

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA / UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**SILAGEM DE MILHO INOCULADA OU NÃO COM
Lactobacillus buchneri SOBRE A ESTABILIDADE AERÓBIA
E DESEMPENHO DE TOURINHOS NELORE**

Carlos Henrique Silveira Rabêlo

Zootecnista

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA / UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**SILAGEM DE MILHO INOCULADA OU NÃO COM
Lactobacillus buchneri SOBRE A ESTABILIDADE AERÓBIA
E DESEMPENHO DE TOURINHOS NELORE**

Carlos Henrique Silveira Rabêlo

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, *campus* de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

2013

Rabêlo, Carlos Henrique Silveira
R114s Silagem de milho inoculada ou não com *Lactobacillus buchneri*
sobre a estabilidade aeróbia e desempenho de tourinhos Nelore /
Carlos Henrique Silveira Rabêlo. – – Jaboticabal, 2013
vi, 50 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013
Orientador: Ricardo Andrade Reis
Banca examinadora: Flávio Dutra Resende, Odilon Gomes Pereira
Bibliografia

1. Bactérias ácido-láticas. 2. Efeito probiótico. 3. Ferulato-esterase.
I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.085.52:633.15

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CARLOS HENRIQUE SILVEIRA RABELO - filho de Carlos Henrique Rabelo e Maria Ambrosina Silveira Rabelo, nasceu em Três Pontas - MG, em 09 de setembro de 1987. Ingressou na turma de 2006 do curso de Zootecnia da Universidade José do Rosário Vellano/UNIFENAS, Instituto de Ciências Agrárias, *campus* de Alfenas. Foi coordenador do Núcleo de Estudos em Pastagem e Forragicultura/NEPAR (2009 a 2010), bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico durante o período de Agosto de 2007 a Julho de 2010, obtendo o título de Zootecnista em dezembro de 2010. Em março de 2011 ingressou no curso de Pós-graduação, Mestrado em Zootecnia, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, *campus* de Jaboticabal - SP.

DEDICO

Primeiramente a Deus por iluminar meu caminho e me permitir chegar a este ponto com perspectivas de crescimento.

Aos meus queridos pais Carlos Henrique Rabelo e Maria Ambrosina Silveira Rabelo por me darem todo o apoio necessário durante toda a minha vida, pelo amor e carinho despendidos e, sobretudo, pelas lições de vida que me demonstraram e, além da ajuda por moldar meu caráter. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Aos meus irmãos Ana Carolina Silveira Rabelo e Flávio Henrique Silveira Rabelo, que apesar da distância que nos separam, são extremamente importantes na minha vida e, de alguma maneira, fizeram parte de toda minha trajetória até este momento. Vocês são fundamentais em minha vida.

À minha querida namorada Carla Joice Harter, pelo amor, carinho, companheirismo e momentos de descontração e felicidade. Agradeço por você existir em minha vida e por me fazer mais feliz todos os dias. Você foi o melhor presente que Deus podia me enviar. Te amo minha linda!

Às minhas tias Áurea Maria Silveira, Guiomar Augusta da Silveira Paixão e Maria Auxiliadora Silveira e Pereira Neves pelo apoio incondicional durante o período de graduação, carinho e pela grandiosa contribuição em meus estudos, me permitindo chegar até aqui, e por suas contribuições na construção do meu caráter.

A Universidade Estadual Paulista no nome de meu orientador Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis. A este agradeço pela confiança depositada em mim, por acreditar no meu potencial e no meu trabalho, pela grande contribuição acadêmica e científica e, também pela amizade.

Aos membros da Banca de Qualificação, Profa. Dra. Ana Cláudia Ruggieri e Prof. Dr. Gustavo Rezende Siqueira, e aos Professores da defesa Flávio Rezende e Odilon Gomes Pereira, pelas enormes contribuições na melhoria deste trabalho, pelos ensinamentos e pela disposição em ajudar.

À Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli, por disponibilizar o espaço para a condução do experimento e por suas contribuições científicas.

Às minhas colegas de Conservação de Forragens, Erika Christina Lara e Fernanda Carvalho Basso (Bassinho), em especial a esta última pessoa, que contribui sobremaneira com meus conhecimentos na área de Conservação e, acima de tudo, pela amizade estabelecida. Certamente foi uma das grandes pessoas que me ajudaram a chegar até aqui. Como não podia me esquecer, também agradeço à Bruno Nascimento Lodo (Margarida), pela amizade e ensinamentos, assim como pelos deliciosos pratos culinários.

Aos meus amigos que puderam tornar realidade este trabalho, Carlos Alberto Alves de Oliveira Filho (Baiano), Gustavo Souza Gonçalves (Mafioso), Fábio Henrique Kamada e Pedro Augusto Ribeiro Salvo (Cural), que trabalharam arduamente durante o confinamento dos bovinos e possibilitaram nossa contribuição no meio científico com relação ao tema abordado.

Aos meus colegas de estudo e trabalho, André Alves de Oliveira (Preto Veio), André Luis da Silva Valente (Mula Face), Fernando Henrique Meneguello de Souza (Nandinho) e Rondineli Pavezzi Barbero (Woody), pelos momentos de descontração e conversas jogadas fora.

A todos vocês, meu MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Processo fermentativo e qualidade da silagem.....	2
2.2. Estabilidade aeróbia e processo de deterioração.....	4
2.3. Efeito probiótico e desempenho animal.....	8
2.4. Utilização de inoculantes bacterianos sobre a qualidade da carcaça.....	12
3. REFERÊNCIAS.....	12
CAPÍTULO 2 – SILAGEM DE MILHO INOCULADA OU NÃO COM <i>Lactobacillus buchneri</i> SOBRE A ESTABILIDADE AERÓBIA E DESEMPENHO DE TOURINHOS NELORE.....	19
1. INTRODUÇÃO.....	19
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
2.1. Procedimento de ensilagem.....	20
2.2. Abertura dos silos e amostragem.....	23
2.3. Ensaio de estabilidade aeróbia.....	23
2.4. Avaliação do desempenho de novilhos Nelore.....	23
2.5. Ensaio de digestibilidade.....	25
2.6. Parâmetros ruminais.....	26
2.7. Avaliação da carcaça.....	26
2.8. Análises Laboratoriais.....	27
2.9. Análise Estatística.....	29
3. RESULTADOS.....	31
3.1. Características fermentativas da silagem inoculada com <i>L. buchneri</i>	31
3.1.1. Camada superficial dos silos.....	31
3.1.2. Massa de silagem fornecida aos animais.....	32
3.2. Desempenho animal.....	33
4. DISCUSSÃO.....	37
4.1. Características fermentativas da silagem inoculada com <i>L. buchneri</i>	37

4.1.1. Camada superficial dos silos.....	37
4.1.2. Massa de silagem fornecida aos animais.....	39
4.2. Desempenho animal.....	40
5. CONCLUSÕES.....	45
6. REFERÊNCIAS.....	45

SILAGEM DE MILHO INOCULADA OU NÃO COM *Lactobacillus buchneri* SOBRE A ESTABILIDADE AERÓBIA E DESEMPENHO DE TOURINHOS NELORE

RESUMO – Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da aplicação do *Lactobacillus buchneri* sobre as características fermentativas, dinâmica microbiana e estabilidade aeróbia de silagens de milho. Avaliou-se também o desempenho de novilhos Nelore recebendo dietas com silagem de milho inoculada ou não com este microrganismo associado a duas relações volumoso:concentrado. Avaliaram-se quatro dietas em arranjo fatorial 2 (silagem de milho inoculada ou não com *L. buchneri*) x 2 (duas relações volumoso:concentrado: 60:40 e 40:60). Foram utilizados 28 novilhos da raça Nelore com peso corporal inicial médio de $322,7 \pm 10,2$ kg. Os animais permaneceram em adaptação por 18 dias, iniciando-se os períodos experimentais (quatro períodos de 28 dias cada) após este período. Utilizaram-se ainda quatro animais canulados no rúmen para avaliação dos parâmetros ruminais. Com relação às características das silagens, constatou-se redução no teor de fibras e na concentração de ácido lático pela utilização do *L. buchneri*. Do mesmo modo, este microrganismo reduziu a população de levedura presente na massa proveniente da camada superficial dos silos após abertura dos silos. A inoculação com *L. buchneri* associado a 60% de concentrado na dieta promoveu maior consumo de matéria seca (MS) e energia pelos animais que receberam esta dieta. A associação entre silagem inoculada e 60% de concentrado na dieta resulta em melhora na utilização do alimento, visto que esta dieta permitiu reduzir a relação acetato:propionato no rúmen dos animais alimentados com esta dieta. O desempenho de bovinos de corte terminados em confinamento melhora devido à utilização de silagem de milho inoculada com *L. buchneri* associado ao maior nível de concentrado na dieta.

Palavras-chave: bactérias ácido-láticas, efeito probiótico, ferulato-esterase

CORN SILAGE INOCULATED OR NOT WITH *Lactobacillus buchneri* ON THE AEROBIC STABILITY AND PERFORMANCE OF NELLORE YOUNG BULLS

ABSTRACT – The aim of this research was to evaluate the effects of application of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, occurrence of microorganisms and aerobic stability of corn silages. The performance of Nellore young bulls also was evaluated when these animals fed with corn silage inoculated or not associated with two forage: concentrate ratios. The diets evaluated were: corn silage inoculated or not associated with 40 or 60% of concentrate. Twenty eight Nellore young bulls were used with average weight of 322.7 ± 10.2 kg. The animals kept 18 days in adaptation. After, four periods of 28 days each were conducted. Four canulated animals still used to evaluate the ruminal parameters. In relation the silage characteristics, observed lower fiber content, lactic acid concentration by *L. buchneri* application. Application of *L. buchneri* decreased the yeasts occurrence evaluated in the mass obtained of top silages after open the silos. *L. buchneri* inoculation combined with 60% of concentrate in the diet increased the dry matter (DM) intake and crude energy when the animals fed with this diet. Association between corn silage inoculated with 60% of concentrate resulted in lower acetic: propionic acid ratio in the rumen of the animals fed with this diet. Performance of beef cattle finished in feedlot is improved because of utilization corn silage inoculated with *L. buchneri* combined with higher level of concentrate in the diet.

Keywords: esterase ferulate, lactic acid bacterial, probiotic effect

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O milho é uma das principais forrageiras utilizadas no processo de ensilagem em todo o mundo, devido ao adequado conteúdo de carboidratos solúveis que permitem eficiente fermentação durante anaerobiose e ao baixo poder tampão, aliado ainda, a elevada produção de massa por unidade de área. Contudo, em condições tropicais, como no Brasil, as silagens de milho podem apresentar menor valor nutritivo comparado àquelas produzidas a partir de plantas cultivadas em clima temperado (BERNARDES; ADESOGAN, 2012).

Inoculantes bacterianos têm sido usados para melhorar as características fermentativas e preservar o valor nutritivo da silagem durante a fase de desabastecimento do silo. Durante o processo de fermentação há intensas modificações na composição química da forragem, em que o teor de fibra pode aumentar em resposta à utilização dos carboidratos solúveis (efeito de concentração), ou diminuir em virtude da hidrólise ácida (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Neste sentido, o *Lactobacillus buchneri* tem sido amplamente utilizado no propósito de aumentar a estabilidade aeróbia das silagens após abertura dos silos devido ao efeito antifúngico causado pela produção anaeróbia de ácido acético (MOON, 1983; OUDE ELFERINK et al., 2001). Este microrganismo pode também produzir bacteriocinas (YILDIRIM, 2001) que inibem a ação de microrganismos deterioradores, assegurando melhores condições sanitárias e menores perdas de matéria seca em todo o processo de ensilagem e fase de desabastecimento do silo (WOOLFORD, 1990). Do mesmo modo, algumas cepas específicas de *L. buchneri* são capazes de produzir enzimas fibrolíticas, como a ferulato esterase, a qual atua sobre a fração fibrosa podendo aumentar a susceptibilidade da parede celular à atuação dos microrganismos ruminais (KANG et al., 2009; NSEREKO et al., 2008).

Estas ações devem resultar no aumento do desempenho animal (MUCK, 2010) devido ao maior controle de microrganismos que prejudicam a qualidade da

silagem, assim como, pelo possível sinergismo ou efeito probiótico entre o *L. buchneri* e microrganismos do rúmen (WEINBERG; MUCK; WEIMER, 2003).

Outro ponto importante refere-se ao nível de inclusão de concentrado nas dietas de ruminantes alimentados com silagem de milho e terminados em confinamento, pois pode afetar a eficiência de utilização da silagem, assim como da dieta. Segundo Weinberg et al. (2007), a inclusão de amido no líquido ruminal pode modificar o modo de ação das bactérias ácido-láticas (BAL), em que estas interagem com os microrganismos do rúmen e competem por substratos neste ambiente, podendo modificar o perfil de fermentação ruminal.

Todavia, a experimentação animal neste campo envolve mais pesquisas com bovinocultura leiteira e ovinocultura, havendo a necessidade de mais trabalhos envolvendo gado de corte em condições tropicais. Isto é justificável pelo fato do Brasil apresentar o maior rebanho comercial de gado do mundo (212,8 milhões de cabeças segundo o IBGE em 2011), com destaque aos animais da raça Nelore, que são amplamente utilizados na fase de terminação em confinamentos, verificando-se ainda grande participação da silagem de milho (25,8% nos principais confinamentos) nas dietas oferecidas a estes animais (MILLEN et al., 2009).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Processo fermentativo e qualidade da silagem

Entre as principais forrageiras destinadas ao processo de ensilagem, o milho possui papel de destaque por apresentar alto rendimento de massa seca, até 20,9 t de matéria seca/ha, segundo Zopollatto et al. (2009), associado à adequada concentração de nutrientes, contribuindo de forma significativa na alimentação animal e humana. No estudo qualitativo das silagens produzidas, deve-se avaliar a resposta animal em virtude do consumo deste volumoso, o qual está diretamente relacionado com o padrão fermentativo e composição química da forragem (JOBIM; PEREIRA; SANTOS, 2005).

Neste sentido, Costa et al. (2001) descreveram que os fatores determinantes no padrão de fermentação durante a ensilagem estão relacionados a aspectos inerentes à planta forrageira (teor de umidade, teor de carboidratos solúveis e poder

tampão) e aos fatores passíveis de alteração, como estabelecer o ponto ideal de colheita da forragem, tamanho da partícula, rápido enchimento do silo, compactação adequada para expulsão de oxigênio, tipo de silo, vedação adequada e eficiência de drenagem de efluentes. Porém, os resultados obtidos nem sempre estão de acordo com as expectativas geradas pelos produtores.

A adição de inoculantes bacterianos tem sido proposta com o intuito de melhorar a qualidade da fermentação por intermédio do rápido crescimento de BAL homofermentativas, as quais poderão competir com a fauna epífita existente na forragem (SUCU; FILYA, 2006) e, com isso, diminuir as perdas inerentes ao processo de fermentação (FILYA, 2003), além de aumentar o consumo de matéria seca (MS) e melhorar o desempenho animal (KUNG JR.; STOKES; LIN, 2003; WILKINSON, 1998).

Moon (1983) descreve que há diminuição nas perdas de MS e energia durante o processo de fermentação quando se utiliza inoculantes bacterianos. Segundo o autor, grande parte das perdas que ocorrem durante o processo fermentativo é devido à presença de leveduras, entretanto, esta pode ser inibida pelo efeito sinérgico existente entre o ácido láctico (produzido em quantidade suficiente para baixar o pH até 4,0) e o ácido acético (produzido principalmente por BAL heterofermentativas durante o processo de fermentação) e, desta forma, reduzir a população de leveduras presente nos silos. Além disto, as rotas metabólicas de utilização dos açúcares pelas BAL homofermentativas permitem a conversão de um mol de hexose a dois mols de ácido láctico (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991), diminuindo as perdas por CO₂ que ocorrem durante a fermentação.

Outros aspectos importantes relacionados com a adição de inoculantes bacterianos homofermentativos referem-se ao aumento na taxa de fermentação (maior relação entre os ácidos láctico/acético), diminuição da proteólise e deaminação da proteína da forragem, com uso mais eficiente dos carboidratos solúveis e, em consequência, maior retenção de nutrientes na silagem (ADDAH et al., 2011; HENDERSON, 1993).

Em relação aos inoculantes heterofermentativos, o *Lactobacillus buchneri* é uma das BAL mais pesquisadas na comunidade científica, com destacado efeito sobre a estabilidade aeróbia das silagens (BASSO et al., 2012a; KLEINSCHMIT;

SCHMIDT; KUNG JR., 2005; TAYLOR et al., 2002). Esta bactéria converte glicose e frutose à ácido láctico e outros produtos finais (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991) e, sua ação sobre microrganismos aeróbios ocorre por meio da conversão anaeróbia de ácido láctico em ácido acético, além da produção de 1,2 propanodiol, etanol e CO₂ (OUDE ELFERINK et al., 2001), retardando o crescimento de leveduras e fungos filamentosos presentes na silagem (MOON, 1983).

Contudo, segundo McDonald, Henderson e Heron (1991), a fermentação heterolática é indesejável quando comparada à homolática, pois as perdas de MS nesta fase são maiores. Segundo estes autores, a fermentação de 1 mol de hexose por bactérias homoláticas produz 2 moles de lactato com uma recuperação de MS e energia de 100% e 99%, respectivamente. Todavia, a fermentação heterolática resulta em perda de energia de 1 a 2%, mas as perdas de MS dependem do substrato e da rota utilizada pelas bactérias. Especificamente, a fermentação de uma frutose resulta em perda de 5% de MS, mas a fermentação de uma glicose resulta em 24% de perdas.

Outra característica de importância referente à utilização do *L. buchneri* está ligada ao maior tempo necessário para metabolizar nutrientes em ácido acético, quando comparado com bactérias homofermentativas (RANJIT; KUNG JR., 2000). Neste sentido, os resultados obtidos em silagens inoculadas com *L. buchneri* podem não ser os desejados devido ao pouco tempo de fermentação.

2.2. Estabilidade aeróbia e processo de deterioração

A deterioração da silagem quando exposta ao ar é inevitável e pode resultar em perda substancial de MS (WOOLFORD, 1990), o que geralmente ocorre pela interação de atividades fúngicas e bacterianas (TAYLOR et al., 2002). Estes eventos ocorrem principalmente em silagens resultantes de fermentação desejável em virtude da elevada concentração de lactato (FILYA, 2002), bem como pela preservação de açúcares da planta (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Por isso, torna-se necessário a inoculação da forragem com microrganismos heterofermentativos que atuem inibindo microrganismos deterioradores oportunistas após abertura dos silos, seja pela maior produção de ácido acético (DANNER et al., 2003; FILYA, 2003a,b) ou produção de bacteriocinas (YILDIRIM, 2001).

De acordo com Siqueira, Bernardes e Reis (2005), normalmente os sistemas de produção não levam em conta as perdas na fase de pós-abertura dos silos (estabilidade aeróbia), que se refere ao tempo necessário para se verificar mudanças mensuráveis da temperatura, sendo altamente variável de poucas horas a semanas. Além da temperatura, de acordo com Pitt, Muck e Pickering (1991) e Phillip e Fellner (1992), a concentração de carboidratos solúveis residuais, a população de leveduras e fungos filamentosos e a concentração de ácidos orgânicos em interação com o pH são os parâmetros que mais afetam a estabilidade aeróbia das silagens.

Quando as silagens ficam expostas ao oxigênio, os microrganismos oportunistas iniciam atividade metabólica produzindo calor e consumindo nutrientes, e alguns produtos da fermentação passam a ser substrato, podendo provocar o desenvolvimento de microrganismos outrora latentes (FILYA; SUCU, 2007), resultando em perdas substanciais de MS e redução na digestibilidade da silagem (O'KIELY; MUCK; O'CONNOR, 1986; WOOLFORD, 1990). Conforme relatado por Woolford (1990), a deterioração da silagem é sempre acompanhada de perdas de açúcares residuais e, aumento na produção de nitrogênio amoniacal e dióxido de carbono, o que compromete sobremaneira o valor nutritivo das silagens. Segundo Ashbell et al. (2002), a estabilidade aeróbia das silagens é afetada de forma mais intensa em condições tropicais, devido às temperaturas mais elevadas propiciarem ambiente ideal para o crescimento de microrganismos deterioradores.

Estes eventos ocorrem principalmente em silagens resultantes de fermentação desejável em virtude da elevada concentração de lactato e de nutrientes residuais (WEINBERG et al., 1993). A deterioração aeróbia da silagem inicia-se pelo desenvolvimento de leveduras, que provocam grande liberação de dióxido de carbono pelo metabolismo dos açúcares, resultando em perdas de MS e, ainda podem consumir ácidos orgânicos, notadamente ácido láctico, provocando elevação do pH, o que permite o crescimento de fungos filamentosos e bactérias aeróbias durante a fase de utilização da silagem. Os fungos degradam uma ampla variedade de nutrientes incluindo proteína e os carboidratos estruturais (MUCK; PITT; LEIBENSPERGER, 1991).

As leveduras compreendem o grupo de microrganismos mais importante em relação à deterioração aeróbia das silagens. Estas são divididas em dois principais grupos fisiológicos: utilizadoras de ácidos orgânicos (*Candida*, *Endomycopsis*, *Hansenula* e *Pichia*) e utilizadoras de açúcares (*Torulopsis*) (WOOLFORD, 1990). Segundo este mesmo autor, silagens com populações de leveduras acima de 10^5 UFC/g de silagem são mais propensas à deterioração aeróbia, todavia, este não é o fator primordial que definirá o nível de deterioração, pois isto é dependente do grupo de leveduras que atuam sobre a silagem em condições aeróbias (as utilizadoras de ácido láctico compreendem o grupo mais importante).

Nesse contexto, iniciaram-se pesquisas com o intuito de avaliar o efeito de BAL heterofermentativas sobre a estabilidade aeróbia de silagens, em especial a bactéria *Lactobacillus buchneri*, que é utilizada na ensilagem de capins, milho, leguminosas e grãos úmidos, no intuito de reduzir o crescimento de microrganismos indesejáveis como mofo e leveduras (BASSO et al., 2012b; DRIEHUIS et al., 1996; KUNG JR. et al., 2003; KUNG JR. et al., 2007; MARI et al., 2009; NISHINO; TOUNO, 2005; WEINBERG; MUCK, 1996). Ranjit e Kung Jr. (2000) relataram que a aplicação de *L. buchneri* na ensilagem do milho reduziu a população de leveduras e aumentou a estabilidade aeróbia das silagens. Em uma meta-análise baseada em 23 estudos com 43 experimentos, Kleinschmit e Kung Jr. (2006) observaram que a inoculação de silagens de milho, sorgo, trigo, cevada e gramíneas com *L. buchneri* reduziu a concentração de ácido láctico e aumentou a concentração do ácido acético e a estabilidade aeróbia destas silagens, pois houve inibição no crescimento de leveduras.

Um dos principais mecanismos relacionados ao controle da deterioração aeróbia está relacionado com a concentração de ácido acético na silagem (DANNER et al., 2003). Embora este ácido seja considerado pouco eficiente quanto à função de reduzir o pH da silagem decorrente do seu pKa mais elevado do que o ácido láctico: 4,73 vs. 3,86, sua ação é eficiente sobre o metabolismo de leveduras e fungos filamentosos (MOON, 1983). Conforme demonstrado por Davidson (1997), este ácido em pH inferior ao seu pKa permanece na forma não dissociada, em que a membrana dos microrganismos se torna permeável a ele, ocorrendo a entrada do ácido na célula via transporte passivo. Dentro da célula, o ácido é dissociado

($\text{RCOO}^- + \text{H}^+$) em razão de o pH ser próximo a 7, liberando íons H^+ , o que reduz o pH intracelular. Para manter o pH intracelular constante, o microrganismo deve eliminar os íons H^+ , perdendo energia neste processo, o que retarda seu crescimento, podendo causar a morte da célula (Figura 1).

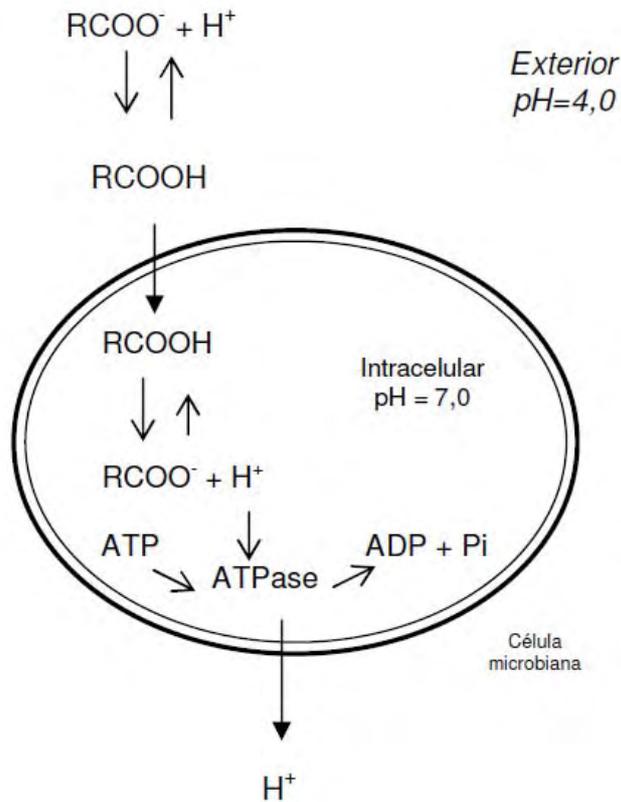


Figura 1. Destino do ácido orgânico em ambiente de baixo pH e na presença da célula microbiana (controle de leveduras). Fonte: Modificado de Davidson (1997).

Contudo, o controle no crescimento de microrganismos deterioradores não se dá exclusivamente pela ação do ácido acético. Conforme descrito na literatura, algumas BAL são responsáveis pela produção de bacteriocinas, as quais têm efeito antimicrobiano. Como exemplo, Yildirim (2001) verificou que o *L. buchneri* é capaz de produzir uma bacteriocina, a buchnericina, com potencial para ser utilizada no controle de bactérias gram-positivas, as quais geralmente estão associadas à deterioração de alimentos.

Esta preocupação no meio científico é validada em razão do valor nutricional e sanitário das silagens fornecidas aos animais terem efeito direto na qualidade do produto final (leite e carne). Como descrito por Driehuis (2011), a presença de

micotoxinas nas silagens está relacionada com o crescimento da população de fungos, os quais metabolizam os substratos presentes nestas silagens para produção de agentes patógenos, visando assegurar sua presença no alimento face à competição com outros microrganismos. Desta forma, existe uma preocupação com a presença de micotoxinas em silagens com relação à saúde dos animais, assim como sobre a segurança de produtos de origem animal destinados aos consumidores. Outras populações importantes neste contexto se referem à *Listeria monocytogenes* e às bactérias do gênero *Bacillus* (WOOLFORD, 1990), que podem causar danos à saúde animal e humana.

Neste sentido, a produção de micotoxinas pode ser reduzida em virtude do controle da população de fungos nas silagens por meio da utilização de inoculantes heteroláticos. Portanto, os aspectos abordados acima apresentam importância na exploração pecuária.

2.3. Efeito probiótico e desempenho animal

Embora o intuito principal da utilização de BAL heterofermentativas no processo de ensilagem seja o aumento da estabilidade aeróbia após a abertura dos silos, a qualidade destas silagens deve ser medida pela resposta animal. Muck (2010) afirma que quando o efeito da inoculação em silagens é positivo há um aumento de 5% no ganho de peso dos animais e 3% na produção de leite.

Os efeitos verificados sobre o desempenho animal geralmente estão mais associados à alteração no valor nutritivo das silagens, o que segundo Nsereko et al. (2008), pode ser explicado por alguns mecanismos referentes à inoculação de BAL em silagens, conforme segue abaixo:

- 1- A aplicação de inoculantes aumenta o valor nutritivo das silagens, uma vez que os microrganismos aplicados se desenvolvem e produzem metabólitos, tais como bacteriocinas, as quais são estáveis no silo e assim podem influenciar os microrganismos ruminais, com ação de antibiótico, quando o animal ingere a silagem. Algumas BAL, tais como o *Lactococcus lactis* produzem nisina, a qual tem efeito semelhante à monensina sobre a fermentação ruminal (CALLAWAY; CARNEIRO DE MELLO; RUSSEL, 1997);

- 2- Inoculantes que aumentam o valor nutritivo das silagens quando estáveis promovem o efeito probiótico e/ou fornecem massa de microrganismos diretamente ao animal (WEINBERG et al., 2004);
- 3- Os microrganismos inoculados na forragem podem produzir metabólitos que modificam as silagens durante o armazenamento e podem aumentar o seu valor nutritivo pela redução de toxinas e/ou aumentando a digestibilidade (MCDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Conceitualmente, o termo probiótico contempla a ação de microrganismos como promotores de crescimento (LILLY; STILLWELL, 1965). Os mecanismos 1 e 2, citados acima, sugerem que parte das BAL devem chegar vivas e funcionais ao rúmen, pois desta forma poderiam interferir nos metabólitos gerados pelos microrganismos ruminais. Neste sentido, Weinberg, Muck e Weimer (2003) aplicaram BAL em fluido ruminal em condições *in vitro* e relataram que as BAL podem sobreviver em condições ruminais, notando ainda, alterações nos valores de pH, concentrações molares de ácidos graxos voláteis e aumento na população final de BAL, contudo, os mecanismos que interferem no desempenho animal ainda não são claros. Este achado pode ajudar a explicar as alterações ocorridas na digestibilidade da MS e fibra em detergente neutro (FDN) em silagens devido ao uso de BAL, pois podem interferir no perfil microbiano do rúmen, alterando a eficiência de utilização do alimento (WEINBERG et al., 2007), fato observado por Mohammed et al. (2012).

Weinberg, Muck e Weimer (2003) sugerem duas hipóteses para que BAL aumentem o desempenho animal: a primeira é que algumas cepas específicas de BAL interagem com microrganismos ruminais para aumentar a funcionalidade ruminal e desempenho animal e, desta forma, agem como probióticos; a segunda está relacionada à inibição da deterioração da silagem pela inoculação com BAL que produzem algumas variedades de substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas (MULLER; BEHRENDT; MULLER, 1996), que controlam o desenvolvimento de alguns microrganismos prejudiciais ao processo de ensilagem.

Outro ponto importante que deve ser levado em consideração para escolha do inoculante a ser aplicado na silagem é quanto à produção de enzimas que

degradam a fração fibrosa. Segundo Donaghy, Kelly e McKay (1998), algumas BAL produzem a enzima ferulato esterase (FE), que atua sobre a fração arabinosilanas da parede celular, liberando ferulato (BARTOLOME et al., 1995) e, assim, a fração fibrosa da planta pode-se tornar mais susceptível à ação de enzimas fibrolíticas. Nsereko et al. (2008) concluíram que a inoculação da forragem com BAL que produzem FE aumentou a degradação ruminal da FDN das silagens de azevém e de milho. Estes autores sugerem que as pesquisas futuras devem ser direcionadas para a obtenção de BAL que produzam FE para aumentar a degradação da fração FDN, avaliando sua combinação com inoculantes que acelerem a fermentação e também garantam maior estabilidade aeróbia das silagens. Como consequência destes eventos, a eficiência de preservação em termos quantitativos e qualitativos deve ser maximizada.

Também deve ser levado em consideração na escolha de inoculantes à produção de bacteriocinas pelas BAL. As bacteriocinas são peptídeos sintetizados por muitas cepas de microrganismos e, estas possuem efeito antibacteriano (GOLLOP; ZAKIN; WEINBERG, 2005), as quais podem inibir grupos de microrganismos, principalmente bactérias gram-positivas (YILDIRIM, 2001) e resultar na alteração do perfil microbiano dentro do rúmen e melhora no desempenho animal.

Com relação ao efeito das BAL sobre o desempenho animal, os primeiros trabalhos concentraram os estudos na avaliação de cepas homoláticas (inoculantes de primeira geração). Neste sentido, Keady e Steen (1994) e Keady et al. (1994) em pesquisas conduzidas na Irlanda do Norte, observaram que a inoculação de silagem de capim com *L. plantarum* cepa "MTD1" resultou em aumento no desempenho dos animais alimentados com esta silagem (11,0 kg a mais em ganho de carcaça), comparativamente a uma silagem controle. Moran e Owen (1994) revisaram 14 trabalhos que avaliaram a inoculação de silagens com *L. plantarum* cepa "MTD1" e reportaram aumento no consumo de MS (4,8%) e produção de leite (4,6%) em animais alimentados com as silagens inoculadas. Trabalhando com uma revisão mais ampla (trabalhos envolvendo silagem inoculada entre 1990 e 1995), Kung Jr. e Muck (1997) observaram que em 28% dos estudos houve aumento no consumo de MS (+ 4,8% em relação às silagens não inoculadas), assim como em 53 e 47% dos

casos, o ganho de peso dos animais e produção de leite (+ 4,6%) também aumentaram, respectivamente.

Estes resultados demonstram o benefício causado pela inoculação das silagens com cepas de BAL homoláticas. Desta forma, resultados positivos com a utilização de cepas heteroláticas (inoculantes de segunda geração) também são esperados, seja pela maior preservação de nutrientes e energia durante a fermentação, ou pelo “efeito probiótico” (WEINBERG; MUCK; WEIMER, 2003; WEINBERG et al., 2004). Segundo Weinberg e Muck (1996), o efeito probiótico inibe microrganismos prejudiciais à fermentação dentro do silo e ainda promovem benefícios à flora ruminal e intestinal dos animais ruminantes, favorecendo o maior aproveitamento dos nutrientes da dieta.

Recentemente, trabalhos têm sido desenvolvidos com *L. buchneri* para avaliar sua influência sobre o desempenho animal, haja vista que esta bactéria produz a enzima ferulato-esterase, responsável por aumentar a degradação da fibra (NSEREKO et al., 2008; ADDAH et al., 2012) e, conseqüentemente, promover maior consumo de MS. Arriola et al. (2011) não verificaram aumento no consumo de MS digestível e na produção de leite em vacas Holandesas (produção média de 32 kg de leite/dia) que consumiram dietas à base de silagem de milho inoculada com *L. buchneri* comparado ao tratamento controle (silagem não inoculada). Do mesmo modo, Adesogan et al. (2003) não encontraram resposta positiva da inclusão do *L. buchneri* sobre o desempenho de ovinos alimentados com silagem de gramínea.

Em condições tropicais, são escassos os trabalhos envolvendo o *L. buchneri* e experimentação animal. Comumente, tem-se observado maior volume de trabalhos envolvendo cepas homoláticas sobre os parâmetros ruminais e produção de leite (MAGALHÃES; RODRIGUES, 2003; MANGINELLI; MAGALHÃES; RODRIGUES, 2005; SILVA et al., 2006). Em um dos poucos trabalhos envolvendo cepas homoláticas, Salvo et al. (no prelo) não verificaram efeito da aplicação de *L. buchneri* isolado ou associado ao *L. plantarum* sobre o consumo de MS e nutrientes em novilhas mestiças, contudo, observaram aumento na digestibilidade da matéria seca e na produção total de ácidos graxos voláteis.

2.4. Utilização de inoculantes bacterianos sobre a qualidade da carcaça

Como relatado por Menezes et al. (2005), o Brasil se tornou nos últimos anos o maior mercado exportador de carne bovina, aumentando a expectativa de lucratividade por parte do produtor. Todavia, o mercado importador exige cada vez mais qualidade no produto final (carne), havendo influência da raça dos animais, idade ao abate e qualidade da dieta fornecida.

Neste sentido, são raros os trabalhos que avaliam o efeito dos inoculantes bacterianos aplicados no processo de ensilagem sobre a composição da carcaça ou qualidade da carne. Entre os poucos trabalhos, Fugita et al. (2012) não observaram efeito da aplicação de inoculante bacteriano contendo cepas de BAL homofermentativas sobre a qualidade da carcaça e da carne de novilhos Nelore x Angus alimentados com silagem de milho.

Com relação à inclusão de concentrado nas dietas de bovinos terminados em confinamento, existem mais resultados na literatura. No entanto, os resultados são controversos, não sendo observado efeito da relação volumoso:concentrado sobre as características de carcaça (MENEZES et al., 2005). Do mesmo modo, outros trabalhos observam destacadas melhorias nas características avaliadas em carcaças ou na qualidade da carne (GESUALDI JÚNIOR et al., 2000; SILVA et al., 2002).

3. REFERÊNCIAS

ADDAH, W.; BAAH, J.; GROENEWEGEN, P.; OKINE, E. K.; MCALLISTER, T. A. Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 91, p. 133-146, 2011.

ADDAH, W.; BAAH, J.; OKINE, E. K.; MCALLISTER, T. A. A third-generation esterase inoculant alters fermentation pattern and improves aerobic stability of barley silage and the efficiency of body weight gain of growing feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 90, p. 1541-1552, 2012.

ADESOGAN, A. T.; SALAWU, M. B.; ROSS, A. B.; DAVIES, D. R.; BROOKS, A. E. Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* inoculants, or a chemical additive on the fermentation, aerobic stability, and nutritive value of crimped wheat grains. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 1789-1796, 2003.

- ARRIOLA, K. G.; KIM, S. C.; STAPLES, C. R.; ADESOGAN, A. T. Effect of applying bacterial inoculants containing different types of bacteria to corn silage on the performance of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 3973-3979, 2011.
- ASHBELL, G.; WEINBERG, Z. G.; HEN, Y.; FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, Basingstoke, v. 28, p. 261-263, 2002.
- BARTOLOME, B.; FAULDS, C. B.; TUOHY, M.; HAZLEWOOD, G. P.; GILBERT, H. J. WILLIAMSON, G. Influence of different xylanases on the activity of ferulic acid esterase of wheat bran. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, San Diego, v. 22, p. 65-73, 1995.
- BASSO, F. C.; BERNARDES, T. F.; ROTH, A. P. T. P.; RABELO, C. H. S.; RUGGIERI, A. C.; REIS, R. A. Short Communication: Fermentation and aerobic stability of high-moisture corn silages inoculated with different levels of *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 11, p. 2369-2373, 2012a.
- BASSO, F. C.; BERNARDES, T. F.; ROTH, A. P. T. P.; LODO, B. N.; BERCHIELLI, T. T.; REIS, R. A. Short Communication: Fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 7, p. 1789-1794, 2012b.
- BERNARDES, T. F.; ADESOGAN, A. T. **Aerobic deterioration of silages in warm climates**. In: Symposium on Strategic Management of Pastures. 6^{ed}. Viçosa. v. 6, p. 249-268, 2012.
- CALLAWAY, T. R.; CARNEIRO DE MELLO, A. M. S.; RUSSEL, J. B. The effect of Nisin and Monensin on ruminal fermentations *in vitro*. **Current Microbiology: an International Journal**, New York, v. 35, p. 90-96, 1997.
- COSTA, C.; MONTEIRO, A. L. G.; BERTO, D. A.; ALMEIDA JR., G. A. A.; LOPES, A. B. R. C. Impacto do uso de aditivos e/ou inoculantes comerciais na qualidade de conservação e no valor alimentício de silagens. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. 1, 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 2001, p. 87-126.
- DANNER, H.; HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; BRAUN, R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 1, p. 562-567, 2003.
- DAVIDSON, P. M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTEVILLE, T. J. (Eds.). **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Washington: ASM Press, 1997. p. 520-556.

DONAGHY, J.; KELLY, P. F.; MCKAY, A. M. Detection of ferulic acid esterase production by *Bacillus* spp. and *Lactobacilli*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 50, n. 2, p. 257-260, 1998.

DRIEHUIS, F. Occurrence of mycotoxins in silage. In: II International Symposium on Forage Quality and Conservation, 2011, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro: Forage Quality and Conservation, 2011. 20 p.

DRIEHUIS, F.; SPOLESTRA, S. F.; COLE, S. C. J.; MORGAN, R. Improving aerobic stability by inoculation with *Lactobacillus buchneri*. In: The International Silage Conference, 11th, 1996, Aberystwyth. **Proceedings...** Aberystwyth, 1996, p. 106-107.

FILYA, I. The effects of lactic acid bacterial inoculants on the fermentation, aerobic stability, and in situ rumen degradability characteristics of maize and sorghum silages. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Ankara, v. 26, p. 815-823, 2002.

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

FILYA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 95, p. 1080-1086, 2003b.

FILYA, I.; SUCU, E. The effect of bacterial inoculants and a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of whole-crop cereal silages. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 20, n. 3, p. 378-384, 2007.

FUGITA, C. A.; PRADO, I. N.; JOBIM, C. C.; ZAWADZKI, F.; VALERO, M. V.; PIRES, M. C. O.; PRADO, R. M.; FRANÇOZO, M. C. Corn silage with and without enzyme-bacteria inoculants on performance, carcass characteristics and meat quality in feedlot finished crossbred bulls. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 1, p. 154-163, 2012.

GESUALDI JÚNIOR, A.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; VELOSO, C. M.; CECON, P. R. Níveis de concentrado na dieta de novilhos F1 Limousin x Nelore: características da carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 5, p. 1467-1473, 2000.

GOLLOP, N.; ZAKIN, V.; WEINBERG, Z. G. Antibacterial activity of lactic acid bacteria included in inoculants for silage and in silages treated with these inoculants. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 98, p. 662-666, 2005.

HENDERSON, N. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 45, n. 1, p. 35-56, 1993.

JOBIM, C. C.; PEREIRA, J. R. A.; SANTOS, G. T. Sistemas de produção de leite com ênfase na utilização de volumosos conservados. In: Simpósio sobre volumosos na produção de ruminantes, 10, 2005, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 2005. p. 61-82.

KANG, T. W.; ADESOGAN, A. T.; KIM, S. C.; LEE, S. S. Effects of an esterase-producing inoculant on fermentation, aerobic stability, and neutral detergent fiber digestibility of corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 732-738, 2009.

KEADY, T. W. J.; STEEN, W. J. The effects of treating low dry-matter, low digestibility grass with bacterial inoculant on the intake and performance of beef cattle, and studies of its mode of action. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 50, p. 217-226, 1994.

KEADY, T. W. J.; STEEN, R. W. J.; KILPATRICK, D. J.; MAYNE, C.S. Effects of inoculant treatment on silage fermentation, digestibility and intake by growing cattle. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 49, n. 2, p. 284-294, 1994.

KLEINSCHIMIT, D. H.; KUNG JR., L. 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**, Champaign, v. 89, p. 4005-4013, 2006.

KLEINSCHIMIT, D. H.; SCHMIDT, R. J.; KUNG JR., L. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 2130-2139, 2005.

KUNG JR., L.; MUCK, R. E. Animal Response to Silage Additives. **Proceedings...** Silage: Field to Feedbunk. North American Conference, Hershey, Pennsylvania, 1997. p. 200-210.

KUNG JR., L.; TAYLOR, C. C.; LYNCH, M. P.; NEYLON, J. M. The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating Dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 336-343, 2003.

KUNG JR., L.; SCHMIDT, R. J.; EBLING, T. E.; HU, W. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of ground and whole high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 2309-2314, 2007.

LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. **Science**, New York, v. 147, p. 747-748, 1965.

MAGALHÃES, V. J. A.; RODRIGUES, P. H. M. Desempenho produtivo de vacas leiteiras alimentadas com silagem pré-seca de alfafa adicionada de inoculante microbiano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 2016-2022, 2003.

MANGINELLI, S.; MAGALHÃES, V. J. A.; RODRIGUES, P. H. M. Inoculação microbiana da alfafa para silagem sobre digestibilidade total e ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 3, p. 926-933, 2005.

MARI, L. J.; SCHMIDT, R. J.; NUSSIO, L. G.; HALLADA, C. M.; KUNG JR., L. Short communication: An evaluation of the effectiveness of *Lactobacillus buchneri* 40788 to after fermentation and improve the aerobic stability of corn silage in farm silos. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 1174-1176, 2009.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON S. J. E. **The biochemistry of silage**. Chalcomb Publications, Marlow, 1991. 340 p.

MENEZES, L. F. G.; BRONDANI, I. L.; ALVES FILHO, D. C.; RESTLE, J.; ARBOITTE, M. Z.; FREITAS, L. S.; PAZDIORA, R. D. Características da carcaça de novilhos de diferentes grupos genéticos, terminados em confinamento, recebendo diferentes níveis de concentrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1141-1147, 2005.

MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B.; GALYEAN, M. L.; VASCONCELOS, J. T. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 87, p. 3427-3439, 2009.

MOHAMMED, R.; STEVENSON, D. M.; BEAUCHEMIN, K. A.; MUCK, R. E.; WEIMER, P. J. Changes in ruminal bacterial community composition following feeding of alfalfa ensiled with a lactic acid bacterial inoculant. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 1, p. 328-339, 2012.

MOON, N. J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v. 55, p. 453-460, 1983.

MORAN, J. P.; OWEN, T. R. The effects of Ecosyl treated silage on milk production by lactating cows. In: NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY, EVALUATION AND UTILIZATION, 1994, Lincoln. **Proceedings...** Lincoln: University of Nebraska, 1994. p. 126.

MUCK, R. E.; PITT, R. E.; LEIBENSPERGER, R. Y. A model of aerobic fungal growth in silage. Microbial characteristics. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 46, n. 3, p. 283-290, 1991.

MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 183-191, 2010. (suplemento especial)

MULLER, T.; BEHRENDT, U.; MULLER, M. Antagonistic activity in plant-associated lactic acid bacteria. **Microbiological Research**, Jena, v. 151, p. 63-70, 1996.

NISHINO, N.; TOUNO, E. Ensiling characteristics and aerobic stability of direct-cut and wilted grass silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus*

buchneri. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 85, p. 1882-1888, 2005.

NSEREKO, V. L.; SMILEY, B. K.; RUTHERFORD, W. M.; SPIELBAUER, A.; FORRESTER, K. J.; HETTINGER, G. H.; HARMAN, E. K.; HARMAN, B. R. Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 145, p. 122-135, 2008.

O'KIELY, P.; MUCK, R. E.; O'CONNOR. **Aerobic deterioration of alfalfa and maize silage**. American Society of Agricultural Engineering, n. 86-1526, 1986.

OUDE ELFERINK, S. J. W. H.; KROONEMAN, J.; GOTTSCHAL, J. C.; SPOELSTRA, S. F.; FABER, F.; DRIEHUIS, F. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2 propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, p. 125-132, 2001.

PHILLIP, L. E.; FELLNER, V. Effects of bacterial inoculation of high-moisture ear corn on its aerobic stability, digestion, and utilization for growth by beef steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, n. 10, p. 3178-3187, 1992.

PITT, R. E.; MUCK, R. E.; PICKERING, N. B. A model of aerobic fungal growth in silage.2. Aerobic stability. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 46, n. 3, p. 301-312, 1991.

RANJIT, N. K.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 3, p. 526-535, 2000.

SALVO, P. A. R.; BASSO, F. C.; RABELO, C. H. S.; OLIVEIRA, A. A.; SADER, A. P.; CASAGRANDE, D. R.; BERCHIELLI, T. T.; REIS, R. A. Características fermentativas e nutricionais de silagens de milho inoculadas com *Lactobacillus buchneri* e/ou *Lactobacillus plantarum*. **Archivos de Zootecnia** (no prelo).

SILVA, A. V.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. C.; GARCIA, R.; CECON, P. R.; FERREIRA, C. L. L. F. Consumo e digestibilidades dos nutrientes em bovinos recebendo dietas contendo silagens de milho e sorgo, com e sem inoculante microbiano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 6; p. 2469-2478, 2006.

SILVA, F. F.; VALADARES FILHO, S. C.; ÍTAVO, L. C. V.; VELOSO, C. M.; PAULINO, M. F.; VALADARES, R. F. D.; CECON, P. R.; SILVA, P. A.; GALVÃO, R. M. Consumo, desempenho, características de carcaça e biometria do trato gastrintestinal e dos órgãos internos de novilhos Nelore recebendo dietas com diferentes níveis de concentrado e proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 4, p. 1849-1864, 2002.

SIQUEIRA, G. R.; BERNARDES, T. F.; REIS, R. A. Instabilidade aeróbia de silagens: efeitos e possibilidades de prevenção. In: Simpósio sobre volumosos na

produção de ruminantes, 10, 2005, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 2005, p. 25-60.

SUCU, E.; FILYA, I. Effects of homofermentative lactic acid bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability characteristics of low dry matter corn silages. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Science**, Tubitak, v. 30, p. 83-88, 2006.

TAYLOR, C. C.; RANJIT, N. J.; MILLS, J. A.; NEYLON, J. M.; KUNG JR., L. 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**, Champaign, v. 85, p. 1793-1800, 2002.

WEINBERG, Z. G.; ASHBELL, G.; HEN, Y.; AZRIELI, A. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v. 75, n. 6, p. 512-518, 1993.

WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology**, Amsterdam, v. 19, p. 53-68, 1996.

WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E.; WEIMER, P. J. The survival of silage inoculant lactic acid bacteria in rumen fluid. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 94, p. 1066-1071, 2003.

WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E.; WEIMER, P. J.; CHEN, Y.; GAMBURG, M. Lactic acid bacteria used in inoculants for silage as probiotics for ruminants. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 118, p. 1-9, 2004.

WEINBERG, Z. G.; SHATZ, O.; CHEN, Y.; YOSEF, E.; NIKBAHAT, M.; BENGHEDALIA, D.; MIRON, J. Effect of lactic acid bacteria inoculants on *in vitro* digestibility of wheat and corn silages. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4754-4762, 2007.

WILKINSON, J. M. Additives for ensiled temperate crops. In: Simpósio sobre aditivos na produção de ruminantes e não ruminantes, Botucatu, 1998. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 53-72.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v. 68, p. 101-116, 1990.

YILDIRIM, M. Purification of buchnericin LB produced by *Lactobacillus buchneri* LB. **Turkish Journal of Biology**, Ankara, v. 25, p. 59-65, 2001.

ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. F.; RIBEIRO, J. L.; SARTURI, J. O.; MOURÃO, G. B. Relações biométricas entre o estágio de maturação e a produtividade de híbridos de milho para produção de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 2, p. 256-264, 2009.

CAPÍTULO 2 – SILAGEM DE MILHO INOCULADA OU NÃO COM *Lactobacillus buchneri* SOBRE A ESTABILIDADE AERÓBIA E DESEMPENHO DE TOURINHOS NELORE

1. INTRODUÇÃO

O milho está entre as principais plantas utilizadas no processo de ensilagem devido à alta produção de massa seca por hectare (até 20,9 t segundo Zopollatto et al. (2009)), alta concentração de carboidratos solúveis e baixo poder tampão, desde que colhido no ponto ideal (entre 30 e 35% de matéria seca - MS) quanto ao conteúdo de MS. Contudo, suas silagens apresentam baixa estabilidade após abertura dos silos, pois leveduras e fungos filamentosos atuam sobre a massa ensilada utilizando os nutrientes preservados como substratos para seu desenvolvimento, assim como o fazem com o ácido láctico, o que contribui sensivelmente para deterioração das silagens, ocorrendo perdas mais elevadas de matéria seca (WOOLFORD, 1990).

Por esta razão, bactérias ácido-láticas (BAL) heterofermentativas têm sido pesquisadas com o intuito de aumentar a estabilidade das silagens após abertura dos silos, com destacado efeito para a utilização do *Lactobacillus buchneri*. Esta espécie atua inibindo microrganismos por meio da produção de ácido acético em condições anaeróbias (OUDE ELFERINK et al., 2001), o qual tem efeito antifúngico (MOON, 1983). Além disto, o *L. buchneri* pode produzir bacteriocinas (YILDIRIM, 2001) que inibem a atuação de microrganismos deterioradores e preservam maior quantidade de nutrientes que ficam disponíveis aos animais (ARRIOLA et al. 2011a).

Além dos efeitos benéficos dos inoculantes bacterianos sobre o processo de fermentação, tem sido observado respostas positivas sobre o desempenho de animais alimentados com silagens inoculadas. Muck (2010) afirma que quando o efeito da inoculação em silagens é positivo há um aumento de 5% no ganho de peso dos animais e 3% na produção de leite. Existem duas hipóteses que explicam essa melhora no desempenho animal, segundo Weinberg, Muck e Weimer (2003), uma delas relaciona-se à maior preservação de nutrientes após abertura dos silos devido à ação das BAL heterofermentativas e, a outra, refere-se à sobrevivência destas

BAL em condições ruminais, as quais podem interagir com microrganismos do rúmen e, desta forma, aumentar a funcionalidade ruminal (alteração no perfil de produtos gerados no rúmen, bem como alteração no perfil microbiano neste ambiente), resultando em aumento no desempenho animal, promovendo o efeito probiótico.

Outro fator que pode interferir na resposta animal está relacionada à produção da enzima ferulato esterase por algumas cepas específicas de *L. buchneri* (NSEREKO et al., 2008), a qual atua sobre a fração arabinoxilanas da parede celular, liberando ácido ferúlico e, com isso, aumenta a susceptibilidade ao ataque de microrganismos ruminais, podendo resultar no aumento da digestibilidade (KANG et al., 2009).

Entretanto, a avaliação do desempenho animal em razão da utilização do *L. buchneri* tem sido restrita a bovinocultura de leite (ARRIOLA et al., 2011b; KRISTENSEN et al., 2010), fazendo-se necessário a condução de novos experimentos envolvendo esta bactéria sobre o desempenho de bovinos de corte, especialmente em condições tropicais.

Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos da aplicação do *L. buchneri* sobre as características químicas da silagem de milho, bem como, a associação da silagem inoculada com dois níveis de concentrado na dieta sobre o desempenho de tourinhos Nelore.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Forragicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, *campus* de Jaboticabal - SP, localizado a 21°15'22" de latitude sul, 48°18'58" de longitude oeste e, 595 metros de altitude, sendo o clima subtropical do tipo AWA de acordo com a classificação de Köppen.

2.1. Procedimento de ensilagem

A área destinada para o plantio do milho foi preparada de maneira convencional (escarificação e gradagem), realizando-se a aplicação de 2,3

toneladas de calcário por hectare e aplicação de 310 kg/ha do adubo formulado NPK 4-20-20 de acordo com a análise de solo, seguindo as recomendações descritas no Boletim Técnico 100. Utilizou-se no estudo o híbrido triplo 2B688Hx, de ciclo precoce e com características de alta produção de nutrientes digestíveis por área e alta digestibilidade da fibra (Dow Agrosience®). O plantio do milho ocorreu em 18 de novembro de 2010, utilizando-se seis sementes por metro linear. Durante o desenvolvimento da cultura, aplicaram-se herbicidas e fungicidas para o controle de pragas e doenças, realizando-se a aplicação de 300 kg/ha de ureia em cobertura, parcelado em duas vezes.

A colheita do milho foi realizada no dia 21 de fevereiro de 2011 (após 96 dias do plantio) utilizando-se uma colhedora de forragem Menta® regulada para altura de corte de 20 cm e tamanho de partícula de 5 mm, quando os grãos apresentavam dois terços da linha do leite (31,0% de matéria seca - MS).

A forragem foi inoculada com *Lactobacillus buchneri* cepa "NCIMB 40788" (1×10^5 UFC/g forragem) ou mantidas sem inoculação (tratamento controle). O inoculante foi diluído em água não-clorada e aplicado com pulverizador costal (Jacto) na massa de forragem durante o enchimento do silo (trincheira com capacidade para 60 toneladas), mantendo-se a relação de 0,7 L por tonelada de forragem. A aplicação foi realizada buscando-se atingir toda a massa ensilada, realizando-se a inoculação do microrganismo na medida em que a forragem era espalhada pelo silo. A silagem controle recebeu a mesma quantidade de água a fim de evitar efeito de diluição de nutrientes, determinando-se em seguida a composição bromatológica das plantas (Tabela 1). Utilizou-se na compactação da forragem uma pá carregadeira (modelo Caterpillar 924H, 8.310 kg), em que a mesma espalhava a forragem no silo trincheira em camadas pequenas (próximo a 30 cm), realizando-se a compactação da mesma. Por meio de uma estimativa, constatou-se que a massa específica das silagens ficou próximo a 500 kg de massa verde/m³. A lona utilizada na cobertura dos silos foi a dupla face com três camadas de polietileno de baixa densidade e espessura de 200 micras. Após o fechamento dos silos não foi utilizado cobertura acima das lonas.

Tabela 1. Composição químico-bromatológica (g/kg de MS) e ocorrência de microrganismos na forragem após a aplicação do *L. buchneri*.

Item*	Controle	<i>L. buchneri</i>
MS	319,2	306,2
MM	50,4	53,9
MO	949,6	946,1
PB	109,7	112,0
EE	16,5	15,6
FDN	401,7	449,4
FDA	178,4	192,7
Hemicelulose	223,2	256,7
pH	5,24	5,57
NH ₃ /NT	1,22	0,66
Leveduras (Log ₁₀ UFC/g)	4,19	4,20
Fungos filamentosos (Log ₁₀ UFC/g)	3,96	3,87

*MS = matéria seca; MM = matéria mineral; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; NH₃/NT = nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total.

No intuito de quantificar as perdas de MS ocorridas na superfície das massas ensiladas, foram utilizados sacos de rafia, denominados sacos traçadores (BERNARDES, 2006). Em cada saco foram alocados aproximadamente 5 kg da massa ensilada, que foram enterrados a 10 cm do topo do silo. Utilizou-se em cada silo 12 sacos, em que quatro sacos eram dispostos paralelamente na superfície dos silos em três fileiras (início, meio e fim dos silos), conforme ilustrado na Figura 1.

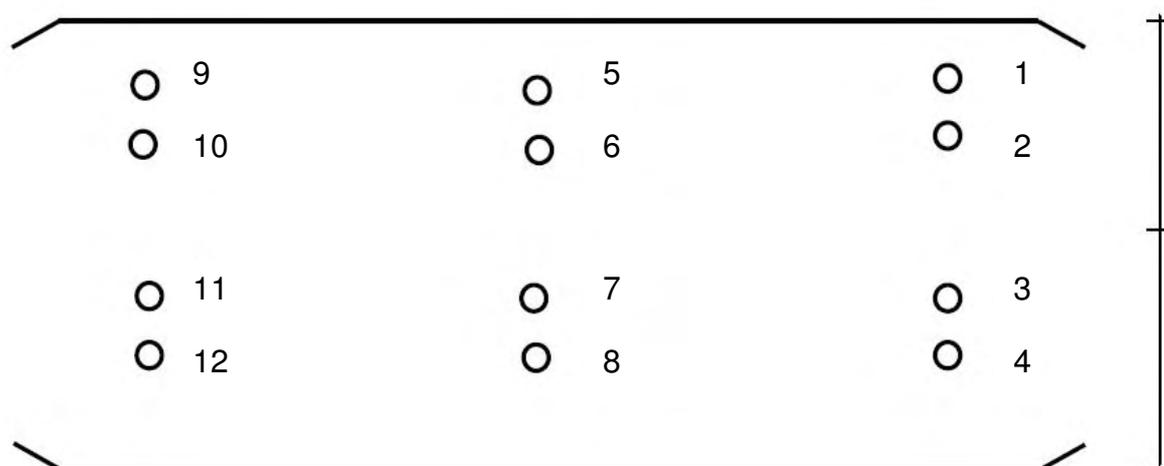


Figura 1 - Distribuição dos sacos traçadores em cada silo do tipo trincheira, dispostos a 10 cm do topo do silo.

2.2. Abertura dos silos e amostragem

Os silos permaneceram fechados por 70 dias (data da abertura - 01/05/2011). Após este período, deu-se início a fase de desabastecimento para alimentação dos tourinhos. A massa proveniente do centro do silo (utilizada na alimentação animal) foi amostrada semanalmente para caracterização químico-bromatológica. Em relação aos sacos traçadores, na medida em que estes eram encontrados no painel dos silos, mediante remoção da massa ensilada (Figura 1), fazia-se a remoção dos mesmos, pesando-os em seguida e determinando-se o teor de MS para mensurar as perdas totais de MS ocorridas durante a utilização das silagens. Do mesmo modo, as amostras foram encaminhadas ao laboratório no intuito de quantificar a população de leveduras e fungos filamentosos, realizando-se os procedimentos descritos por Jobim et al. (1999).

Durante a fase de utilização das silagens, as fatias retiradas diariamente foram de 10 cm (silagem controle) e 7,5 cm (silagem inoculada), em que o painel destes silos foi respectivamente de 5,46 e 7,39 m².

2.3. Ensaio de estabilidade aeróbia

Aproximadamente 3,0 kg de silagem provenientes de cada saco traçador removido dos silos foram alocados em baldes plásticos no intuito de avaliar a estabilidade aeróbia destas massas (temperatura ambiente), avaliando-se somente a elevação da temperatura. A quebra da estabilidade foi determinada quando a silagem ultrapassou em 2°C a temperatura ambiente (KUNG JR et al., 2003), avaliando-se ainda os valores de pH e ocorrência de leveduras e fungos filamentosos no momento da retirada dos sacos dos silos.

Desta forma, a massa contida nos sacos traçadores foi avaliada em relação aos tratamentos estudados (silagem controle e inoculada) e ao tempo de amostragem (momento em que se encontravam os sacos na massa durante utilização da silagem), bem como a interação destes fatores.

2.4. Avaliação do desempenho de tourinhos Nelore

Foram utilizados 28 tourinhos da raça Nelore, machos não castrados, com idade inicial de 18 a 20 meses e peso corporal inicial médio de 322,7 ± 10,2 kg. Os

animais apresentavam potencial para ganho em peso de 1,5 kg diário. Os animais foram adaptados ao ambiente e às dietas por 18 dias, sendo alojados em curral de confinamento coberto, com baias construídas em piso de concreto de 8 m² (4 x 2 m), contendo cocho de concreto e bebedouro. Durante a fase de adaptação, os animais receberam silagem controle durante a primeira semana, no intuito de adaptar o ambiente ruminal à nova dieta, haja vista que estes animais foram provenientes de recria a pasto. Posteriormente, incluiu-se concentrado na dieta dos animais (20%), aumentando gradativamente ao longo dos dias até atingir a proporção desejada nas dietas (40 e 60%). Quando os animais apresentaram uma tendência em estabilizar o consumo, iniciou-se o experimento.

Avaliaram-se quatro dietas em arranjo fatorial 2 (duas silagens de milho: inoculada ou não com *L. buchneri*) x 2 (duas relações volumoso:concentrado: 60:40 e 40:60). As dietas foram formuladas para ganho de 1300g/dia de acordo com o NRC (2000) (Tabela 2). As dietas foram fornecidas uma vez ao dia (por volta das 6:00 horas), de forma a permitir sobras de 10% em relação à quantidade fornecida. O consumo foi regulado diariamente por meio da diferença entre a quantidade de alimento fornecido aos animais menos a quantidade de alimento recusado (sobras).

Na avaliação da dieta consumida, a cada três dias, foram colhidas amostras dos alimentos fornecidos e das sobras individualmente, sendo acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenadas em freezer a -20°C. As amostras de cada animal foram agrupadas durante o período experimental formando amostras compostas, sendo submetidas às análises laboratoriais. As variáveis apresentadas ao longo do trabalho quanto à avaliação da silagem e da dieta fornecida aos animais representam a média das amostras colhidas durante todo o período experimental.

Para avaliar o ganho de peso, os animais foram pesados no início e ao final do experimento após jejum prévio de 12 horas de sólidos. A eficiência alimentar foi determinada pelo ganho de peso diário dividido pelo consumo de MS.

Tabela 2. Composição percentual dos ingredientes, composição bromatológica (g/kg de MS) e energia metabolizável (Mcal/kg) das dietas oferecidas aos tourinhos Nelore.

Ingredientes*	Relação V:C	
	60:40	40:60
Silagem de milho	60,00	40,00
Milho moído ¹	30,84	49,28
Farelo de soja ¹	6,29	6,90
Núcleo mineral ²	1,87	2,82
Ureia	1,00	1,00
Total	100,00	100,00
Silagem	Controle	
Relação V:C	60:40	40:60
MS	505,7	616,4
MM	61,4	67,3
MO	938,6	932,7
PB	141,0	147,1
EE	43,4	47,8
CHOT	780,3	764,5
CNF	520,0	550,6
FDN	282,6	228,8
FDA	157,8	120,6
EM	2,276	2,206
	<i>L. buchneri</i>	
Relação V:C	60:40	40:60
MS	512,0	620,6
MM	60,3	66,6
MO	939,7	933,4
PB	142,2	147,9
EE	42,2	47,0
CHOT	781,3	765,1
CNF	535,9	561,1
FDN	265,0	217,0
FDA	144,1	111,4
EM	2,306	2,364

*MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; CHOT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não fibrosos; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; EM = energia metabolizável. ¹Ingredientes processados em peneiras com crivos de 2 mm. ²Níveis de garantia: Ca = 90 g; P = 10 g; S = 17 g; Na = 40 g; Cu = 285 mg; Mn = 825 mg; Zn = 1.060 mg; I = 21 mg; Co = 17 mg; Se = 5 mg; F (máx.) = 167 mg; NNP - equivalente em proteína (máx.) = 100%.

2.5. Ensaio da digestibilidade aparente

O ensaio de digestibilidade ocorreu nos dias 71, 72 e 73 após o início do confinamento (dia 0, primeiro dia de adaptação), em que a digestibilidade aparente da dieta foi medida indiretamente por meio da estimativa da produção fecal pelo indicador interno fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). As fezes foram obtidas por meio de colheita parcial em todos os animais durante três dias com intervalos entre colheitas de 26 horas (PINA et al., 2006). Foram incubadas amostras de silagem, sobras, concentrados e fezes no rúmen de dois bovinos fistulados da raça Nelore (alimentados com dieta à base de silagem de milho e concentrado, relação forragem:concentrado de 60:40). Os bovinos receberam três

bolsas de filó contendo saquinhos de tecido não tecido (TNT), e um peso de 150 g foi acoplado às bolsas de filó para manter os saquinhos na região ventral do rúmen.

A excreção fecal e a digestibilidade da MS e dos nutrientes foram calculadas com base nas equações abaixo:

$$\text{Excreção fecal (kg)} = \frac{\text{quantidade do indicador consumido (kg)}}{\text{concentração do indicador nas fezes (\%)}} * 100$$

$$\text{Digestibilidade (\%)} = \frac{\text{consumido (kg)} - \text{excretado (kg)}}{\text{consumido (kg)}} * 100$$

2.6. Parâmetros ruminais

Utilizaram-se quatro tourinhos da raça Nelore, canulados no rúmen, na avaliação dos parâmetros ruminais. De forma semelhante à avaliação do desempenho, a dieta foi fornecida uma vez ao dia (por volta das 6:00 horas) aos animais, de forma a permitir sobras de 10% da quantidade fornecida, estudando-se os mesmos tratamentos descritos no Item 2.4.

Os animais permaneceram em adaptação por 14 dias, até que o consumo de MS permanecesse estável. Posteriormente, iniciou-se o experimento utilizando-se quatro períodos com duração de 10 dias cada, de forma que todos os animais passassem por todos os tratamentos durante a condução do estudo. Os nove primeiros dias de cada período foram destinados à adaptação dos animais e a colheita de líquido ruminal foi realizada no último dia de cada período, em que a primeira colheita foi antes do fornecimento do alimento aos animais e, as outras após 3, 6, 9, 12 e 24 horas, respectivamente. Entretanto, os valores apresentados nos resultados são as médias de todos os tempos de avaliação, haja vista que não houve interação entre tempo e tratamentos. As variáveis estudadas no líquido ruminal foram valores de pH, nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total (N-NH₃/NT), produção dos ácidos graxos voláteis - AGV (acetato, propionato e butirato), produção total de AGV e relação acetato:propionato.

2.7. Avaliação da carcaça

Após 134 dias de confinamento, todos os animais foram abatidos no

Frigorífico Minerva[®], localizado em Barretos - SP. A carcaça de cada animal foi dividida em duas meia-carcaças e pesadas para se obter o peso de carcaça quente (PCQ). Após a pesagem, foram resfriadas em câmara fria durante 24 horas à 0-4°C e novamente pesadas para se obter o peso de carcaça fria (PCF). Os rendimentos de carcaça quente foram obtidos em relação ao peso corporal do animal em jejum (RCQ). A gordura interna foi obtida pelo somatório das gorduras renal, inguinal e pélvica.

A meia carcaça esquerda de cada animal foi seccionada entre a 12^a e 13^a costelas, para a avaliação da área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea (EGS). Na mensuração da AOL, colocou-se sobre a superfície da referida seção uma película transparente, de plástico, na qual se desenhou o contorno do músculo com caneta própria. Após obter o contorno, tirou-se uma cópia da película transparente, em papel com área e peso conhecido. Recortou-se o contorno que estava no referido papel e pesou-se em balança de precisão para obter a área da seção transversal do músculo, sendo: AOL = (peso amostra x área papel / peso papel). A espessura de gordura subcutânea foi medida com auxílio de um paquímetro. As medidas de pH da carcaça foram tomadas após 24 horas de refrigeração (pH final), utilizando-se peagâmetro com eletrodo de penetração, introduzindo-o em um corte de 2 a 4 cm de profundidade, feito no músculo *Longissimus dorsi*, na carcaça esquerda.

2.8. Análises Laboratoriais

Preparou-se um extrato aquoso das amostras de silagem na determinação do pH, AGV, ácido láctico e N-NH₃ de acordo com Kung Jr. et al. (1984). O pH foi determinado usando-se um peagâmetro modelo MA522 (Marconi[®]). Os AGV foram determinados por cromatografia gasosa utilizando-se o aparelho Shimadzu GC2014 segundo Wilson (1971), enquanto o ácido láctico foi determinado pelo método de colorimetria (BARKER; SUMMERSON, 1941). O N-NH₃ foi mensurado por destilação (AOAC, 1996).

As amostras de silagem, ingredientes de concentrado, sobras e fezes foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas e processadas em moinho tipo "Willye" com peneiras contendo crivos de 1 mm. A MS total foi calculada

após amostras permanecerem por 12 horas em estufa a 105°C, enquanto a matéria mineral (MM) foi determinada após a queima em mufla a 500°C por 5 horas. A matéria orgânica (MO) foi calculada de acordo com a equação: $MO = 100 - MM$. A fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas usando o método de Van Soest, Robertson e Lewis (1991) em aparelho Ankom 2000 Fiber Analyzer, porém sem utilização de sulfito de sódio. Na determinação da FDN, utilizou-se α -amilase termo-estável. Amostras de FDN e FDA foram utilizadas na determinação do N retido em cada uma destas frações. A lignina foi mensurada após hidrólise da celulose em H_2SO_4 a 72% no resíduo de FDA (VAN SOEST; ROBERTSON, 1985). O extrato etéreo (EE) foi determinado de acordo com os procedimentos descritos pela AOAC (1996). A determinação do N total nos resíduos de FDN e FDA nas silagens, ingredientes, sobras e fezes ocorreram por uma rápida combustão utilizando-se o aparelho Leco F528. A proteína bruta (PB) foi calculada como $N \times 6,25$. A energia bruta (EB) foi determinada por meio de bomba calorimétrica, enquanto a energia digestível (ED) foi obtida pelo produto da EB e seu coeficiente de digestibilidade. A energia metabolizável (EM) foi calculada pela multiplicação da ED pelo fator 0,82.

Os carboidratos totais (CHOT) e carboidratos não-fibrosos (CNF) foram determinados de acordo com as respectivas equações desenvolvidas por Sniffen et al. (1992):

$$CHOT = 100 - (PB + EE + MM)$$

$$CNF = 100 - [(FDN - FDNp)] + PB + EE + MM$$

em que: $FDNp = FDN$ corrigido para proteína.

Na avaliação dos teores de FDN indigestível (FDNi), as amostras foram pesadas em saquinhos de TNT com área de 25 cm² e porosidade de 100 g/m² (VALENTE et al., 2011) seguindo a relação de 20 mg MS/cm² de superfície (NOCEK, 1988). Os saquinhos foram incubados no rúmen de dois tourinhos Nelore por 264 horas (CASALI et al., 2008), alimentados com silagem de milho e concentrado (relação forragem:concentrado de 60:40). O teor de FDNi foi determinado usando-se autoclave a uma temperatura de 110°C por 40 minutos (SENGER et al., 2008).

Os valores de pH do fluido ruminal foram mensurados usando-se o peagâmetro modelo MA522 (Marconi®). Após determinação do pH, utilizou-se 1 mL de H₂SO₄ (1:1) em cada 50 mL de líquido ruminal no intuito de cessar a atividade dos microrganismos, mantendo-se as amostras congeladas a -20°C para análise da concentração de N-NH₃ com destilação de KOH 2N de acordo com Fenner (1965). As concentrações dos AGV foram determinadas utilizando-se cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC2014) de acordo com Famme e Knudsen (1984).

A caracterização da massa ensilada durante o enchimento dos silos foi realizada seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente.

2.9. Análise Estatística

Todos os dados obtidos durante o experimento foram submetidos à análise de variância utilizando-se o procedimento PROC MIXED do programa estatístico SAS (versão 9.0). Os dados referentes às análises químicas e microbiológicas das silagens foram analisados utilizando-se o delineamento inteiramente ao acaso (DIC), com 12 repetições por tratamento, comparando-se as médias pelo procedimento DIFF do SAS, no qual a diferença entre médias baseia-se no teste F de Fisher a 5% de significância. A variável fixa foi silagem (tratamentos) e a variável aleatória foi o erro experimental. O modelo utilizado na avaliação dos dados segue abaixo:

$$y_{ij} = \mu + s_i + e_{ij}$$

em que: y_{ij} = observação na unidade experimental; μ = média geral do experimento; s_i = efeito de silagem; e_{ij} = erro experimental.

Avaliou-se também a interação entre silagem e tempo de amostragem dos sacos traçadores (massa proveniente da camada superficial dos silos), com quatro repetições por tratamento. Compararam-se as médias pelo teste Tukey a 5% de significância. As variáveis fixas foram silagem (tratamentos) e tempo de amostragem dos sacos traçadores, enquanto a variável aleatória foi o erro experimental. O modelo utilizado na avaliação dos dados segue abaixo:

$$y_{ij} = \mu + s_i + t_j + e_{ij}$$

em que: y_{ij} = observação na unidade experimental; μ = média geral do experimento; s_i = efeito de silagem; t_j = efeito do tempo de retirada dos sacos traçadores; e_{ij} = erro experimental.

A condução do experimento de desempenho dos novilhos Nelore foi realizada sob DIC, avaliando-se o arranjo fatorial 2 (duas silagens) x 2 (duas relações volumoso:concentrado), com sete repetições por tratamento. As médias foram comparadas pelo procedimento DIFF do SAS, no qual a diferença entre médias baseia-se no teste F de Fisher a 5% de significância. As variáveis fixas foram silagem e relação volumoso:concentrado (tratamentos) e, as variáveis aleatórias foram os animais e o erro experimental. O modelo utilizado na avaliação dos dados segue abaixo:

$$y_{ij} = \mu + s_i + r_j + e_{ij}$$

em que: y_{ij} = observação na unidade experimental; μ = média geral do experimento; s_i = efeito de silagem; r_j = efeito da relação volumoso:concentrado; e_{ij} = erro experimental.

Na avaliação dos parâmetros ruminais, conduziu-se o experimento sobre delineamento em quadrado latino (DQL) 4 x 4, em arranjo fatorial 2 (duas silagens) x 2 (duas relações volumoso:concentrado). As médias foram comparadas pelo procedimento DIFF do SAS, no qual a diferença entre médias baseia-se no teste F de Fisher a 5% de significância. As variáveis fixas foram silagem e relação volumoso:concentrado (tratamentos), animais e períodos, enquanto a variável aleatória foi o erro experimental. O modelo utilizado na avaliação dos dados segue abaixo:

$$y_{ij(k)} = \mu + t_i + a_j + p_{(k)} + e_{ij(k)}$$

em que: $y_{ij(k)}$ = observação na unidade experimental; μ = média geral do experimento; t_i = efeito de tratamento; a_j = efeito do animal; $p_{(k)}$ = efeito do período; $e_{ij(k)}$ = erro experimental.

Tendências quanto às diferenças entre tratamentos foram aceitas quando o valor de α encontrou-se entre 0,05 e 0,10. Este procedimento foi adotado para todas as variáveis.

3. RESULTADOS

3.1. Características químicas da silagem inoculada com *L. buchneri*

3.1.1. Camada superficial dos silos

Constatou-se que a aplicação do *L. buchneri* inibiu o desenvolvimento da população de leveduras e fungos filamentosos no topo do silo, o que resultou em menores valores de pH da massa ensilada (Tabela 3).

Tabela 3. População de leveduras e fungos filamentosos, valores de pH, recuperação de MS e estabilidade aeróbia de silagens de milho inoculadas com *L. buchneri* provenientes dos sacos traçadores (camada superficial dos silos).

Item	Silagem		EPM	P-valor*		
	Controle	<i>L. buchneri</i>		S	Retirada	S x R
Leveduras ¹	4,04	3,09	0,342	0,0154	0,0045	0,1393
Fungos ¹	2,91	2,41	0,137	0,0204	<0,0001	<0,0001
pH	4,16	3,81	0,038	<0,0001	0,0038	0,0091
RMS (%) ²	90,50	88,87	1,610	0,5011	0,1220	0,2537
Estabilidade (h)	28,81	29,29	0,547	0,9021	<0,0001	<0,0001

¹Log₁₀ UFC/g; ²RMS = recuperação de matéria seca. *EPM = erro padrão da média. P-valores representa a comparação estatística entre silagem inoculada e controle, tempo de retirada dos sacos traçadores da massa ensilada e interação entre estes fatores.

Houve interação entre silagens e tempo de retirada dos sacos traçadores dos silos quanto aos valores de pH, ocorrência de fungos filamentosos e estabilidade aeróbia (Tabela 3). Na primeira retirada dos sacos traçadores, verificou-se maior ocorrência de fungos filamentosos na silagem inoculada, enquanto na segunda retirada, este quadro inverteu-se, não havendo efeito na última retirada (Tabela 4).

Com relação aos valores de pH, maiores valores foram notados na silagem controle durante todas as retiradas. A silagem inoculada demorou maior tempo para elevar a temperatura na primeira retirada dos sacos traçadores, contudo, a silagem controle apresentou maior estabilidade durante a terceira retirada, não sendo verificado efeito na segunda retirada (Tabela 4).

Tabela 4. Desdobramento da interação entre silagens e tempo de amostragem dos sacos traçadores (massa obtida na camada superficial dos silos) quanto à ocorrência de fungos filamentosos, valores de pH e estabilidade aeróbia.

Silagem*	Retirada		
	1	2	3
	Fungos filamentosos (Log ₁₀ UFC/g)		
Controle	2,00 ^{Bb}	4,54 ^{Aa}	2,19 ^{Ba}
<i>L. buchneri</i>	3,05 ^{Aa}	2,19 ^{Bb}	2,00 ^{Ba}
	pH		
Controle	4,07 ^{Ba}	4,45 ^{Aa}	3,95 ^{Ba}
<i>L. buchneri</i>	3,87 ^{Ab}	3,81 ^{Ab}	3,75 ^{Ab}
	Estabilidade aeróbia (horas)		
Controle	36,32 ^{Ab}	22,62 ^{Aa}	27,50 ^{Aa}
<i>L. buchneri</i>	53,72 ^{Aa}	27,27 ^{Ba}	6,87 ^{Cb}

*Médias seguidas de letras diferentes minúsculas (dentro de colunas) e maiúsculas (dentro de linhas) diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância.

3.1.2. Massa de silagem fornecida aos animais

Houve diferença entre os tratamentos quanto aos componentes da fração fibrosa, encontrando-se menores teores de FDN, FDNp, FDA, celulose e NIDN, com maior teor de CNF quando aplicou-se *L. buchneri* no momento da ensilagem comparado à silagem controle. Do mesmo modo, verificou-se menor concentração de ácido láctico na silagem de milho inoculada com *L. buchneri*, o que provocou uma queda na relação entre este ácido e o ácido láctico. Embora a silagem controle tenha apresentado maior concentração de ácido láctico (ácido forte), o pH não foi alterado, assim como os teores de N amoniacal (Tabela 5). As forragens controle e inoculadas ensiladas apresentaram uma concentração de FDN de 401,7 e 449,4 g/kg de MS, respectivamente. Desta forma, evidencia ainda mais a atuação do *L. buchneri* sobre a fração fibrosa, causando um decréscimo na concentração de FDN obtida na silagem em relação à forragem de 88,4 g/kg de MS, enquanto na silagem controle esta queda foi de 11,7 g/kg de MS.

Tabela 5. Características químicas (g/kg de MS) de silagem de milho inoculada ou não com *Lactobacillus buchneri*.

Item	Controle	<i>L. buchneri</i>	EPM	P valor
Composição bromatológica				
MS (g/kg)	315	326	5,498	0,169
MO	963	962	2,130	0,786
MM	37	37	2,130	0,786
PB	82	84	1,190	0,459
EE	37	35	2,224	0,489
FDN	390	361	5,573	0,001
FDNp	363	336	5,535	0,001
FDA	230	207	4,061	0,001
Celulose	190	172	3,372	0,001
Hemicelulose	159	153	6,128	0,465
Lignina	29	25	1,901	0,217
NIDN (% do NT)	328	292	7,757	0,003
NIDA (% do NT)	125	115	5,997	0,289
CHOT	844	843	2,814	0,872
CNF	491	514	6,586	0,016
Perfil fermentativo				
Ácido láctico	106	74	9,767	0,028
Ácido acético	61	61	3,383	0,920
Relação lactato:acetato	1,80	1,24	0,152	0,015
Ph	3,60	3,60	0,017	0,784
N-NH ₃ (% do NT)	5,05	4,35	0,463	0,292

¹MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; FDNp = fibra em detergente neutro corrigida para proteína; FDA = fibra em detergente ácido; NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido; CHOT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não fibrosos; N-NH₃ = nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total. *EPM = erro padrão da média. P-valores representa a comparação estatística entre silagem inoculada e controle.

3.2. Desempenho animal

Os animais consumiram maior quantidade de nutrientes (exceto FDN e FDA) e energia bruta quando alimentados com silagem de milho inoculada associado a 60% de concentrado na dieta (interação significativa entre silagem e relação volumoso:concentrado, Tabela 6).

Tabela 6. Consumo de nutrientes (kg/dia) e energia (Mcal/dia) por tourinhos Nelore alimentados com silagem de milho inoculada com *L. buchneri* associada a duas relações volumoso:concentrado.

Item ¹	Controle		<i>L. buchneri</i>		EPM	P-valor*		
	60:40	40:60	60:40	40:60		S	V:C	S x V:C
MS	8,49	8,47	8,28	9,52	0,159	0,015	0,001	0,001
MS ²	2,03	2,03	2,04	2,24	0,030	0,003	0,001	0,003
MO	8,24	8,30	8,03	9,27	0,152	0,018	0,001	0,001
PB	1,05	1,05	1,02	1,20	0,021	0,006	0,001	0,001
EE	0,39	0,44	0,38	0,48	0,007	0,103	0,001	0,001
FDN	2,37	2,00	2,24	2,14	0,040	0,947	0,001	0,002
FDA	1,26	1,01	1,12	1,02	0,021	0,005	0,001	0,002
CHOT	6,79	6,80	6,63	7,59	0,125	0,019	0,001	0,001
CNF	4,39	4,74	4,32	5,38	0,087	0,004	0,001	0,001
EB	34,59	34,40	34,34	39,54	0,867	0,009	0,008	0,004

¹MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; CHOT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não fibrosos; EB = energia bruta; EM = energia metabolizável. ²Consumo de MS em relação ao peso vivo. *EPM = erro padrão da média. P-valores representa a comparação estatística entre silagens, relações volumoso:concentrado e interação entre estes fatores.

A inoculação da silagem de milho com *L. buchneri* aumentou a digestibilidade da MS, MO, FDN e CHOT da dieta. Em relação à quantidade de concentrado na dieta, as maiores digestibilidades do EE, FDN e CNF foram notadas quando os animais consumiram maior quantidade de silagem na dieta (60%) (Tabela 7).

Tabela 7. Digestibilidade aparente da dieta contendo silagem de milho inoculada ou não com *L. buchneri* associada a duas relações volumoso:concentrado em tourinhos Nelore.

Item ¹	Controle		<i>L. buchneri</i>		EPM	P-valor*		
	60:40	40:60	60:40	40:60		S	V:C	S x V:C
MS	67,34	63,96	69,10	68,71	0,935	0,022	0,168	0,271
MO	70,77	67,67	72,34	72,27	0,903	0,024	0,224	0,248
PB	54,06	54,29	57,73	56,59	2,566	0,419	0,902	0,852
EE	85,30	80,43	86,98	78,94	2,508	0,969	0,017	0,532
FDN	34,43	20,84	38,91	33,51	1,445	0,001	0,001	0,009
CHOT	68,46	68,74	71,29	71,93	0,959	0,036	0,738	0,900
CNF	72,24	65,22	72,49	71,12	1,098	0,059	0,013	0,081
EB	69,31	65,23	69,85	69,63	1,234	0,056	0,093	0,130

¹MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; CHOT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não fibrosos; EB = energia bruta. *EPM = erro padrão da média. P-

valores representa a comparação estatística entre silagens, relações volumoso:concentrado e interação entre estes fatores.

Como conseqüência do maior consumo observado com a associação da silagem inoculada à 60% de concentrado e à maior digestibilidade obtida com a silagem inoculada, o consumo de nutrientes digestíveis foi superior também nos animais alimentados com a associação de silagem de milho inoculada com *L. buchneri* e 60% de concentrado na dieta (exceto com relação à FDN), notando-se a mesma tendência para energia digestível e metabolizável (Tabela 8).

Tabela 8. Consumo de nutrientes digestíveis (kg/dia) e energia digestível e metabolizável (Mcal/dia) por tourinhos Nelore alimentados com silagem de milho inoculada com *L. buchneri* associada a duas relações volumoso:concentrado.

Item ¹	Controle		<i>L. buchneri</i>		EPM	P-valor*		
	60:40	40:60	60:40	40:60		S	V:C	S x V:C
MS	5,71	5,56	5,73	6,52	0,165	0,007	0,062	0,009
MO	5,82	5,74	5,81	6,69	0,162	0,008	0,022	0,007
PB	0,56	0,57	0,63	0,65	0,024	0,034	0,612	0,775
EE	0,33	0,35	0,33	0,36	0,009	0,684	0,075	0,450
FDN	0,81	0,45	0,87	0,68	0,037	0,001	<0,001	0,027
CNF	3,17	3,18	3,17	3,84	0,108	0,006	0,005	0,006
CHOT	4,64	4,78	4,73	5,46	0,133	0,008	0,003	0,042
ED	23,56	22,76	23,37	26,49	0,730	0,101	0,273	0,070
EM	19,32	18,66	19,16	21,72	0,599	0,101	0,273	0,070

¹MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; CNF = carboidratos não fibrosos; CHOT = carboidratos totais; ED = energia digestível; EM = energia metabolizável. *EPM = erro padrão da média. P-valores representa a comparação estatística entre silagens, relações volumoso:concentrado e interação entre estes fatores.

Com relação às avaliações da fermentação ruminal, constatou-se uma tendência de maior produção de ácido acético e propiônico nos animais alimentados com silagem controle, assim como sobre a produção total de AGV. A relação volumoso:concentrado 40:60 proporcionou maior produção de ácido propiônico e butírico, assim como, diminuiu a relação acetato:propionato. Do mesmo modo, a associação entre silagem inoculada e 60% de concentrado na dieta animal permitiu obter uma menor relação acetato:propionato durante o processo fermentativo

ruminal (interação significativa entre silagem e relação volumoso:concentrado, Tabela 9).

Tabela 9. Parâmetros ruminiais (valores médios dos tempos de colheita) de tourinhos Nelore alimentados com silagem de milho inoculada ou não com *L. buchneri* associado a duas relações volumoso:concentrado.

Item ¹	Controle		<i>L. buchneri</i>		EPM	P-valor*		
	60:40	40:60	60:40	40:60		S	V:C	S x V:C
AC	27,22	30,45	24,22	24,21	4,272	0,062	0,509	0,508
AP	5,98	8,74	5,70	6,73	1,391	0,062	0,002	0,157
AB	3,78	5,01	3,59	4,45	0,899	0,411	0,023	0,685
AC:AP	4,24	4,14	4,57	3,55	0,281	0,585	0,015	0,045
AGV	36,98	42,35	31,71	35,39	7,916	0,082	0,195	0,809
pH	6,26	6,13	6,10	6,06	0,133	0,289	0,417	0,670
N-NH ₃	8,66	10,19	9,65	8,56	0,811	0,782	0,852	0,258

¹AC = ácido acético; AP = ácido propiônico; AB = ácido butírico; AC:AP = relação acetato:propionato; AGV = ácidos graxos voláteis; N-NH₃ = nitrogênio amoniacal. *EPM = erro padrão da média. P-valores representa a comparação estatística entre silagens, relações volumoso:concentrado e interação entre estes fatores.

Os animais que receberam silagem inoculada associado a 60% de concentrado na dieta apresentaram ganho de peso superior aos demais tratamentos. Com relação aos dados estudados na carcaça, somente a área de olho de lombo (AOL), verificou-se maior valor na silagem controle em relação à inoculada dentro da relação 60:40, enquanto dentro de silagens, notou-se maior valor quando os animais receberam silagem inoculada associado a 60% de concentrado (Tabela 10).

Tabela 10. Desempenho e características da carcaça de tourinhos Nelore alimentados com silagem de milho inoculada com *L. buchneri* associada a duas relações volumoso:concentrado.

Item ¹	Controle		<i>L. buchneri</i>		EPM	P-valor*		
	60:40	40:60	60:40	40:60		S	V:C	S x V:C
PCI (kg)	347	339	343	349	3,702	0,436	0,863	0,073
PCF (kg)	511	506	498	520	7,426	0,939	0,259	0,096
GPD (kg/dia)	1,46	1,44	1,36	1,58	0,051	0,737	0,065	0,029
EA	0,17	0,17	0,17	0,16	0,003	0,742	0,124	0,329
RC (%)	54,96	55,66	54,80	55,34	0,369	0,645	0,231	0,881
GI (kg)	4,64	5,04	5,39	6,10	0,441	0,160	0,386	0,805
EGS (mm)	5,65	4,34	5,84	3,57	0,623	0,746	0,530	0,590
pH	6,08	6,14	6,01	6,18	0,096	0,881	0,373	0,679
AOL (cm ²)	68,53	64,54	63,24	69,94	1,827	0,976	0,463	0,007

¹PCI = peso corporal inicial; PCF = peso corporal final; GPD = ganho de peso diário; EA = eficiência alimentar; RC = rendimento de carcaça; GI = gordura interna; EGS = espessura de gordura subcutânea; AOL = área de olho de lombo. *EPM = erro padrão da média. P-valores representa a comparação estatística entre silagens, relações volumoso:concentrado e interação entre estes fatores.

4. DISCUSSÃO

4.1. Características químicas da silagem inoculada com *L. buchneri*

4.1.1. Camada superficial dos silos

A menor ocorrência de leveduras e fungos filamentosos na camada superficial da massa ensilada devido à aplicação do *L. buchneri* está de acordo com os diversos trabalhos disponíveis na literatura, conforme revisado por Kleinschmit e Kung Jr. (2006). Este controle se dá em razão do *L. buchneri* converter ácido láctico em ácido acético em condições anaeróbias (OUDE ELFERINK et al., 2001), o qual apresenta características antifúngicas (MOON, 1983). Entretanto, ambas as silagens apresentaram populações de leveduras abaixo do nível crítico (5 UFC/g de silagem) estabelecido por Woolford (1990). Segundo este autor, silagens com populações de leveduras acima deste valor são mais propensas à deterioração aeróbia, embora este não seja o fator primordial que definirá o nível de deterioração, pois isto é dependente do grupo de leveduras que atuam sobre a silagem em condições aeróbias (as utilizadoras de ácido láctico compreendem o grupo mais importante).

Normalmente, maiores perdas de MS são observadas durante o processo de ensilagem pelo uso do *L. buchneri*, pois esta bactéria fermenta hexoses a ácido lático, etanol e CO₂, sendo que o ácido lático também é metabolizado a ácido acético com formação de CO₂ (MUCK, 2010), implicando em maiores perdas de MS na forma de gás. Contudo, no presente trabalho, este fato não foi observado.

O propósito da utilização do *L. buchneri* em silagens é aumentar a estabilidade das silagens após abertura dos silos, por meio do controle de microrganismos deterioradores devido à produção de ácido acético por esta bactéria (MOON, 1983), entretanto, não houve o efeito esperado deste microrganismo neste estudo. Talvez este fato esteja correlacionado à avaliação da estabilidade ter sido realizada com a massa proveniente da camada superficial dos silos, a qual apresenta maior população de leveduras e fungos filamentosos em decorrência da maior troca de gases durante a fermentação, em que o oxigênio penetra no silo e, esta camada fica mais susceptível à atuação destes microrganismos (BORREANI; TABACCO, 2008). Além deste fator, há que se considerar a pequena fatia de retirada diária em ambos os silos, em que as fatias retiradas diariamente foram de 10 cm (silagem controle) e 7,5 cm (silagem inoculada).

Segundo Holmes (2009), pequenas fatias de retirada diariamente da massa ensilada podem elevar consideravelmente as perdas de MS, principalmente em silagens mal compactadas (baixa densidade), devido à penetração de oxigênio na face do silo. Desta maneira, a avaliação da massa proveniente de cada saco traçador parece ter sido afetada pela penetração de oxigênio, o que interfere sobremaneira as variáveis estudadas, principalmente a avaliação do comportamento da massa em aerobiose, haja vista, que provavelmente a massa ensilada já estava em contato com o oxigênio antes mesmo da remoção dos sacos no painel dos silos. Estas condições são agravadas em ambiente de clima tropical, pois as temperaturas mais elevadas são ideais para o desenvolvimento de microrganismos deterioradores (ASHBELL et al., 2002).

O fato de não ter sido observado uma padronização entre retiradas quanto à população de fungos pode estar relacionado ao conteúdo de ácidos e nutrientes serem diferentes em diversos tempos de observação (retirada dos sacos), além do que, as condições de temperatura e umidade são diferentes no decorrer dos dias.

Embora a literatura seja rica em trabalhos que demonstrem o efeito positivo do *L. buchneri* sobre a população de microrganismos deterioradores, existem trabalhos que não demonstram o mesmo efeito. Arriola et al. (2011a) não observaram efeito da aplicação do *L. buchneri* (4×10^5 UFC/g de forragem) isolado ou em combinação com *Pediococcus pentosaceus* sobre a população de leveduras e fungos filamentosos em silagem de milho.

Embora conceitualmente ocorra quebra da estabilidade aeróbia quando a temperatura da silagem ultrapassa em 2°C a temperatura ambiente, não se pode deixar de lado que existem condições adversas ao longo dos dias de utilização de um silo, e que manter os valores de pH mais baixos também é interessante, pois demonstra pequena atuação do *L. buchneri* sobre a população de microrganismos deterioradores e oportunistas, o que reflete em melhor valor nutritivo nestas silagens.

4.1.2. Massa de silagem fornecida aos animais

Os menores teores de fibra encontrados na silagem inoculada possivelmente estão associados à ação da enzima ferulato esterase que é produzida por algumas cepas específicas de *L. buchneri*. Esta enzima age sobre a fração fibrosa liberando ácido ferúlico das arabinosilanas, o que aumenta a susceptibilidade da parede celular à hidrólise enzimática (KANG et al., 2009). Os dados observados neste trabalho estão de acordo com Nkosi et al. (2011), que observaram redução nos teores de FDN e FDA mediante inoculação de *L. buchneri*. Arriola et al. (2011c) notaram menor teor de FDN (43,0% na MS) em silagens de milho inoculadas com *L. buchneri* comparativamente à silagem controle (45,6% na MS).

A menor concentração de ácido láctico verificada na silagem inoculada está associada à conversão deste ácido em ácido acético pelo *L. buchneri*, conforme reportado por Muck (2010). Entretanto, o fato de não ter sido observada diferença quanto à concentração de ácido acético pode estar relacionado à conversão de ácido láctico em ácido acético, 1,2-propanodiol e pequenas quantidades de etanol em condições anaeróbias (OUDE ELFERINK et al., 2001). Todavia, estes dois últimos produtos não foram mensurados neste estudo, o que impossibilita afirmar que não

houve diferença na concentração de ácido acético em função da maior produção destes produtos.

O fato de não ter sido observada diferença na concentração de ácido acético corrobora os dados obtidos por Tabacco et al. (2011), em que os autores não observaram efeito da aplicação de duas cepas de *L. buchneri* sobre a concentração de ácido acético, embora o ácido láctico tenha sido maior na silagem controle.

Os valores de pH das duas silagens (controle e inoculada) ficaram bem próximos do limite estabelecido por Kung Jr. e Shaver (2001) para obtenção de adequado padrão fermentativo em silagem de milho (3,7 a 4,2), enquanto o teor de N-NH₃ ficou abaixo da faixa estabelecida por estes autores. McDonald, Henderson e Heron (1991) reportaram que baixos valores de pH inibem a degradação da proteína durante o processo fermentativo, o que representa valores ideais para maior preservação de nutrientes durante esta fase.

4.2. Desempenho animal

O consumo de MS observado nos animais alimentados com silagem inoculada associado a 60% de concentrado na dieta foi superior em 13,8% (1,03 kg); 12,9% (1,24 kg) e 12,3% (1,05 kg), comparando-se com os animais alimentados com silagem controle e 40% de concentrado, silagem inoculada e 40% de concentrado e silagem controle associado a 60% de concentrado, respectivamente. Possivelmente estes resultados estão associados à menor porcentagem de fibra e maior concentração de CNF na silagem de milho inoculada. Desta maneira, os CNF apresentam maiores taxas de fermentação ruminal em relação aos carboidratos fibrosos, ocasionando maior taxa de passagem do alimento para os compartimentos posteriores ao retículo-rúmen (MERTENS, 1992; CHURCH, 1993), o que possibilita aos animais consumirem maior quantidade de alimento.

O consumo de MS também pode ter aumentado devido ao efeito probiótico promovido pela inoculação da silagem com *L. buchneri*. De acordo com Weinberg, Muck e Weimer (2003), as BAL podem sobreviver em condições ruminais e maximizar o desempenho animal por duas maneiras distintas e complementares. A primeira está relacionada com cepas específicas de BAL, em que estas podem interagir com os microrganismos do rúmen e maximizar a funcionalidade ruminal e,

conseqüentemente, o desempenho animal. A segunda hipótese está relacionada com o controle de microrganismos que causam a deterioração da silagem, reduzindo seu valor nutritivo.

Sabe-se que o controle dos microrganismos responsáveis pela deterioração das silagens pode estar relacionado a uma grande variedade de substâncias antimicrobianas produzidas pelas BAL, como as bacteriocinas (MULLER; BEHRENDT; MULLER, 1996), e, com isso, podem garantir a maior preservação dos nutrientes contidos nas silagens. Além disto, o *L. buchneri* é capaz de produzir substâncias antimicrobianas, entre elas a buchnericina, a qual possui efeito inibidor em bactérias gram-positivas (comumente bactérias celulolíticas presentes no rúmen) (YILDIRIM, 2001). Desta maneira, pode ter ocorrido alguma interação entre esta bacteriocina e a população de bactérias predominantemente amilolíticas (esperado em dietas ricas em concentrado), manipulando o ambiente ruminal e ocasionando uma maior funcionalidade quando se associou o inoculante ao maior nível de concentrado na dieta. Bactérias do gênero *Lactobacillus* utilizam carboidratos solúveis como substratos para se desenvolverem e, quando se associou 60% de concentrado na dieta, este efeito foi mais pronunciado. Todavia, esta é apenas uma hipótese, pois os mecanismos para que isto ocorra ainda não são claros, além do que, no presente trabalho, não se avaliou a sobrevivência do *L. buchneri* em condições ruminais e a produção de buchnericina.

O aumento no consumo de nutrientes tem sido reportado na literatura devido à inoculação das silagens com bactérias homo e heterofermentativas (ACOSTA ARAGÓN; JATKAUSKAS; VROTNIKIENE, 2012; BAYATKOUHSAR; TAHMASEBI; NASERIAN, 2011; JATKAUSKAS; VROTNIKIENE, 2005; KAMARLOIY; YANSARI, 2008; LUTHER, 1986; KUNG JR. et al., 1993; MEESKE et al., 2002).

Animais alimentados com a dieta contendo silagem inoculada apresentaram maior digestibilidade da FDN, o que pode estar relacionado com a produção da enzima ferulato-esterase pelo *L. buchneri*. Segundo Nsereko et al. (2008), algumas cepas específicas de *L. buchneri* são capazes de produzir a enzima ferulato-esterase e, como descrito por Kang et al. (2009), a enzima ferulato-esterase libera ácido ferúlico das arabinoxilanas presentes na parede celular dos vegetais, e assim, pode aumentar diretamente a digestão da parede celular ou de forma indireta, por

aumentar a susceptibilidade desta à hidrólise celulolítica ou xilanítica. Sabe-se que o ácido ferúlico tem sido identificado como o principal responsável pelas ligações cruzadas nas paredes de polissacarídeos, aumentando assim sua indigestibilidade (RALPH, 1996) e, conseqüentemente, diminui a digestibilidade do alimento.

Os resultados observados neste trabalho corroboram McAllister et al. (1998), que observaram aumento no consumo e na digestibilidade da MS em novilhos Cimental x Charolês alimentados com silagem de alfafa inoculada com BAL homofermentativas.

Embora não tenha sido avaliada a taxa de passagem neste estudo, possivelmente a menor taxa de passagem esperada nas dietas com relação volumoso:concentrado de 60:40 comparadas a 40:60 foi o fator decisivo para o aumento da digestibilidade da FDN. Revisando uma série de trabalhos que avaliaram a aplicação de inoculantes bacterianos homofermentativos em silagens sobre o desempenho animal, Muck (1993) observou melhora nas digestibilidades da MS e FDN em 55 e 30% dos estudos, respectivamente, atribuindo essa resposta positiva na digestibilidade da FDN a uma hidrólise ácida da hemicelulose, visto que as BAL não degradam componentes da parede celular, embora enzimas produzidas por estas bactérias possam agir sobre a fração fibrosa.

Animais que consumiram silagem inoculada associada com uma maior quantidade de concentrado na dieta apresentaram menor diferença na digestibilidade da FDN, quando comparado com a relação contendo menor porcentagem de concentrado. Uma possível explicação para isto está relacionada à inoculação com *L. buchneri*, pois as BAL minimizam os efeitos inibitórios do amido sobre a digestibilidade da FDN (WEINBERG et al., 2007). Estes mesmos autores acreditam na hipótese de haver competição entre os inoculantes bacterianos e microrganismos do rúmen por substratos, como mono e dissacarídeos (provenientes da hidrólise do amido), amônia, vitaminas e minerais essenciais, alterando desta forma a eficiência na produção de lactato. Esta competição deve reduzir a taxa de produção de lactato por bactérias ruminais, mantendo os valores de pH estáveis resultando em maior atividade de bactérias celulolíticas. Sendo assim, esta suposição deve delinear o potencial da capacidade tampão promovido pelos inoculantes bacterianos para silagem no líquido ruminal. Neste sentido, em nosso

estudo, os valores de pH do líquido ruminal dos animais alimentados com dietas contendo altos níveis de concentrado permaneceram estáveis, corroborando a hipótese criada por Weinberg et al. (2007).

Abido et al. (2007) reportaram aumento na digestibilidade da MS e de alguns nutrientes em búfalas leiteiras alimentadas com silagem de milho inoculada com *L. plantarum* e *Enterococcus faecium*. Cleale et al. (1990) observaram maior digestibilidade aparente da MO quando novilhas Holandesas receberam silagem de milho inoculada com *P. acidilactici* e *L. xylosus*.

Maiores concentrações de ácido acético foram encontradas no líquido ruminal dos animais alimentados com dieta à base de silagem controle. Este resultado possivelmente está relacionado a dois fatores. Um deles é o maior teor de FDN da silagem controle, o que irá ocasionar maior produção de acetato no rúmen pelas bactérias celulolíticas (CHURCH, 1993). A outra está relacionada à maior concentração de ácido láctico na silagem controle, em que, este ácido é metabolizado principalmente a ácido propiônico durante a fermentação que ocorre no rúmen (CHARMLEY, 2001).

Mesmo sem diferença significativa entre os valores médios de N-NH₃, notou-se que os valores obtidos neste trabalho são superiores 3,3 e 8,0 mg/dL de N-NH₃ sugeridos por Hoover (1986) como necessários para maximização do crescimento microbiano e da digestão da matéria orgânica no rúmen, respectivamente. Entretanto, como se sabe, o acúmulo de amônia no rúmen está associado à degradação da proteína. Segundo Russell et al. (1992), muitas bactérias ruminais são hábeis em usar amônia como fonte de nitrogênio na síntese de proteína microbiana, entretanto, a fermentação da proteína no rúmen pode gerar mais amônia do que os microrganismos são capazes de utilizar, resultando no acúmulo desta variável. Neste sentido, Mehrez, Ørskov e McDonald (1977) descrevem que a concentração ideal de N-NH₃ no rúmen pode ser definida como àquela que permita a máxima taxa de fermentação ou máxima síntese de proteína microbiana por unidade de substrato fermentado.

Isto é interessante, pois, a fonte primária de energia nos animais ruminantes são os AGV produzidos no rúmen, em que estes utilizam de forma eficiente o acetato e butirato durante a fase de engorda (RUSSELL et al., 1992). Outro ponto

importante a ressaltar está relacionado com a melhor eficiência de utilização desta dieta por microrganismos ruminais, haja vista que a população predominante neste caso é de bactérias amilolíticas, desta forma, pode haver redução na produção de metano, pois o principal produto formado por estas bactérias é o ácido propiônico, sendo que não há liberação de H_2 ou CO_2 no rúmen por esta rota (HUNGATE, 1966).

Constatou-se menor relação acetato:propionato no líquido ruminal dos animais alimentados com silagem inoculada associado a 60% de concentrado na dieta. Isto pode contribuir sobremaneira no desempenho animal, pois a menor relação acetato:propionato é interessante em razão da melhor eficiência de utilização da energia dentro do rúmen, pois quando aumenta-se a produção de ácido propiônico, há menores perdas de energia por metano, quando comparado à dietas com maior quantidade de volumoso, o que implica em maior relação acetato:propionato também (CHURCH, 1993).

Notou-se ainda que em todos os tratamentos, as médias dos valores de pH ficaram acima de 6,0. Conforme relatado por Strobel e Russell (1986), estes valores são adequados para otimizar a síntese de proteína microbiana, permitindo o melhor aproveitamento do alimento e/ou dieta. Todavia, valores abaixo deste nível podem causar efeitos deletérios sobre a digestão da fibra, o que é mais comum em dietas com alta quantidade de concentrado.

Bayatkouhsar, Tahmasebi e Naserian (2011) não encontraram diferença nos valores de pH no líquido ruminal de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho inoculada.

Devido ao maior consumo de nutrientes e energia, maiores digestibilidades da FDN verificadas na silagem inoculada, maior consumo de nutrientes digestíveis e menor relação acetato:propionato, os animais alimentados com a dieta contendo silagem inoculada e 60% de concentrado apresentaram ganho de peso superior aos demais tratamentos. Estes ganhos foram superiores em 8,21% (120 g); 16,17% (220 g) e 9,72% (140 g) em relação aos animais tratados com silagem controle associado a 40% de concentrado, silagem inoculada associada a 40% de concentrado e silagem controle associado a 60% de concentrado na dieta, respectivamente.

Estes resultados estão de acordo com Acosta Aragón, Jatkauskas e Vrotniakiene (2012), cujos autores observaram maior ganho de peso em novilhos alimentados com silagem de milho inoculada (produto comercial contendo *E. faecium*, *L. plantarum* e *L. brevis*).

Em relação aos dados avaliados na carcaça, somente a AOL foi afetada pelas diferentes dietas, não havendo efeito do inoculante sobre as demais variáveis. Fugita et al. (2012) não observaram efeito da aplicação de inoculante bacteriano sobre a qualidade da carcaça e da carne de novilhos cruzados terminados em confinamento.

5. CONCLUSÕES

A aplicação do *Lactobacillus buchneri* no momento da ensilagem do milho reduz a fração fibrosa e melhora a qualidade da silagem.

A associação de silagem de milho inoculada com *L. buchneri* e 60% de concentrado na dieta proporciona maior consumo de matéria seca, de nutrientes e energia, resultando em maior desempenho animal.

6. REFERÊNCIAS

ABIDO, A. M.; SOLIMAN, H. S.; HAMZA, A. S.; KHOLIF, S. M.; ELSAYED, H. M.; ABD-ELAZIZ, A. S. Effect of maize silage inoculated by bacteria on performance of lactating buffaloes. **International Journal of Dairy Science**, Islamabad, v. 2, n. 4, p. 330-338, 2007.

ACOSTA ARAGÓN, Y.; JATKAUSKAS, J.; VROTNIAKIENE, V. The effect of a silage inoculant on silage quality, aerobic stability, and meat production on farm scale. **ISRN Veterinary Science**, Cairo, p. 1-6, 2012.

AOAC. **Official Methods of Analysis**, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 1996.

ARRIOLA, K. G.; KIM, S. C.; ADESOGAN, A. T. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 1511-1516, 2011a.

ARRIOLA, K. G.; KIM, S. C.; STAPLES, C. R.; ADESOGAN, A. T. Effect of applying bacterial inoculants containing different types of bacteria to corn silage on the performance of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 3973-3979, 2011b.

ARRIOLA, K. G.; KIM, S. C.; STAPLES, C. R.; ADESOGAN, A. T. Effect of fibrolytic enzyme application to low and high concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 832-841, 2011c.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z. G.; HEN, Y.; FILYA, I. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, Basingstoke, v. 28, p. 261-263, 2002.

BARKER, S. B.; SUMMERSON, W. H., The colorimetric determination of lactic acid in biological material. **The Journal of Biological Chemistry**, New York, v. 138, p. 535-554, 1941.

BAYATKOUHSAR, J.; TAHMASEBI, A. M.; NASERIAN, A. A. The effects of microbial inoculation of corn silage on performance of lactating dairy cows. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 142, p. 170-174, 2011.

BERNARDES, T.F. **Controle da deteriora o aeróbia de silagens**. 103 f., 2006. Tese (Doutorado) apresentada   Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/FCAV da Universidade Estadual Paulista/UNESP.

BOLETIM TÉCNICO 100. **Recomenda es de Aduba o e Calagem para o Estado de São Paulo**. VAN RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Eds.). Instituto Agronômico: FUNDAG, 2^{ed.}, Campinas, 1997.

BORREANI, G.; TABACCO, E. Low permeability to oxygen of a new barrier film prevents butyric acid bacteria spore formation in farm corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 4272-4281, 2008.

CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PEREIRA, J. C.; HENRIQUE, L. T.; FREITAS, S. G.; PAULINO, M. F. Influência do tempo de incubac o e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigest veis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 2, p.335-342, 2008.

CHARMLEY, E. Towards improved silage quality - A review. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 81, p. 157-168, 2001.

CHURCH, D. C. **The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition**. Waveland Press, Inc. Prospect Heights, IL, 1993.

CLEALE, R. M.; FIRKINS, J. L.; VAN DER BEEK, F.; CLARK, J. H.; JASTER, E. H.; MCCOY, G. C.; KLUSMEYER, T. H. Effect of inoculation of whole plant corn forage with *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus xylosus* on preservation of silage and heifer growth. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, p. 711-718, 1990.

FAMME, P.; KNUDSEN, J. Direct gas chromatographic determination of short - chain (C₂ -C₄) volatile fatty acids in aqueous solutions. **Comparative Biochemistry and Physiology**, London, v. 77, p. 617-618, 1984.

FENNER, H. Method for determining total volatile bases in rumen fluid by stem distillation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 48, p. 249-251, 1965.

FUGITA, C. A.; PRADO, I. N.; JOBIM, C. C.; ZAWADZKI, F.; VALERO, M. V.; PIRES, M. C. O.; PRADO, R. M.; FRANÇOZO, M. C. Corn silage with and without enzyme-bacteria inoculants on performance, carcass characteristics and meat quality in feedlot finished crossbred bulls. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 1, p. 154-163, 2012.

GESUALDI JÚNIOR, A.; QUEIROZ, A. C.; RESENDE, F. D.; ALLEONI, G. F.; RAZOOK, A. G.; FIGUEIREDO, L. A.; GESUALDI, A. C. L. S.; DETMANN, E. Características de carcaça de bovinos Nelore e Caracu selecionados para peso aos 378 dias de idade recebendo alimentação restrita ou à vontade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 131-138, 2006.

HOLMES, B. J. Software applications for sizing silos to maximize silage quality. In: I International Symposium on Forage Quality and Conservation, 2009, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro: Forage Quality and Conservation, 2009. 19 p.

HOOVER, W. H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 10, p. 2755-2766, 1986.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 1966. 312 p.

JATKAUSKAS, J.; VROTNIAKIENE, V. Performance of dairy cows fed with high moisture whole plant maize silage inoculated with *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus plantarum*. **Archiva Zootechnica**, Bucharest, v. 8, p. 57-64, 2005.

JOBIM, C. C.; REIS, R. A.; SCHOKEN-ITURRINO, R. P.; ROSA, B. Desenvolvimento de microrganismos durante a utilização de silagens de grãos úmidos de milho e de espigas de milho sem brácteas. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, p. 671-676, 1999.

KAMARLOIY, M.; YANSARI, A. T. Effect of microbial inoculants on the nutritive value of corn silage for beef cattle. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 11, n. 8, p. 1137-1141, 2008.

KANG, T. W.; ADESOGAN, A. T.; KIM, S. C.; LEE, S. S. Effects of an esterase-producing inoculant on fermentation, aerobic stability, and neutral detergent fiber digestibility of corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 732-738, 2009.

KLEINSCHIMIT, D. H.; KUNG JR., L. 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**, Champaign, v. 89, p. 4005-4013, 2006.

KRISTENSEN, N. B.; SLOTH, K. H.; HØJBERG, O.; SPLIID, N. H.; JENSEN, C.; THØGERSEN, R. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation,

microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, p. 3764-3774, 2010.

KUNG JR., L.; CHEN, J. H.; KRECK, E. M.; KNUTSEN, K. Effect of microbial of corn silage for inoculants on the nutritive value lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 3763-3770, 1993.

KUNG JR., L.; GRIEVE, D. B.; THOMAS, J. W.; HUBER, J. T. Added ammonia or microbial inoculant for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, p. 299-306, 1984.

KUNG JR., L.; SHAVER, R. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. **Focus on Forage**, Madison, v. 3, p. 1-5, 2001.

KUNG JR., L.; TAYLOR, C. C.; LYNCH, M. P.; NEYLON, J. M. The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating Dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 336-343, 2003.

LUTHER, R. M. Effect of microbial inoculation of whole-plant corn silage on chemical characteristics, preservation and utilization by steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 63, p. 1329-1336, 1986.

MCALLISTER, T. A.; FENIUK, R.; MIR, Z.; MIR, P.; SELINGER, L. B.; CHENG, K. J. Inoculants for alfalfa silage: Effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot steers. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 53, p. 171-181, 1998.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. **The Biochemistry of Silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe, 1991. 340 p.

MEESKE, R.; VAN DER MERWE, G. D.; GREYLING, J. F.; CRUYWAGEN, C. W. The effect of the addition of a lactic acid bacterial inoculant to maize at ensiling on silage composition, silage intake, milk production and milk composition. **South African Journal of Animal Science**, Hatfield, v. 32, n. 4, p. 263-270, 2002.

MEHREZ, A. Z.; ØRSKOV, E. R.; MCDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, London, v. 38, p. 437-443, 1977.

MERTENS, D. R. Analysis of fiber in feeds and its uses in feed evaluation and ration formulation. In: TEIXEIRA, J. C.; NEIVA, R. S. (Eds.). **Anais...** Simpósio Internacional de Ruminantes. Sociedade Brasileira de Zootecnia, Lavras - MG. Brasil, 1992. p. 01-32.

MOON, N. J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v. 55, p. 453-460, 1983.

MUCK, R. E. **The role of silage additives in making high quality silage**. New York: Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service, 1993. n. 67, p. 106-116.

MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 183-191, 2010. (suplemento especial)

MULLER, T.; BEHRENDT, U.; MULLER, M. Antagonistic activity in plant-associated lactic acid bacteria. **Microbiological Research**, Jena, v. 151, p. 63-70, 1996.

NKOSI, B. D.; MEESKE, R.; LANGA, T.; THOMAS, R. S. Effects of bacterial silage inoculants on whole-crop maize silage fermentation and silage digestibility in rams. **South Africa Journal of Animal Science**, Hatfield, v. 41, p. 350-359, 2011.

NOCEK, J. E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, p. 2051-2069, 1988.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 2000. Nutrients requirements of beef cattle. 7.ed. Washington, D.C. 244 p.

NSEREKO, V. L.; SMILEY, B. K.; RUTHERFORD, W. M.; SPIELBAUER, A.; FORRESTER, K. J.; HETTINGER, G. H.; HARMAN, E. K.; HARMAN, B. R. Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 145, p. 122-135, 2008.

OUDE ELFERINK, S. J. W. H.; KROONEMAN, J.; GOTTSCHAL, J. C.; SPOELSTRA, S. F.; FABER, F.; DRIEHUIS, F. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2 propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, p. 125-132, 2001.

PINA, D. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D.; CAMPOS, J. M. S.; MORAES, K. A. K.; OLIVEIRA, A. S.; PAIXÃO, M. L. Efeitos de indicadores e dias de coleta na digestibilidade dos nutrientes e nas estimativas do valor energética de alimentos para vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, p. 2461-2468, 2006.

RALPH, J. **Cell wall cross-linking in grasses**. In: Informational Conference with Dairy and Forage Industries. US Dairy Forage Research Center, 1996. 8 p.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, p. 3551-3561, 1992.

SENGER, C. C. D.; KOZLOSKI, G. V.; SANCHEZ, L. M. B.; MESQUITA, F. R.; ALVES, T. P.; CASTAGNINO, D. S. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 146, p. 169-174, 2008.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSEL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, p. 3562-3577, 1992.

STROBEL, H. J.; RUSSELL, J. B. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, p. 2941, 1986.

TABACCO, E.; PIANO, S.; REVELLO-CHION, A.; BORREANI, G. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 5589-5598, 2011.

VALENTE, T. N. P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; CUNHA, M.; QUEIROZ, A. C.; SAMPAIO, C. B. *In situ* estimation of indigestible compounds contents in cattle feed and feces using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 666-675, 2011.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Cornell University, Ithaca, 1985.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E.; WEIMER, P. J. The survival of silage inoculant lactic acid bacteria in rumen fluid. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 94, p. 1066-1071, 2003.

WEINBERG, Z. G.; SHATZ, O.; CHEN, Y.; YOSEF, E.; NIKBAHAT, M.; BENGHDALIA, D.; MIRON, J. Effect of lactic acid bacteria inoculants on *in vitro* digestibility of wheat and corn silages. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4754-4762, 2007.

WILSON, R. K., **A rapid accurate method for measuring volatile fatty acids and lactic acid in silage**. Ruakura: Animal Research Institute (Research Report), Hamilton, 1971.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v. 68, p. 101-116, 1990.

YILDIRIM, M. Purification of buchnericin LB produced by *Lactobacillus buchneri* LB. **Turkish Journal of Biology**, Ankara, v. 25, p. 59-65, 2001.

ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. F.; RIBEIRO, J. L.; SARTURI, J. O.; MOURÃO, G. B. Relações biométricas entre o estágio de maturação e a produtividade de híbridos de milho para produção de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 2, p. 256-264, 2009.