



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



LASALOCIDA SÓDICA E ÓLEOS ESSENCIAIS COMO MODIFICADORES DA FERMENTAÇÃO EM SILAGENS DE DIETA COMPLETA

Isabele Paola de Oliveira Amaral

Tecnóloga em Agronegócio e Zootecnista

Dourados - MS
2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



LASALOCIDA SÓDICA E ÓLEOS ESSENCIAIS COMO MODIFICADORES DA FERMENTAÇÃO DE SILAGENS EM DIETA COMPLETA

Isabele Paola de Oliveira Amaral

Prof. Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior

Dr^a Marciana Retore

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias da Universidade Federal
da Grande Dourados, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Zootecnia**

Dourados - MS
2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

A485I Amaral, Isabele Paola De Oliveira
Lasalocida sódica e óleos essenciais como modificadores da fermentação em silagens de dieta completa [recurso eletrônico] / Isabele Paola De Oliveira Amaral. -- 2025.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Marco Antonio Previdelli Orrico Junior.
Coorientadora: Marciana Retore.
Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2025.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Aditivos. 2. ensilagem. 3. fitogênicos. 4. ionóforos. 5. vacas leiteiras. I. Orrico Junior, Marco Antonio Previdelli . II. Retore, Marciana. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pela autora.

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



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Lasalocida sódica e óleos essenciais como modificadores da fermentação em silagens de dieta completa

Isabele Paola de Oliveira Amaral

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 05 de março de 2025, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Documento assinado digitalmente
gov.br FLAVIO PINTO MONÇÃO
Data: 06/03/2025 12:37:54 -0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Prof. Dr. Flávio Pinto Monção
Universidade Estadual de Montes
Claros

Documento assinado digitalmente
gov.br TATIANE FERNANDES
Data: 06/03/2025 18:25:51 -0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Profa. Dra. Tatiane Fernandes
Virginia Tech

Documento assinado digitalmente
gov.br MARCO ANTONIO PREVIDELLI ORRICO JUNIOR
Data: 06/03/2025 09:29:37 -0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Prof. Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior
Orientador – UFGD/FCA

BIOGRAFIA DO AUTOR

A mestranda Isabele Paola de Oliveira Amaral nasceu na cidade de Ponta Porã, interior do estado de Mato Grosso do Sul em 26 de agosto de 1995, filha de Valdeeth Vinhals do Amaral e Durcelene Aparecida de Oliveira Amaral (autônomo e pedagoga, pós-graduada e servidora pública aposentada, respectivamente). Possui uma irmã mais velha (Alessa de Oliveira Amaral) e um irmão gêmeo (Gabriel Andrei de Oliveira Amaral). Em 2012, ingressou no curso de Tecnologia em Agronegócio, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul, Campus Ponta Porã, graduando-se no final do ano de 2016. Trabalhou em uma empresa de insumos agrícolas como técnica de vendas e, em 2018 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados. Participou do Programa de Educação Tutorial (PET) durante quatro anos e contribuiu com projetos de pesquisa e extensão, graduando-se no final do ano de 2023. Em 2023 ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia (PPGZOO), pela Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), na área de Produção Animal com ênfase em Conservação de Forragens. No mesmo ano, tornou-se professora de um curso técnico da rede Estadual de ensino lecionando nas disciplinas de Produção Animal e Inovação Científica e Tecnológica.

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação ao meu orientador, Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior e Coorientadora, Dra. Marciana Retore, pela inestimável orientação, apoio e inspiração ao longo do percurso dessa pós-graduação.

Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior, sua expertise, paciência, calma e dedicação foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço profundamente por cada conselho, crítica construtiva e por me guiar com sabedoria e clareza e, principalmente, por me receber em seu grupo de pesquisa e me proporcionar uma segunda oportunidade. Tenho muito orgulho em dizer que sou sua orientada!

Dra. Marciana Retore, sua atenção aos detalhes, encorajamento constante, organização e apoio acadêmico foram essenciais para que eu pudesse atingir meus objetivos. Sou imensamente grata por sua orientação e por me proporcionar uma experiência de aprendizado tão enriquecedora.

A ambos, meu sincero agradecimento e respeito por todo o conhecimento compartilhado e pelo apoio incondicional. Esta conquista é também um reflexo do esforço e dedicação de vocês.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha mãe, cujo apoio incondicional foi fundamental em toda a minha trajetória. Você é o maior amor da minha vida e sou eternamente grata por tudo o que fez por mim. Agradeço também à minha irmã, Alessa, por estar sempre ao meu lado, cuidando de mim, me apoiando, incentivando e ouvindo-me em todos os momentos. Você sempre foi minha fonte de orgulho e inspiração.

Agradeço de coração à minha avó materna, Hirde Luiza, e à minha tia Rosilene, por serem pessoas maravilhosas que sempre me transmitiram palavras de apoio e positividade. À minha melhor amiga e prima, Amanda, por estar comigo em todos os momentos da vida, mesmo à distância, sempre me incentivando e me apoiando incondicionalmente.

Ao meu irmão, Gabriel Andrei, que nasceu comigo e, mesmo com a distância, sempre esteve ao meu lado, oferecendo apoio. Seu coração generoso e sua presença, mesmo que distante, sempre foram fundamentais para mim. Agradeço também ao meu primo, Daniel, por sua constante disponibilidade e por ser uma pessoa em quem sempre posso confiar.

Ao meu namorado, Alex Moergener, que entrou na minha vida e, com suas inúmeras qualidades, trouxe ainda mais felicidade e parceria ao meu mundo. Sua presença foi e continua sendo um grande presente.

Minha imensa gratidão também ao meu orientador, Dr. Marco Antonio Previdelli Orrico Junior, pela orientação, apoio e incentivo ao longo da minha jornada acadêmica. Mesmo com sua agenda cheia, sempre se mostrou disponível e comprometido em me orientar, sendo essencial para meu desenvolvimento acadêmico e profissional.

Aos meus amigos mais queridos – Pedro Antônio, João Paulo, Anne Ferreira, Letícia Bristot, Letícia Cuer, Luana Solei e Maria Eduarda – sou imensamente grata por sua amizade sincera e pelo carinho que sempre demonstraram. Cada um de vocês, com suas particularidades, trouxe muita alegria e parceria durante tantos anos, e o amor e carinho que sinto por vocês é algo que palavras não podem traduzir.

Agradeço também aos meus colegas de grupo de pesquisa: Yara América, Ronnie Coelho, Amanda Mendonça, Estela Fagundes, Caroline Mattu, Lara Oliveira e Mariany Felex, por me auxiliarem de diversas formas nas análises laboratoriais, na

confeção dos minisilos e em muitas outras atividades importantes para a realização deste trabalho.

Sou grata a todos os professores que tive ao longo da minha pós-graduação na Universidade Federal da Grande Dourados. Seus ensinamentos foram cruciais para a minha formação acadêmica e profissional. Um agradecimento especial à Professora Dr^a Ana Carolina Amorim Orrico, por sua paciência, dedicação e por sempre me ajudar a crescer, tanto pessoal quanto profissionalmente.

Agradeço sinceramente ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia e à Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade de continuar meus estudos, agora na pós-graduação, e por todo o apoio oferecido durante esta jornada.

Minha gratidão também se estende aos membros do Laboratório de Manejo de Forragens e Resíduos e ao Laboratório de Análise de Nutrição Animal, pela colaboração e suporte nos processos técnicos e científicos necessários para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à Embrapa Agropecuária Oeste pelo apoio valioso na condução do experimento deste trabalho, pela recepção acolhedora e pela ajuda na confecção dos minisilos e nas análises. Um agradecimento especial à Dra. Marciana Retore, por sua constante assistência ao longo da pós-graduação, sempre disposta a colaborar e oferecer orientações valiosas.

Além disso, expresso minha gratidão aos membros da banca examinadora, as Doutoradas Marciana Retore e Tatiane Fernandes e Dr. Flávio Pinto Monção, pelo tempo dedicado à avaliação deste trabalho e pelas contribuições construtivas que certamente o enriqueceram e o tornaram mais completo.

Por fim, agradeço à CAPES pela bolsa de estudos concedida, que foi essencial para minha continuidade nos estudos, e a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a minha formação acadêmica e pessoal, direta ou indiretamente. Sou imensamente grata a todos vocês.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. <i>Origem e características do capim - BRS Capiçu</i>	<i>2</i>
2.2. <i>Ensilagem de capins tropicais</i>	<i>4</i>
2.3. <i>Ensilagem da TMR (Total Mixed Ration)</i>	<i>5</i>
3. USO DE MODULADORES DA FERMENTAÇÃO RUMINAL EM SILAGENS...8	8
3.1 Ionóforo.....	8
3.2 Uso de Óleo Essencial na ensilagem	9
3.3 Óleo essencial Limoneno	10
3.4. Óleo essencial Cinamaldeído.....	11
3.5. Óleo essencial Carvacrol	12
4. OBJETIVOS.....	14
4.1. Geral.....	14
4.2. Específicos	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
CAPÍTULO 2 – EFEITOS DE DIFERENTES DOSES DE LASALOCIDA SÓDICA NA QUALIDADE FERMENTATIVA E NUTRICIONAL DE SILAGENS DE DIETA COMPLETA	20
1. INTRODUÇÃO.....	21
2. MATERIALS E MÉTODOS.....	22
2.1 Descrição do local e dos ensaios experimentais	22
2.2 Produção da TMR e enchimento dos silos experimentais.....	22
2.3 Coleta de amostras, cálculos das perdas fermentativa e metodologias utilizadas	23
2.4 Forma de análise dos dados	25
3. RESULTADOS	26
4. DISCUSSÃO.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
CAPÍTULO 3 – EFEITOS DE DIFERENTES DOSES DE ÓLEO ESSENCIAL LIMONENO E BLEND DE CINAMALDEÍDO E CARVACROL NA QUALIDADE FERMENTATIVA E NUTRICIONAL DE SILAGENS DE DIETA COMPLETA	34
1. INTRODUÇÃO.....	35
2. MATERIAL E MÉTODOS	36
2.1 Descrição do local e dos ensaios experimentais	36
2.2 Produção da TMR e enchimento dos silos experimentais.....	36
2.3 Coleta de amostras, cálculos das perdas fermentativa e metodologias utilizadas	38
2.4 Forma de análise dos dados	39
3. RESULTADOS	40
4. DISCUSSÃO.....	51
5. CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Recuperação de Matéria Seca (RMS) e potencial de hidrogênio (pH) das silagens de TMR tratadas com ionóforo LASA.....	28
Figura 2. Concentrações de ácido láctico e etanol de silagens TMR com diferentes doses do ionóforo LASA de silagens de TMR.....	29
Figura 3. Recuperação de matéria seca e perda por gases de silagens TMR com diferentes doses do OEL.....	41
Figura 4. Concentrações de ácido láctico, etanol, iso-valérico e estabilidade aeróbia de silagens TMR com diferentes doses do OEL.....	43
Figura 5. Matéria seca e matéria mineral de silagens TMR com diferentes doses do OEL.....	45
Figura 6. Recuperação de matéria seca, perda por efluente e nitrogênio amoniacal de silagens TMR tratadas com diferentes doses de BCC.....	47
Figura 7. Concentrações de ácido láctico e estabilidade aeróbia de silagens TMR tratadas com diferentes doses de BCC.....	48
Figura 8. Teores de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais de silagens TMR tratadas com diferentes doses BCC.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química das TMRs formuladas para vacas leiteiras nos dois ensaios experimentais.....	23
Tabela 2. Perdas fermentativas, pH e nitrogênio amoniacal de silagem de TMRs com diferentes doses do ionóforo Lasalocida sódica.....	26
Tabela 3. Composição químico-bromatológica de silagens de TMR a base de capim BRS - Capiáçu com diferentes doses do ionóforo LASA.....	29
Tabela 4. Proporção dos ingredientes e composição química das TMRs formuladas para vacas leiteiras nos dois ensaios experimentais.....	37
Tabela 5. Recuperação de matéria seca, perdas de fermentação, pH, nitrogênio amoniacal e parâmetros fermentativos de silagem de TMRs com diferentes doses do OEL.....	40
Tabela 6. Composição químico-bromatológica de silagens de TMR a base de capim BRS - Capiáçu com diferentes doses do OEL.....	44
Tabela 7. Recuperação de matéria seca, perdas de fermentação, pH, nitrogênio amoniacal e parâmetros fermentativos de silagem de TMRs com diferentes doses de BCC.....	45
Tabela 8. Composição químico-bromatológica de silagens de TMR a base de capim BRS - Capiáçu com diferentes doses de BCC.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

AGV – Ácidos Graxos Voláteis
BAL – Bactérias Ácido Lácticas
BCC - *Blend* de Cinamaldeído e Carvacrol
CNF – Carboidrato Não Fibroso
CT – Capacidade Tampão
EE – Extrato Etéreo
EPM – Erro Padrão da Média
FDA – Fibra em Detergente Ácido
FDN – Fibra em Detergente Neutro
LASA – Lasalocida
MM – Matéria Mineral
MN – Matéria Natural
MS – Matéria Seca
OE – Óleos Essenciais
OEL – Óleo Essencial Limoneno
PB – Proteína Bruta
PD – Proteína Digestível
PE – Perda por Efluente
PG – Perda por Gases
pH – Potencial Hidrogeniônico
RMS – Recuperação de Matéria Seca
TMR – Ração Mista Total
NDT – Nutrientes Digestíveis Totais
N-NH₃ – Nitrogênio Amoniacal
NT – Nitrogênio Total
EA – Estabilidade Aeróbia
Ác. Lat – Ácido Láctico
Ác. Acet – Ácido Acético
Ác. Prop – Ácido Propiônico
Ác. iso-But – Ácido Iso-Butírico
Ác. But – Ácido Butírico
Ác. iso-Val – Ácido Iso-Valérico
Ác. Val – Ácido Valérico

LASALOCIDA SÓDICA E ÓLEOS ESSENCIAIS COMO MODIFICADORES DA FERMENTAÇÃO DE SILAGENS DE DIETA COMPLETA

RESUMO - Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes doses de Lasalocida sódica (LASA), óleo essencial de limoneno (OEL) e *blend* de óleos essenciais cinamaldeído e carvacrol (BCC) sobre o processo fermentativo e a qualidade nutricional de silagens de TMR (*Total Mixed Ration*) à base de capim- BRS capiaçu. O experimento foi dividido em dois ensaios (um para cada aditivo) os quais foram repetidos em duas estações do ano (verão e outono). Em cada ensaio foram utilizados 20 silos experimentais, sendo testadas as doses de LASA de 0, 225, 300 e 375 mg/kg de matéria seca (Experimento 1), e doses de OEL e BCC de 0, 200, 400 e 600 mg/kg de MS (Experimento 2). Foram utilizados silos de PVC com capacidade de 3,8 litros. A relação volumoso:concentrado foi de 67:33 na matéria seca (MS). Em cada um dos ensaios foi utilizando um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos por ensaio e cinco repetições. As amostras de TMR foram analisadas para composição químico-bromatológica, perdas e qualidade fermentativa e estabilidade aeróbia. Foi observado um aumento linear na recuperação de matéria seca ensilada e na concentração de ácido láctico com o aumento das doses de aplicação de LASA. A aplicação de 300 mg/kg de MS de LASA resultou no maior valor de pH; no entanto, a variação do pH entre as doses testadas foi mínima, variando de 3,83 a 3,93. Além disso, o aumento das doses de LASA resultou em uma redução linear estatisticamente significativa nas concentrações de etanol nas silagens ($P < 0,01$). A análise da estabilidade aeróbia também mostrou uma tendência de melhora nas silagens tratadas com LASA, embora esse efeito não tenha sido estatisticamente significativo ($p = 0,09$). Em relação à composição químico-bromatológica, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). No OEL, foi observada uma elevação significativa na matéria seca da silagem, com um aumento linear de 0,047% por mg/kg ($p = 0,02$). Além disso, houve um aumento significativo na produção de ácido láctico ($p = 0,03$). Não houve alteração significativa no pH ($p > 0,05$). No entanto, observou-se um efeito negativo na estabilidade aeróbia, com uma redução no tempo de estabilidade nas maiores doses ($p = 0,01$). O OEL reduziu a produção de etanol ($p=0,04$) nas silagens de TMR. A inclusão de BCC nas silagens de TMR aumentou as frações de fibra (FDN e FDA) ($p<0,01$) e diminuiu os carboidratos não fibrosos ($p=0,02$), com impactos negativos nos nutrientes digestíveis totais (NDT) ($p=0,03$). O BCC também foi eficaz em melhorar a recuperação de matéria seca ($p=0,02$), reduzir as perdas por efluentes ($p=0,01$), aumentar a produção de ácido láctico ($p=0,04$) e reduzir a produção de etanol ($p=0,03$). A estabilidade aeróbia foi positivamente influenciada pelo BCC, com aumento significativo na dose de 600 mg/kg ($p=0,01$). Conclui-se que os aditivos LASA, OEL e BCC influenciam positivamente as características fermentativas e a qualidade nutricional das silagens de TMR à base de capim - BRS capiaçu, com destaque para a recuperação de matéria seca, ácidos orgânicos e estabilidade aeróbia. A dose ideal de LASA foi de 375 mg/kg de MS, enquanto que para o OEL e o BCC foram de 200 mg/kg de MS e 600 mg/kg de MS, respectivamente.

Palavras-chave: Aditivos, ensilagem, fitogênicos, ionóforos, vacas leiteiras.

SODIUM LASALOCID AND ESSENTIAL OILS AS MODIFIERS OF FERMENTATION IN TOTAL MIXED RATION SILAGES

ABSTRACT – This study aimed to evaluate the effects of different doses of sodium lasalocid (LASA), limonene essential oil (LEO), and a blend of essential oils containing cinnamaldehyde and carvacrol (BCC) on the fermentation process and nutritional quality of total mixed ration (TMR) silages based on BRS Capiçu grass. The experiment was divided into two trials (one for each additive), which were repeated across two seasons (summer and autumn). In each trial, 20 experimental silos were used, testing LASA doses of 0, 225, 300, and 375 mg/kg of dry matter (Trial 1), and LEO and BCC doses of 0, 200, 400, and 600 mg/kg of DM (Trial 2). PVC silos with a capacity of 3.8 liters were used. The forage-to-concentrate ratio was 33:67 on a dry matter basis. Each trial followed a completely randomized design, with four treatments and five replicates per treatment. TMR samples were analyzed for chemical-bromatological composition, losses, fermentation quality, and aerobic stability. A linear increase in dry matter recovery and lactic acid concentration was observed with increasing LASA application rates. The application of 300 mg/kg DM of LASA resulted in the highest pH value; however, the variation among the tested doses was minimal, ranging from 3.83 to 3.93. Additionally, increasing LASA doses led to a statistically significant linear reduction in ethanol concentrations in the silages ($P < 0.01$). Aerobic stability analysis also showed a tendency for improvement in LASA-treated silages, although this effect was not statistically significant ($p = 0.09$). No significant differences were found among treatments regarding chemical-bromatological composition ($p > 0.05$). For LEO, a significant increase in silage dry matter was observed, with a linear rise of 0.047% per mg/kg ($p = 0.02$). A significant increase in lactic acid production was also recorded ($p = 0.03$). There was no significant change in pH ($p > 0.05$). However, a negative effect on aerobic stability was observed, with reduced stability time at higher doses ($p = 0.01$). LEO also reduced ethanol production in the TMR silages ($p = 0.04$). The inclusion of BCC in TMR silages increased fiber fractions (NDF and ADF) ($p < 0.01$) and reduced non-fibrous carbohydrates ($p = 0.02$), negatively impacting total digestible nutrients (TDN) ($p = 0.03$). BCC was also effective in improving dry matter recovery ($p = 0.02$), reducing effluent losses ($p = 0.01$), increasing lactic acid production ($p = 0.04$), and reducing ethanol production ($p = 0.03$). Aerobic stability was positively influenced by BCC, with a significant improvement observed at the 600 mg/kg dose ($p = 0.01$). It can be concluded that LASA, LEO, and BCC positively influence the fermentative characteristics and nutritional quality of TMR silages based on BRS Capiçu grass, especially regarding dry matter recovery, organic acids, and aerobic stability. The optimal doses were 375 mg/kg DM for LASA, 200 mg/kg DM for LEO, and 600 mg/kg DM for BCC.

Keywords: Additives, silage, phytogetic, ionophores, dairy cows.

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

O capim - BRS Capiaçú é uma cultivar de capim-elefante (*Cenchrus purpureus* schum.) empregada na alimentação de animais ruminantes como por exemplo as vacas leiteiras, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, com produção de matéria seca que ultrapassa 50 toneladas por hectare ao ano. Essa grande produção de biomassa é capaz de garantir o fornecimento de volumoso do rebanho, especialmente em períodos secos do ano (nos meses de Maio a Setembro, no centro-oeste brasileiro) em que os pastos apresentam menor qualidade nutricional.

Nesse contexto, é comum que o capim - BRS Capiaçú seja subutilizado nas propriedades leiteiras. Por não se tratar de uma gramínea para pastejo, o manejo resulta no acúmulo de plantas envelhecidas e com baixo valor nutricional. Esse cenário se agrava no período de escassez de forragem, quando a biomassa envelhecida apresenta digestibilidade reduzida e a formulação da dieta com esse componente volumoso pode não atender as necessidades para a manutenção do escore de condição corporal e da produção de leite dos animais.

Desta forma, ensilar o excedente do capim-elefante produzido durante o período chuvoso é uma estratégia interessante, quando se pretende fornecer volumoso de qualidade aos animais durante todo o ano. Contudo, os baixos teores de matéria seca (MS), carboidratos solúveis (CS) e alta capacidade tampão (CT) do capim-elefante, prejudicam o processo fermentativo e aumentam as perdas por efluentes, representando um desafio para a ensilagem deste tipo de planta.

A adição de alimentos concentrados ao capim-elefante pode melhorar a fermentação e reduzir significativamente as perdas de efluentes, sendo essa uma das principais formas de melhorar a qualidade do processo fermentativo das silagens. Dessa forma, vários pesquisadores têm investigado a viabilidade de ensilar dietas completas (*Total Mixed Ration* - TMR), com o objetivo de otimizar o processo fermentativo e, simultaneamente, garantir que a dieta atenda às exigências nutricionais dos animais.

Quando esses moduladores de fermentação ruminal são adicionados a silagem de TMR, podem também alterar o processo fermentativo da silagem. A princípio, tanto os ionóforos quanto os óleos essenciais, atuam como inibidores do crescimento de bactérias do gênero *Lactobacillus spp* (Gram positiva), o que

prejudicaria a produção de ácido láctico e, conseqüentemente, a qualidade fermentativa da silagem de TMR. No entanto, em uma pesquisa prévia desenvolvida em nosso laboratório, foi observado que a adição de monensina ou óleos essenciais à silagem de TMR a base de sorgo, resultou em aumento no ácido láctico e estabilidade aeróbia.

Moduladores da fermentação ruminal tem diferentes na estrutura química e modo de ação, então os resultados previamente obtidos não caracterizam as alterações no processo fermentativo quando outros tipos de aditivos são incorporados na silagem. Ainda fica dúvida se outros tipos de ionóforos e óleos essenciais se comportariam da mesma forma, visto que cada um deles possui uma estrutura química distinta e um modo de ação específico. Portanto, a presente dissertação visa investigar o impacto da adição da lasalocida sódica (LASA), do óleo essencial limoneno (OEL) e de um *blend* comercial de cinamaldeído com carvacrol (BCC) sobre a qualidade fermentativa e nutricional da silagem de TMR à base de capim - BRS capiaçu. Espera-se que os resultados obtidos possam fornecer subsídios para a adoção de práticas mais eficazes e sustentáveis na alimentação de vacas leiteiras, o que poderá contribuir com maximização da produtividade e a melhoria da qualidade do leite produzido.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Origem e características do capim - BRS Capiaçu

Originário da África, o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach) foi inicialmente descrito em 1827, no entanto, esse capim foi introduzido no Brasil apenas em 1920, pelo coronel Napier (Lopes, 2004; Pereira et al., 2016). Devido a sua produção de biomassa e o grande interesse por parte dos produtores de leite, a Embrapa Gado de Leite, deu início em 1991 ao programa nacional de melhoramento genético do capim-elefante visando capins mais produtivos e adaptados as diversas condições edafoclimáticas do Brasil (Retore et al., 2024). Por três anos consecutivos, o clone CNPGL 92-79-2 foi testado para o valor de cultivo e uso e em 2015, este clone recebeu a denominação de Capim - BRS Capiaçu e foi registrado como cultivar no Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) (Pereira et al., 2016).

Na região Centro-Oeste do Brasil, o Capim - BRS Capiaçu é amplamente cultivado, especialmente durante a época das águas, quando a produção de MS aumenta é maior que nas demais estações climáticas. Essa forrageira é considerada

uma opção rentável e de baixo custo, sendo utilizada para a produção de silagem (Silva et al., 2023).

O BRS - capiaçu é uma gramínea perene, caracterizada por um crescimento cespitoso e de porte elevado (que podem atingir uma altura entre 3 a 5 metros). Essa planta forma touceiras e sua propagação é feita através de colmos (Lopes et al., 2021; Retore et al., 2020) com potencial de produção de até 60 toneladas de MS por hectare ao ano (Pereira et al., 2016).

Do ponto de vista agrônomo, é uma planta adaptável a uma faixa de altitudes (1.500 a 2.000 metros de altitude). Desenvolve-se de maneira eficiente em temperaturas entre 18 e 30°C e requer precipitação entre 800 e 4.000 mililitros de chuva anual com distribuição equilibrada ao longo do ano (Lopes, 2004). Para o estabelecimento da cultura do Capim- BRS Capiáçu, é fundamental escolher áreas com solos férteis e de fácil mecanização e irrigação (Lopes, 2004; Rodrigues, 2023).

De acordo com Alves et al. (2021), a composição química do capim - BRS capiaçu pode apresentar variações consideráveis, especialmente quando se considera o teor de MS, que pode variar entre 10% e 20% em média. Esse valor é observado em períodos de rebrotação que podem variar de 60 a 120 dias na região Centro-Oeste. Entre os principais componentes da MS, a PB pode variar de 6% a 9%, enquanto o extrato etéreo (EE) está presente em quantidades entre 1% e 2%. A FDN apresenta valores médios entre 68% e 71% da MS. Já a FDA varia de 37% a 43% da MS. Além disso, a quantidade de matéria mineral (MM) na MS geralmente fica entre 9% e 11%. Os carboidratos solúveis (CS), por sua vez, variam de 3% a 7% na MS, enquanto a lignina apresenta uma variação de 3% a 8% na MS. Por fim, os nutrientes digestíveis totais (NDT), variam de 60% a 68% na MS.

Quando o capim – BRS capiaçu é utilizado para produção de silagem, o ponto ideal de colheita é quando a planta apresenta um equilíbrio entre máxima produção de MS e valor nutricional. Alves et al. (2022), estudaram os efeitos da idade da planta e de aditivos na fermentação e no valor nutritivo de silagens de rações mistas totais a base de capim BRS - capiaçu e, observaram que no estágio ideal é quando a planta atinge 90 dias de rebrotação, pois, plantas velhas (idade superior a 120 dias) podem resultar em uma queda significativa no valor nutritivo.

Ainda no estudo realizado por Alves et al., (2022), as silagens de TMR feitas com Capim - BRS capiaçu de 60 e 90 dias de idade apresentaram as maiores concentrações de ácido láctico (6,11 e 5,85 % na MS, respectivamente). As silagens produzidas com capim de 60 dias se destacaram pelos maiores teores de proteína

bruta (10,14% na MS), menores quantidades de fibra (54,02% na MS) e melhores coeficientes de digestibilidade da matéria seca (DIVMS) (80,04% na MS). Embora as silagens de TMR com capim-elefante de 60 dias de idade apresentassem os melhores valores nutricionais, o excesso de umidade gerou maior produção de efluente, além de elevações nos níveis de ácido butírico e menor estabilidade aeróbia.

2.2. Ensilagem de capins tropicais

Nos últimos anos, devido ao aumento dos custos de produção do milho e do sorgo, observou-se um crescente interesse dos pequenos produtores por volumosos com custos mais compatíveis com a realidade de suas propriedades (Rodrigues, 2021). A ensilagem de capins perenes, como o capim-elefante são boas alternativas e vem sendo muito utilizadas pelos pequenos produtores de leite.

A silagem de capins tropicais possui valores nutricionais satisfatórios e proporcionam um volumoso de qualidade intermediária (Alves et al., 2022). Apesar disso, há algumas características como baixo teor de MS e de carboidratos solúveis da forragem no momento de corte e o elevado poder tampão (Keady et al., 2008; Retore et al., 2022; Silva et al., 202).

Normalmente, o capim-elefante apresenta baixo teor de MS (inferiores a 25% da MS) e que pode levar à proliferação de bactérias do gênero *Clostridium* quando o pH não é suficientemente baixo para inibir seu crescimento (Zanine et al., 2010). Além disso, ensilar capins tropicais com alta umidade, já é esperado a geração de grandes volumes de efluentes, que poluem o entorno dos silos (devido a elevada concentração de ácido butírico, amônia e aminas) e carregam boa parte dos nutrientes solúveis (Ribas et al., 2021).

No estudo de Ribas et al. (2021) foram avaliados os efeitos do tempo de murcha e do inoculante enzimático-bacteriano sobre o perfil fermentativo, a estabilidade aeróbia e o valor nutricional da silagem de capim – BRS capiaçu, verificaram 24% de MS, 8% de PB, 72% de FDN, pH de 4,1, nitrogênio amoniacal total (N-NH₃ no NT) de 9% e ácido láctico de aproximadamente 4%. O emurhecimento do capim - BRS capiaçu antes da ensilagem aumentou o teor de MS, o que favoreceu a qualidade fermentativa da silagem, reduzindo a perda de efluentes. O uso de inoculante também contribuiu para melhorar a preservação da MS, aumentando a produção de ácido acético e ácido láctico, o que reduziu o pH e inibiu o crescimento de microrganismos indesejáveis. Isso resultou em maior estabilidade aeróbia e melhor retenção de nutrientes. O tempo mínimo de 6 horas de emurhecimento, combinado

com o inoculante, garantiu uma fermentação mais eficiente e uma silagem de melhor qualidade.

Para garantir uma silagem de capim que tenha qualidade fermentativa e nutricional, recomenda-se que o material tenha de 35 a 40% de MS (Bueno et al., 2020) e níveis de CS acima de 8% na MS (McDonald et al., 1991). Os valores fora da faixa ideal para uma boa fermentação podem ser corrigidos, através do murchamento e/ou aplicação de aditivos secos e microbiológicos para redução do risco de fermentação butírica e produção de efluentes (Nussio, 2005). Na silagem de capim-elefante, a adição de carboidratos facilmente fermentáveis como melação, milho e trigo moídos e polpa de beterraba podem ser estratégias interessantes para melhorar o processo fermentativo (Sánchez-Guerra et al., 2024).

Em silagens de capim-elefante suplementadas com 0, 5, 10 e 20% de grão de milho moído, foi verificado que a adição de 20% de milho às silagens proporcionou aumento nas concentrações de proteína bruta (de 7,1% para 9,2%), matéria seca (de 20,8% para 33,0%) e carboidratos não fibrosos (de 13,8% para 38,2%), quando comparada ao controle (0%). Os parâmetros fermentativos também apresentaram melhoria com a inclusão de 20% de grão de milho, com redução do pH de 4,02 para 3,76 e aumento na relação ácido láctico/ácido acético de 3,16 para 4,68. Esses resultados demonstram que a inclusão de aditivos secos e concentrados proteicos-energéticos pode ser fundamental para garantir a qualidade da silagem de capins tropicais (Bezerra et al., 2019).

2.3. Ensilagem da TMR (*Total Mixed Ration*)

Historicamente, antes da década de 1960, a alimentação dos rebanhos leiteiros nos Estados Unidos era baseada na oferta separada de forragens e concentrados, o que resultava em alguns problemas metabólicos nos animais (Hu et al., 2015; Bueno et al., 2020). A adoção da prática de TMR (*Ração Total Misturada*) começou a ganhar destaque ao combinar forragens, concentrados proteicos, energéticos, minerais e aditivos, proporcionando uma dieta equilibrada que atendia de forma mais eficaz às necessidades nutricionais dos ruminantes (Hu et al., 2015; Seppälä et al., 2016; Singh et al., 2022). Além disso, a ingestão de uma mistura completa permite uma absorção mais equilibrada de nutrientes, promovendo melhorias na produção e no perfil do leite, garantindo o consumo adequado de fibra efetiva, reduzindo problemas nutricionais e digestivos e oferecendo uma relação custo-benefício mais vantajosa (Cogan et al., 2016; Yang et al., 2021).

Quando ensiladas, as TMRs apresentam maior estabilidade aeróbia devido ao processo de fermentação (Bueno et al., 2020; Andrade et al., 2024), além de oferecerem maior digestibilidade do amido em comparação com as TMRs convencionais. Esse processo também possibilita a inclusão de coprodutos úmidos e menos palatáveis provenientes da agroindústria (Schingoethe, 2017), o que contribui para a redução dos custos das dietas, tornando-as mais econômicas sem comprometer a qualidade nutricional.

No entanto, a implementação do sistema TMR apresenta desafios, como o investimento inicial em equipamentos de mistura e a necessidade de um rigoroso controle da formulação (Bueno et al., 2020; Hu et al., 2015). O ajuste frequente das dietas para atender às necessidades nutricionais de diferentes categorias de animais, bem como as variações na composição dos ingredientes, pode afetar o valor nutritivo da dieta ensilada (Bueno et al., 2020). Esses fatores representam obstáculos importantes para a adoção bem-sucedida de um sistema de silagem de TMR, exigindo atenção constante e uma gestão eficiente para garantir a qualidade e a consistência nutricional da dieta.

No entanto, sabe-se que pequenos produtores de leite, por falta de assistência técnica integral e equipamentos especializados, acabam utilizando dietas básicas compostas pelos mesmos ingredientes (volumoso e concentrado), apenas variando a quantidade de alimento fornecida para vacas. Esse sistema não permite explorar a capacidade máxima dos animais, mas mantém a produção de leite em um patamar mediano ao longo da lactação. Para esses produtores de leite que não modificam a formulação das dietas de suas vacas, a silagem de TMR poderia ser uma alternativa viável para suplementação dos animais na entressafra.

O processo da ensilagem de TMR, assim como para a ensilagem tradicional, depende do teor de MS, CS, CT e microbiota, em especial, da população de bactérias lácticas (BAL) para a eficiência da fermentação (Bueno et al., 2020). Devido à grande participação de concentrados secos na mistura, as silagens de TMR apresentam em média de 30 a 35% de umidade (65 a 70 % de MS). Nesta faixa de umidade, a fermentação láctica pode ocorrer de forma adequada, mas menos intensa (Gerlach et al., 2021).

Segundo a literatura, silagens de TMR devem apresentar elevados teores de MS, pois níveis mais baixos de MS comprometem a fermentação, aumentam as perdas fermentativas e, conseqüentemente, influenciam na qualidade da silagem produzida. No entanto, quando o volumoso base das TMRs é o capim-elefante (planta

com alta umidade), os teores de MS da mistura final sempre ficam abaixo dos 40% de MS como observado por (Alves et al. 2022; Andrade et al., 2024). Andrade et al., (2024) avaliaram o efeito dos diferentes teores de matéria seca (30% e 40% de MS) sobre os parâmetros fermentativos de silagens TMR. Segundo os autores, as silagens com alto teor de umidade apresentaram os menores valores de recuperação de MS (88%) enquanto as silagens com menor teor de umidade apresentaram valores acima de 97%. Outros parâmetros fermentativos também foram alterados pela umidade, como o pH (4,4 vs 3,9, na maior e menor umidade, respectivamente), ácido acético (2,2% vs 0,3% da MS na maior e menor umidade, respectivamente), ácido lático (8,2% vs 5,1% da MS, na maior e menor umidade, respectivamente) e estabilidade aeróbia (92 horas vs 89 horas na maior e menor umidade, respectivamente).

Para garantir uma boa mistura da TMR, também é importante levar em consideração o tamanho de partícula, já que as partículas excessivamente finas e com altos teores de carboidratos solúveis podem elevar o risco de acidose ruminal, enquanto partículas grandes podem prejudicar a eficácia da mistura; além disso, o tempo de mistura e a ordem de adição dos componentes também pode influenciar na qualidade da TMR final (Miller-Cushon; Devries, 2017; Barreta, 2020).

Os CS (principalmente sacarose, glicose e frutose), são assimilados pelos microrganismos na primeira semana do processo fermentativo. Wang et al. (2015) investigaram o tempo de armazenamento (0, 7, 14, 28 e 56 dias) de silagens TMR e observaram valores de carboidratos solúveis em silagens TMR de 144 g/kg com 0 dias, 32,3 g/kg aos 7 dias; 31,4 g/kg aos 14 dias; 26,1 g/kg aos 28 dias de fermentação e 29,2 g/kg aos 56 dias.

A partir do consumo dos CS, os produtos finais da fermentação se acumulam e reduzem o pH, favorecendo a conservação da forragem. Yang et al., (2021) investigaram os efeitos da adição de silagem de aveia a silagens TMR em termos de fermentação, composição química e comunidade bacteriana. Os pesquisadores encontraram valores para ácido lático de 3,23 % na MS; de ácido acético de 1,09% na MS; ácido propiônico de 0,03% na MS e ácido butírico de 0,11% na MS.

Embora esse achado seja raramente discutido, Bueno et al., (2022) afirmaram que a inclusão de alimentos proteicos, ureia, misturas minerais, calcário e tampões (por exemplo, bicarbonato de sódio) certamente aumenta a capacidade tampão, dificultando a redução do pH, aumentando as perdas e conservação do alimento.

Em silagens TMR ocorrem algumas alterações em seus nutrientes durante o processo fermentativo. Segundo Bueno et al., (2022), o amido pode aumentar a

disponibilidade a partir do processo de gelatinização e quebra das prolaminas do endosperma; os constituintes da parede celular podem ser clivados e usados como substrato para fermentação; transformação parcial de proteínas verdadeiras em compostos não proteicos; maiores teores de matéria mineral devido ao desaparecimento da matéria orgânica e perdas de carotenóides e tocoferóis.

3. USO DE MODULADORES DA FERMENTAÇÃO RUMINAL EM SILAGENS

3.1 Ionóforo

Os antibióticos ionóforos, como a LASA, são coccidiostáticos, antimicrobianos e promotores de crescimento que agem formando complexos lipossolúveis com cátions, alterando a permeabilidade das membranas celulares dos microrganismos. Isso compromete o equilíbrio osmótico e eletrolítico, resultando na degeneração microbiana. A LASA, amplamente utilizada como modulador ruminal no Brasil, pois favorece bactérias produtoras de ácido propiônico (gram negativas) e inibe aquelas que geram metano, acetato e butirato (gram positivas), melhorando a utilização dos nutrientes e, conseqüentemente, o desempenho produtivo e o crescimento (Nogueira et al., 2009).

A LASA age facilitando o transporte de íons como sódio, cálcio e potássio através das membranas celulares, o que interrompe os gradientes iônicos e afeta o equilíbrio das células microbianas, levando à sua morte (Nogueira et al., 2009). Os principais microrganismos reduzidos pela LASA são as bactérias gram positivas e os protozoários. Moura et al. (2021), em uma meta-análise sobre os efeitos da suplementação de ionóforos, desempenho de vacas leiteiras e a fermentação ruminal, demonstraram que a suplementação com o antibiótico melhora a eficiência alimentar em vacas leiteiras, impactando positivamente na fermentação ruminal e na população microbiana do rúmen.

A literatura sobre a ação dos ionóforos na fermentação ruminal é vasta, mas ainda há poucas informações sobre o efeito desses compostos na fermentação de silagens. Em um estudo realizado por Lazzari et al. (2021), foi observado que o uso de monensina na dosagem de 33 mg/kg de MS em silagens de TMR não prejudicou a fermentação, resultando em silagens com bons valores de pH e ácidos orgânicos. Contudo, como a monensina foi utilizada em todos os tratamentos experimentais, não foi possível concluir de forma definitiva se ela interfere ou não no processo fermentativo.

Por outro lado, Andrade et al. (2024) investigaram os efeitos da monensina nas doses de 35 e 45 mg/kg de MS comparados com o controle sobre a fermentação de silagens de TMR. Os resultados mostraram que a monensina favoreceu uma fermentação predominantemente homolática, com relações ácido láctico/ácido acético superiores a 6,0, significativamente mais altas do que no tratamento controle. Além disso, as concentrações de ácido propiônico aumentaram com o uso da monensina, sendo a menor concentração observada no tratamento controle (26,33 mg/kg de MS), seguida por MON35 (45,09 mg/kg de MS) e MON45 (61,52 mg/kg de MS).

Os tratamentos com monensina avaliados por Andrade et al. (2024) também influenciaram a estabilidade aeróbia da silagem, resultando em um aumento médio de quase 38 horas em comparação ao tratamento controle. Esse resultado indica que a monensina pode ter ajudado a retardar o crescimento dos microrganismos aeróbios responsáveis pela degradação da silagem. Embora haja pouca informação na literatura sobre o efeito dos ionóforos sobre as leveduras em silagens, os achados da pesquisa de Andrade et al. (2024) sugerem que esse aditivo merece uma investigação mais aprofundada, principalmente com outros tipos de ionóforos (LASA por exemplo), para compreender seu impacto na estabilidade aeróbia da silagem.

Embora os ionóforos ofereçam benefícios, sua utilização está associada a diversos problemas, como a resistência microbiana, o risco de resíduos em produtos de origem animal e preocupações ambientais e de saúde humana (Novilla et al., 2011). Nesse cenário, os óleos essenciais (OEs) têm se destacado como uma alternativa promissora no controle do crescimento de microrganismos indesejáveis em silagens (Susanto et al., 2023). Além disso, a pesquisa sobre novos produtos naturais e inovadores continua avançando, oferecendo soluções cada vez mais eficazes e seguras. Os OEs podem, portanto, representar uma alternativa viável e eficiente, especialmente se o uso de ionóforos for proibido no Brasil no futuro próximo.

3.2 Uso de Óleo Essencial na ensilagem

Os OEs são aditivos alimentares derivados de plantas que contém compostos fitogênicos e têm sido amplamente estudados para aumentar a eficiência alimentar e manter a produção e a saúde dos animais (Steiner; Syed, 2015). Esses compostos possuem atividades biológicas, incluindo antioxidante, antisséptico, anti-inflamatório, atividade antimicrobiana e podem atuar como promotor de crescimento (Sun, 2020; Denkova-Kostova et al., 2020).

Em silagens, a ação dos OE depende de vários fatores como, doses, quimiotipo, condições climáticas e o processo de extração (Rocha, 2013). Unidos, esses podem modificar a fermentação restringindo o crescimento bactérias, fungos filamentosos e leveduras (Kholif; Olafadehan, 2021; Besharati et al., 2021; Susanto et al., 2023; Andrade et al., 2024).

Alguns estudos têm mostrado que os OEs podem ter um efeito positivo na fermentação de silagens. Em uma metanálise, Susanto et al. (2023) avaliaram o uso de OEs como aditivos em silagens e observaram que a suplementação com OEs aumentou os teores de nutrientes como MS, PB e EE, enquanto reduziu o teor de fibra e a população de fungos. Embora a atividade antibacteriana dos OEs tenha sido responsável por inibir o crescimento de bactérias produtoras de ácido lático o que, a princípio, poderia não ser vantajoso para o processo de ensilagem, os autores destacaram que os OEs tendem a melhorar a digestibilidade *in vitro* das silagens, além de reduzir as perdas fermentativas, a produção de etanol e ácido butírico (Susanto et al., 2023). Também foi observado que o uso de OEs pode aumentar a estabilidade aeróbia das silagens (Cantoia Júnior et al., 2020; Besharati et al., 2023; Andrade et al., 2024).

3.3 Óleo essencial Limoneno

O óleo essencial limoneno (OEL), um monoterpeneo comumente encontrado na casca de frutas cítricas, atua principalmente como agente antifúngico, antimicrobiano e antioxidante, interrompendo a integridade da membrana celular dos fungos e inibindo seu crescimento (Gupta et al., 2021; Gao et al., 2023; Rathod, 2021; Raybaudi-Massilia et al., 2006). Por esse motivo, vem sendo usado em muitos países em formulações de medicamentos contra *E. coli*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Salmonella*, *Bacillus*, *Listeria*, *Shigella*, *Campylobactria* e *Staphylococcus* (Vaičiulienė et al., 2020).

O mecanismo de inativação de microrganismos indesejados (como os citados anteriormente) são afetados por limoneno de diferentes formas, incluindo a formação de radicais hidroxila mediada pela reação de Fenton, o que leva ao dano oxidativo no DNA da célula bacteriana ou pela alteração na permeabilidade da membrana das células em concentrações mais altas (Gupta et al., 2021).

O uso do limoneno na silagem, ainda é pouco estudado, sendo Andrade et al., (2024) um dos primeiros trabalhos publicados. Neste estudo, os autores utilizaram duas doses mg/kg de limoneno em silagens TMR a base de sorgo planta inteira. O limoneno foi eficiente em aumentar os teores de ácido lático de 3,61% (para o

tratamento controle) para 5,06 e 4,48% na MS para as doses de 300 e 600 mg/kg de MS, respectivamente. Além disso, nos tratamentos 300 e 600 mg/kg de MS, a silagem apresentou 297,88 e 245,6 horas de estabilidade aeróbia, enquanto no tratamento controle, foi encontrado valores de 213,65 horas. Além disso, as silagens com a maior dose de limoneno apresentou os menores valores de N-NH₃ (7,75% do N total), indicando um menor crescimento de microrganismos proteolíticos nas silagens.

Vale ressaltar que o OEL tende apresentar resultados positivos em silagens mais secas. Quando Andrade et al., (2024) utilizou as mesmas doses do OEL, em silagens mais úmidas (30% de MS), verificaram valores menores ($p < 0,05$) de recuperação de MS, especialmente ELO600 (88% na MS). Para as concentrações de ácido propiônico, isobutírico, valérico e isovalérico todos os tratamentos com o OEL houve valores menores ($p < 0,05$) quando comparados com o tratamento controle.

A atividade antifúngica foi analisada por Hsouna et al., (2017) em relação a *Aspergillus sp.*, *A. niger* e *A. flavus*, *Fusarium sp.*, *Alternaria alternata*, que são frequentemente responsáveis pela deterioração de alimentos. Embora alguns estudos demonstrem a capacidade dos OEs de inibir bactérias patogênicas e melhorar a qualidade da silagem, ainda há uma dificuldade na determinação das melhores doses para cada tipo de óleo essencial (Susanto et al., 2023).

3.4. Óleo essencial Cinamaldeído

O cinamaldeído (aldeído cinâmico ou 3-fenil-2-propenal), um álcool terpeno cíclico, é o principal componente ativo do óleo essencial de canela (60-75%), utilizado em goma, sorvete, doces, bebidas, pães, cereais e cosméticos. Além disso, possui várias atividades biológicas, incluindo atividade antimicrobiana e antioxidantes (Denkova-Kostova et al., 2020; Ares et al., 2020). O óleo essencial cinamaldeído interfere na atividade enzimática dos microrganismos, inibindo a síntese de proteínas essenciais e, conseqüentemente, o crescimento microbiano (Foskolos et al., 2016). O mecanismo de ação do cinamaldeído não afeta a estabilidade da membrana, mas interage com proteínas no periplasma ou partes mais profundas da célula (Calsamiglia et al., 2007).

Hodjatpanah-Montazeri et al. (2016) avaliaram os efeitos do óleo essencial de cinamaldeído na composição química, estabilidade aeróbia e características de fermentação da silagem de milho. Os tratamentos consistiram em silagem de milho sem aditivos (controle) ou tratada com 120 ou 240 mg/kg de MS de canela. Os resultados mostraram um aumento significativo nos valores de MS para ambas as

doses (33,51% e 32,07%) em comparação com o controle (29,68%) ($p < 0,05$). Em relação à FDN, a dose de 240 mg/kg de MS (55,30%) apresentou menores teores em comparação ao controle (57,4%). Houve também uma melhora significativa na estabilidade aeróbia, com as doses de canela mostrando uma duração de 165,33 e 288 horas, respectivamente, contra 72 horas no controle. Os autores sugerem que esses efeitos podem ser atribuídos à limitação do desenvolvimento de grupos específicos de microrganismos, o que resultaria em menor perda de MS e maior estabilidade aeróbia. Além disso, a redução nos níveis de FDN pode estar relacionada ao consumo de outros componentes pelos microrganismos durante o processo fermentativo.

Ainda, Wendakoon e Sakaguchi (1995), Fujita et al. (2006) e Foskolos et al., (2016) afirmam que o óleo essencial cinamaldeído reduziu a proteólise, resultando em silagens com menores teores de N-NH₃ mesmo nas doses mais elevadas deste óleo essencial.

3.5. Óleo essencial Carvacrol

O carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol) é um álcool monoterpênico. É insolúvel em água, mas muito solúvel em etanol, acetona e éter dietílico. É um componente obtido de muitas plantas, por exemplo, *Corido thymus*, *Lippia pepperwort*, cominho preto (*Nigella sativa*), orégano (*Origanum compactum*), *O. dictamnus*, *O. microphyllum*, *O. onites*, *O. scabrum*, *O. vulgare*, pepperwort (*Lepidium flavum*), bergamota selvagem (*Citrus aurantium* var. *bergamia* Loisel), *Monarda didyma*, tomilho (*Thymus glandulosus*) e salgado (*Satureja hortensis*) (Maćzka et al., 2023).

O carvacrol é um óleo essencial amplamente reconhecido por seu forte efeito antimicrobiano e antifúngico, atuando na desestabilização das membranas celulares dos microrganismos, aumentando a fluidez e permeabilidade e promovendo a liberação de íons essenciais, o que leva à morte celular (Susanto et al., 2022) e alteram a composição de ácidos graxos da membrana (Nazzaro et al., 2013). Foskolos et al. (2016) avaliaram os efeitos do carvacrol na silagem de azevém em quatro doses (0, 50, 500 e 2000 mg/kg de MS). A dose de 500 mg/kg reduziu o teor de amônia (1,8 vs. 1,2 g/kg de MS no controle e CAR500, respectivamente) e as concentrações de ácido láctico foram menores nas doses de 500 e 2000 mg/kg ($p < 0,001$) em comparação com os controles. Além disso, o carvacrol também inibiu a atividade da fenilalanina amônia-liase, uma enzima responsável pelo escurecimento dos vegetais, sugerindo que o carvacrol pode reduzir a degradação de proteínas durante a ensilagem.

García-Garcia et al. (2011) estudaram a ação bactericida de misturas binárias e ternárias de carvacrol, timol e eugenol contra *Listeria innocua*. O agente antimicrobiano individual mais eficaz foi o carvacrol, seguido pelo timol e, em seguida, eugenol com misturas binárias Carvacrol-timol e Carvacrol-eugenol de 150, 250 e 450 mg/kg, respectivamente. Foi observado que a mistura binária mais efetiva foi 75 mg/kg de carvacrol e 62,5 mg/kg⁻¹ de timol. Além disso, a mistura ternária carvacrol–timol–eugenol em concentrações de 75, 31,25 e 56,25 mg/kg, correspondentemente, foi a mais efetiva para a inativação de *L. innocua*. Várias misturas binárias e ternárias desses 3 agentes antimicrobianos naturais funcionaram adequadamente para inativar *L. innocua*.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

O objetivo do presente experimento foi determinar os efeitos de diferentes doses de Lasalocida sódica (LASA), Óleo essencial Limoneno (OEL) e Óleo essencial *blend* de cinamaldeído e carvacrol (BCC) sobre o processo fermentativo e a qualidade nutricional de silagens de dieta completa.

4.2. Específicos

1. Determinar o impacto de diferentes doses de LASA na qualidade fermentativa e nutricional das silagens de TMR à base de capim - BRS capiaçu.

2. Determinar a influência de diferentes concentrações de OEL na qualidade fermentativa e nos parâmetros nutricionais das silagens de TMR à base de capim – BRS capiaçu.

3. Determinar o efeito de diferentes doses do *blend* de óleos essenciais de cinamaldeído e carvacrol na qualidade fermentativa e nutricional das silagens de TMR à base de capim - BRS capiaçu.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, J. P. (2021). *Potencial forrageiro das cultivares BRS Kurumi e BRS Capiaçú*. Dourados, MS: UFGD. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados. 95 f.
- Andrade, R. C.; Orrico Junior, M. A. P.; da Silva, Y. A.; Retore, M.; Fernandes, T.; Orrico, A. C. A.; Vargas Junior, F. M.; Amaral, I. P. O. (2024). *Impact of Monensin Sodium and Essential Limonene Oil on the Fermentation and Chemical Composition of Total Mixed Ration Silages with Moisture Variations*. *Agriculture*, 14(1), 1319. Doi: 10.20944/preprints202407.1282.v1.
- Ares, A. M.; Nozal, M. J.; Bernal, J. L.; Bernal, J. (2020). *Simultaneous determination of carvacrol and thymol in bee pollen by using a simple and efficient solvent extraction method and gas chromatography-mass spectrometry*. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 181(1). Doi: 10.1016/j.jpba.2020.113124.
- Barreta, D. A. (2020). *Average particle size of the diet determination, interpretation and effects for Dairy cows*. *Rev. Acad. Ciênc. Anim.* 18(1). Doi: 10.7213/2596-2868.2020.18102.
- Besharati M., Palangi V., Niazifar M., Ayaşan T., Salem A. Z. M. (2023). *Effect of Adding Flaxseed Essential Oil in Alfalfa Ensiling Process on Ruminal Fermentation Kinetics*. *KSU J. Agric Nat*, 26(2): 450-458. Doi: 10.18016/ksutarimdog.vi.1052345.
- Besharati, M., Palangi, V., Niazifar, M., Nemati, Z. (2021). *Optimization of dietary lemon seed essential oil to enhance alfalfa silage chemical composition and in vitro degradability*. *Semina:Cienc. Agrár.* 42(2): 891-906. Doi: 10.5433/1679-0359.2021v42n2p891.
- Bezerra, H. F. C., Santos, E. M., Oliveira, J. S. de, Carvalho, G. G. P. de, Cassuce, M. R., Perazzo, A. F., Freitas, D. de S. S., & Santos, V. da S. (2019). *Degradabilidade ruminal in situ de silagens de capim-elefante aditivadas com farelo de milho e inoculante da microbiota autóctone*. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 16(2), 265-277.
- Bueno, A. B. I., Lazzari, G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P. (2020). *Ensiling total mixed ration for ruminants: A review*. *Agronomy*, 10(789). Doi:10.3390/agronomy10060879.
- Calsamiglia, S.; Busquet, M.; Cardozo, P. W., Castillejos, L.; Ferret, A. (2007). *Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation*. *J. Dairy Sci.* 90(6). Doi: 10.3168/jds.2006-644.
- Cantoia Júnior, R., Capucho, E., Garcia, T. M., 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(1): 114371. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2019.114371.
- Cogan, T. Hawkey, R. Higgie, E. (2016). *Silage and total mixed ration hygienic quality on commercial farms: implications for animal production*. *Grass Forage Sci.*, 72(1): 601-613. Doi: 10.1111/gfs.12265.

Denkova-Kostova, R., Teneva, D., Tomova, T., Goranov, B., Denkova, Z., Shopska, A., Hristova-Ivanova, Y. (2020). *Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (Citrus reticulata L.), grapefruit (Citrus paradisi L.), lemon (Citrus lemon L.) and cinnamon (Cinnamomum zeylanicum Blume)*. Zeitschrift Für Naturforschung C, 76(5-6), 175–185. Doi:10.1515/znc-2020-0126.

Foskolos, A., Cavini, S., Ferret, A., Calsamiglia, S. (2016). *Effects of essential oil compounds addition on ryegrass silage protein degradation*. Can. J. Anim. Sci. 96: 100–103. Doi: 10.1139/cjas-2015-0025.

Fujita, N., Tanaka, E., & Murata, M. (2006). *Cinnamaldehyde Inhibits Phenylalanine Ammonia-Lyase and Enzymatic Browning of Cut Lettuce*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 70(3), 672–676. Doi: 10.1271/bbb.70.672.

Gao, X., Liu, J., Li, B., & Xie, J. (2023). *Antibacterial Activity and Antibacterial Mechanism of Lemon Verbena Essential Oil*. Molecules, 28(7), 3102. Doi: 10.3390/molecules28073102.

García-García, R., López-Malo, A., & Palou, E. (2011). *Bactericidal Action of Binary and Ternary Mixtures of Carvacrol, Thymol, and Eugenol against Listeria innocua*. Journal of Food Science, 76(2), 95–100. Doi:10.1111/j.1750-3841.2010.02005.x

Gerlach, K., Daniel, J. L. P., Jobim, C. C., Nussio, L. G. (2021). *A data analysis on the effect of acetic acid on dry matter intake in dairy cattle*. Anim. Feed Sci. Technol. v. 272(1): 1-7. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2020.114782.

Gupta, A.; Jeyakumar, E.; Lawrence, R. (2021). *Journey of limonene as na Antimicroial Agent*. J Pure Appl Microbiol, 15(3):1094-1110. Doi:10.22207/JPAM.15.3.01.

Hodjatpanah-Montazery, A.; Mesgaran, M.D.; Vakili, A.; Tahmasebi, A.M. (2016). *Effect of essential oil of various plants as microbial modifier to alter corn silage fermentation and in vitro methane production*. Iran. J. Appl. Anim. Sci. 6(1): 269–276. ISSN: 2251-628X.

Hsouna B., Halima, A., Ben., N., Smaoui, S. et al. (2017). *Citrus lemon essential oil: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities with its preservative effect against Listeria monocytogenes inoculated in minced beef meat*. Lipids Health Dis 16(146). Doi: 10.1186/s12944-017-0487-5.

Hu, X., Hao, W., Wang, H., Ning, T., Zheng, M., Xu, C. (2015). *Fermentation characteristics and lactic acid bacteria succession of total mixed ration silages formulated with peach pomace*, Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 28(4), 502-510. Doi: 10.5713/ajas.14.0508.

Keady, T.W.J.; Kilpatrick, D.J.; Mayne, C.S. et al. *Effects of replacing grass silage with maize silages, differing in maturity, on performance and potential concentrate sapping effect of dairy cows offered two feed value grass silages*. Livestock Science, 119(1): 1-11, 2008. Doi: 10.1016/j.livsci.2008.02.006.

Kholif, A. E., Olafadehan, O. A. (2021). *Essential oils and phytogenic feed additives in ruminant diet: chemistry, ruminal microbiota and fermentation, feed utilization and*

productive performance. *Phytochem Rev.* 20(1): 1087–1108. Doi: 10.1007/s11101-021-09739-3.

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*. *J. Anim. Sci.* 99(2), 1-13. Doi: 10.1093/jas/skab032.

Lopes, B. A. O *Capim-elefante*. 2004. Disponível em: <https://www.bibliotecaagptea.org.br/zootecnia/nutricao/livros/O%20CAPIM%20ELEFANTE.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2024.

Mączka, W., Twardawska, M., Grabarczyk, M., Wińska, K. (2023). *Carvacrol — Um composto fenólico natural com propriedades antimicrobianas*. *Antibióticos*, 12(5), 824. Doi: 10.3390/antibiotics12050824.

McDonald, P.; Henderson, N.; Heron, S. (1991). *The biochemistry of silage* Marlow Bucks: Chalcombe Publications, 340p.

Miller-Cushon, E. K., DeVries, T. J. (2017). *Feed sorting in dairy cattle: Causes, consequences, and management*. *Journal of Dairy Science*. 100(5): 4172-4183. Doi: 10.3168/jds.2016-11983.

Moura, D. C., Torres, R. N. S., Silva, H. M., Donadia, A. B., Menegazzo, L., Xavier, M. L., Alessi, K. C., Soares, S. R., Ghedini, C. P., Oliveira, A. S. (2021). *Meta-analysis of the effects of ionophores supplementation on dairy cows performance and ruminal fermentation*, *Livestock Science*, 254 (1): 104729. Doi:10.1016/j.livsci.2021.104729.

Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. (2013). *Effect of essential oils on pathogenic bacteria*. *Pharmaceuticals (Basel)*. 25(12):1451-74. doi: 10.3390/ph6121451.

Nogueira, A. V., França, T. N., Peixoto, P. V. (2009). *Ionophore antibiotic poisoning in animals*. *Research. Vet. Bras.* 29(3). Doi: 10.1590/S0100-736X2009000300001.

Novilla, M. N. (2011). *Ionophores*. *Reproductive and Developmental Toxicology*, 1(1):373-384. Doi: 10.1016/B978-0-12-382032-7.10029-3.

Nussio, L. G. (2005). *Silage production from tropical forages*. In R. S. Park & M. D. Stronge (Eds.), *Proceedings of the XIV International Silage Conference* (pp. 97–107). Belfast, UK. Doi: 10.3920/9789086865536_007.

Pereira, A. V.; Auad, A. M.; Ledo, F. J. S. Barbosa, S. (2016). *Pennisetum purpureum*. In: Fonseca, D. M. Da; Martuscello, J. A. (Org.). *Plantas Forrageiras*. Viçosa: Editora UFV. 1(1), p. 197-219.

Rathod, N. B., Kulawik, P., Ozogul, F., Regenstein, J. M., Ozogul, Y. (2021). *Biological activity of plant-based carvacrol and thymol and their impact on human health and food quality*, *Trends in Food Science & Technology*. 116(1): 733-748. Doi: 10.1016/j.tifs.2021.08.023.

Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J., Martín-Belloso, O. (2006). *Antimicrobial Activity of Essential Oils on Salmonella Enteritidis, Escherichia coli, and Listeria innocua in Fruit Juices*, Journal of Food Protection, 69(7): 1579-1586. Doi: 10.4315/0362-028X-69.7.1579.

Retore, M., Alves, J. P., Orrico Junior, M. A. P., Galeano, E. S. J., Orrico, A. C. A., Fernandes, T., Vicente, E. F., Lopes, L. S. (2022). *Silagem de ração mista total com capim-elefante cv. BRS Capiaçú*. Comunicado Técnico: EMBRAPA, Dourados.

Ribas, W. F. G. (2021). *Tempo de emurchecimento e inoculante bacteriano-enzimático sobre o perfil fermentativo, estabilidade aeróbia e valor nutricional da silagem de capim-BRS Capiaçú*. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Montes Claros – Janaúba, 2021, 50 p.

Rocha, B. C. A. (2013). *Extração e caracterização do óleo essencial de tomilho (Thymus vulgaris)*. Dissertação (mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 105 f.

Rodrigues, R. L. M. (2023) *Qualidade fermentativa de silagens de cultivares de capins tropicais em função da frequência de colheita*. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal Rural da Amazônia, 31 f.

Sánchez-Guerra, N. A., Gonzalez-Ronquillo, M., Anderson, R. C. et al. (2024). *Improvements in fermentation and nutritive quality of elephant grass [Cenchrus purpureus (Schumach.) Morrone] silages: a review*. Trop Anim Health Prod, 56(4), 171. Doi: 10.1007/s11250-024-04027-6.

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

Seppälä, A., Heikkilä, T., Mäki, M., & Rinne, M. (2016). *Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations*. Grass and forage Science. 71(3), 458–471. Doi:10.1111/gfs.12221.

Silva, V. F.; Souza, F. J. A.; Silva, J. R. et al. (2023) *Uso de aditivos nas silagens de capins tropicais: revisão de literatura*. Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, Curitiba, 7(2), p. 1-17.

Singh, N., Aasthi, A., Patel, P., Kumar, G. D. (2022). *Total mixed ration feeding of Dairy cows*. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science. 15(4): 25-27. Doi: 10.9790/2380-1504012527.

Steiner, T., Syed, B. (2015). *Phytogenic Feed Additives in Animal Nutrition*. In: Máthé, Á. (eds) Medicinal and Aromatic Plants of the World. Medicinal and Aromatic Plants of the World, 1(1). Doi: 10.1007/978-94-017-9810-5_20.

Sun, X., Cameron, R. G., & Bai, J. (2020). *Effect of spray-drying temperature on physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties of pectin/sodium alginate microencapsulated carvacrol*. Food Hydrocolloids, 100 (1): Doi: 10.1002/fsn3.2994.

Susanto I, Rahmadani M, Wiryawan KG, Laconi EB, Jayanegara A. (2023). *A meta-analysis on the influence of essential oils on Chemical composition and fermentative*

quality of silage. The 4th International Conference on Agriculture and Bio-industry. Doi:10.1088/1755-1315/1183/1/012006.

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):583. Doi: 10.3390/fermentation9070583.

Vaičiulienė, G.; Bakutis, B.; Jovaišienė, J.; Falkauskas, R.; Gerulis, G.; Baliukonienė, V. (2020). *Origanum vulgare and Thymus vulgaris Extract Usability to Improve Silage Hygienic Quality and Reduce Mycotoxin Concentrations*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 30(1): 1149–1155. Doi: 10.4014/jmb.2003.03010.

Wang, H.; Ning, T.; Hao, W.; Zheng, M.; Xu, C. *Dynamics associated with prolonged ensiling and aerobic deterioration of total mixed ration silage containing whole crop corn*. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 2015, 29:(1), 62–72. Doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0319>.

Wendakoon C.N.; Sakaguchi M. (1995). *Inhibition of amino acid decarboxylase activity of Enterobacter aerogenes by active components in spices*. *J. Food Prot.* 58(3): 280–283. Doi: 10.4315/0362-028X-58.3.280.

Yang H., Wang B., Zhang Q., Cheng H., Yu Z. (2021). *Improvement of Fermentation Quality in Total Mixed Ration Fermented with Oat Silage*. *Microorganisms*, 9(2), 420. Doi: 10.3390/microorganisms9020420.

Zanine, A. de M., Santos, E. M., Dórea, J. R. R., Dantas, P. A. de S., Silva, T. C. da, & Pereira, O. G. (2010). *Evaluation of elephant grass silage with the addition of cassava scrapings*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(12), 2611–2616. doi:10.1590/s1516-35982010001200008.

CAPÍTULO 2 – EFEITOS DE DIFERENTES DOSES DE LASALOCIDA SÓDICA NA QUALIDADE FERMENTATIVA E NUTRICIONAL DE SILAGENS DE DIETA COMPLETA

Este estudo teve como objetivo determinar o impacto de diferentes doses de lasalocida sódica (LASA) na qualidade fermentativa e nutricional de silagens de dieta total (TMR) à base de capim BRS Capiçu. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos correspondentes às doses de LASA de 0, 225, 300 e 375 mg/kg de matéria seca (MS). Foram utilizados silos de PVC com capacidade de 3,8 litros. A relação volumoso:concentrado foi de 33:67 na matéria seca (MS). O experimento foi realizado em duas estações (verão e outono), com cinco repetições por tratamento. As amostras de TMR ensiladas foram analisadas quanto à composição químico-bromatológica, perdas fermentativas, qualidade fermentativa e estabilidade aeróbia. Foi observado um aumento linear na recuperação de matéria seca ensilada e na concentração de ácido láctico com o aumento das doses de aplicação de LASA. A aplicação de 300 mg/kg de MS de LASA resultou no maior valor de pH; no entanto, a variação do pH entre as doses testadas foi mínima, variando de 3,83 a 3,93. Além disso, o aumento das doses de LASA resultou em uma redução linear estatisticamente significativa nas concentrações de etanol nas silagens ($P < 0,01$). A análise da estabilidade aeróbia também mostrou uma tendência de melhora nas silagens tratadas com LASA, embora esse efeito não tenha sido estatisticamente significativo ($p = 0,09$). Em relação à composição químico-bromatológica, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). Conclui-se que o uso de LASA, especialmente em doses de até 375 mg/kg de MS, é eficaz em melhorar as características fermentativas de silagens de TMR à base de capim BRS Capiçu, sem comprometer a qualidade nutricional e favorecendo a preservação e a estabilidade do alimento.

Palavras-chave: Aditivos, ensilagem, ionóforos, vacas leiteiras.

1. INTRODUÇÃO

A qualidade da silagem é determinada por diversos fatores que contribuem para a preservação do material, como o dimensionamento do silo, a escolha da cultivar, o estágio adequado de colheita, uma boa compactação, o uso de materiais adequados para cobertura do silo e o manejo correto da abertura (Borreani et al., 2018; Kung Jr et al., 2018). Para otimizar o processo de ensilagem, são incorporados aditivos à massa forrageira com o objetivo de melhorar a fermentação (favorecendo a fermentação láctica), controlar microrganismos indesejáveis e preservar a qualidade do alimento armazenado (Comino et al., 2014; Orrico Junior et al., 2017; Cunha et al., 2020; Orrico Junior et al., 2020).

Estudos demonstraram que a associação de aditivos microbianos com fontes de carboidratos solúveis favorece a fermentação láctica, promovendo uma queda rápida no pH e reduzindo as perdas fermentativas (Vendramini et al., 2016; Cunha et al., 2020; Alves et al., 2022). Além disso, outros estudos mostraram que enzimas fibrolíticas, como celulasas e hemicelulasas, ajudam na liberação de açúcares fermentáveis que beneficiam o processo fermentativo (Sucu e Çifci, 2016; Ning et al., 2017).

Apesar da ampla gama de estudos sobre aditivos microbianos e enzimas em silagens, há poucas investigações sobre a eficácia de substâncias antimicrobianas, especialmente antibióticos, no controle de microrganismos indesejáveis e/ou na estimulação do crescimento de bactérias produtoras de ácido láctico. Um estudo realizado por Lazzari et al. (2021) avaliou o efeito de diferentes fontes proteicas sobre o processo fermentativo de silagens de dieta total (TMR). No experimento, os autores incluíram monensina sódica como aditivo promotor de crescimento em todas as TMR ensiladas. Embora não fosse o foco principal do estudo, observaram que a monensina permaneceu estável ao longo da fermentação e que as silagens apresentaram um perfil fermentativo adequado, especialmente em relação à produção de ácido láctico. No entanto, a ausência de um tratamento controle sem monensina impossibilitou a confirmação de um possível efeito estimulante sobre a fermentação láctica.

Esse achado motivou Andrade et al. (2024) a testar, por dois anos consecutivos, o efeito de diferentes substâncias antimicrobianas (ionóforos e óleos essenciais) sobre o perfil fermentativo de silagens de TMR. Os autores relataram que o uso de monensina potencializou a fermentação láctica, aumentou a recuperação de matéria seca e contribuiu para a estabilidade aeróbia da silagem em comparação ao

tratamento controle. Esses resultados sugerem que os ionóforos, amplamente utilizados para modular a fermentação ruminal e melhorar o desempenho animal (Muller et al., 2015), também podem ter aplicações promissoras na modulação da fermentação em silagens.

No entanto, ainda não está claro se outros ionóforos atuam de maneira semelhante à monensina no processo fermentativo de silagens de dieta total. Assim, levantou-se a hipótese de que a lasalocida sódica (LASA) possa melhorar a qualidade fermentativa sem causar alterações significativas na composição química e na estabilidade aeróbia de silagens de TMR. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes doses de LASA sobre as perdas fermentativas, o perfil de fermentação e a composição nutricional de silagens de TMR.

2. MATERIALS E MÉTODOS

2.1 Descrição do local e dos ensaios experimentais

A pesquisa foi conduzida na Embrapa Agropecuária Oeste (22°16'44" S, 54°49'10" W), no município de Dourados, MS, Brasil. Região classificada com clima Cwa (mesotérmico úmido, com verão chuvoso), conforme a classificação de Köppen (Fietz; Fisch, 2008).

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro doses de lasalocida de 0, 225, 300 e 375 g/kg de MS. O produto comercial utilizado Taurotec®.

O primeiro período experimental ocorreu em fevereiro de 2024 (verão) e o segundo em maio de 2024 (outono). Para cada tratamento foi utilizado 5 repetições totalizando 40 silos experimentais.

2.2 Produção da TMR e enchimento dos silos experimentais

A TMR foi formulada para atender às exigências nutricionais de vacas em lactação, com produção de 20 kg de leite/dia, peso corporal de 450 kg e consumo médio de 14 kg de MS/dia (NRC, 2001). A relação volumoso:concentrado foi de 64:33, com o volumoso composto por capim – BRS capiaçu (com 90 dias de idade) e o concentrado formulado à base de milho moído, farelo de soja, fosfato bicálcico e calcário calcítico. A proporção dos ingredientes e a composição química da dieta estão detalhadas na Tabela 1.

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química das TMRs formuladas para vacas leiteiras nos dois ensaios experimentais

Ingredientes	% da MS
Capim BRS - Capiapu	33,21
Milho moído	43,38
Farelo de Soja	19,67
Calcário Calcítico	1,83
Fosfato Bicálcico	1,90
Total	100,00
Matéria Seca, % MN	35,04
Cinzas	6,30
Poteína Bruta, % MS	18,10
Fibra em Detergente Neutro, % MS	35,54
Fibra em Detergente Ácido, % MS	23,29
Lignina, % MS	3,40
Extrato Etéreo, % MS	2,70
Amido, % MS	22,00
Carboidratos Não Fibrosos, % MS	37,01
Poder Tampão, meqg NaOH/100g MS	13,63
pH	6,78

MN = matéria natural; MS = matéria seca; NaOH = Hidróxido de sódio.

Os aditivos a serem testados e suas respectivas doses foram previamente incorporados ao concentrado a fim de facilitar a mistura e garantir uma distribuição uniforme em toda a massa a ser ensilada. Em seguida, o volumoso foi misturado ao concentrado, assegurando uma mistura homogênea e uma distribuição completa dos aditivos. Após essa etapa, o material resultante foi utilizado para o preenchimento dos silos experimentais.

Como silos experimentais, foram utilizados tubos de PVC (10 cm de diâmetro e 50 cm de altura) com volume útil de 3,8 L. No fundo de cada silo foi colocado 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. O material foi compactado manualmente com auxílio de bastões de madeira para obtenção da densidade média de 700 kg MN/m³. 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 por 110 dias.

2.3 Coleta de amostras, cálculos das perdas fermentativa e metodologias utilizadas

Durante o enchimento dos silos foram coletadas duas amostras da TMR de cada tratamento em cada um dos ensaios. A primeira amostra, de aproximadamente 300 g, foi utilizada para determinar os teores de matéria seca e matéria mineral. A segunda amostra, de aproximadamente 70 g, foi congelada para posterior determinação dos valores de pH e da capacidade tampão.

Para o cálculo das 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 matéria 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).

Após a abertura, todo o material contido em cada silo experimental foi retirado e homogeneizado para a coleta de amostras. Uma amostra de aproximadamente 300 g de cada silo experimental foi enviada ao laboratório para análise da composição químico-bromatológica e do perfil fermentativo. A composição química das TMRs foi determinada em espectrofotômetro modelo Foss 5000 (Eden Prairie, MN, USA) utilizando a calibração (WinISI version 4.6.11, FOSS Analytical A/S, Denmark) obtida

através do Dairy One Forage Laboratory (Ithaca, NY) para determinar as concentrações de matéria seca (MS), Matéria Mineral (MM), proteína bruta (PB), nitrogênio amoniacal (N-NH₃), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF) e amido.

O pH (antes e depois da ensilagem), o poder tampão (apenas antes da ensilagem) e o perfil de ácidos orgânicos de cadeia curta do material foram determinados por meio do extrato aquoso extraído da TMR. Para obtenção do extrato aquoso, foram diluídos 9g TMR em 60 mL de água destilada e homogeneizados manualmente por aproximadamente 30 min. O pH do extrato foi determinado usando um potenciômetro digital (mPA210 MS TecnoPON) e a capacidade tampão foi determinada de acordo com Playne and Mc Donald (1966). Os ácidos orgânicos foram determinados por cromatografia gasosa com detector de massa (GCMS QP 2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) usando uma coluna capilar (Stabilwax, Restek, Bellefonte, EUA, 60 m, 0,25 mm Ø, 0,25 µm de polietileno *cross bond carbowax glicol*). A concentração de ácido láctico foi determinada pelo método colorimétrico proposto por Pryce (1969).

A estabilidade aeróbia foi determinada em todas as silagens após a abertura do silo. Amostras ($2 \pm 0,005$ kg) de cada repetição de cada tratamento 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).

2.4 Forma de análise dos dados

Os dados foram analisados usando o pacote “*stats*” no software R (v. 4.2.1; R Studio v. 2023.06.1). Antes da análise propriamente dita os dados foram submetidos ao teste de Shapiro–Wilk para testar normalidade dos resíduos. Os dados que não atendiam à premissa de normalidade foram submetidos à transformação Box-Cox (Box and Cox, 1964). Os valores discrepantes (outliers) foram removidos se excedessem 3 desvios-padrão da média. Os dados foram analisados quanto a regressão polinomial, usando o seguinte modelo:

$$Y_{ik} = \mu + \text{poly}(D)_i + P_j + \epsilon_{ik}$$

Onde:

Y_{ik} representa a variável dependente para o i -ésimo nível de dose e k -ésima repetição.

μ é a média geral.

D_i corresponde ao efeito linear ou quadrático da dose (com $i=1, 2, 3, 4$, indicando quatro níveis de dose).

P_j é o efeito aleatório da estação, sendo $j=1, 2$ (com duas estações).

ϵ_{ik} é o erro experimental.

As diferenças de tratamento foram consideradas significativas quando o valor de $P \leq 0,05$. Os dados foram relatados como médias dos mínimos quadrados (LSMeans) com erro padrão das médias (SEM). Dados significativos para regressão foram apresentados nas figuras, acompanhados pelas respectivas equações de ajuste.

3. RESULTADOS

Os resultados da Tabela 2 apresentam os valores de recuperação de matéria seca, perdas de gases, produção de efluente, pH e nitrogênio amoniacal, parâmetros fermentativos e estabilidade aeróbia de silagem de TMR nas diferentes doses de LASA.

Tabela 2. Perdas fermentativas, pH e nitrogênio amoniacal de silagem de TMRs com diferentes doses do ionóforo Lasalocida sódica

Variável	LASA(g/kg)				EMP	p valor	
	Controle	225	300	375		L	Q
RMS, %	94,09	95,28	95,80	96,69	0,186	<0,001	0,13
PG, % MS	1,07	0,96	0,95	1,14	0,004	0,99	0,54
PE, kg/t MV	63,66	61,67	50,36	47,44	3,438	0,05	0,40
pH	3,83	3,90	3,93	3,88	0,010	0,01	0,02
N-NH ₃ , % NT	5,14	5,14	5,16	5,37	1,000	0,20	0,16
Ác. Lat, % MS	3,27	3,97	3,84	4,46	0,104	<0,001	0,51
Etanol, % MS	0,26	0,19	0,13	0,13	0,021	<0,001	0,95
Ác. Acet, % MS	1,16	1,33	1,26	1,24	0,040	0,28	0,20
Ác. Prop, mg/kg MS	122,53	108,20	106,76	109,83	6,222	0,38	0,64
Ác. Iso-but, mg/kg MS	2,63	2,18	3,93	1,69	0,361	0,97	0,59
Ác. But, mg/kg MS	17,72	13,39	15,20	13,18	0,897	0,05	0,46
Ác. Iso-Val, mg/kg MS	8,07	6,63	8,10	6,81	0,554	0,39	0,76
Ác. Val, mg/kg MS	2,40	2,33	2,10	2,32	0,182	0,59	0,76
EA, horas	110,88	120,26	125,24	123,60	1,000	0,09	0,42

MV = Massa Verde; LASA = Lasalocida; RMS = Recuperação de matéria seca; PG = Perda por gases; MS = Matéria seca; PE = Perda por efluentes; N-NH₃ = Nitrogênio amoniacal; NT = Nitrogênio total; Ác. Lat = Ácido lático; Ác. Acet = Ácido acético; Ác. Prop. = Ácido propiônico; Ác. Iso-But. = Ácido Iso-butírico; Ác. But = Ácido butírico; Ác. Iso-Val = Ácido iso-valerico; Ác. Val. = Ácido valérico; EA = Estabilidade aeróbia; L = linear; Q = Quadrático; EPM = Erro padrão da média.

A LASA impactou positivamente sobre as perdas fermentativas das silagens TMR, apresentando aumento linear na recuperação de MS ($P < 0.01$) e na concentração de ácido lático ($P < 0.01$), tendendo a aumentar a estabilidade aeróbia ($P = 0,09$) (Tabela 2). Para a variável recuperação de matéria seca (RMS), a cada grama de LASA resulta no aumento de 0.988% na recuperação. Em termos de pH, foi possível observar valores máximos na dose de 225 g/kg de LASA na MS, com valores de 3,9; os valores mínimos de 3,83 para o tratamento controle (Figura 1).

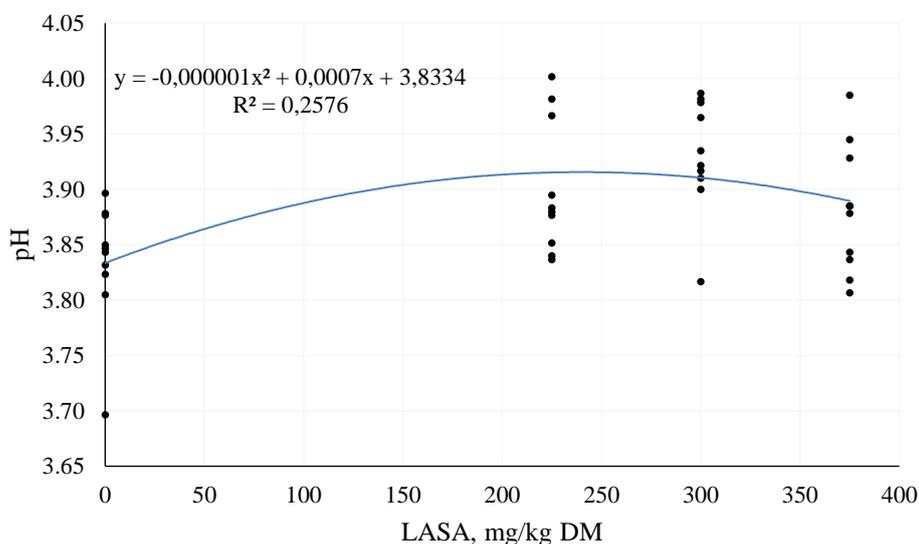
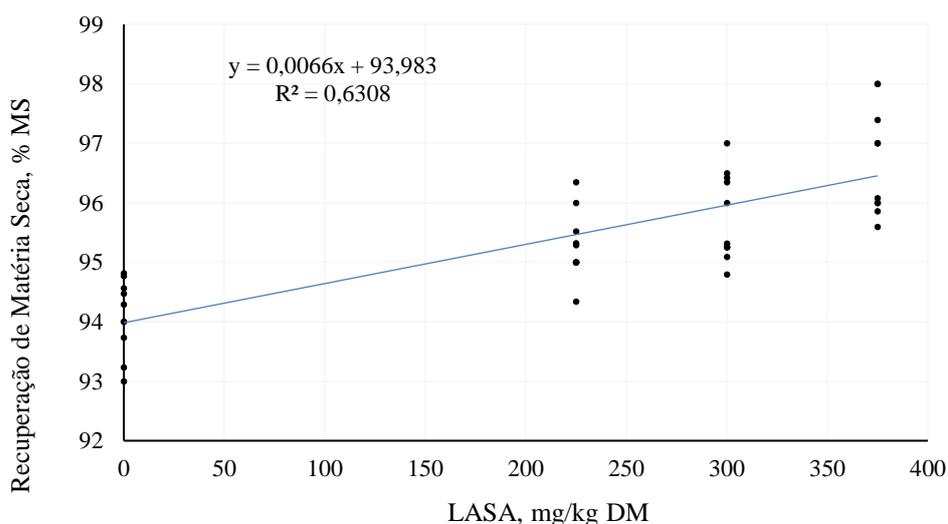


Figura 1. Recuperação de Matéria Seca (RMS) e potencial de hidrogênio (pH) das silagens de TMR tratadas com ionóforo LASA.

A análise do perfil fermentativo das silagens tratadas com diferentes doses de LASA revelou resultados interessantes em relação às variáveis de ácido láctico e etanol. Na figura 2, podemos observar que a cada dose (1g/kg de LASA), há um aumento de 0,41% de ácido láctico indicando que a adição do ionóforo favoreceu a fermentação láctica, o que é desejável para a preservação e qualidade da silagem. Já para a variável Etanol, a cada dose (1g/kg de LASA) espera-se uma diminuição de 0,05% de etanol.

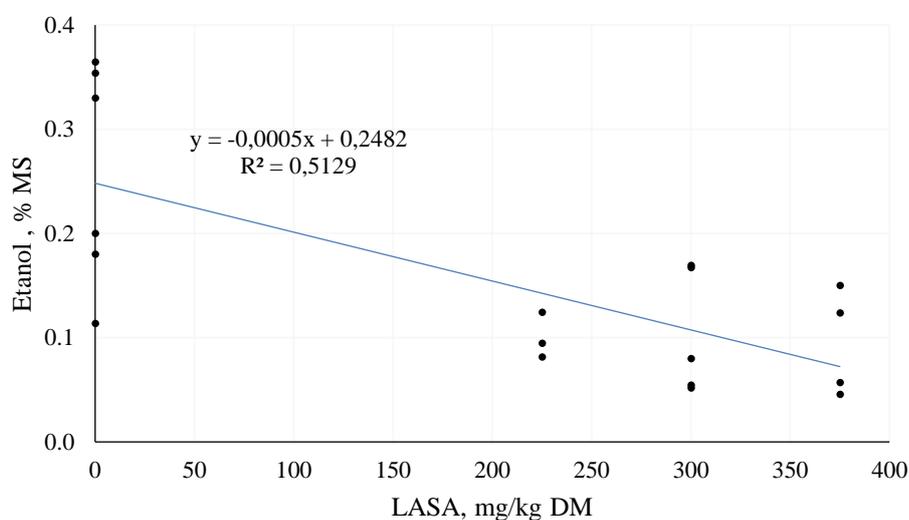
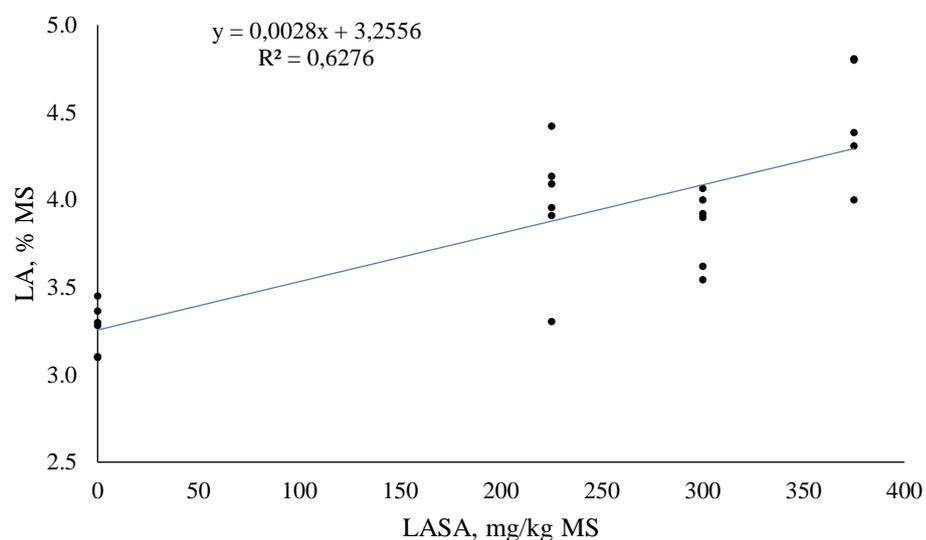


Figura 2. Concentrações de ácido láctico e etanol de silagens TMR com diferentes doses do ionóforo LASA de silagens de TMR

O aumento do ácido láctico é um indicador positivo, pois esse ácido orgânico é crucial para a preservação da silagem, uma vez que contribui para a diminuição do pH e cria um ambiente hostil para microrganismos indesejáveis, prevenindo a deterioração da forragem. Tal fato corrobora com os valores encontrados para etanol, já que a concentração de etanol nas silagens tratadas com LASA foi significativamente reduzida.

A Tabela 3 apresenta a composição químico-bromatológica de silagens TMR à base de capim BRS - Capiaçú com diferentes doses do ionóforo LASA. As doses de LASA não causaram efeitos ($P>0,05$) em nenhuma das variáveis analisadas.

Tabela 3. Composição químico-bromatológica de silagens de TMR a base de capim BRS - Capiaçú com diferentes doses do ionóforo LASA.

Variável	LASA (g/kg)				EPM	p valor	
	Controle	225	300	375		L	Q
MS, % MN	34,78	35,12	37,22	37,83	0,730	0,12	0,47
MM, % MS	8,13	8,07	8,13	7,53	0,155	0,25	0,25
PB, % MS	17,63	17,26	18,17	17,63	0,384	0,86	0,87
FDN, % MS	23,27	24,63	22,43	21,95	0,592	0,45	0,21
FDA, % MS	35,13	36,73	34,68	33,52	0,911	0,60	0,30
LIG, % MS	2,97	2,17	2,50	2,45	0,138	0,08	0,13
Amido, % MS	22,40	21,67	22,82	24,87	0,763	0,35	0,22
EE, % MS	3,22	3,12	2,90	3,02	0,130	0,27	0,89
CNF, % MS	37,12	35,93	37,33	38,98	0,866	0,55	0,29
NDT, % MS	69,83	68,83	70,50	71,50	0,420	0,20	0,06

MS = Matéria seca; MN = Matéria natural; Matéria Mineral (MM); PB = Proteína bruta; FDN = Fibra em detergente neutro; FDA = Fibra em detergente ácido; LIG = Lignina; EE = Extrato etéreo; CNF = Carboidrato não fibroso; NDT = nutrientes digestíveis totais; L = Linear; Q = Quadrático; LASA = Lasalocida; EPM = Erro padrão da média.

4. DISCUSSÃO

Durante o processo fermentativo das silagens, bactérias homofermentativas, que produzem ácido láctico, convertem açúcares simples como glicose e frutose em ácido láctico. Esse processo é desejável porque não causa perdas significativas de matéria seca (MS) e resulta em perdas mínimas de energia, em torno de 0,7% (Borreani et al., 2018). O ionóforo parece ter favorecido a fermentação láctica e minimizado as perdas por gases e efluentes. Como resultado, foi observado um aumento na recuperação de matéria seca (RMS) nas silagens tratadas com a maior dose de LASA (375 mg/kg de MS) (Tabela 2). Esses resultados são consistentes com

os relatados por Andrade et al. (2024), que encontraram valores de RMS acima de 97% em silagens de TMR suplementadas com monensina.

A fermentação láctica é o tipo mais desejável em silagens, pois reduz o pH e melhora a conservação do alimento (Borreani et al., 2018; Kung Jr et al., 2018). Embora não existam estudos específicos sobre o uso de LASA na fermentação de silagens, Andrade et al. (2024) investigaram o composto monensina, que possui efeitos semelhantes aos da LASA, e observaram um aumento de 18% na produção de ácido láctico em silagens tratadas com monensina em comparação ao controle. No presente estudo, a fermentação láctica apresentou aumento linear, mas o pH não seguiu o mesmo padrão.

No entanto, embora o pH seja um parâmetro importante para avaliar a qualidade fermentativa da silagem, ele não reflete necessariamente o perfil de ácidos orgânicos formados durante a fermentação. Neste estudo, as silagens com maior teor de ácido láctico não apresentaram os menores valores de pH, o que é uma ocorrência comum, conforme observado por Costa Araujo et al. (2023). Isso ocorre porque, apesar de o ácido láctico ser um ácido forte (pK_a 3,86), seu efeito sobre o pH depende do equilíbrio entre suas formas dissociada e não dissociada, bem como da presença de outros ácidos que podem liberar mais íons H^+ e diminuir ainda mais o pH.

Além dos ácidos produzidos durante a fermentação, o etanol também pode ser gerado na silagem por microrganismos heterofermentativos, enterobactérias e leveduras. No entanto, sua concentração nas silagens tende a ser baixa (Kung Jr et al., 2018). Neste estudo, a LASA aumentou a produção de ácido láctico e resultou em valores de pH abaixo de 4 sem alterar significativamente a produção de outros compostos fermentativos. Isso sugere que as perdas fermentativas foram mínimas e o controle microbiano foi eficaz. Outro possível fator é que a LASA pode ter atuado de forma seletiva, inibindo microrganismos que competem com bactérias lácticas (BAL), favorecendo seu crescimento e aumentando a produção de ácido láctico. Além disso, a inibição de microrganismos indesejáveis pode ter evitado a conversão do ácido láctico em outros compostos como ácido butírico e etanol, levando a uma maior acumulação de ácido láctico na silagem.

Um parâmetro-chave destacado por Andrade et al. (2024) foi a razão ácido láctico:ácido acético. Os autores observaram um aumento de 33,4% com a suplementação de monensina, sugerindo que esse ionóforo promoveu a fermentação homoláctica. No presente estudo, a maior dose de LASA (375 mg/kg de MS) resultou

em um aumento de 27,7% na razão ácido láctico:ácido acético, corroborando os achados de Andrade et al. (2024).

O ácido acético é um importante produto da fermentação que contribui para a estabilidade aeróbia da silagem devido às suas propriedades antifúngicas, que ajudam a controlar o crescimento de microrganismos indesejáveis, como fungos (bolores e leveduras) e enterobactérias (Muck, 2010; Lara et al., 2016; Wilkinson e Rinne, 2018). A predominância da fermentação láctica observada neste estudo pode ter limitado a produção de ácido acético. No entanto, mesmo em concentrações baixas, o ácido acético ainda pode ter contribuído para a estabilidade aeróbia. Adicionalmente, a própria LASA pode ter desempenhado um papel no controle de microrganismos aeróbios (bolores e leveduras) devido à sua ação antifúngica, retardando a deterioração aeróbia.

Em relação à composição química das silagens, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com LASA. Isso pode ser atribuído ao efeito do ionóforo na preservação dos nutrientes, evitando sua degradação durante a fermentação. Além disso, os baixos valores de N-NH₃ indicam que as perdas proteicas foram mínimas. Isso sugere que a LASA não apenas promoveu uma fermentação eficiente, mas também ajudou a preservar os nutrientes, o que é um fator positivo para a qualidade nutricional da silagem.

5. CONCLUSÃO

A adição de LASA nas silagens de TMR à base de capim - BRS capiaçu melhorou significativamente a qualidade fermentativa, evidenciada pelo aumento linear na recuperação de matéria seca e na concentração de ácido láctico, além da redução do etanol, sem comprometer a qualidade nutricional da silagem. Portanto, a dose 375 g/kg MS de LASA é recomendada para otimizar a fermentação e a qualidade de conservação da silagem, mantendo a integridade nutricional do alimento conservado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, J. P., Galeano Jara, E. S., Orrico Junior, M. A. P., Fernandes, T., Retore, M., Silva, M. S. J., Orrico, A. C. A., & Lopes, L. S. (2022). The influence of plant age and microbes-enzymatic additives on fermentation of total mixed ration silages of Capiacçu grass (*Pennisetum purpureum* Schum). *Tropical Animal Science Journal*, 45(1), 56–63. <https://doi.org/10.5398/tasj.2022.45.1.56>.

Andrade, R. C., Orrico Junior, M. A. P., Silva, Y. A., Retore, M., Fernandes, T., Orrico, A. C. A., Vargas Junior, F. M., & Amaral, I. P. O. (2024). Impact of monensin sodium and essential limonene oil on the fermentation and chemical composition of TMR silages with moisture variations. *Agriculture*, 14(1), 1–16. <https://www.preprints.org/manuscript/202407.1282/v1>

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>

Comino, L., Tabacco, E., Righi, F., Revello-Chion, A., Quarantelli, A., & Borreani, G. (2014). Effects of an inoculant containing a *Lactobacillus buchneri* that produces ferulate-esterase on fermentation products, aerobic stability, and fibre digestibility of maize silage harvested at different stages of maturity. *Animal Feed Science and Technology*, 198, 94–106. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.10.001>

Costa Araujo, C. M., Jara Galeano, E. S., Orrico Junior, M. A. P., Fernandes, T., Alves, J. P., Retore, M., Silva, M. S. J., Orrico, A. C. A., Garcia, R. A., & Machado, L. A. Z. (2023). Fermentative parameters and chemical composition of mixed silages from corn-crotalaria intercropping. *Animal Feed Science and Technology*, 305, 115779. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115779>

Cunha, S. S., Orrico Junior, M. A. P., Reis, R. A., Orrico, A. C. A., Schwingel, A. W., Reis, S. D. S., & Silva, M. S. J. (2020). Use of crude glycerine and microbial inoculants to improve the fermentation process of Tifton 85 haylages. *Tropical Animal Health and Production*, 52, 871–879. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-02082-y>

Fietz, C. R., & Fisch, G. F. (2008). *O clima da região de Dourados, MS* (Vol. 92, p. 32). Embrapa Agropecuária Oeste.

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(Supl.), 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>.

Lara, E. C., Basso, F. C., De Assis, F. B., Souza, F. A., Berchielli, T. T., & Reis, R. A. (2016). Changes in the nutritive value and aerobic stability of corn silages inoculated with *Bacillus subtilis* alone or combined with *Lactobacillus plantarum*. *Animal Production Science*, 56, 1867–1874. <https://doi.org/10.1071/AN14686>

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, 1–13. <https://doi.org/10.1093/jas/skab032>

Muck, R. E. (2010). Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(Supl. especial), 183–191. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982010001300021>

Muller, L. D., Bargo, F., & Ipharraguerre, I. R. (2015). Review: Monensin for grazing dairy cows. *Professional Animal Scientist*, 22, 115–119. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31074-3](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31074-3)

National Research Council. (2021). *Nutrient requirements of dairy cattle* (8th ed.). National Academies Press.

Ning, T., Wang, H., Zheng, M., Niu, D., Zuo, S., & Xu, C. (2017). Effects of microbial enzymes on starch and hemicellulose degradation in total mixed ration silages. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(2), 171–180. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0046>

Orrico Junior, M. A. P., Velazquez Duarte, J. A., Crone, C., Neves, F. D. O., Reis, R. A., Orrico, A. C. A., Schwingel, A. W., & Vilela, D. M. (2017). The use of crude glycerin as an alternative to reduce fermentation losses and enhance the nutritional value of Piatã grass silage. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46, 638–644. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000800002>

Orrico Junior, M. A. P., Vendramini, J. M. B., Erickson, J., Moriel, P., Silveira, M. L. A., Aguiar, A. D., Sanchez, J. M. D., Silva, W. L., & Silva, H. M. (2020). Nutritive value and fermentation characteristics of silages produced from different sweet sorghum plant components with or without microbial inoculation. *Applied Animal Science*, 36, 777–783. <https://doi.org/10.15232/aas.2020-02027>

Playne, M. J., & McDonald, P. T. (1966). The buffering constituents of herbage and of silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 17(6), 264–268. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740170609>

Pryce, J. D. (1969). A modification of Barker–Summerson method for the determination of lactic acid. *Analyst*, 94(1121), 1151–1152. <https://doi.org/10.1039/AN9699401151>

Sucu, E., & Çifci, E. A. (2016). Effects of lines and inoculants on nutritive value and production costs of triticale silages. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45, 355–364. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902016000700001>

Vendramini, J. M. B., Aguiar, A. D., Adesogan, A. T., Sollenberger, L. E., Alves, E., Galzerano, L., Salvo, P., Valente, A. L., Arriola, K. G., Ma, Z. X., & Oliveira, F. C. L. (2016). Effects of genotype, wilting, and additives on the nutritive value and fermentation of bermudagrass silage. *Journal of Animal Science*, 94, 3061–3071. <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0306>

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>

Wilkinson, J. M., & Rinne, M. (2018). Highlights of progress in silage conservation and future perspectives. *Grass and Forage Science*, 73(1), 40–52. <https://doi.org/10.1111/gfs.12327>

CAPÍTULO 3 – EFEITOS DE DIFERENTES DOSES DE ÓLEO ESSENCIAL LIMONENO E *BLEND* DE CINAMALDEÍDO E CARVACROL NA QUALIDADE FERMENTATIVA E NUTRICIONAL DE SILAGENS DE DIETA COMPLETA

RESUMO - Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes doses de óleo essencial de limoneno (OEL) e de um *blend* de óleos essenciais de cinamaldeído e carvacrol (BCC) na qualidade fermentativa e composição química-bromatológica das silagens de TMR produzidas a partir do capim - BRS Capiáçu. Foram utilizados silos de PVC com capacidade de 3,8 litros. A relação volumoso:concentrado foi de 33:67 na matéria seca (MS). O experimento foi conduzido em dois ensaios distintos, cada um focado em um tipo de aditivo, e ambos seguiram um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos: 0, 200, 400 e 600 mg/kg de matéria seca (MS) ensilada. Cada ensaio foi repetido em duas estações do ano (verão e outono), com cinco repetições por tratamento em cada período. As amostras de TMR foram analisadas para composição químico-bromatológica, perdas e qualidade fermentativa e estabilidade aeróbia. A adição de OEL aumentou significativamente a matéria seca da silagem de 0,047% por mg/kg ($p=0,02$), mas não teve efeito significativo na composição de fibra em detergente neutro e detergente ácido (FDN e FDA), na proteína bruta ou nos carboidratos não fibrosos ($p>0,05$). Além disso, o OEL elevou a recuperação de matéria seca e a produção de ácido láctico ($p=0,03$), favorecendo a preservação da silagem, embora não tenha alterado significativamente o pH ($p>0,05$). O OEL também diminuiu a produção de etanol ($p=0,04$) e teve um efeito negativo na estabilidade aeróbia quando utilizado em doses mais elevadas ($p=0,01$). BCC aumentou as frações de fibra, tanto FDN quanto FDA ($p<0,01$), e diminuiu os carboidratos não fibrosos ($p=0,02$), com impactos negativos nos nutrientes digestíveis totais (NDT) ($p=0,03$). Esse aditivo também foi eficaz em melhorar a recuperação de matéria seca ($p=0,02$) e reduzir as perdas por efluentes ($p=0,01$). O BCC também favoreceu a produção de ácido láctico ($p=0,04$), o que indica uma fermentação mais eficiente, e reduziu a produção de etanol ($p=0,03$). A estabilidade aeróbia foi positivamente influenciada pelo BCC, mostrando um aumento significativo na dose de 600 mg/kg ($p=0,01$). Conclui-se que as doses OEL em 200 mg/kg na MS e BCC em 600 mg/kg na MS influenciam positivamente as características fermentativas e a qualidade nutricional das silagens de TMR à base de capim - BRS Capiáçu, com destaque para a recuperação de matéria seca, ácidos orgânicos e estabilidade aeróbia.

Palavras-chave: Aditivos, ensilagem, fitogênicos.

1. INTRODUÇÃO

A silagem de TMR (*Total Mixed Ration*) é uma técnica utilizada para a conservar alimentos, oferecendo dietas balanceadas com menor necessidade de mão de obra e a possibilidade de utilizar ingredientes mais úmidos e menos palatáveis (Bueno et al., 2020). Contudo, durante o processo de armazenamento, a qualidade da silagem pode ser comprometida devido à presença de microrganismos indesejados ou a um processo fermentativo inadequado (Kung Jr. et al., 2018). Por isso, a adoção de métodos que assegurem boas condições de fermentação e a manutenção da qualidade nutricional, como o uso de aditivos, é essencial para garantir a produtividade constante do rebanho (Bezerra et al., 2019).

Esses aditivos podem potencializar o valor nutricional, preservar os nutrientes da silagem, reduzir as perdas fermentativas, melhorar a estabilidade aeróbica e garantir que o alimento fornecido mantenha os animais saudáveis (Kung Jr. et al., 2018; Alves et al., 2022). O uso de óleos essenciais tem mostrado resultados promissores no controle de microrganismos indesejáveis durante a ensilagem, além de melhorar a qualidade da fermentação (Andrade et al., 2024). No entanto, são frequentes os relatos de pesquisas que indicam tanto a redução das fermentações indesejáveis quanto das desejáveis com o uso de óleos essenciais. Cantoia Júnior et al. (2020) observaram que, em silagens de cana-de-açúcar, a adição de óleo essencial de capim-limão reduziu o crescimento de leveduras e a produção de etanol. Contudo, as produções de ácido láctico e a população de bactérias ácido-láticas também diminuiram à medida que a dose do óleo essencial aumentava.

Andrade et al. (2024) destacaram que a umidade do material ensilado exerce uma influência significativa sobre a ação do óleo essencial limoneno e, conseqüentemente, no perfil fermentativo. Na pesquisa, foi observado que doses mais altas do óleo essencial (600 mg/kg MS) em silagens mais úmidas (com 30% de MS) prejudicaram significativamente a fermentação láctica. O resultado foi oposto quando a mesma dose de óleo essencial foi aplicada em silagens com menor umidade (40% de MS), onde a fermentação láctica foi a mais efetiva.

Esses resultados demonstram que, além do tipo, da concentração e da dose dos óleos essenciais, a composição química e o teor de umidade também influenciam o sucesso do uso desses óleos como moduladores da fermentação em silagens. Portanto, embora existam estudos sobre a aplicação de óleos essenciais como aditivos em silagens, ainda é necessário aprofundar o entendimento sobre as doses

ideais e os impactos desses óleos na qualidade da fermentação e nos parâmetros nutricionais das diferentes silagens.

Nesse contexto, nossa hipótese é que os óleos essenciais podem atuar como moduladores da fermentação em silagens melhorando a produção de ácido lático e a estabilidade aeróbia, sem alterar significativamente o valor nutricional. O objetivo deste experimento foi avaliar os efeitos de diferentes doses de óleo essencial de limoneno (OEL) e de um *blend* de óleos essenciais contendo cinamaldeído e carvacrol (BCC) sobre o processo fermentativo e a qualidade nutricional de silagens de TMR à base de capim – BRS capiaçu.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Descrição do local e dos ensaios experimentais

A pesquisa foi conduzida na Embrapa Agropecuária Oeste (22°16'44" S, 54°49'10" W), no município de Dourados, MS, Brasil. Região classificada com clima Cwa (mesotérmico úmido, com verão chuvoso), conforme a classificação de Köppen (Fietz e Fisch, 2008).

O experimento foi composto por dois ensaios experimentais, nos quais cada aditivo foi avaliado separadamente quanto à sua influência sobre as características fermentativas e nutricionais de TMRs à base de capim - BRS capiaçu. O primeiro período experimental ocorreu em fevereiro de 2024 (verão) e o segundo em maio de 2024 (outono).

As doses testadas foram 0, 200, 400 e 600 mg/kg de MS para ambos os aditivos (OEL e BCC). Cada tratamento tinha cinco repetições, totalizando 20 silos experimentais por ensaio em cada período de avaliação. Os óleos essenciais testados são produtos comerciais: Activo Líquid® (Limoneno) e *Blend* Activo Líquid® (75% cinamaldeído e 25% carvacrol).

2.2 Produção da TMR e enchimento dos silos experimentais

A TMR foi formulada para atender às exigências nutricionais de vacas em lactação, com produção de 20 kg de leite/dia, peso corporal de 450 kg e consumo médio de 14 kg de MS/dia (NRC, 2001). A relação volumoso:concentrado foi de 64:33, com o volumoso composto por capim - BRS Capiáçu (com 90 dias de idade) e o concentrado formulado à base de milho moído, farelo de soja, fosfato bicálcico e

calcário calcítico. A proporção dos ingredientes e a composição química da dieta estão detalhadas na Tabela 4.

Tabela 4. Proporção dos ingredientes e composição química das TMRs formuladas para vacas leiteiras nos dois ensaios experimentais

Ingredientes	% da MS
Capim BRS - Capiapu	33,21
Milho moído	43,38
Farelo de Soja	19,67
Calcário Calcítico	1,83
Fosfato Bicálcico	1,90
Total	100,00
Matéria Seca, % MN	35,04
Cinzas	6,30
Poteína Bruta, % MS	18,10
Fibra em Detergente Neutro, % MS	35,54
Fibra em Detergente Ácido, % MS	23,29
Lignina, % MS	3,40
Extrato Etéreo, % MS	2,70
Amido, % MS	22,00
Carboidratos Não Fibrosos, % MS	37,01
Poder Tampão, meqg NaOH/100g MS	13,63
pH	6,78

MN = matéria natural; NaOH = Hidróxido de sódio.

Os aditivos a serem testados e suas respectivas doses foram previamente incorporados ao concentrado a fim de facilitar a mistura e garantir uma distribuição uniforme em toda a massa a ser ensilada. Em seguida, o volumoso foi misturado ao concentrado, assegurando uma mistura homogênea e uma distribuição completa dos aditivos. Após essa etapa, o material resultante foi utilizado para o preenchimento dos silos experimentais.

Como silos experimentais, foram utilizados tubos de PVC (10 cm de diâmetro e 50 cm de altura) com volume útil de 3,8 L. No fundo de cada silo foi colocado 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. O material foi compactado manualmente com auxílio de bastões de madeira para obtenção da densidade média de 700 kg MN/m³. 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 por 110 dias.

2.3 Coleta de amostras, cálculos das perdas fermentativa e metodologias utilizadas

Durante o enchimento dos silos foram coletadas duas amostras da TMR de cada tratamento em cada um dos ensaios. A primeira amostra, de aproximadamente 300 g, foi utilizada para determinar os teores de matéria seca e matéria mineral. A segunda amostra, de aproximadamente 70 g, foi congelada para posterior determinação dos valores de pH e da capacidade tampão.

Para o cálculo das 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 matéria 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).

Após a abertura, todo o material contido em cada silo experimental foi retirado e homogeneizado para a coleta de amostras. Uma amostra de aproximadamente 300 g de cada silo experimental foi enviada ao laboratório para análise da composição

químico-bromatológica e do perfil fermentativo. A composição química das TMRs foi determinada em espectrofotômetro modelo Foss 5000 (Eden Prairie, MN, USA) utilizando a calibração (WinISI version 4.6.11, FOSS Analytical A/S, Denmark) obtida através do Dairy One Forage Laboratory (Ithaca, NY) para determinar as concentrações de matéria seca (MS), Matéria Mineral (MM), proteína bruta (PB), nitrogênio amoniacal (N-NH₃), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF) e amido.

O pH (antes e depois da ensilagem), o poder tampão (apenas antes da ensilagem) e o perfil de ácidos orgânicos de cadeia curta do material foram determinados por meio do extrato aquoso extraído da TMR. Para obtenção do extrato aquoso, foram diluídos 9g TMR em 60 mL de água destilada e homogeneizados manualmente por aproximadamente 30 min. O pH do extrato foi determinado usando um potenciômetro digital (mPA210 MS Tecnopon) e a capacidade tampão foi determinada de acordo com (Playne and Mc Donald, 1966). Os ácidos orgânicos foram determinados por cromatografia gasosa com detector de massa (GCMS QP 2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) usando uma coluna capilar (Stabilwax, Restek, Bellefonte, EUA, 60 m, 0,25 mm Ø, 0,25 µm de polietileno *cross bond carbowax glicol*). A concentração de ácido láctico foi determinada pelo método colorimétrico proposto por (Pryce, 1969).

A estabilidade aeróbia foi determinada em todas as silagens após a abertura do silo. Amostras ($2 \pm 0,005$ kg) de cada repetição de cada tratamento 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 *data logger* (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).

2.4 Forma de análise dos dados

Os dados foram analisados usando o pacote “*stats*” no software R (v. 4.2.1; R Studio v. 2023.06.1). Antes da análise propriamente dita os dados foram submetidos ao teste de Shapiro–Wilk para testar normalidade dos resíduos. Os dados que não atendiam à premissa de normalidade foram submetidos à transformação Box-Cox

(Box and Cox, 1964). Os valores discrepantes (outliers) foram removidos se excedessem 3 desvios-padrão da média. Os dados foram analisados quanto a regressão polinomial, usando o seguinte modelo:

$$Y_{ik} = \mu + \text{poly}(D)_i + P_j + \epsilon_{ik}$$

Onde:

Y_{ik} representa a variável dependente para o i -ésimo nível de dose e k -ésima repetição.

μ é a média geral.

D_i corresponde ao efeito linear ou quadrático da dose (com $i=4$, indicando quatro níveis de dose).

P_j é o efeito aleatório da estação (com $j=2$, indicando duas estações).

ϵ_{ik} é o erro experimental.

As diferenças de tratamento foram consideradas significativas quando o valor de $P \leq 0,05$. Os dados foram reportados como médias dos mínimos quadrados (LSMeans) com erro padrão das médias (SEM). Resultados significativos para regressão foram apresentados nas figuras, acompanhados pelas respectivas equações de ajuste.

3. RESULTADOS

Na Tabela 5 pode ser observado os valores de recuperação de matéria seca, perdas de fermentação, pH, nitrogênio amoniacal e parâmetros fermentativos de silagem de TMRs com diferentes doses do OEL.

Tabela 5. Recuperação de matéria seca, perdas de fermentação, pH, nitrogênio amoniacal e parâmetros fermentativos de silagem de TMRs com diferentes doses do OEL

Variável	OEL (mg/kg MS)				SEM	p valor	
	Controle	200	400	600		L	Q
RMS, %	94,09	95,66	95,98	96,09	0,177	<0,001	<0,001
PG, % MS	1,24	1,96	2,44	1,24	0,165	0,74	<0,001
PE, kg/t MS	63,66	55,15	51,17	52,49	2,557	0,07	0,28
pH	3,83	3,91	3,88	3,88	0,011	0,23	0,06
N-NH ₃ , % NT	5,14	5,25	5,36	5,27	1,000	0,18	0,25
Ác. Lat, % MS	3,27	5,14	5,75	5,64	0,242	<0,001	<0,001
Etanol, % MS	0,24	0,12	0,12	0,13	1,092	0,04	0,04
Ác. Acet, % MS	1,16	1,26	1,15	1,14	0,031	0,41	0,19
Ác. Prop, mg/kg MS	109,53	114,36	94,38	94,36	4,656	0,11	0,79

Ác. Iso-but, mg/kg MS	2,63	1,93	3,04	2,78	0,221	0,44	0,63
Ác. But, mg/kg MS	23,13	19,80	29,30	31,40	2,773	0,17	0,59
Ác. Iso-Val, mg/kg MS	2,79	2,49	2,49	2,67	1,074	0,45	0,02
Ác. Val, mg/kg MS	6,00	3,27	1,60	1,86	1,242	0,09	0,47
EA, horas	111,99	110,36	114,47	99,81	1,684	0,01	0,01

RMS = Recuperação de matéria seca; MS = Matéria seca; PG = Perda por gases; PE = Perda por efluentes; N-NH₃ = Nitrogênio amoniacal; NT = Nitrogênio total; L = linear; Q = Quadrático; Ác. Lat = Ácido láctico; Ác. Acet = Ácido acético; Ác. Prop. = Ácido propiônico; Ác. Iso-But. = Ácido Iso-butírico; Ác. But = Ácido butírico; Ác. Iso-Val = Ácido iso-valerico; Ác. Val. = Ácido valérico; EA = Estabilidade aeróbia; OEL = Óleo essencial limoneno.

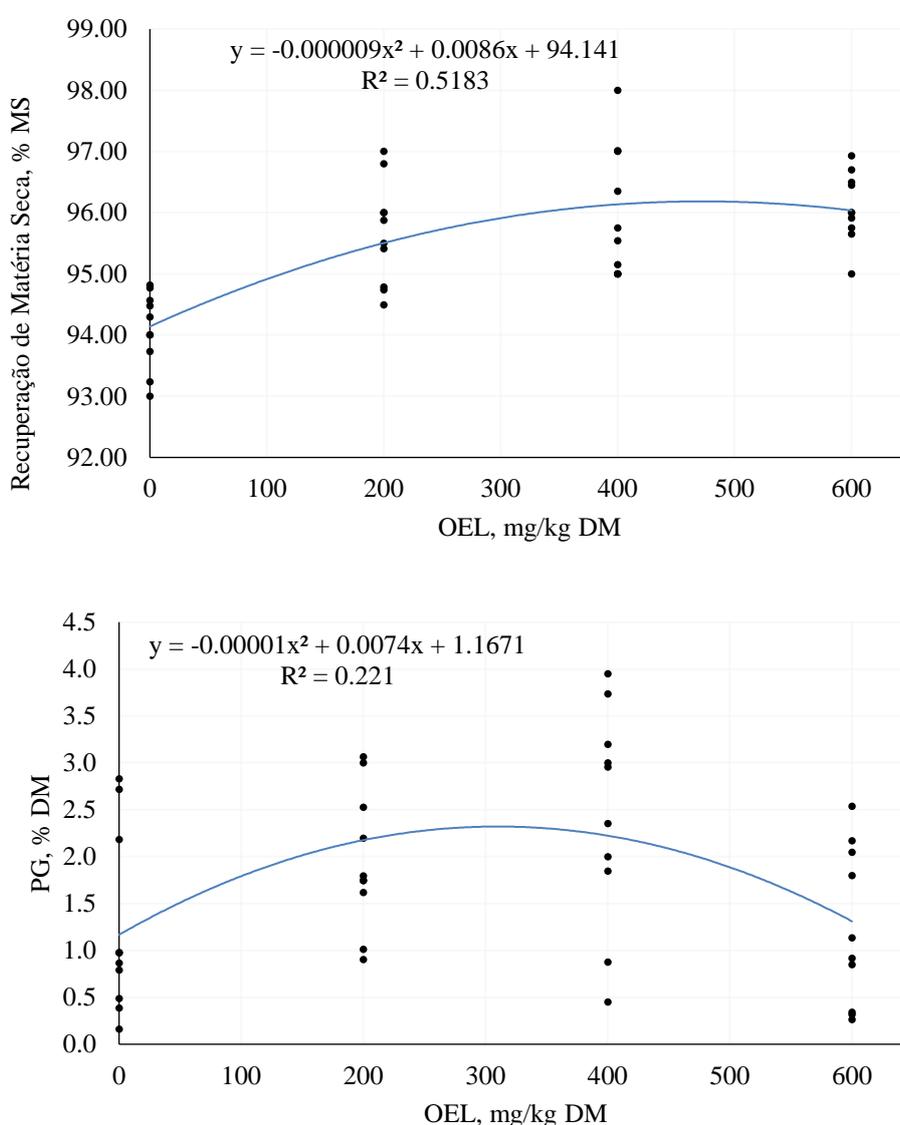
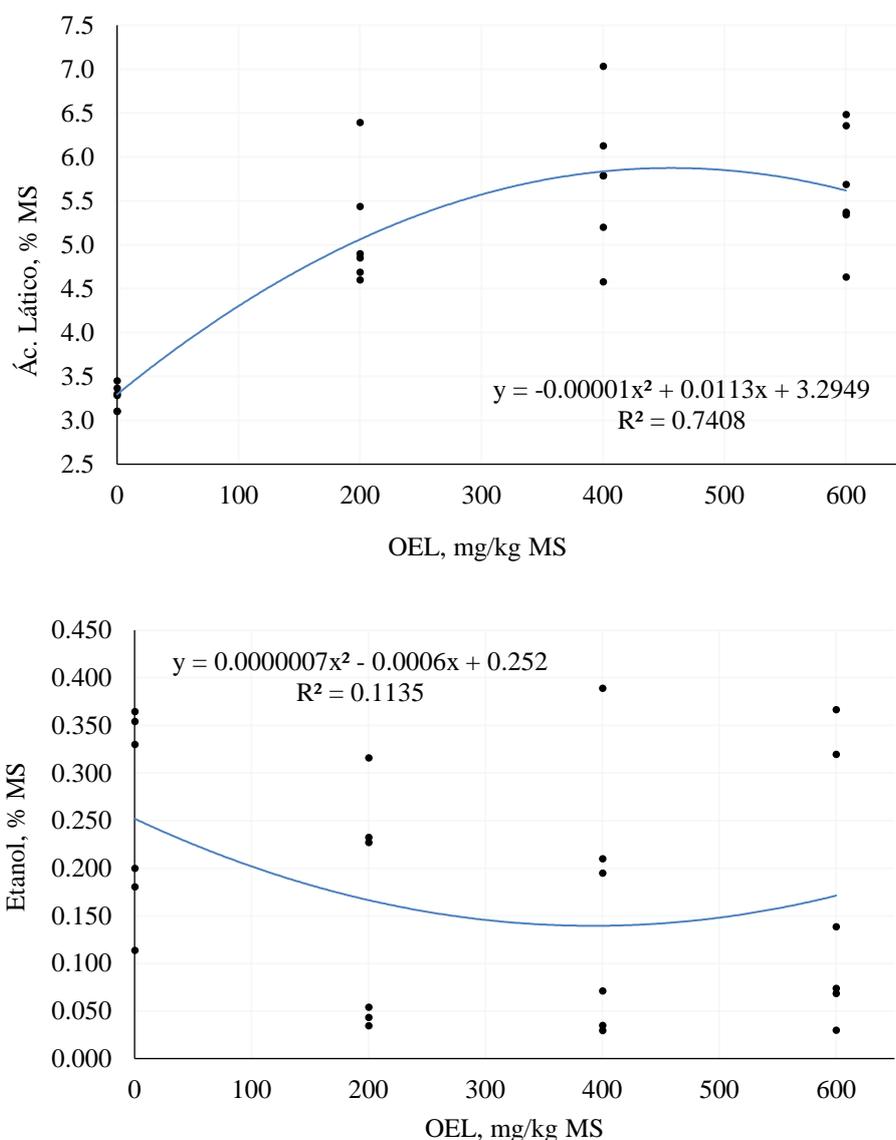


Figura 3. Recuperação de matéria seca e perda por gases de silagens TMR com diferentes doses do OEL

Para a recuperação de matéria seca (RMS) foi significativamente afetada pela dose de OEL, apresentando um aumento progressivo com o aumento da dose do aditivo. Tanto os modelos lineares quanto quadráticos foram significativos ($p < 0,01$)

para a RMS, no entanto o modelo quadrático foi o que explicou melhor os resultados a9melhor modelo) sendo possível observar o pico da curva de RMS na dose de 473 mg/kg MS (Figura 3). A PG também apresentou comportamento quadrático com máxima produção na dose 372 mg/kg de OEL na MS, que apresentou valores de 2,55% e valores mínimos de 1,16% par ao tratamento controle (Figura 4).

A Figura 4 apresenta gráficos que ilustram os efeitos significativos de variáveis como ácido láctico, etanol e estabilidade aeróbia em silagens TMR tratadas com diferentes doses de OEL.



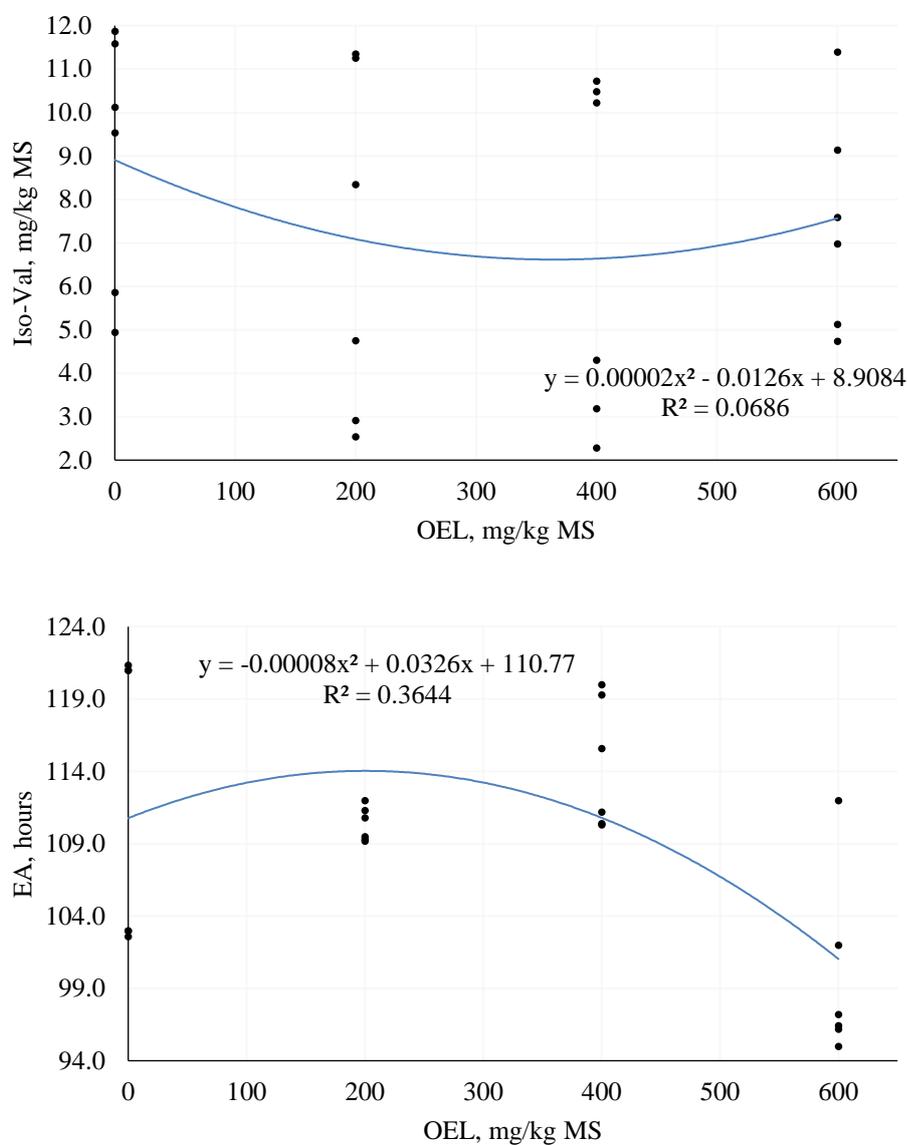


Figura 4. Concentrações de ácido láctico, etanol, iso-valérico e estabilidade aeróbia de silagens TMR com diferentes doses do OEL

A concentração de ácido láctico, aumentou com o incremento da dose de OEL, a dose de 456mg/kg MS foi a que aparentou maior produção de ácido láctico (5,87% da MS) enquanto na dose controle apresentou o menor valor deste ácido graxo (3,2% da MS).

As concentrações de etanol diminuíram nas silagens em função do aumento da dose de OEL, seguindo comportamento quadrático. O valor de etanol no controle foi de 0,252% da MS, enquanto na dose de 392 mg/kg reduziu para 0,13% da MS ($p = 0,04$).

No caso do ácido iso-valérico houve um efeito quadrático negativo ($p=0,02$), passando de 8,90 mg/kg MS no tratamento controle para 6,61 mg/kg MS para a dose de 365 mg OEL/kg MS (estimada de acordo com o modelo). Segundo o modelo, o melhor valor de estabilidade aeróbia (114 horas) foi obtido para a dose 203,7 mg de OEL/kg MS, o qual foi superior ao menor valor observado (101 horas) na dose de 600 mg/kg.

Na Tabela 6, são apresentados os dados sobre a composição químico-bromatológica de silagens TMR com diferentes doses do aditivo OEL.

Tabela 6. Composição químico-bromatológica de silagens de TMR a base de capim BRS - Capiapu com diferentes doses do OEL

Variável	OEL (mg/kg MS)				EMP	p valor	
	Controle	200	400	600		L	Q
MS, % MN	34,78	36,43	38,32	37,30	0,541	0,04	0,18
MM, % MS	8,13	7,42	7,32	6,93	0,170	0,01	0,59
PB, % MS	17,63	17,74	17,29	16,07	0,504	0,20	0,46
FDN, % MS	23,27	24,78	21,83	23,07	0,612	0,53	0,91
FDA, % MS	35,13	37,42	33,97	34,70	0,845	0,54	0,66
LIG, % MS	2,97	3,33	2,72	3,15	0,169	0,95	0,89
Amido, % MS	22,40	22,40	24,02	24,15	0,723	0,23	0,96
EE, % MS	3,22	2,97	2,72	3,18	0,110	0,72	0,10
CNF, % MS	37,12	34,75	38,72	39,33	0,790	0,14	0,34
NDT, % MS	69,83	69,00	70,83	70,67	0,417	0,21	0,67

MS = Matéria seca; MN = Matéria natural; Matéria Mineral = MM; PB = Proteína bruta; FDN = Fibra em detergente neutro; FDA = Fibra em detergente ácido; LIG = Lignina; EE = Extrato etéreo; CNF = Carboidrato não fibroso; NDT = nutrientes digestíveis totais; L = Linear; Q = Quadrático; OEL = Óleo essencial limoneno; EPM = Erro padrão da média.

Na figura 5, pode-se observar que para cada mg de OEL adicionado por kg de MS da silagem houve um aumento de 0,047% nos teores de MS, indicando um efeito linear positivo. Já para a MM houve uma diminuição linear de 0,00185%. A adição do OEL demonstrou um efeito significativo sobre a variável matéria seca (MS) e matéria mineral (MM) da silagem.

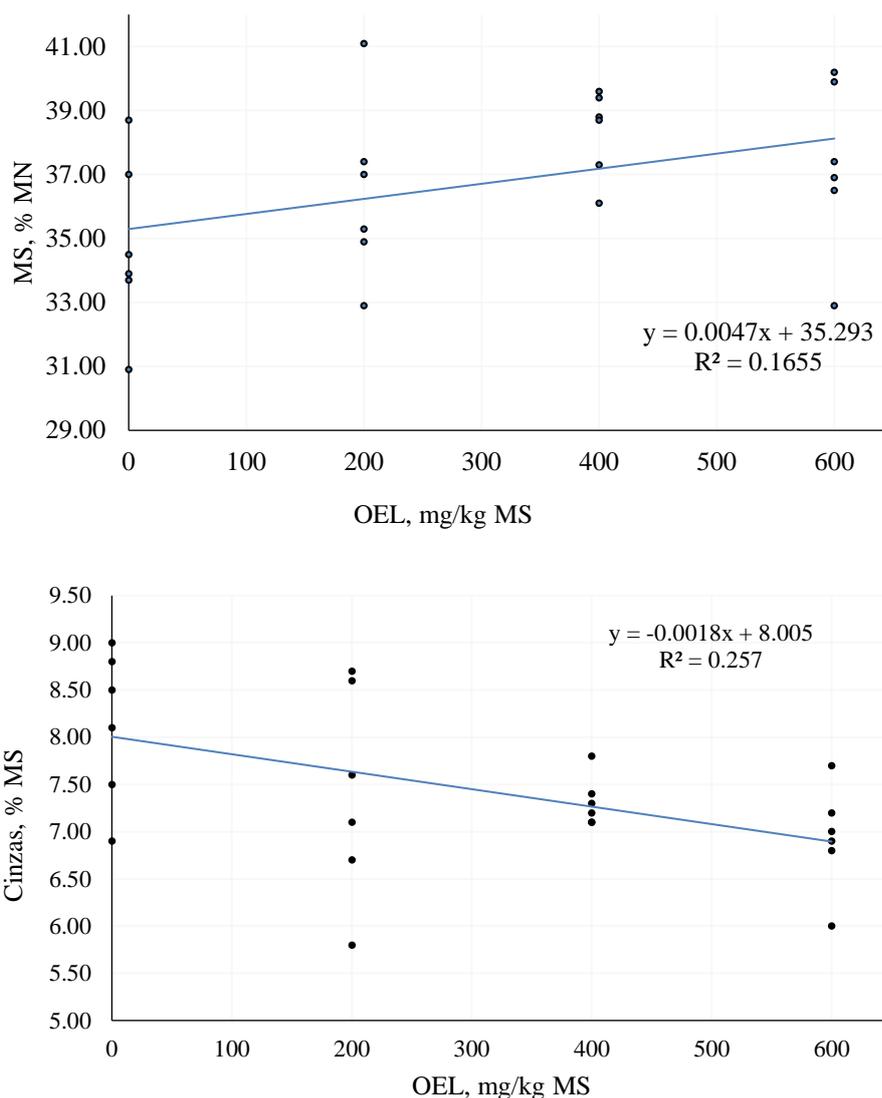


Figura 5. Matéria seca e matéria mineral de silagens TMR com diferentes doses do OEL

No entanto, os teores de CNF e NDT apresentaram diminuição à medida que a dose de BCC aumentou, ou seja, a cada incremento de 1 mg de BCC /kg na MS, houve uma redução de 0,0007 e 0,039% da MS de CNF e NDT, respectivamente.

Na Tabela 7, estão apresentados os valores de RMS, PG, PE, pH N-NH₃ das silagens de TMR tratadas com BCC.

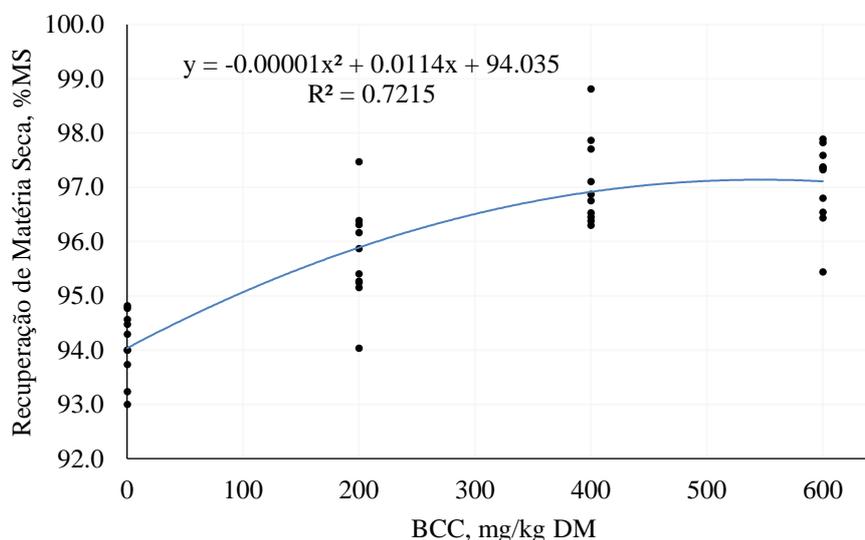
Tabela 7. Recuperação de matéria seca, perdas de fermentação, pH, nitrogênio amoniacal e parâmetros fermentativos de silagem de TMRs com diferentes doses de BCC

Variável	BCC (mg/kg MS)				EMP	<i>p</i> valor	
	Controle	200	400	600		L	Q
RMS, %	94,09	95,73	97,08	97,06	0,230	<0,001	<0,001
PG, % MS	1,07	0,99	1,91	0,72	0,008	0,85	0,18
PE, % kg/t MS	63,66	51,44	46,02	44,57	3,301	0,01	0,29

pH	3,83	3,89	3,85	3,87	0,010	0,43	0,36
N-NH ₃ , % NT	5,14	5,26	5,26	5,40	1,000	0,04	0,95
Ác. Lat, % MS	3,27	6,33	5,70	6,02	0,288	<0,001	<0,001
Etanol, % MS	0,26	0,12	0,22	0,14	0,020	0,15	0,54
Ác. Acet, % MS	1,16	1,24	1,32	1,36	0,063	0,16	0,87
Ác. Prop, mg/kg MS	114,29	122,07	132,60	122,19	1,004	0,66	0,62
Ác. Iso-but, mg/kg MS	2,63	1,67	2,81	4,45	0,380	0,05	0,07
Ác. But, mg/kg MS	24,10	36,06	29,09	36,58	2,243	0,14	0,56
Ác. Iso-Val, mg/kg MS	8,98	9,84	7,63	8,27	0,653	0,47	0,94
Ác. Val, mg/kg MS	1,43	1,47	1,85	2,04	0,143	0,09	0,85
EA, horas	111,99	122,50	131,16	119,84	2,477	0,16	0,02

RMS = Recuperação de matéria seca; MS = Matéria seca; PG = Perda por gases; PE = Perda por efluentes; N-NH₃ = Nitrogênio amoniacal; NT = Nitrogênio total; L = linear; Q = Quadrático; BCC = *blend* de óleo essencial (cinamaldeído e carvacrol). Ác. Lat = Ácido láctico; Ác. Acet = Ácido acético; Ác. Prop. = Ácido propiônico; Ác. Iso-But. = Ácido Iso-butírico; Ác. But = Ácido butírico; Ác. Iso-Val = Ácido iso-valerico; Ác. Val. = Ácido valérico; EA = Estabilidade aeróbia.

A recuperação de matéria seca (RMS) aumentou à medida em que a dose de BCC foi elevada (Figura 6). Os valores de RMS variaram de 95,03% no tratamento controle para 98,159% na dose de 548 mg/kg (melhor dose segundo o modelo quadrático de predição).



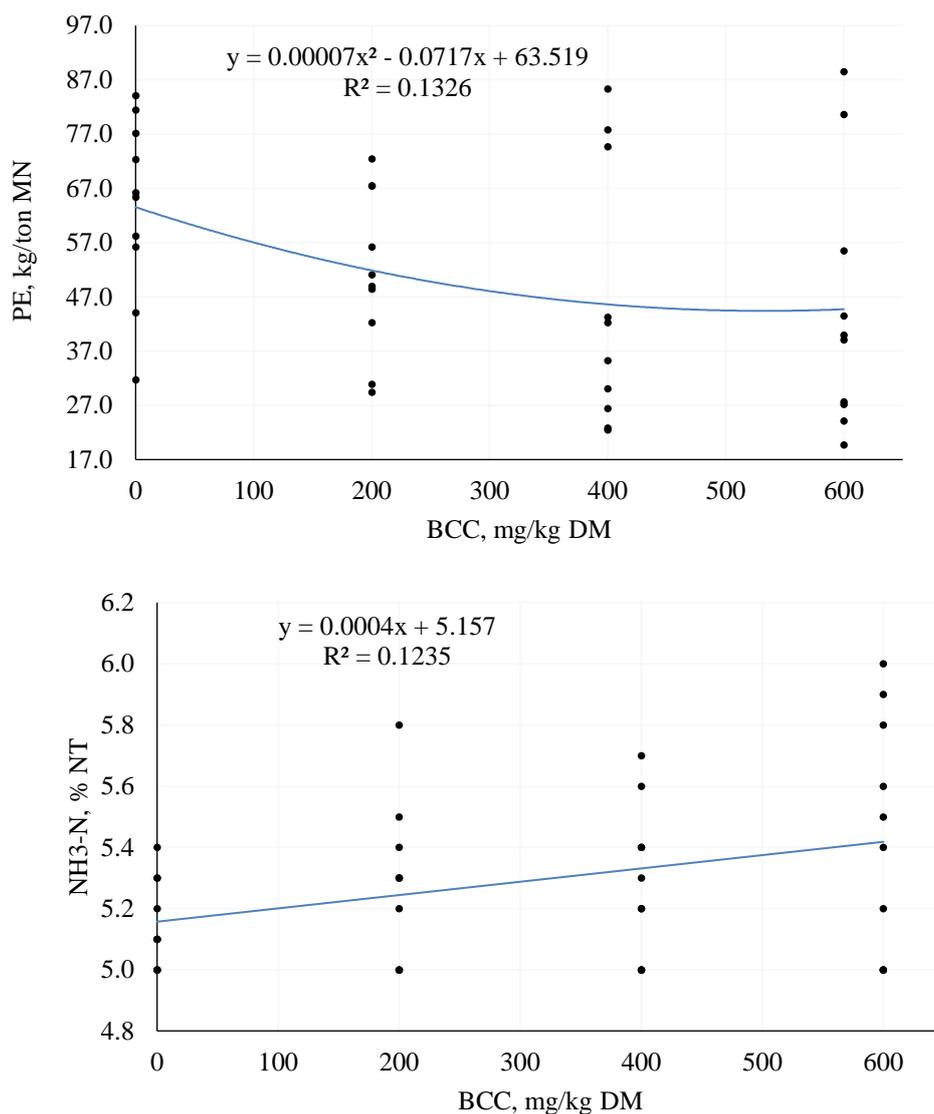


Figura 6. Recuperação de matéria seca, perda por efluente e nitrogênio amoniacal de silagens TMR tratadas com diferentes doses de BCC

Os valores de PE apresentaram um comportamento linear negativo em função das doses de BCC, com uma redução aproximada de 20 kg de efluentes por tonelada de MS ao comparar o tratamento controle com a dose máxima de BCC testada.

A concentração de N-NH₃ apresentou aumento significativo ($p=0,04$) com a adição de BCC. Segundo o modelo de predição (Figura 6), a concentração de N-NH₃ passou de 5,14% do NT no tratamento controle para 5,40% do NT na dose de 600 mg/kg, levando a um aumento de 0,00043% de N-NH₃/kg NT para cada mg de BCC.

Pode-se observar na Tabela 8 que o uso do BCC foi eficaz para aumentar a produção de ácido láctico, reduzir a produção de etanol e melhorar a estabilidade aeróbia das silagens, especialmente nas doses mais altas. No entanto, o efeito sobre outros ácidos fermentativos foi limitado.

A Figura 7 a seguir ilustra as concentrações de ácido láctico e ácido iso-butírico nas silagens TMR tratadas com o BCC, fornecendo uma visão detalhada do perfil fermentativo das silagens e sua relação com a composição nutricional observada.

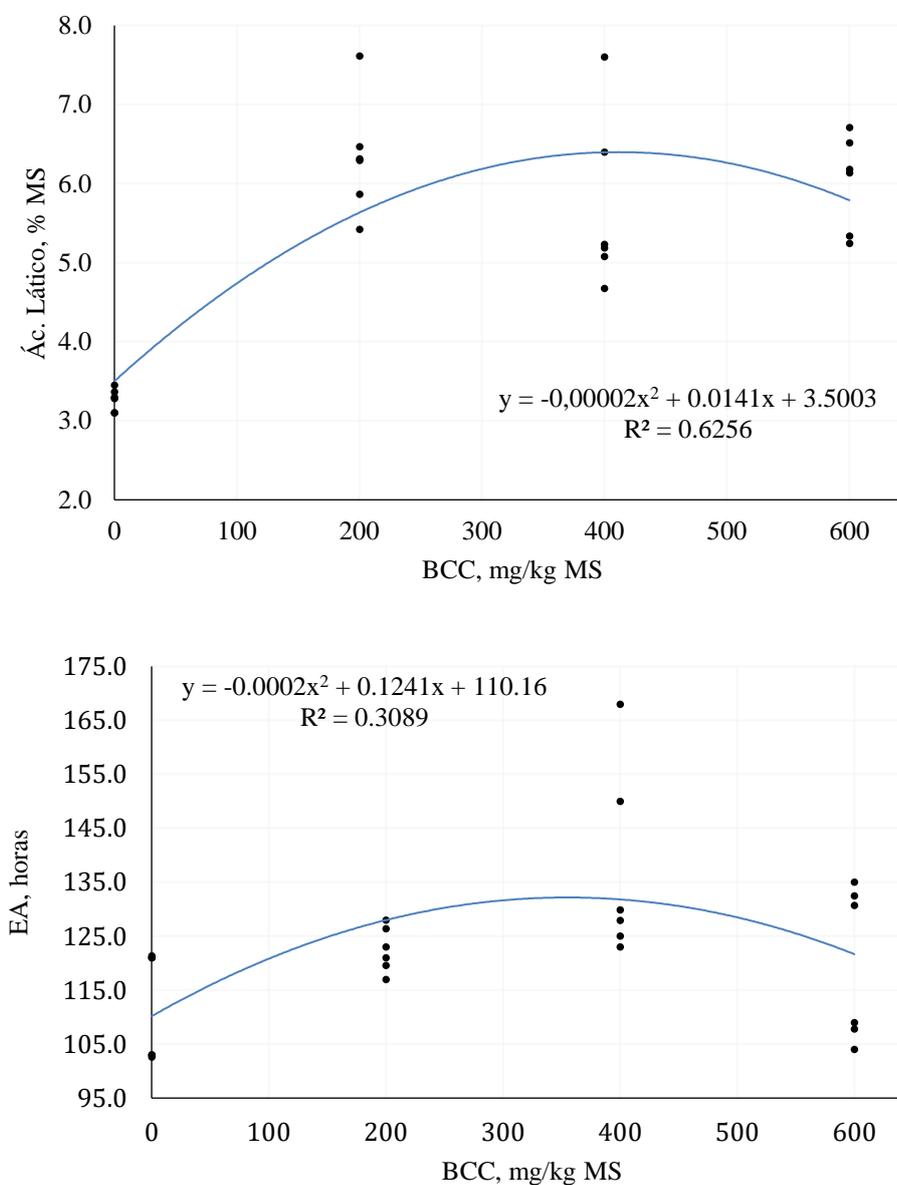


Figura 7. Concentrações de ácido láctico e estabilidade aeróbia de silagens TMR tratadas com diferentes doses de BCC

A concentração de ácido láctico (Figura 7) apresentou um aumento significativo com o incremento da dose de BCC, variando de 3,50% para o tratamento controle para 6,406% na dose de 412 mg/kg (melhor dose segundo o modelo de predição). Para o ácido iso-butírico, houve um aumento linear com as doses de BCC, variando de 2,63 mg/kg MS no controle para 4,45 mg/kg MS para a dose de 600 mg/kg

A estabilidade aeróbia (EA) também foi afetada pelo uso do BCC (Figura 8). A EA apresentou um comportamento quadrático, tendo a dose 359 mg/kg de MS, como sendo a mais indicada para proporcionar o maior valor de EA (131h).

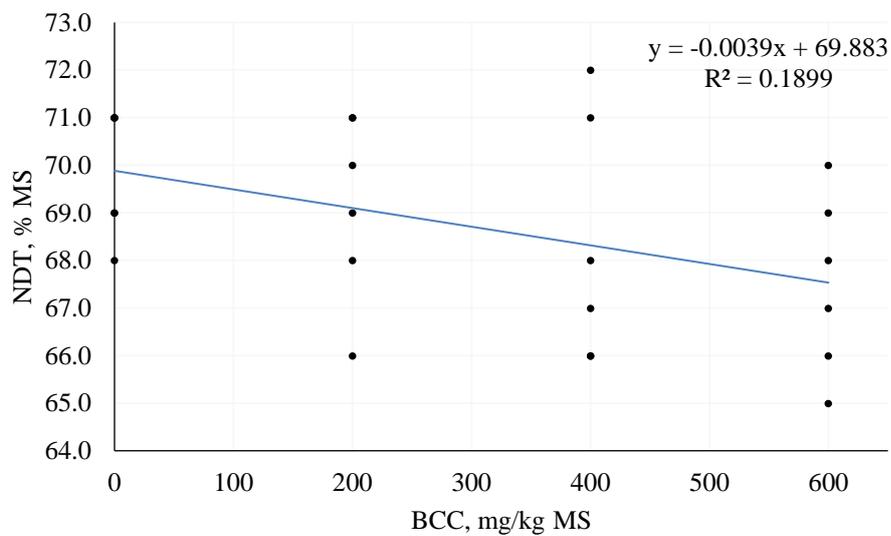
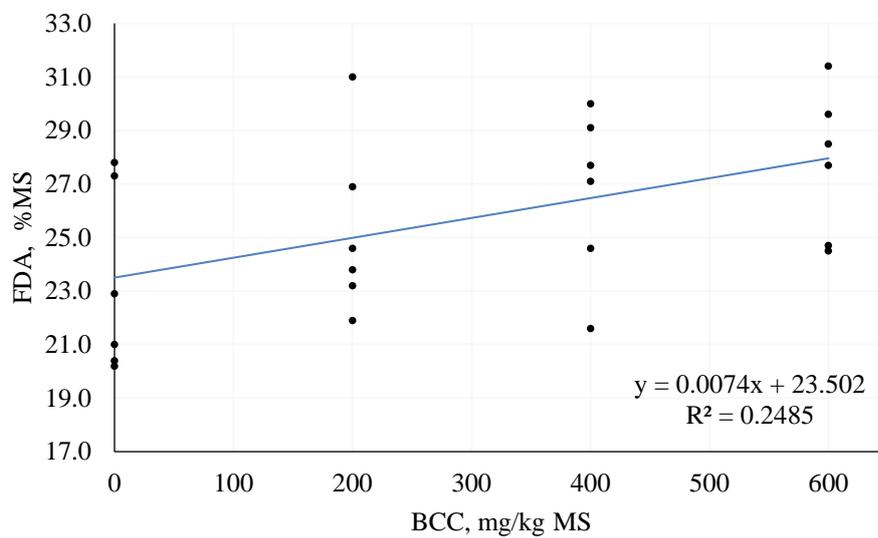
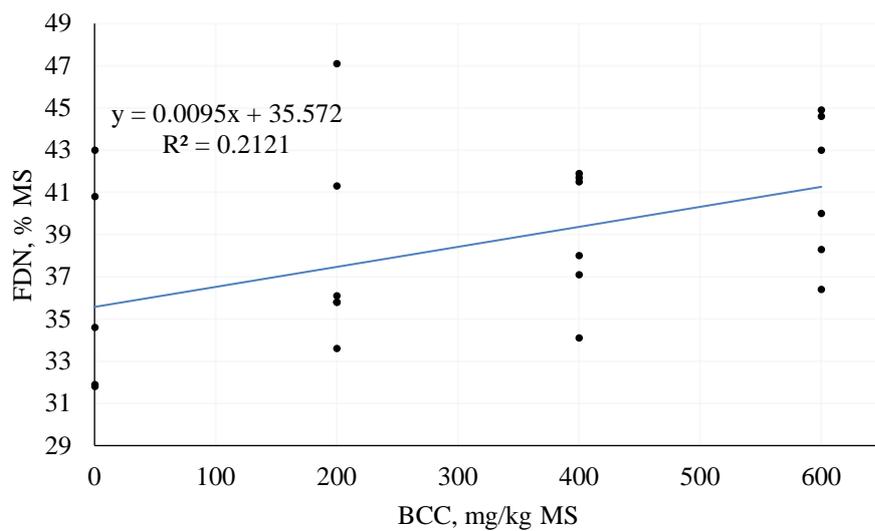
A composição nutricional de silagens TMR com diferentes doses do aditivo BCC estão apresentados na Tabela 8. Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) nas frações de fibra, especialmente FDN e FDA, além disso, também foram observadas variações nos teores de CNF e NDT (Figura 8).

Tabela 8. Composição químico-bromatológica de silagens de TMR a base de capim BRS - Capiçaçu com diferentes doses de BCC

Variável	BCC (mg/kg MS)				EMP	p valor	
	Controle	200	400	600		L	Q
MS, % MN	34,78	36,77	35,58	34,38	0,562	0,65	0,17
MM, % MS	8,13	7,50	7,78	7,48	0,124	0,13	0,49
PB, % MS	18,24	17,96	18,24	17,94	0,188	0,73	0,97
FDN, % MS	23,27	25,23	26,68	27,73	0,695	0,01	0,70
FDA, % MS	35,13	38,28	39,05	41,20	0,960	0,02	0,78
LIG, % MS	2,97	3,18	3,35	3,50	0,186	0,18	0,91
Amido, % MS	22,40	22,07	21,55	18,82	0,738	0,08	0,40
EE, % MS	3,22	3,25	3,20	2,75	0,130	0,12	0,24
CNF, % MS	37,12	35,30	33,90	32,75	0,827	0,04	0,83
NDT, % MS	69,83	69,17	68,33	67,50	0,419	0,02	0,91

CNF = Carboidrato não fibroso; EE = Extrato etéreo; FDN = Fibra em detergente neutro; FDA = Fibra em detergente ácido; LIG = Lignina; Matéria Mineral = MM; MS = Matéria seca; NDT = nutrientes digestíveis totais; PB = Proteína bruta; L = Linear; Q = Quadrático; BCC = *blend* de óleo essencial (cinamaldeído e carvacrol).

No tratamento controle, a FDN representou 23,27% da MS, enquanto na dose mais alta do BCC (600 mg/kg MS), a concentração aumentou para 27,73% da MS. Assim, para a FDN, observou-se um comportamento linear positivo ($P=0,01$), indicando que, a cada incremento de 1 mg de BCC /kg na MS, houve um aumento de 0,095% na FDN da silagem. De forma semelhante, a FDA também aumentou com o incremento da dose de BCC. A concentração de FDA variou de 35,13% no controle para 41,20% na dose de 600 mg/kg, desta forma, para a variável FDA, a cada 1 mg de adição do BCC por kg MS, observou-se um aumento de 0,074% no teor de FDA.



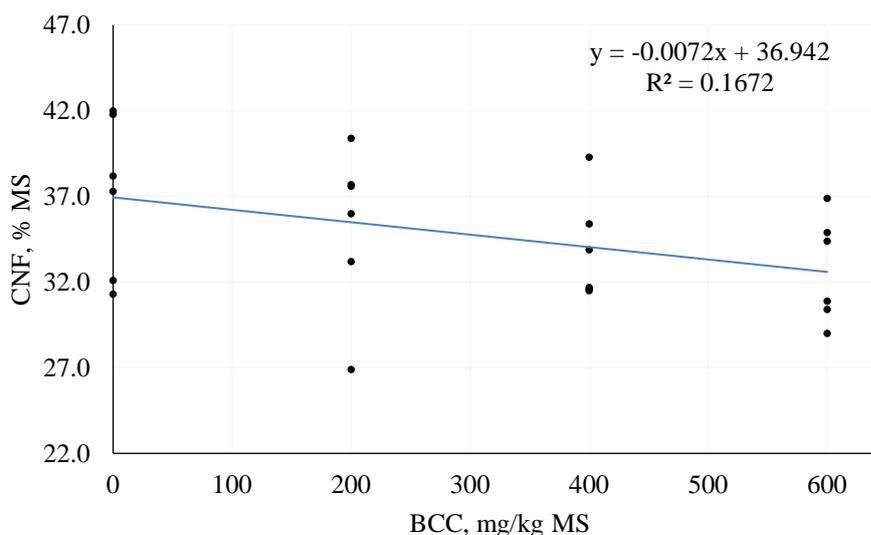


Figura 8. Teores de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais de silagens TMR tratadas com diferentes doses BCC

4. DISCUSSÃO

Silagens com altos valores de RMS tendem a apresentar maior predominância da fermentação láctica em relação às demais, como aconteceu neste estudo (Tabela 7). De acordo com Borreani et al. (2018), a fermentação láctica é a mais desejada durante a ensilagem, pois converte os açúcares dos alimentos em ácido láctico, resultando em menor perda energética e rápida redução do pH, o que inibe o crescimento de microrganismos indesejáveis. Esse processo ajuda a preservar os nutrientes, melhorar a qualidade da silagem, torná-la mais atraente para os animais, além de garantir sua conservação por períodos prolongados (Kung et al., 2018). Assim, incentivar a fermentação láctica é uma estratégia eficaz para preservar a qualidade do alimento ensilado e, o uso de substâncias que favoreçam a homofermentação é uma linha de pesquisa que merece ser mais explorada.

No presente trabalho, as doses crescentes de OEL resultaram em maiores RMS, isso pode ter ocorrido devido a maior conservação do material ensilado (maior produção de ácido láctico) e o controle de microrganismos patogênicos. Resultados semelhantes aos de Silva et al. (2024), que observaram que o óleo essencial de laranja doce também favoreceu a RMS nas doses de 400 e 600 mg/kg de MS (94,1% e 92,5% na MS). Por outro lado, Andrade et al. (2024) não encontraram diferenças significativas na RMS de silagens de TMR à base de sorgo forrageiro, embora os teores de ácido láctico tenham sido superiores ao tratamento controle. Ambos os

autores atribuíram a ação antimicrobiana dos óleos essenciais utilizados como o fator principal para que a fermentação láctica tenha sido efetiva em relação as demais fermentações.

O mecanismo de ação antimicrobiana do OEL está diretamente relacionado à sua capacidade de desestabilizar a membrana celular dos microrganismos (Gupta et al., 2021). Por ser um composto hidrofóbico, o OEL se acumula na bicamada lipídica da membrana citoplasmática, alterando sua fluidez e aumentando a permeabilidade (Gupta et al., 2021). Como consequência, ocorre o vazamento de íons, nucleotídeos e outras moléculas essenciais, resultando na perda da homeostase celular e, eventualmente, na morte do microrganismo (Espina et al., 2013). Estudos demonstram que o OEL apresenta atividade antibacteriana, tanto contra cepas Gram-positivas quanto Gram-negativas, e que o grau de ação antimicrobiana depende de vários fatores, entre eles, o pH do meio. Em meios com pH próximos a 4,0, sua ação bactericida é mais intensa em comparação a meios com pH próximos de 7,0 (Espina et al., 2013). Dessa forma, pode-se concluir que, quanto mais ácidas forem as silagens, mais eficaz será a ação deste óleo essencial no controle de cepas indesejáveis, principalmente aquelas que são resistentes mesmo em ambientes com pH baixo, como as leveduras, por exemplo. Tais explicações podem ser observadas pelos valores encontrados para as variáveis de pH e recuperação de matéria seca (Tabela 7).

Embora o OEL e outros óleos essenciais possuam forte ação sobre diversos grupos de microrganismos, a literatura mostra que as doses necessárias variam conforme o tipo de microrganismo (Chen et al., 2023). Na pesquisa de Ownagh et al., (2010), o óleo essencial de tomilho (*Thymus kotschyanus*) apresentou uma concentração mínima inibidora de 0,0625 mg/mL contra mofos comuns, como *A. niger*, *A. flavus* e *Fusarium oxysporum* e de 0,5 mg/mL contra leveduras. No entanto, para inibir algumas bactérias ácido-láticas, como *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactococcus lactis*, a concentração necessária deve ser de pelo menos 3–10 mg/mL (Gutierrez et al., 2008; Damtie e Mekonnen, 2020). Assim, Chen et al. (2023), concluíram que, de maneira geral, os óleos essenciais apresentam uma inibição seletiva, sendo necessária uma baixa concentração para inibir patógenos e uma concentração mais alta para combater bactérias ácido-láticas, o que os torna promissores para o uso em silagens. De forma semelhante, é possível que o mesmo tenha ocorrido no presente experimento com o uso do OEL, explicando os valores mais elevados de ácido láctico observado nos tratamentos que receberam esse aditivo.

O uso do OEL também reduziu a produção de etanol neste experimento e isso pode ter acontecido devido ao controle de microrganismos como as leveduras. Chaves et al. (2011) observaram menores populações de leveduras e uma redução na concentração de etanol ao adicionar óleos essenciais de canela, orégano e laranja doce (120 mg/kg de MS) em silagens de cevada ($p = 0,001$), sugerindo que os óleos essenciais têm potencial para controlar microrganismos indesejáveis. Cantoia Júnior et al. (2020) também relataram que doses moderadas de óleo essencial de capim-limão (entre 1,53 e 2,22 mL/kg) foram eficazes na redução da produção de etanol e das perdas fermentativas em silagens de cana-de-açúcar. Além disso, os autores observaram que a inclusão do óleo essencial de capim limão diminuí linearmente a contagem de leveduras e bolores, promovendo uma maior estabilidade aeróbia as silagens.

No presente trabalho, a estabilidade aeróbia apresentou comportamento quadrático e, este parâmetro se relaciona com a produção de ácido acético (pela ação antifúngica) e controle de microrganismos como as leveduras, porém, os maiores teores de ácido láctico (mesmo sendo desejável e benéfico para conservação) podem diminuir a estabilidade aeróbica das silagens. Segundo Borreani et al. (2018), embora a fermentação láctica seja desejável por sua capacidade de reduzir o pH da silagem e melhorar sua conservação, ela pode aumentar o potencial de crescimento de bolores e leveduras, especialmente quando a silagem é exposta ao oxigênio. Isso ocorre porque o ácido láctico pode servir como substrato para esses microrganismos, comprometendo a estabilidade aeróbia.

Nesse contexto, o ácido acético desempenha um papel crucial, pois, além de reduzir o pH, ajuda a inibir o crescimento de fungos e leveduras, melhorando a estabilidade aeróbia e reduzindo as perdas intensas após a exposição ao oxigênio. Segundo Wilkinson e Davies (2013), os ácidos orgânicos não dissociados da silagem atravessam facilmente a membrana plasmática das células microbianas, onde se dissociam, liberando íons H^+ e diminuindo o pH intracelular. Esse desequilíbrio obriga a célula microbiana a gastar energia para manter o pH, e, quando em excesso, pode levar à morte celular. Dessa forma, quanto menor for a dissociação do ácido orgânico no meio, mais eficaz será sua passagem pela membrana celular dos microrganismos, tornando-o mais eficiente no controle do crescimento microbiano. O ácido acético se dissocia menos que o ácido láctico devido ao seu pK_a mais elevado, facilitando sua passagem pela membrana celular. Silagens com mais de 0,8% de ácido acético não

dissociado (em base de matéria fresca) permanecem estáveis ao ar, enquanto concentrações menores tornam a silagem instável (Wilkinson e Davies, 2013).

No presente estudo, os teores de ácido acético não apresentaram variações significativas em função das doses de OEL, mostrando valores baixos quando comparados aos encontrados na literatura. Isso ajuda a explicar por que os tratamentos com maiores concentrações de ácido lático foram os que apresentaram as menores estabilidades aeróbias. Resultados distintos foram obtidos por Silva et al. (2024), que investigaram o efeito do óleo essencial de laranja doce em silagem de milho, nas doses de 200, 400 e 600 mg/kg da MS. Os autores observaram um efeito quadrático ($p = 0,022$) sobre a concentração de ácido acético, sendo que com a dose de 600 mg/kg de MS de óleo essencial resultou em um aumento de 72,72% na concentração de ácido acético, em comparação com o tratamento controle.

Em uma meta-análise sobre o efeito do uso de diferentes tipos de óleos essenciais sobre a qualidade nutricional de diversos tipos de silagens, (Susanto et al., 2023) concluíram que o uso de óleo essencial, de maneira geral, tende a aumentar os teores de MS, PB e EE da silagem. Segundo os autores, a adição dos óleos essenciais diminui a população de microrganismos nocivos, levando a uma perda mínima de nutrientes na silagem, desta forma, é comum observar maiores teores dos nutrientes mais digestíveis. Isso corrobora com os teores de MS observados no presente experimento que apresentou uma variação em função do incremento das doses do óleo essencial.

Como explicam Bueno et al. (2022), mesmo em silagens bem conservadas, a concentração de MM tende a aumentar em relação ao material de origem, devido à decomposição de uma pequena parte da matéria orgânica. Dessa forma, teores muito elevados de MM na silagem podem indicar maior degradação de componentes orgânicos durante a fermentação. No presente experimento, a MM diminuiu com o aumento da dose de OEL, o que pode ser explicada pelo menor consumo de nutrientes orgânicos conforme foi adicionado esse aditivo nas misturas.

De maneira geral, a falta de variação nos teores de nutrientes nas silagens produzidas com as doses de OEL é um resultado positivo, pois um aditivo que melhora a fermentação de uma forragem, sem causar alterações significativas em seu valor nutritivo, é uma característica interessante e altamente desejável.

No presente estudo, as silagens tratadas com BCC apresentaram um aumento nos teores de FDN e FDA, o que pode ser explicado pela estimulação das atividades enzimáticas, que promoveram a quebra das paredes celulares e liberaram

sacarose no meio, aumentando as concentrações de fibra. Essa liberação de sacarose provavelmente foi utilizada como substrato pelas bactérias ácido-láticas (LAB) para a produção de ácido lático, conforme Andrade et al. (2024). A maior disponibilidade de substrato fermentativo pode ter favorecido o aumento na produção de ácido lático, que contribui para a acidificação mais rápida da silagem, resultando em uma fermentação mais eficiente. Resultados semelhantes foram verificados por Kekik et al. (2019), que observaram maior concentração de ácido lático em silagens tratadas com óleos essenciais, indicando que estes compostos promovem uma fermentação mais eficaz, ajudando na preservação dos nutrientes da silagem.

Além disso, o uso de BCC foi eficaz na preservação da matéria seca durante o processo de fermentação, indicando que o BCC ajudou a reduzir as perdas de matéria seca durante a ensilagem, o que é um reflexo positivo para a qualidade nutricional da silagem. Kung Jr. (2008), ao estudar silagens de milho tratadas com *blend* de óleos essenciais, encontrou resultados semelhantes, com menores perdas de matéria seca nos tratamentos com óleos essenciais, o que pode ser atribuído ao controle eficaz de microrganismos indesejáveis e à maior eficiência na fermentação. Esses resultados também são corroborados por Pereira (2016), que encontrou perdas de matéria seca menores em silagens tratadas com óleos essenciais em comparação com o controle.

A fermentação láctica promove menores perdas no processo fermentativo como a perda por efluente, sendo que ao incluir o BCC foi possível observar menor lixiviação de nutrientes, o que é essencial para manter a qualidade nutricional da silagem. Dias (2024) também observou que o uso de *blend* de óleos essenciais não alterou significativamente a perda de efluentes, mas, neste estudo, o controle mais eficaz da perda de nutrientes sugere que o BCC teve um efeito positivo nesse aspecto.

O aumento de ácido iso-butírico nas silagens tratadas com BCC pode indicar uma fermentação subótima, favorecida por microrganismos indesejáveis, como as bactérias do gênero *Clostridium*. Esse aumento é prejudicial, pois não colabora tanto na redução do pH e compromete a qualidade da silagem, favorecendo microrganismos deteriorantes (Kung Jr. et al., 2008). No entanto, é importante notar que as concentrações desse ácido são baixas e não são capazes de comprometer a qualidade nutricional da silagem. Além disso, a adição de BCC parece ter controlado a produção de etanol nas silagens, refletindo uma maior eficiência do BCC no controle de fermentações causadas por leveduras.

As leveduras podem comprometer a estabilidade aeróbia da silagem, pois uma maior população de leveduras presentes durante o processo fermentativo, tende a acelerar ainda mais o crescimento destas no pós a abertura da silagem (Borreani et al., 2018). A adição de BCC aumentou a resistência à deterioração aeróbia, com a dose de 400 mg/kg MS apresentando a maior estabilidade. Além do efeito antimicrobiano do BCC que foi descrito por (Susanto et al., 2023), observou-se também um aumento no teor de ácido acético (1,32% na MS), que pode ter contribuído ainda mais para o controle de leveduras e bolores. Foskolos et al. (2016) também relataram maior estabilidade aeróbia em silagens tratadas com óleos essenciais, devido às concentrações elevadas de ácido acético.

Por outro lado, o aumento na concentração de NH_3 nas silagens com as doses mais altas de BCC podem ser reflexo de maior atividade proteolítica, indicando uma maior degradação das proteínas na silagem. No entanto, esse aumento na concentração de N- NH_3 não comprometeu a qualidade nutricional da silagem, o que é reforçado pelos resultados de Pereira (2016), que indicam que os óleos essenciais podem alterar a estrutura das proteínas sem comprometer significativamente a qualidade da silagem.

O uso de BCC nas silagens foi eficaz na promoção de uma fermentação mais eficiente, no controle de microrganismos indesejáveis e na melhora da estabilidade aeróbia. Embora o aumento na concentração de ácido iso-butírico e NH_3 tenha sido observado, não foram suficientes para influenciar negativamente na recuperação de matéria seca e a redução da perda de efluentes, indicam que o uso de óleos essenciais pode ser uma estratégia interessante para melhorar a qualidade da silagem sem prejudicar significativamente seu valor nutricional.

5. CONCLUSÕES

As doses de 200 mg/kg MS de OEL e 600 mg/kg MS de BCC melhoraram as características fermentativas, como recuperação de matéria seca, aumento da produção de ácido láctico e redução de etanol, além de favorecerem a estabilidade aeróbia e a manutenção da composição química da silagem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, J. P. (2021). *Potencial forrageiro das cultivares BRS Kurumi e BRS Capiaçú*. Dourados, MS: UFGD. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados. 95 f.

Andrade, R. C.; Orrico Junior, M. A. P.; da Silva, Y. A.; Retore, M.; Fernandes, T.; Orrico, A. C. A.; Vargas Junior, F. M.; Amaral, I. P. O. (2024). *Impact of Monensin Sodium and Essential Limonene Oil on the Fermentation and Chemical Composition of Total Mixed Ration Silages with Moisture Variations*. Agriculture, 14(1), 1319. Doi: 10.20944/preprints202407.1282.v1.

Bezerra, H. F. C., Santos, E. M., Oliveira, J. S. de, Carvalho, G. G. P. de, Cassuce, M. R., Perazzo, A. F., Freitas, D. de S. S., & Santos, V. da S. (2019). *Degradabilidade ruminal in situ de silagens de capim-elefante aditivadas com farelo de milho e inoculante da microbiota autóctone*. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 16(2), 265-277.

Borreani G, Tabacco E, Schmidt RJ, Holmes BJ, Muck RE. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. J Dairy Sci. 2018;101:3952-79. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>

Bueno, A. B. I., Lazzari, G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P. (2020). *Ensiling total mixed ration for ruminants: A review*. Agronomy, 10(789). Doi:10.3390/agronomy10060879.

Cantoia Júnior, R., Capucho, E., Garcia, T. M., 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(1): 114371. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2019.114371.

Chaves, A. V., Baah, J., Wang, Y., McAllister, T. A., & Benchaar, C. (2011). *Effects of cinnamon leaf, oregano and sweet orange essential oils on fermentation and aerobic stability of barley silage*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92(4), 906–915. Doi:10.1002/jsfa.4669.

Chen L, Li X, Wang Y, Guo Z, Wang G, Zhang Y. The performance of plant essential oils against lactic acid bacteria and adverse microorganisms in silage production. Front Plant Sci. 2023;14:1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1285722>

Costa Araujo CM, Jara Galeano ES, Orrico Junior MAP, Fernandes T, Alves JP, Retore M, Silva MSJ, Orrico ACA, Garcia RA, Machado LAZ. Fermentative parameters and chemical composition of mixed silages from corn-crotalaria intercropping. Anim Feed Sci Technol. 2023;305:115779. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115779>

Damtie D., Mekonnen Y. 2020. *Antibacterial activity of essential oils from Ethiopian thyme (Thymus serrulatus and Thymus schimperi) against tooth decay bacteria*. PLoS One 15 (10): e0239775. DOI: 10.1371/journal.pone.0239775.

Dias, D. M. B. *Uso de óleos essenciais de cravo, laranja e mistura como aditivo em silagem de milho*. Dissertação (Mestrado). Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Rio Verde, 2024. 54 p.

Espina, L., Gelaw, T. K., de Lamo-Castellví, S., Pagán, R., & García-Gonzalo, D. (2013). *Mechanism of Bacterial Inactivation by (+)-Limonene and Its Potential Use in Food Preservation Combined Processes*. PLoS ONE, 8(2), e56769. doi:10.1371/journal.pone.0056769.

- Foskolos, A., Cavini, S., Ferret, A., Calsamiglia, S. (2016). *Effects of essential oil compounds addition on ryegrass silage protein degradation*. Can. J. Anim. Sci. 96: 100–103. Doi: 10.1139/cjas-2015-0025.
- Gupta, A.; Jeyakumar, E.; Lawrence, R. (2021). *Journey of limonene as an Antimicrobial Agent*. J Pure Appl Microbiol, 15(3):1094-1110. Doi:10.22207/JPAM.15.3.01.
- Gutierrez J., Barry-Ryan C., Bourke P. *The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients*. Int J Food Microbiol. 2008, 10;124(1):91-7. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.02.028.
- Kekik, Y. S., Etkisi, K. T. U. Y. F. K. (2019). *Effect of Oregano, Cumin and Cinnamon Essential Oils on Fermentation Quality in Alfalfa Silages*, Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 56 (3):367-373, Doi: 10.20289/zfdergi.516234.
- Kung Jr., L., Shaver, R. D., Grant, R. J., Schmidt, R. J. (2018). *Silage review: Interpretation of Chemical, microbial and organoleptic components of silages*. J. Dairy Sci. 101(5): 4020-4033. Doi: 10.3168/jds.2017-13909.
- Kung, Jr. L., Williams, P., Schmidt, R.J., Hu, W. (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*, Journal of Dairy Science, 91(12), 4793-4800. Doi: 10.3168/jds.2008-1402.
- Ownagh A, Hasani A, Mardani K, Ebrahimzadeh S. *Antifungal effects of thyme, Agastache, and Satureja essential oils on Aspergillus fumigatus, Aspergillus flavus and Fusarium solani*. Vet Res Forum. 2010 Sep;1(2):99-105.
- Pereira, A. V.; Auad, A. M.; Ledo, F. J. S. Barbosa, S. (2016). *Pennisetum purpureum*. In: Fonseca, D. M. Da; Martuscello, J. A. (Org.). Plantas Forrageiras. Viçosa: Editora UFV. 1(1), p. 197-219.
- Silva, V. F.; Souza, F. J. A.; Silva, J. R. et al. (2023) *Uso de aditivos nas silagens de caprins tropicais: revisão de literatura*. Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, Curitiba, 7(2), p. 1-17.
- Susanto I, Rahmadani M, Wiryawan KG, Laconi EB, Jayanegara A. (2023). *A meta-analysis on the influence of essential oils on Chemical composition and fermentative quality of silage*. The 4th International Conference on Agriculture and Bio-industry. Doi:10.1088/1755-1315/1183/1/012006.
- 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):583. Doi: 10.3390/fermentation9070583.
- Wilkinson, J.M., & Davies, D.R. (2013). *The aerobic stability of silage: key findings and recent developments*. Grass and Forage Science, 68, 1-19.

CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo destacam o potencial dos aditivos LASA, OEL e BCC na melhoria das características fermentativas e nutricionais das silagens de TMR à base de capim - BRS capiaçu. Contudo, os efeitos observados nas variáveis sugerem que os mecanismos de ação desses aditivos ainda necessitam de investigações mais detalhadas, principalmente em relação aos microrganismos presentes durante o processo de fermentação. A interação entre os aditivos e as populações microbianas, como as bactérias lácticas e outros microrganismos competidores, pode influenciar diretamente a eficácia desses compostos na preservação da silagem. Assim, é fundamental um aprofundamento sobre como os aditivos afetam as comunidades microbianas para entender melhor suas ações e otimizar as condições de fermentação.

Além disso, algumas variáveis analisadas apresentaram diferenças significativas lineares com a dosagem, como a produção de ácido láctico e a recuperação de matéria seca. Isso indica que a resposta às doses pode ser dose-dependente e reforça a necessidade de explorar uma gama mais ampla de doses para LASA, OEL e BCC, a fim de determinar os níveis ideais para maximizar os benefícios. O estudo de outros óleos essenciais e seus efeitos no processo fermentativo também é uma área promissora. A combinação de diferentes aditivos, bem como a investigação de seus mecanismos de ação, pode proporcionar uma abordagem mais precisa e eficiente para melhorar a qualidade da silagem e sua preservação a longo prazo.

Além disso, é importante destacar que estudos com animais são necessários para verificar se as melhorias observadas nas características fermentativas e nutricionais das silagens também se refletem no desempenho animal como o aumento da produção de leite, ganho de peso ou eficiência alimentar.