

Estabilidade aeróbia em silagens de gramíneas tropicais tratadas com *Lactobacillus buchneri*

Aerobic stability in tropical forage silages treated with *Lactobacillus buchneri*

Estabilidad aeróbica en ensilados de forrajes tropicales tratados con *Lactobacillus buchneri*

Recebido: 23/11/2020 | Revisado: 24/11/2020 | Aceito: 28/11/2020 | Publicado: 03/12/2020

Danielle Nascimento Coutinho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0136-6536>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: daniellencout@gmail.com

Wagner Sousa Alves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3161-5254>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: wagnersousa_alves@hotmail.com

Alberto Jefferson da Silva Macêdo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2789-0221>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: alberto.macedo@ufv.br

Albert José dos Anjos

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5252-1225>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: albert@zootecnista.com.br

Cássia Aparecida Soares de Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8639-6429>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: cassia.freitas@ufv.br

Haviner Paixão de Sena

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3529-5473>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: senahaviner@gmail.com

Resumo

A técnica de ensilagem é uma forma de conservação de forragem através da preservação do alimento em meio ácido e isento de oxigênio. Algumas plantas forrageiras apesar de possuírem características desejáveis para ensilagem, possuem fatores predisponentes à baixa estabilidade aeróbia. Assim, objetiva-se neste trabalho, dissertar acerca dos efeitos do uso de *Lactobacillus buchneri* como alternativa para controlar a deterioração aeróbia de silagens das principais gramíneas tropicais utilizadas no Brasil. Gramíneas como a cana-de-açúcar, o milho e o sorgo são exemplos de forrageiras que apresentam problemas relacionados à estabilidade aeróbia, uma vez que possuem elevadas concentrações de carboidratos solúveis residuais e ácido láctico após a fase de fermentação ativa. Visando diminuir as perdas que podem ocorrer na fase aeróbia (pós-abertura do silo), pode-se utilizar inoculante microbiano (*L. buchneri*), cepa bacteriana heterofermentativa que produz ácido láctico e também ácido acético, este último possui características antifúngicas que atua inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis (leveduras e fungos filamentosos) e melhorando a estabilidade aeróbia de silagens. O uso de *Lactobacillus buchneri* durante o processo de ensilagem permite diminuir as perdas após abertura do silo, como também melhorar a qualidade sanitária de silagens devido a inibir o crescimento de microrganismos deterioradores.

Palavras-chave: Ácido acético; Bactérias do ácido láctico; Fermentação; Silagem de milho.

Abstract

The ensiling technique is a way of preserving forage by preserving the food in an acidic and oxygen-free environment. Some forage plants, despite having desirable characteristics for ensiling, may have predisposing factors to low aerobic stability. Thus, the objective of this work is to talk about the effects of using *Lactobacillus buchneri* as an alternative to control the aerobic deterioration of silages of the main tropical forage used in Brazil. Grasses such as sugarcane, corn and sorghum are examples of forages that present problems related to aerobic stability, since they have high concentrations of residual soluble carbohydrates and lactic acid after the active fermentation phase. In order to reduce the losses that may occur in the aerobic phase (after opening the silo), it is possible to use a microbial inoculant (*L. buchneri*), a heterofermentative bacterial strain that produces lactic acid and also acetic acid, the latter has antifungal characteristics that acts by inhibiting the growth of undesirable microorganisms (yeasts and filamentous fungi) and improving the aerobic stability of silages. The use of *Lactobacillus buchneri* during the ensiling process reduces losses after opening the silo, as

well as improving the sanitary quality of silages due to inhibiting the growth of deteriorating microorganisms.

Keywords: Acetic acid; Corn silage; Fermentation; Lactic acid bacteria.

Resumen

La técnica de ensilado es una forma de conservar el forraje conservando el alimento en un ambiente ácido y libre de oxígeno. Algunas plantas forrajeras, a pesar de tener características deseables para el ensilado, tienen factores predisponentes a una baja estabilidad aeróbica. Así, el objetivo de este trabajo es hablar sobre los efectos del uso de *Lactobacillus buchneri* como alternativa para controlar el deterioro aeróbico de ensilajes de las principales forrajes tropicales utilizadas en Brasil. Gramíneas como la caña de azúcar, el maíz y el sorgo son ejemplos de forrajes que presentan problemas relacionados con la estabilidad aeróbica, ya que presentan altas concentraciones de carbohidratos solubles residuales y ácido láctico luego de la fase de fermentación activa. Para reducir las pérdidas que puedan ocurrir en la fase aeróbica (después de abrir el silo), es posible utilizar inoculante microbiano (*L. buchneri*), una cepa bacteriana heterofermentativa que produce ácido láctico y también ácido acético, este último tiene características antifúngicas que actúa inhibiendo el crecimiento de microorganismos indeseables (levaduras y hongos filamentosos) y mejora de la estabilidad aeróbica de los ensilajes. El uso de *Lactobacillus buchneri* durante el proceso de ensilado reduce las pérdidas tras la apertura del silo, así como mejora la calidad sanitaria de los ensilajes por inhibir el crecimiento de microorganismos deteriorantes.

Palabras clave: Ácido acético; Bacterias del ácido láctico; Ensilaje de maíz; Fermentación.

1. Introdução

A ensilagem de plantas forrageiras é uma técnica universal de conservação de alimentos via acidificação, através do processo de fermentação anaeróbia. Neste processo, bactérias do ácido láctico (BAL) convertem açúcares solúveis em, predominantemente, ácido láctico e outros ácidos orgânicos, induzindo a diminuição do pH e a conservação do material ensilado (Weinberg & Muck, 1996).

Culturas que apresentam características adequadas para serem ensiladas, como é o caso do milho, sorgo e cana-de-açúcar, são predispostas a produzirem uma silagem aerobiamente instável (Wilkinson & Davies, 2012; Mogodiniyai-Kasmaei, et al., 2016). Esse efeito é ocasionado pela rota metabólica das bactérias do ácido láctico (BAL), que conduz a

uma fermentação principalmente homolática (maior produção de ácido lático), reduzindo a formação de ácido acético ou propiônico, que apresentam ação antifúngica mais efetiva que o ácido lático (Moon, 1983; Worfoold, 1990; Wilkinson & Davies, 2013), resultando em silagens aerobiamente instáveis.

A estabilidade aeróbia pode ser conceituada como a resistência da massa de silagem à deterioração após a abertura do silo, ou seja, a velocidade com que essa silagem se deteriora após exposição ao ar, sendo considerada a perda da estabilidade quando a temperatura da mesma ultrapassa em 2°C acima à temperatura ambiente (Kung Junior, et al., 2003). Esse aumento da temperatura está relacionado ao metabolismo de microrganismos que degradam ácido lático e açúcares residuais da silagem, produzindo dióxido de carbono e água (Ranjit & Kung Junior, 2000; Muck, 2013).

O processo de perda da estabilidade aeróbia é constituído de uma sucessão ecológica da população microbiana, iniciando pelas leveduras e seguida do surgimento de fungos filamentosos e bactérias aeróbias (Brüning, et al., 2017). Essa diferença no crescimento microbiano após a exposição ao oxigênio ocasiona dois picos de temperatura, o primeiro pico está associado ao desenvolvimento de leveduras que, segundo Pahlow et al. (2003), são responsáveis por iniciar o processo de deterioração, uma vez que alguns gêneros são tolerantes ao meio ácido, e possuem a capacidade de utilizar além dos carboidratos solúveis residuais o ácido lático como fonte de carbono em seu metabolismo. O consumo do lactato causa um aumento no pH, permitindo que fungos filamentosos e bactérias esporogênicas (bacilos e clostrídios) proliferem, ocasionando o segundo pico de temperatura da silagem (Muck, 2013; Wilkinson & Davies, 2013).

Assim, alguns aditivos têm sido utilizados na tentativa de reduzir as perdas durante o processo de conservação da forragem e também durante a fase aeróbia (pós-abertura do silo). Neste contexto, estudos têm mostrado a eficiência do *Lactobacillus buchneri* – BAL heterofermentativa obrigatória, que transforma hexoses e pentoses em ácido lático, ácido acético, etanol e CO₂ (McDonald, et al., 1991; Heinl, et al., 2011), além de converter anaerobiamente o ácido lático em ácido acético, 1,2-propanodiol e traços de etanol (Heinl, et al., 2012), contribuindo para a manutenção da estabilidade aeróbia do material ensilado.

A fermentação heterolática, como descrita anteriormente, resulta na formação de CO₂, o que caracteriza como perda de matéria seca (MS). Em uma metanálise avaliando o efeito do *L. buchneri*, Kleinschmit & Kung Junior (2006) observaram um incremento de 1% nas perdas de MS para silagens inoculadas com *L. buchneri* com dose acima de 5 ufc.g⁻¹ matéria natural (MN) em relação a silagem controle. Apesar disso, os benefícios promovidos pelo *L. buchneri*

através da melhoria na estabilidade aeróbia da silagem após abertura do silo, compensariam o aumento nas perdas ocorridas durante a fermentação (Borreani, et al., 2018), visto que os microrganismos aeróbios são a maior fonte de perdas na produção de silagem (Woolford, 1990).

Assim, objetiva-se neste trabalho, dissertar acerca dos efeitos do uso de *L. buchneri* como alternativa para controlar a deterioração aeróbia de silagens das principais gramíneas tropicais utilizadas no Brasil.

2. Metodologia

Conforme metodologia preconizada por Köche (2011), as informações levantadas sobre o tema e apresentadas nesta revisão de literatura, são de natureza qualitativa, com caráter descritivo, foram coletadas através de mecanismos de busca previamente conhecidos em sites de periódicos científicos indexados em bases de dados nacional e internacional, instituições de pesquisa e demais meios científicos que dispunham de informações relevantes sobre a temática abordada (Ludke & André, 2011; Pereira, et al., 2018).

3. Formação do Ácido Acético e Modo de Ação

O *L. buchneri* é classificado como uma BAL heterofermentativa obrigatória, por se tratar de uma espécie que não possui os genes que codificam as enzimas 6-fosfofrutocinase e frutose 1,6 bifosfato aldolase, o que os impedem de utilizar a via glicolítica; no entanto, estão presentes dois genes que codificam a enzima fosfoacetolase, permitindo a metabolização de hexoses e pentoses pela via das fosfoacetolase, confirmando sua natureza heterolática obrigatória (Heinl, et al., 2012). Dessa forma, o *L. buchneri* fermenta hexoses e pentoses formando ácido lático, acético e etanol, a proporção dos produtos finais formados irá depender do substrato utilizado (McDonald, et al., 1991; Rooke & Hatfield, 2003). No entanto, a principal rota de formação do ácido acético pelo *L. buchneri* é através da degradação do ácido lático em condições anóxicas, formando ácido acético e 1,2-propanodiol e traços de etanol (Driehuis, et al., 1999; Oude-Elferink, et al., 2001).

O 1,2-propanodiol, produto final da degradação do ácido lático, ainda pode ser degradado a 1-propanol e ácido propiônico pelo *L. diolivorans* (Krooneman, et al., 2002; Zhang, et al., 2010) e *L. reuteri* (Sriramulu, et al., 2008), formando outro ácido com alto poder inibitório sobre as leveduras. Recentemente, descobriu-se que a cepa de *L. buchneri*

KKP 2047p também é capaz de degradar o 1,2-propanodiol a ácido propiônico na presença da cobalamina, um cofator para reação (Zielińska, et al., 2017). Entretanto, esse processo ainda não foi descrito ocorrendo naturalmente em silagens (Muck, et al., 2018).

Diferentemente do ácido láctico, o ácido acético encontra-se em sua maior parte na forma não dissociada, devido as condições de pH baixos comumente encontrado em silagem, isso se deve ao seu pKa mais elevado (4,76) em relação ao do ácido láctico (3,86). O ácido não dissociado consegue difundir pela parede celular das leveduras, pois são lipossolúveis, ao chegar no citoplasma, que possui pH neutro, o ácido se dissocia, liberando prótons no meio, a célula com intuito de manter sua homeostase, passa a bombear esses prótons para fora, consumido ATP, esse processo reduz o crescimento das leveduras ou até mesmo levando a morte por exaustão energética (Stratford, et al., 2013) ou por apoptose (Ludovico, et al., 2001; Almeida, et al., 2009). Além do gasto energético para manter a homeostase, a acidificação do citoplasma provoca a dissipação do gradiente de prótons, que é utilizado para realizar o transporte de substrato (ex. glicose) para dentro da célula microbiana.

Complementando o mecanismo de ação do *L. buchneri*, Eikmeyer et al. (2015) demonstraram *in vitro* que, após aeração do meio de cultivo, o *L. buchneri* consumiu todo o oxigênio difundido no meio e continuou a crescer e produzir ácido acético e CO₂. Dessa forma, é possível que o *L. buchneri* reduza a quantidade de oxigênio na massa ensilada após a abertura do silo, formando condições microaerofílicas, reduzindo a atividade de microrganismos aeróbios, iniciadores da deterioração da silagem.

A principal rota de formação do ácido acético é a degradação do ácido láctico em condições anóxicas, como citado anteriormente. No entanto, ainda não está claro quando esse mecanismo é ativado no *L. buchneri*. Oude-Elferink et al. (2001), reportaram que a capacidade de conversão do lactato em acetato e 1,2-propanodiol só era iniciado em pH abaixo de 5,8 e quando a glicose do meio fosse toda consumida. Porém, na silagem, a conversão do ácido láctico para ácido acético inicia tardiamente, entorno de 30 dias após o fechamento do silo (Muck, et al., 2018), quando se é observando um aumento nas concentrações de 1,2-propanodiol (Oude-Elferink, et al., 2001; Santos, et al., 2015).

Borreani et al. (2018), reportaram em uma revisão que é necessário no mínimo 45 a 60 dias de fermentação para que sejam observados efeitos substanciais sobre a estabilidade aeróbia de silagens inoculadas com as cepas comerciais atualmente disponíveis; por isso, pesquisas que foquem em selecionar cepas capazes de iniciar a formação de ácido acético precocemente são necessárias, pois em condições de fazendas, muitos produtores realizam a abertura do silo para iniciar seu uso a partir de 30 dias de fermentação, reduzindo a eficiência

de utilização do inoculante.

4. Efeitos no Pós-Abertura do Silo

Como já comentado acima, o principal objetivo almejado ao se utilizar o *L. buchneri* como aditivo na ensilagem de gramíneas é seu efeito no pós-abertura, evitando a deterioração aeróbia que, quando iniciada, dificilmente é controlada, levando a redução do consumo e digestibilidade da silagem, além do risco da presença de micotoxinas e microrganismos patogênicos. No entanto, fatores operacionais também refletem sobre a estabilidade aeróbia, como densidade da silagem, qualidade da lona e da vedação do silo, manejo do painel do silo e aplicação homogênea do inoculante, são fatores que contribuem para uma adequada fermentação e boa estabilidade aeróbia da silagem produzida (Bernardes, et al., 2018).

A principal silagem utilizada no mundo e no Brasil é a silagem de planta inteira de milho (Daniel, et al., 2019), trata-se de uma cultura com alto valor nutricional e boa produtividade, além de apresentar características que favorecem o processo de ensilagem (colheita mecânica, alta produtividade, teores de MS e carboidratos solúveis adequados e baixo poder tampão). Entretanto, a silagem de milho está propensa a deterioração aeróbia quando o silo é aberto para alimentação dos animais (Silva, et al., 2018; Bernardi, et al., 2019).

Em um artigo de metanálise com 43 experimentos, Kleinschmit & Kung Junior (2006) avaliaram a atuação do *L. buchneri* no controle da estabilidade aeróbia de diferentes materiais, e observaram que a dose de inoculante utilizada afeta a resposta sobre a estabilidade aeróbia da silagem de milho. Os autores observaram que as silagens de milho não tratadas perderam sua estabilidade após 25h de exposição ao oxigênio, ao passo que as silagens tratadas com *L. buchneri* na dose de 10^5 ufc.g⁻¹ tiveram a perda de sua estabilidade após 35h de exposição aeróbia, enquanto as silagens submetidas à doses acima de 10^5 ufc.g⁻¹, se mantiveram estáveis por 503h, após exposição ao oxigênio. É provável que, nas silagens tratadas com a dose mais elevada, o *L. buchneri* tenha tido menor dificuldade em competir com a microbiota epifítica do milho, dominado a fermentação e produzindo mais ácido acético, inibindo o crescimento de leveduras e, conseqüentemente, apresentando melhor estabilidade aeróbia que a dose inferior e o tratamento controle.

Em estudo avaliando silagens de planta inteira de milho submetidas ao tratamento com *L. buchneri* PW01 (4×10^4 ufc.g⁻¹) e ao tratamento controle (água), Driehuis et al. (1999) observaram que a população de leveduras foi afetada de duas maneiras: reduzindo a sua

sobrevivência durante o processo de fermentação, levando a uma menor contagem de leveduras nas silagens inoculadas que nas silagens controle; e através da inibição do seu crescimento durante exposição ao ar. De acordo com Woolford (1990), quando a contagem de leveduras na abertura do silo é superior a $5 \log_{10} \text{ufc.g}^{-1}$ MN, a silagem torna-se propensa à deterioração aeróbia, essa citação é válida desde que as espécies de leveduras usuárias de lactato estejam em maior número (Kung Junior, et al., 2018b), pois o metabolismo do ácido láctico está associado a um aumento do pH da silagem, permitindo que fungos filamentosos e bactérias esporogênicas (bacilos e clostrídeos) proliferem (Muck, 2013.; Wilkinson & Davies, 2013).

Silagens que apresentam menores populações de leveduras tendem a ser aerobiamente mais estáveis que silagens com população de leveduras altas. Quando se trata de silagem de cana-de-açúcar, esse problema é ainda maior, pois além do impacto causado sobre a estabilidade aeróbia da silagem, as leveduras utilizam os açúcares disponíveis, formando etanol, o qual possui baixo efeito de conservação além de promover perdas elevadas de MS (Carvalho, et al., 2015; Silva, et al., 2018).

Em uma meta análise com 27 artigos, Rabelo et al. (2019) avaliaram o efeito do *L. buchneri* como inoculante na silagem de cana-de-açúcar. Os autores observaram um aumento de 30,8% na concentração de ácido acético promovido pela inoculação com *L. buchneri*. Contudo, esse aumento do ácido acético não foi suficiente para reduzir a população de leveduras, o que explica a falta de efeito da inoculação sobre a estabilidade aeróbia da silagem. Entretanto, a inoculação reduziu as perdas de MS em 19,7% e reduziu em 58,8% a produção de etanol.

O aumento da estabilidade aeróbia promovida pela inoculação com *L. buchneri* gera uma cascata de respostas positivas sobre a qualidade nutricional e higiênica da silagem. Auerbach & Nadeau (2020) observaram que a inoculação da silagem de milho com *L. buchneri* melhorou a estabilidade aeróbia e reduziu o acúmulo de temperatura na massa de silagem em relação à silagem controle. A redução da deterioração aeróbia contribui para a manutenção da digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica e preservação da energia metabolizável mesmo após 276 ou 336h de exposição ao oxigênio.

Segundo esses autores, foi observada uma forte correlação negativa entre o acúmulo de temperatura e a energia metabolizável da silagem, corroborando com Tabacco et al. (2011), que relataram uma redução na produtividade de leite estimada por tonelada de MS de silagem com o aumento do acúmulo de temperatura da silagem. Além disso, Tabacco et al. (2011) observaram que a inoculação da silagem de sorgo ou de milho com *L. buchneri* foi

eficiente em manter a produção de leite, mesmo após 7 dias de exposição ao oxigênio, quando comparado à silagem controle ou inoculada com *L. plantarum*.

Além de preservar o valor nutritivo da silagem após a abertura do silo, a inoculação com *L. buchneri* atua impedindo o desenvolvimento de fungos e conseqüentemente a formação de micotoxinas (Cavallarin, et al 2011; Auerbach & Theobald, 2020). Entretanto, a presença visual de fungos na silagem não se correlaciona com a presença de micotoxinas, não servindo como indicador de presença da mesma, mas serve como alerta, já que a presença do mesmo indica erros de manejo ou entrada de oxigênio no silo (Carvalho et al. 2016). Micotoxinas podem causar resposta anti-inflamatórias no intestino de bovinos, e o efeito é dependente da dose e do tipo de micotoxina (Reisinger, et al., 2019).

Gallo et al. (2018) observaram que a inoculação com *L. buchneri* reduziu a concentrações de fumonisina B2 e roquefortina C em silagem de milho após 32 dias de fermentação, no entanto, houve um aumento nas concentrações de ácido fusárico. Em um levantamento feito em fazendas do estado de Minas Gerais, Carvalho et al. (2016) relataram a presença de aflatoxina, zearalenona e ocratoxina em silagem de milho. A inoculação da silagem de centeio com uma mistura de *L. buchneri* e *P. acidilactici* inibiu a formação de micotoxinas, enquanto no controle foi observado a presença de roquefortina C ($0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$), após 240h de exposição ao oxigênio a concentração de roquefortina C aumentou para $85,2 \text{ mg.kg}^{-1}$, enquanto na silagem inoculada houve apenas um aumento de $0,04 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Auerbach & Theobald, 2020).

O *L. buchneri* também vem se destacando como inoculantes em silagens de grãos reidratados ou úmidos, melhorando o perfil fermentativo e a estabilidade aeróbia, evitando perdas no pós-abertura do silo (Silva, et al., 2019; Silva, et al., 2020), além disso, trata-se de um alimento com alto valor agregado, rico em energia. Silva et al. (2018) avaliaram silagem de grão de milho reidratado submetido a sete diferentes tratamentos: (1) controle; (2) LPPA – a combinação de *L. plantarum* e *Pediococcus acidilactici* em três doses, 1×10^5 , 5×10^5 e $1 \times 10^6 \text{ ufc.g}^{-1}$; (3) LB – *L. buchneri* NCIMB 40788 em três doses, 1×10^5 , 5×10^5 , $1 \times 10^6 \text{ ufc.g}^{-1}$. As silagens que receberam tratamento com *L. buchneri* (LB) produziram mais ácido acético e propiônico, que resultaram em menores contagens de leveduras. A redução na população de leveduras aumentou a estabilidade aeróbia das silagens inoculada com LB (>288h) em relação à silagem a controle ou inoculada com LPPA, isso compensaria o aumento das perdas de MS promovido pelo LB devido a sua natureza heterolática. Além disso, a inoculação com LB aumentou a digestibilidade da MS da silagem de grão reidratados quando comparado com o controle.

Ferraretto et al. (2015), observaram um aumento na proteína solúvel de silagem de grão úmido inoculadas, entretanto, esse aumento da proteína solúvel não promoveu diferenças significativas sobre a digestibilidade do amido. Em contrapartida, Saylor et al. (2020), observaram um aumento da proteína solúvel acompanhado do aumento da digestibilidade do amido quando a silagem de grão úmido foi inoculada com *L. buchneri* e *Lactococcus lactis* (39,5% proteína bruta e 57,5% amido), em relação a silagem controle (34,8% proteína bruta e 50,8% amido) e inoculada com *L. plantarum* e *Enterococcus faecium* (34,7% proteína bruta e 52,2% do amido).

O aumento da digestibilidade do amido em silagem de grãos úmidos ou reidratados inoculadas com *L. buchneri* pode ser explicado pela capacidade desses inoculantes de formar nichos que permitem o desenvolvimento de bactérias proteolíticas, através da conversão do ácido lático em ácido acético; e o aumento do pH da massa ensilada, uma vez que 60,4% da proteólise das proteínas que englobam o grânulo de amido é advinda da atividade de bactérias proteolíticas (Junges, et al., 2017), ao passo que as bactérias do ácido lático como *L. buchneri* possuem baixa atividade. O aumento da proteólise resulta na formação de amônia e proteína solúvel, que apresentam uma correlação positiva com a digestibilidade do amido (Ferraretto, et al., 2014).

5. Considerações Finais

A utilização de inoculantes bacterianos à base de *Lactobacillus buchneri* no processo de ensilagem tem se demonstrado uma alternativa eficiente em minimizar as perdas na fase de abertura do silo em materiais forrageiros distintos, sendo uma estratégia interessante para inibir a deterioração aeróbia, além de melhorar a qualidade higiênica ou melhorar o desempenho animal pelo incremento na digestibilidade do amido.

Sugere-se como estudos futuros a busca por cepas bacterianas mais eficazes em modular o padrão de fermentação da forragem, que consiga rapidamente estabelecer-se no material ensilado, possua alta taxa de crescimento, rápida produção de ácido acético, possua capacidade de competir com a microbiota epifítica da planta forrageira, além do mais, seria interessante também identificar e selecionar cepas microbianas que possuam a capacidade de sintetizar enzimas microbianas que possam melhorar a digestibilidade da fibra da forragem.

Referências

Almeida, B., Ohlmeier, S., Almeida, A.J., Madeo, F., Leão, C., Rodrigues, F., & Ludovico, P. (2009). Yeast protein expression profile during acetic acid-induced apoptosis indicates causal involvement of the TOR pathway. *Proteomics*, 9(3), 720-732. <https://doi.org/10.1002/pmic.200700816>

Auerbach, H., & Nadeau, E. (2020). Effects of Additive Type on Fermentation and Aerobic Stability and Its Interaction with Air Exposure on Silage Nutritive Value. *Agronomy*, 10(9), 1229. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091229>

Auerbach, H., & Theobald, P. (2020). Additive Type Affects Fermentation, Aerobic Stability and Mycotoxin Formation during Air Exposure of Early-Cut Rye (*Secale cereale* L.) Silage. *Agronomy*, 10(9), 1432. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091432>

Bernardes, T. F., Daniel, J. L. P., Adesogan, A. T., McAllister, T. A., Drouin, P., Nussio, L.G., Huhtanen, P., Tremblay, G. F., Bélanger G., & Cai, Y. (2018). Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4001-4019. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13703>

Bernardi, A., Härter, C. J., Silva, A. W., Reis, R. A., & Rabelo, C. H. (2019). A meta-analysis examining lactic acid bacteria inoculants for maize silage: Effects on fermentation, aerobic stability, nutritive value and livestock production. *Grass and Forage Science*, 74(4), 596-612. <https://doi.org/10.1111/gfs.12452>

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>

Carvalho, B. F., Ávila, C. L. S., Krempser, P. M., Batista, L. R., Pereira, M. N., & Schwan, R. F. (2016). Occurrence of mycotoxins and yeasts and moulds identification in corn silages in tropical climate. *Journal of Applied Microbiology*, 120(5), 1181-1192. <https://doi.org/10.1111/jam.13057>

Carvalho, B. F., Ávila, C. L. S., Miguel, M. G. C. P., Pinto, J. C., Santos, M. C., & Schwan, R. F. (2015). Aerobic stability of sugar-cane silage inoculated with tropical strains of lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science*, 70(2), 308-323. <https://doi.org/10.1111/gfs.12117>

Cavallarin, L., Tabacco, E., Antoniazzi, S., & Borreani, G. (2011). Aflatoxin accumulation in whole crop maize silage as a result of aerobic exposure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(13), 2419-2425. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4481>

da Silva, N. C., Nascimento, C. F., Campos, V. M., Alves, M. A., Resende, F. D., Daniel, J. L., & Siqueira, G. R. (2019). Influence of storage length and inoculation with *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of high-moisture corn and rehydrated corn grain silage. *Animal Feed Science and Technology*, 251, 124-133. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.03.003>

Da Silva, N. C., Nascimento, C. F., Nascimento, F. A., de Resende, F. D., Daniel, J. L. P., & Siqueira, G. R. (2018). Fermentation and aerobic stability of rehydrated corn grain silage treated with different doses of *Lactobacillus buchneri* or a combination of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici*. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4158-4167. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13797>

Daniel, J. L. P., Bernardes, T. F., Jobim, C. C., Schmidt, P., & Nussio, L. G. (2019). Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. *Grass and Forage Science*, 74(2), 188-200. <https://doi.org/10.1111/gfs.12417>

Driehuis, F., Ould-Elferink, S., & Spoelstra, S. F. (1999). Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *Journal of applied Microbiology*, 87(4), 583-594. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00856.x>

Eikmeyer, F. G., Heintl, S., Marx, H., Pühler, A., Grabherr, R., & Schlüter, A. (2015). Identification of oxygen-responsive transcripts in the silage inoculant *Lactobacillus buchneri* CD034 by RNA sequencing. *PLoS One*, 10(7), e0134149. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134149>

Ferraretto, L. F., Fredin, S. M., & Shaver, R. D. (2015). Influence of ensiling, exogenous protease addition, and bacterial inoculation on fermentation profile, nitrogen fractions, and ruminal *in vitro* starch digestibility in rehydrated and high-moisture corn. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 7318-7327. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9891>

Ferraretto, L. F., Taysom, K., Taysom, D. M., Shaver, R. D., & Hoffman, P. C. (2014). Relationships between dry matter content, ensiling, ammonia-nitrogen, and ruminal *in vitro* starch digestibility in high-moisture corn samples. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 3221-3227. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7680>

Filya, I., Sucu, E., & Karabulut, A. (2006). The effect of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of maize silage. *Journal of Applied Microbiology*, 101(6), 1216-1223. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03038.x>

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

Heinl, S., Spath, K., Egger, E., & Grabherr, R. (2011). Sequence analysis and characterization of two cryptic plasmids derived from *Lactobacillus buchneri* CD034. *Plasmid*, 66(3), 159-168. <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2011.08.002>

Heinl, S., Wibberg, D., Eikmeyer, F., Szczepanowski, R., Blom, J., Linke, B., Goesmann, A., Reingar, G., Helmut, S., Pühle, A., & Schlüter, A. (2012). Insights into the completely annotated genome of *Lactobacillus buchneri* CD034, a strain isolated from stable grass silage. *Journal of Biotechnology*, 161(2), 153-166. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.03.007>

Junges, D., Morais, G., Spoto, M. H. F., Santos, P. S., Adesogan, A. T., Nussio, L. G., & Daniel, J. L. P. (2017). Influence of various proteolytic sources during fermentation of reconstituted corn grain silages. *Journal of dairy science*, 100(11), 9048-9051. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12943>

Kleinschmit, D. H., & Kung Junior, L. (2006). A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 4005-4013. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72444-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72444-4)

Kleinschmit, D. H., Schmidt, R. J., & Kung Junior, L. (2005). The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 88(6), 2130-2139. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72889-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72889-7)

Köche, J. C. (2011). *Fundamentos de metodologia científica*. Editora Vozes. Retrieved from http://www.brunovivas.com/wp-content/uploads/sites/10/2018/07/K%C3%B6che-Jos%C3%A9-Carlos0D0AFundamentos-de-metodologia-cient%C3%ADfica_-teoria-da0D0Aci%C3%Aancia-e-inicia%C3%A7%C3%A3o-%C3%A0-pesquisa.pdf

Krooneman, J., Faber, F., Alderkamp, A.C., Ould-Elferink, S., Driehuis, F., Cleenwerck, I., & Vancanneyt, M. (2002). *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1,2-propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(2), 639-646. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-2-639>

Kung Junior, L., Smith, M. L., da Silva, E. B., Windle, M. C., da Silva, T. C., & Polukis, S. A. (2018b). An evaluation of the effectiveness of a chemical additive based on sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium nitrite on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 101(7), 5949-5960. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14006>

Ludke, M., & André, M. E. (2011). Pesquisa em educação: abordagens qualitativas. *Em Aberto*, 5(31). Retrieved from <http://rbepold.inep.gov.br/index.php/emaberto/article/viewFile/1605/1577>

Ludovico, P., Sousa, M. J., Silva, M. T., Leão, C., & Côrte-Real, M. (2001). *Saccharomyces cerevisiae* commits to a programmed cell death process in response to acetic acid. *Microbiology*, 147(9), 2409-2415. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-9-2409>

McDonald, P., Henderson, A. R., & Heron, S. J. E. (1991). *The biochemistry of silage*. Chalcombe publications.

Mogodiniyai Kasmaei, K., Dicksved, J., Spörndly, R., & Udén, P. (2016). Separating the effects of forage source and field microbiota on silage fermentation quality and aerobic stability. *Grass and Forage Science*, 72(2), 281-289. <https://doi.org/10.1111/gfs.12238>

Moon, N. J. (1983). Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *Journal of applied Bacteriology*, 55(3), 453-460. Retrieved from <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2672.1983.tb01685.x>

Muck, R. (2013). Recent advances in silage microbiology. *Agricultural and Food Science*, 22(1), 3-15. <https://doi.org/10.23986/afsci.6718>

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

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. Editora Universidade Federal de Santa Maria. Retrieved from https://www.ufsm.br/app/uploads/sites/358/2019/02/Metodologia-da-Pesquisa-Cientifica_final.pdf

Rabelo, C. H. S., Härter, C. J., Ávila, C. L. D. S., & Reis, R. A. (2019). Meta-analysis of the effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, chemical composition and aerobic stability of sugarcane silage. *Grassland Science*, 65(1), 3-12. <https://doi.org/10.1111/grs.12215>

Reisinger, N., Schürer-Waldheim, S., Mayer, E., Debevere, S., Antonissen, G., Sulyok, M., & Nagl, V. (2019). Mycotoxin Occurrence in Maize Silage—A Neglected Risk for Bovine Gut Health? *Toxins*, 11(10), 577. <https://doi.org/10.3390/toxins11100577>

Santos, A. O., Ávila, C. L. S., Pinto, J. C., Carvalho, B. F., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2016). Fermentative profile and bacterial diversity of corn silages inoculated with new tropical lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, *120*(2), 266-279. <https://doi.org/10.1111/jam.12980>

Saylor, B. A., Casale, F., Sultana, H., & Ferraretto, L. F. (2020). Effect of microbial inoculation and particle size on fermentation profile, aerobic stability, and ruminal *in situ* starch degradation of high-moisture corn ensiled for a short period. *Journal of Dairy Science*, *103*(1), 379-395. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16831>

Silva, L. D., Pereira, O. G., Silva, T. C., Leandro, E. S., Paula, R. A., Santos, S. A., Ribeiro, K. G., & Valadares Filho, S. C. (2018). Effects of *Lactobacillus buchneri* isolated from tropical maize silage on fermentation and aerobic stability of maize and sugarcane silages. *Grass and Forage Science*, *73*(3), 660-670. <https://doi.org/10.1111/gfs.12360>

Sriramulu, D. D., Liang, M., Hernandez-Romero, D., Raux-Deery, E., Lünsdorf, H., Parsons, J. B., & Prentice, M. B. (2008). *Lactobacillus reuteri* DSM 20016 produces cobalamin-dependent diol dehydratase in metabolosomes and metabolizes 1,2-propanediol by disproportionation. *Journal of Bacteriology*, *190*(13), 4559-4567. DOI: 10.1128/JB.01535-07

Tabacco, E., Righi, F., Quarantelli, A., & Borreani, G. (2011). Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *Journal of Dairy Science*, *94*(3), 1409-1419. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3538>

Taylor, C. C., Ranjit, N. J., Mills, J. A., Neylon, J. M., & Kung Junior, L. (2002). The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *85*(7), 1793-1800. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74253-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74253-7)

Valvasori, E., de Sousa Lucci, C., Arcaro, J. R. P., Pires, F. L., & Júnior, I. A. (1995). Avaliação da cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho para vacas leiteiras. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, *32*(4), 224-228. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.1994.52113>

Weinberg, Z. G., & Muck, R. E. (1996). New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews*, 19(1), 53-68. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1996.tb00253.x>

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>

Woolford, M. K. (1990). The detrimental effects of air on silage. *Journal of Applied Bacteriology*, 68(2), 101-116. Retrieved from <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2672.1990.tb02554.x>

Zhang, C., Brandt, M. J., Schwab, C., & Gänzle, M. G. (2010). Propionic acid production by cofermentation of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus diolivorans* in sourdough. *Food Microbiology*, 27(3), 390-395. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.11.019>

Zielińska, K., Fabiszewska, A., Świątek, M., & Szymanowska-Powałowska, D. (2017). Evaluation of the ability to metabolize 1, 2-propanediol by heterofermentative bacteria of the genus *Lactobacillus*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 26, 60-63. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.01.002>

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Danielle Nascimento Coutinho – 30%

Wagner Sousa Alves – 20%

Alberto Jefferson da Silva Macêdo – 15%

Albert José dos Anjos – 15%

Cássia Aparecida Soares de Freitas – 10%

Haviner Paixão de Sena – 10%