbia foi definida como o número de horas necessárias para que a temperatura da silagem atingisse um valor de 2°C acima da temperatura do ambiente (Kung Jr et al., 2018).

Os dados avaliados foram submetidos à análise de variância e analisados por meio do programa estatístico Sisvar versão 5.8 (Build 92). As médias foram comparadas pelo teste de Scott Knott, com nível de significância de 5%.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças ( $P>0,05$ ) para os teores de matéria seca (MS) entre os tratamentos testados, no entanto, a média dos teores de MS entre os tratamentos foi de 30,49 % o que pode ser considerado baixo para uma silagem de TMR (Bueno et al., 2020). Os baixos teores de MS proporcionam maiores produções de efluentes principalmente quando o material apresenta elevada taxa de compactação (Gebrehanna et al., 2014), uma compactação ideal seria  $> 500\text{kg MV/m}^3$  (Paiva, 1976 & Vilela et al., 1982). No presente experimento, os silos apresentaram as mesmas taxas de compactação ( $897\text{kg MV/m}^3$ ), no entanto foram observadas maiores produções de efluentes para os tratamentos MON35, MON45 e OEL300. Segundo Akinci & Soykan Önenç, (2021) em alguns casos, os óleos essenciais melhoram a qualidade geral da silagem, promovendo uma população microbiana e um perfil de fermentação mais desejáveis. Isto pode levar a uma maior preservação de nutrientes e a uma melhor estrutura geral da silagem, o que pode reduzir a necessidade de retenção excessiva de umidade e, assim, aumentar a produção de efluentes como um subproduto natural da melhoria da eficiência da fermentação.

Tabela 2: Teores de MS, perdas fermentativas, recuperação de MS, pH, estabilidade aeróbia e perfil fermentativo das silagens de TMRs com diferentes doses de MON e OEL.

Parâmetro	Tratamentos					EPM	P valor
	Controle	Mon35	Mon45	OEL 300	OEL 600		
MS, %MN	30,40	31,63	31,53	29,30	29,68	0,71	0,104
PG, % MS	1,52a	3,11b	1,69a	1,56a	4,67b	0,69	0,02
PE, kg/t MS	54,58b	69,08c	66,25c	66,53c	39,58a	4,78	< 0,01
RMS, % MS	91,44b	93,03c	94,77c	90,31b	87,71a	0,74	< 0,01
EA, h	83,39a	91,90c	89,57c	86,06b	91,88c	0,86	< 0,01
pH	3,93a	4,05b	4,09b	3,93a	4,31c	0,03	< 0,01
Ác. Láctico, % MS	5,87b	6,78c	6,95c	8,10d	4,87a	0,25	< 0,01
Ác. Acético, % MS	0,73a	0,71a	0,69a	1,04b	2,11c	0,05	< 0,01
L/A	8,04b	9,55c	10,45c	7,89b	2,32a	0,64	< 0,01
Ác. Butírico, mg/kg MS	78,93a	200,66b	71,02a	12,32a	15,36a	37,89	0,02

Etanol, % MS	0,33	0,35	0,39	0,29	0,27	0,032	0,099
Ác. Propiônico, mg/kg MS	166,94b	113,53b	143,51b	0,95a	2,01a	22,99	< 0,01
Ác. Isobutírico, mg/kg MS	30,84b	65,94d	71,28d	46,92c	6,34a	4,00	< 0,01
Ác. Isovalérico, mg/kg MS	40,29b	26,54b	11,83a	6,23a	2,89a	5,17	< 0,01
Ác. Valérico, mg/kg MS	44,34b	31,27b	11,42a	4,41a	2,16a	5,89	< 0,01

TMR sem uso de aditivo (controle); TMR com 35 mg MON/kg MS (MON35); TMR com 45 mg MON/kg MS (MON45); TMR com 300 mg OEL/kg MS (OEL300); TMR com 600 mg OEL/kg MS (OEL600); PG = perdas por gases; PE= perdas por efluentes; RMS = Recuperação de matéria seca; EA = estabilidade aeróbia; Ác. = ácido; Relação L/A = relação ácido láctico/acético. Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. EPM = Erro padrão da média.

As perdas de gases, como observado, houve diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos, sendo o maior valor observado para o tratamento OEL600 4,667% da MS. Segundo Borreani et al., (2018) a quantidade de perda de matéria seca devido à fermentação depende das espécies microbianas dominantes e dos substratos fermentados. As bactérias ácidas lácticas (BAL) homofermentativas fermentam a molécula glicose produzindo duas moléculas de ácido láctico, não havendo perdas MS e nem a formação de gases (Borreani et al., 2018). Ou seja, quando há o predomínio deste tipo de fermentação durante o processo de ensilagem maiores serão as taxas de recuperação de MS. No entanto, BAL heterofermentativas utilizam a glicose, frutose, citrato e malato presentes no meio para a produção de ácido láctico, ácido acético e etanol, sendo que para a síntese destes há produção de dióxido de carbono (Borreani et al., 2018). A produção de dióxido de carbono contribui para aumentar as perdas por gases consequentemente diminuem as taxas de recuperação de matéria seca. Isso ajuda a explicar por que o tratamento OEL600 apresentou a menor taxa de recuperação da matéria seca. Segundo Borreani et al., (2018) a faixa aceitável de perda de gases é de 4%, sendo que para este experimento, o único tratamento que teve perdas acima do desejável foi o OEL600.

A estabilidade aeróbia das silagens de TMR foi afetada ( $P < 0,05$ ) pelos tratamentos testados. Os tratamentos que tiveram adição da MON e OEL600 apresentaram os maiores valores de estabilidade aeróbia, em contrapartida, o tratamento controle foi o que apresentou o menor valor. De acordo com Susanto et al., (2023) os OEs de origem vegetal possuem boa atividade antimicrobiana, o que acaba inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis durante a ensilagem e no pós-abertura. O trabalho realizado por Susanto et al., (2023) demonstrou que à medida que as doses de OEs aumentaram, a população de bolores e leveduras nas silagens foram inferiores ao tratamento controle. Além disso, no pós-abertura as silagens também apresentaram menores taxas de crescimentos destes microrganismos. Isso pode explicar por que a estabilidade aeróbia foi menor no tratamento controle e porque OEL300 foi menos eficiente do que o tratamento OEL600. Além dos teores de ácido acético, sendo maior no tratamento OEL600 em comparação com o OEL300.

Outro ponto que ajuda a explicar a maior estabilidade aeróbia do OEL600 é o maior teor de ácido acético em relação aos demais tratamentos testados. Segundo Kung et al., (2018) a estabilidade de uma silagem quando exposta ao ar também depende da concentração de ácido acético. Segundo os mesmos autores, o ácido acético tem como característica principal inibir o crescimento de bolores e leveduras e sua presença em quantidades moderadas pode contribuir para melhorar a estabilidade das silagens. A concentração normal de ácido acético na silagem é de aproximadamente 3 a 4% da MS. Concentrações excessivamente altas de ácido acético (>4-6%) são detectadas com mais frequência em silagens extremamente úmidas (>70% de umidade) (Kung et al., 2018). O ácido acético do OEL 600 resultou em maiores concentrações (2,105% MS), mas em comparação a faixa normal representa baixo valor de ácido acético.

Os menores valores de pH foram observados para os tratamentos controle e OEL300, seguidos da MON35 e MON45 e por último o maior pH observado foi para OEL600 (3,93, 4,05, 4,09 e 4,31, respectivamente). O pH é um importante parâmetro para avaliação da qualidade do processo fermentativo, pois é um indicativo da quantidade de ácidos orgânicos que foram produzidos durante a ensilagem. No entanto, o pH por si só não demonstra o quanto de cada ácido foi produzido, sendo necessária a avaliação do perfil fermentativo, principalmente, com relação as produções de ácido lático, ácido acético e ácido butírico.

As concentrações de ácido de lático tiveram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) em função dos tratamentos testados. O OEL300 apresentou maior concentração de ácido lático em comparação a OEL600 que resultou no menor teor de ácido lático (8,10% MS e 4,87% MS). De acordo com Susanto et al., (2023) doses mais elevadas de OE afetam negativamente o processo de ensilagem, reduzindo a população de BAL e a concentração do ácido lático, resultando em silagens com maiores valores de pH. Isso ajuda a explicar o comportamento do ácido lático e do pH nos tratamentos OEL300 e OEL 600.

Os tratamentos MON35 e MON45 apresentaram as maiores relações ácido lático: acético, em comparação com os demais tratamentos. Isso demonstra que o uso de MON favoreceu o crescimento de bactérias homofermentativas em detrimento as heterofermentativas, o que é benéfico do ponto de vista de conservação de alimentos. Além disso, Lazzari et al., (2021), observaram que a monensina não sofre nenhum tipo de degradação durante o processo de ensilagem da TMR, o que é benéfico quando se pretende fazer o uso deste ionóforo na alimentação dos animais

Os resultados obtidos para os teores de ácido butírico foram baixos, não tendo diferenças para a maioria dos tratamentos ( $P < 0,05$ ), com exceção da MON35 que apresentou a maior concentração de ácido butírico (200,655mg/kg MS). De acordo Pahlow et al., (2003) a presença

desse ácido butírico na silagem é um indicativo da presença de microrganismos do gênero *Clostridium*, o que acaba prejudicando na recuperação de energia devido a perdas de MS. Segundo Mills & Kung, (2002), a silagem com muitos microrganismos clostridiais tendem a ter altas concentrações de fibra e baixa digestibilidade da MS, portanto o ácido butírico não deve ser encontrado em altas porcentagens em silagens bem fermentadas.

Embora a presença de ácido butírico tenha sido observada, isso não representa uma silagem de baixa qualidade, porque os teores foram muito abaixo do teor aceitável de 2,0g/kg MS (Moselhy et al. 2015), ou seja, até mesmo a maior concentração obtida em MON35 ficou muito inferior do limite aceitável de 2,0 g/kg MS ácido butírico, as concentrações encontradas no presente trabalho representam 0,2g/kg MS.

Não foram observadas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) para porcentagens de etanol entre os tratamentos testados. O etanol pode ser produzido por diferentes microrganismos (BAL heterofermentativas, enterobactérias e leveduras), sua concentração em silagens de plantas inteiras de milho e leguminosas, geralmente é baixo (0,5-1,5%), diferente de silagens de cana-de-açúcar que podem conter mais de 15% de etanol com base na MS (Kung e Stanley, 1982; Daniel et al., 2013) . Uma silagem com alta concentração de etanol (3 a 4% MS) geralmente apresenta um elevado número de leveduras, as quais utilizam o ácido láctico quando estão na presença de oxigênio reduzindo assim a estabilidade aeróbia (Kung et al., 2018). Portanto, a concentração de etanol encontrada na silagem TMR no presente experimento ficaram muito abaixo da faixa normal recomendada para silagens, o que pode ser considerado positivo.

As produções de ácido propiônico no tratamento controle e nas silagens que receberam monensina (MON35 e MON45) apresentaram os maiores valores para o ácido propiônico (113,53mg/kg MS e 143,51mg/kg MS). Já os tratamentos com óleo essencial (OEL300 e OEL600) apresentaram menores as produções de ácido propiônico (0,95mg/kg MS e 2,01mg/kg MS, respectivamente.) De cordo com (Kung et al., 2018), a presença do ácido propiônico geralmente é difícil de ser observada (especialmente em silagens mais secas) ou se presente os teores ficam baixos de  $<0,1$  da MS em silagens muito boas. Quando apresenta altas concentrações em uma silagem ( $>0,3-0,5\%$ ) isso se deve normalmente a fermentações clostridiais, provavelmente resultado do *Clostridium propionicum* (Kung et al., 2018). Isso, colabora com os resultados encontrados de ácido butírico, demonstrando que a população de *Clostridium spp* foi baixa nas silagens de TMR do presente experimento.

As silagens de TMR que foram tratadas com MON35 e MON45 apresentaram as maiores produções de ácido isobutírico e nos tratamentos MON45, OEL300 e OEL600 tiveram as menores produções de ácido isovalérico e ácido valérico. Os ácidos isobutírico, isovalérico

e valérico são produtos da fermentação proteolítica, onde proteínas são decompostas em aminoácidos e depois em ácidos graxos de cadeia ramificada (Kung Jr. et al., 2000). Este tipo de fermentação é menos desejável porque indica que as proteínas estão sendo degradadas, resultando em uma menor qualidade nutricional da silagem (Muck, 2010). Altos níveis desses ácidos, acima de 5 mg/kg MS, geralmente indicam uma menor recuperação de matéria seca e energia, resultando em uma silagem de menor qualidade nutricional (Borreani et al., 2018). Como os valores obtidos foram muito baixos, pode-se concluir que houve baixa proteólise durante o presente experimento.

## **5 CONCLUSÃO**

A utilização da MON e OEL forneceram parâmetros fermentativos que atesta a influência positivo do aditivo durante processo de ensilagem da TMR, controlando a presença e atividade dos microrganismos prejudiciais para produção de silagens de TMRs. O uso do óleo essencial limoneno pode ser recomendado para silagens de TMR com teor de MS abaixo de 30%, não sendo recomenda dose acima de 300 mg/kg MS de óleo essencial limoneno para silagens com alto teor umidade, pois a menor produção de ácido lático foi observada na dosagem 600 mg/kg MS. A dosagem de monesina 35mg monensina/kg MS é recomenda, pois para os tratamentos MON35 e MON45 não demonstraram diferenças na maioria dos padrões fermentativos, porém devido ao alto custo da monensina, a utilização da menor dose reduziria a despesa da produção.

## 6 REFERÊNCIAS

- Adegoke, G. O., H. Iwahashi, Y. Komatsu, K. Obuchi, and Y. Iwahashi. 2000. Inhibition of food spoilage yeasts and aflatoxigenic moulds by monoterpenes of the spice *Aframomum danielli*. *Flavour Fragrance J.* 15:147–150.
- Akinci, E., & Soycan Önenç, S. (2021). "Influence of essential oils on cell wall constituents in oat silage."
- B. D. da Silva., Bernardes, P. C., Pinheiro, P. F., Fantuzzi, E., Roberto, C. D. Chemical composition, extraction sources and action mechanisms of essential oils: Natural preservative and limitations of use in meat products. *Meat Science* 176 (2021) 108463. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108463>
- Blanchflower, W. J. e Kennedy, D. G. Determination of monensin, salinomycin and narasin in muscle, liver and eggs from domestic fowl using liquid chromatography electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Biomedical Applications*, 675 (1996) 225-233.
- 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*, 1011(5), 3952-3979.
- Bueno, A. V. I., Lazzari, G., Jobim, C. C., & Daniel, J. L. P. (2020). Ensiling total mixed ration for ruminants: A review. *Agronomy*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/agronomy10060879>
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., & Ferret, A. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. In *Journal of Dairy Science* (Vol. 90, Issue 6, pp. 2580–2595). American Dairy Science Association. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-644>.
- Cantoia Júnior, R., Capucho, E., Garcia, T. M., Del Valle, T. A., Campana, M., Zilio, E. M. C., Azevedo, E. B., & Morais, J. P. G. (2020). Lemongrass essential oil in sugarcane silage: Fermentative profile, losses, chemical composition, and aerobic stability. *Animal Feed Science and Technology*, 260(June 2019), 114371. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114371>
- Chao, S. C., and D. G. Young. 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *J. Essent. Oil Res.* 12:639–649.
- Chen L, Li X, Wang Y, Guo Z, Wang G and Zhang Y (2023) The performance of plant essential oils against lactic acid bacteria and adverse microorganisms in silage production. *Front. Plant Sci.* 14:1285722. doi: 10.3389/fpls.2023.1285722.
- Chen, L., Yuan, X. jun, Li, J. feng, Wang, S. ran, Dong, Z. hao, & Shao, T. (2017). Effect of lactic acid bacteria and propionic acid on conservation characteristics, aerobic stability and in vitro gas production kinetics and digestibility of whole-crop corn based total mixed ration silage. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(7), 1592–1600. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61482-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61482-X)

- Davison, K. L. (1984). Monensin absorption and metabolism in calves and chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(6), 1273–1277. <https://doi.org/10.1021/jf00126a016>
- Deans, S. G., and G. Ritchie. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 5:165–180.
- Der Bedrosian, M.; Nestor, K.; Kung, L. The effects of hybrid, maturity, and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *J. Dairy Sci.* 2012, 95, 5115–5126.
- Dorman, H. J. D., and S. G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88:308–316.
- Duffield, T. F. e Bagg, R. N. Use of ionophores in lactating dairy cattle: A review. *Canadian Veterinary Journal*, v.41, p.388-394, 2000.
- Elgersma, A.; Ellen, G.; Van Der Horst, H.; Muuse, B.; Boer, H.; Tamminga, S. Comparison of the fatty acid composition of fresh and ensiled perennial ryegrass (*Lolium perenne L.*), affected by cultivar and regrowth interval. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 2003, 108, 191–205.
- Ferraretto, L.; Shaver, R.; Massie, S.; Singo, R.; Taysom, D.; Brouillette, J. Effect of ensiling time and hybrid type on fermentation profile, nitrogen fractions, and ruminal in vitro starch and neutral detergent fiber digestibility in whole-plant corn silage. *Prof. Anim. Sci.* 2015, 31, 146–152.
- Fietz, C.R., Fisch, G.F., 2008. O Clima da Região de Dourados, MS. *Embrapa Agropecuária Oeste* 92, 32.
- Gebrehanna, M. M., Gordon, R. J., Madani, A., VanderZaag, A. C., & Wood, J. D. (2014). Silage effluent management: A review. *Journal of Environmental Management*, 143(4), 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.04.012>
- Gershenson, J., and R. Croteau. 1991. Terpenoids. Pages 165–219 in *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. Vol. 1. G. A. Rosenthal, and M. R. Berenbaum, ed. Academic Press, San Diego, CA.
- Gupta A, Jeyakumar E, Lawrence R. Journey of Limonene as an Antimicrobial Agent. *J Pure Appl Microbiol.* 2021; 15(3):1094-1110. doi: 10.22207/JPAM.15.3.01
- Hibbs, J.W.; Conrad, H.R. Complete Ensiled Corn Rations for Lactating Dairy Cows; Ohio Agricultural Research and Development Center: Wooster, OH, USA, 1976; pp. 3–18.
- Huhtanen, P.; Rinne, M.; Nousiainen, J. Effects of silage soluble nitrogen components on metabolizable protein concentration: A meta-analysis of dairy cow production experiments. *J. Dairy Sci.* 2008, 91, 1150–1158
- Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3(JAN), 1–24. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>
- Hymes-Fecht, U.; Broderick, G.; Muck, R.; Grabber, J. Replacing alfalfa or red clover silage with birdsfoot trefoil silage in total mixed rations increases production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2013, 96, 460–469.

- Jobim, C.C., Nussio, L.G., Reis, R.A., Schmidt, P., 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada Methodological advances in evaluation. Rev. Bras. Zootec. 36, 101–119.
- Junior, F. P.; Zapata Vásquez, D. C.; Gardinal, R.; Meyer, P. M.; Berndt, A.; Friguetto, R. T. S.; Demarchi, J. J. A. A. and Rodrigues, P. H. M. 2020. Short-term use of monensin and tannins as feed additives on digestibility and methanogenesis in cattle. Revista Brasileira de Zootecnia 49: e20190098. <https://doi.org/10.37496/rbz4920190098>
- Klang, J., Theuerl, S., Szewzyk, U., Huth, M., Tölle, R., and Klocke, M. (2015). Dynamic variation of the microbial community structure during the long-time monofermentation of maize and sugar beet silage. *Microbial. Biotechnol.* 8 (5), 764–775. doi: 10.1111/1751-7915.12263
- Kristensen, N. B. Compact Total Mixed Rations for Dairy Cattle (Compact TMR). In Proceedings of the V International Symposium on Forage Quality and Conservation, Piracicaba, Brazil, 16–17 July 2017; Nussio, L.G., Sousa, D.O., Gritti, V.C., Salvati, G.G.S., Santos, W.P., Salvo, P.A.R., Eds.; FEALQ: Piracicaba, Brazil, 2017; pp. 75–90.
- Kung Jr, L., Shaver, R., Grant, R., & Schmidt, R. (2000). Silage fermentation and preservation. *Silage Science and Technology*, 42, 31-94.
- Kung Jr, L., Shaver, R., Grant, R., & Schmidt, R. (2018). Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4020-4033.
- Kung Jr, L., Williams, P., Schmidt, R.J., and W. Hu. (2008) A Blend of Essential Plant Oils Used as an Additive to Alter Silage Fermentation or Used as a Feed Additive for Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 91:4793–4800. doi:10.3168/jds.2008-1402
- Kung, L. Jr., and R. W. Stanley. (1982). Effect of stage of maturity on the nutritive value of whole plant sugarcane preserved as silage. *Journal of Animal Science.* 54(4), 689–696.
- Lazzari, G., Poppi, A. C. O., Machado, J., Bueno, A. V. I., Gomes, A. L. M., Jobim, C. C., & Daniel, J. L. P. (2021). Effects of protein source and lipid supplementation on conservation and feed value of total mixed ration silages for finishing beef cattle. *Journal of Animal Science*, 99(2), 1–13. <https://doi.org/10.1093/jas/skab032>
- Liu, Q.; Wu, J.; Shao, T. Roles of microbes and lipolytic enzymes in changing the fatty acid profile,  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene of whole-crop oat silages during ensiling and after exposure to air. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 2019, 253, 81–92.
- McDonald, P., A. R. Henderson, and S. J. E. Heron. 1991. The biochemistry of silage. 2nd ed. Aberystwyth (UK): Chalcombe Publications.
- Mammi, L.M.E.; Guadagnini, M.; Mechor, G.; Cainzos, J.M.; Fusaro, I.; Palmonari, A.; Formigoni, A. The Use of Monensin for Ketosis Prevention in Dairy Cows during the Transition Period: A Systematic Review. *Animals* 2021, 11, 1988. <https://doi.org/10.3390/ani11071988>

Mills, J. A. and Kung Jr, L. (2002). The Effect of Delayed Ensiling and Application of a Propionic Acid-Based Additive on the Fermentation of Barley Silage. *Journal of Dairy Science*, 85(8), 1969-1975.

Miyaji, M.; Matsuyama, H.; Nonaka, K. Effect of ensiling process of total mixed ration on fermentation profile, nutrient loss and in situ ruminal degradation characteristics of diet. *Anim. Sci. J.* 2016, 88, 134–139.

Moselhy M A, Borba J P, Borba A E. (2015). Improving the nutritive value, in vitro digestibility and aerobic stability of *Hedychium gardnerianum* silage through application of additives at ensiling time. *Animal Feed Science and Technology*, 206, 8–18.

Muck, R. E. (2010). Silage microbiology and its control through additives. *Rangeland Journal*, 32(1), 21-35.

Pahlow, G., R. E. Muck, F. Driehuis, S. J. W. H. Oude Elferink, and S. F. Spoelstra. 2003. Microbiology of ensiling. Pages 31–93 in *Silage Science and Technology*. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.

Paiva, J.A. de J. Qualidade da silagem da região metalúrgica de Minas Gerais. Belo Horizonte, UFMG, 1976. 86p. Tese Mestrado.

Pedroso, A. de F. Silagem: Princípios básicos - Produção – Manejo. Resumo das Palestras Curso: Produção e Manejo de Silagem. São Carlos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste. 1998.

Restelatto, R.; Novinski, C.O.; A Silva, E.P.; Pereira, L.M.; Volpi, D.; Zopollatto, M.; Daniel, J.L.P.; Schmidt, P. Effects of holes in plastic film on the storage losses in total mixed ration silage in round bales. *Transl. Anim. Sci.* 2019, 3, 1543–1549.

Rooke, J.A.; Hatfield, R.D. Biochemistry of Ensiling. In *Silage Science and Technology*; Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H., Eds.; American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America: Madison, WI, USA, 2003; pp. 95–139.

Scherer, R.; Gerlach, K.; Südekum, K.-H. Biogenic amines and gamma-amino butyric acid in silages: Formation, occurrence and influence on dry matter intake and ruminant production. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 2015, 210, 1–16

Schingoethe, D. J. (2017). A 100-Year Review: Total mixed ration feeding of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10143–10150. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12967>

Schmidt, P.; Restelatto, R.; Zopollatto, M. Ensiling total mixed rations—An innovative procedure. In *Proceedings of the V International Symposium on Forage Quality and Conservation*, Piracicaba, Brazil, 16–17 July 2017; Nussio, L.G., Sousa, D.O., Gritti, V.C., Salvati, G.G.S., Santos, W.P., Salvo, P.A.R., Eds.; FEALQ: Piracicaba, Brazil, 2017; pp. 7–20.

Sivropoulou, A., E. Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras, and M. Arsenakis. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 44:1202–1205.

Smith-Palmer, A.; Stewart, J.; Fyfe, L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.*, v.26, p.118-122, 1998.

Susanto, I., Rahmadani, M., Wiryawan, K. G., Laconi, E. B., & Jayanegara, A. (2023). Evaluation of Essential Oils as Additives during Fermentation of Feed Products: A Meta-Analysis. *Fermentation*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/fermentation9070583>

Turan, A., and Önenç, S. S. (2018). Effect of cumin essential oil usage on fermentation quality, aerobic stability and in vitro digestibility of alfalfa silage. *Asian-Australasian. J. Anim. Sci.* 31 (8), 1252. doi: 10.5713/ajas.17.0834

Vilela, D.; Castro, F.G. De & Melo Filho, G.A. de. Sistema de conservação de forragens: avaliação da silagem de sorgo forrageiro. Coronel Pacheco, MG, EMBRAPA - CNPGL, 1982. (no prelo).

Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azriell A. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silage. *J Appl Bacteriol* 1993; 75:512-8.

Weinberg, Z.; Chen, Y.; Miron, D.; Raviv, Y.; Nahim, E.; Bloch, A.; Yosef, E.; Nikbahat, M.; Miron, J. Preservation of total mixed rations for dairy cows in bales wrapped with polyethylene stretch film—A commercial scale experiment. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 2011, 164, 125–129.

Xie, Y.; Wang, L.; Li, W.; Xu, S.; Bao, J.; Deng, J.; Wu, Z.; Yu, Z. Fermentation Quality, In Vitro Digestibility, and Aerobic Stability of Total Mixed Ration Silage in Response to Varying Proportion Alfalfa Silage. *Animals* 2022, 12, 1039. <https://doi.org/10.3390/ani12081039>