



Universidade Federal do Pará
Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental
Universidade Federal Rural da Amazônia
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Greice Emanuele Vieira Pinheiro

Efeito do Uso de Diferentes Inoculantes Microbianos à Fresco e Liofilizados Sobre a Silagem de Sorgo

Belém-Pará
2008

Greice Emanuele Vieira Pinheiro

Efeito do Uso de Diferentes Inoculantes Microbianos à Fresco e Liofilizados Sobre a Silagem de Sorgo

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia. Área de concentração: Produção Animal. Orientador: Prof. Dr. Almir Vieira Silva. Co-Orientador: Dr. Paulo Campos Christo Fernandes

**Belém-Pará
2008**

Greice Emanuele Vieira Pinheiro

Efeito do Uso de Diferentes Inoculantes Microbianos à Fresco e Liofilizados Sobre a Silagem de Sorgo

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia. Área de concentração: Produção Animal. Orientador: Prof. Dr. Almir Vieira Silva

Data da aprovação. Belém – PA: 12 / 08 / 2008

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Almir Vieira Silva
Universidade Federal Rural da Amazônia

Pesquisador Dr. Paulo Campos Christo Fernandes
Embrapa Amazônia Oriental

Prof. Dr. Cristian Faturi
Universidade Federal Rural da Amazônia

A minha amada mãe, Edina, e a memória de meu querido pai, Deocleciano
pelo apoio
educação
estabilidade do lar
e amor incondicional

Aos meus irmãos Toni e Vânia
pela força e carinho que sempre me dedicaram em todos os
momentos de minha caminhada e especialmente a minha irmã Regina (*in- memoriam*)
que sempre me incentivou e mostrou ser um exemplo de luta e perseverança

Aos meus peraltas e amados sobrinhos Leonardo,
David, Yasmim, Carol, Laura, Daniel e
em especial a Werbeth (*in-memoriã*)
pelos sorrisos e momentos de descontração

Aos meus cunhados Lucyano Peniche e Sheila Silva
pelo apoio
e colaboração

DEDICO este, tentando retribuir o muito que me proporcionaram.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me iluminar e me guiar durante toda a minha vida;

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará (UFPA), pela oportunidade de realização do curso;

A Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pela oportunidade de utilizar sua infraestrutura: Campo experimental e os Laboratórios de Análise de Alimentos e de Bactérias Láticas do Instituto de Saúde e Produção Animal, para o desenvolvimento do presente trabalho;

A Embrapa Amazônia Oriental (EMBRAPA), por conceder a realização de análises laboratoriais nas dependências de seus Laboratórios de Nutrição Animal e Ecofisiologia;

Ao meu orientador Professor Dr. Almir Vieira Silva, pela orientação, amizade, confiança, compreensão nos momentos difíceis e por ser sempre respeitador e grande incentivador;

Ao meu co-orientador Pesquisador Dr. Paulo Campos Christo Fernandes, pelas contribuições, na realização prática do projeto e no fornecimento do material bibliográfico da dissertação, bem como oportunidade de convivência, pelos exemplos de seriedade e profissionalismo;

Aos Professores Drs. Cristian Faturi e Thiago Fernandes Bernardes pelo apoio e sugestões apresentadas;

Aos Professores do curso de pós-graduação em Ciência Animal/Produção Animal, em especial ao Dr. Cláudio Vieira de Araújo, Dra. Geane Dias Gonçalves Ferreira, Dr. José Ribamar Felipe Marques e Dra. Sandra Cristina de Ávila, pela amizade, atenção, ensinamentos e auxílio ao longo do curso.

Ao Rafael Miranda Arraz, pela paciência, compreensão, companheirismo, incentivo e auxílio na realização deste trabalho.

A todos os meus familiares e amigos que sempre torceram para que mais uma etapa de minha vida fosse concluída com êxito, em especial a minha madrinha Heloisa Junes e minha amiga Paula Aguiar, pelo apoio e incentivo nesta caminhada;

Aos colegas do curso de pós-graduação Leonardo Brandão (Baiano), Junior Moraes (Junião), Sanderley Cruz (Sanduba), Elke Anijar, Lanna Printes, Sandra Soares (Sandrinha), Rafaela Torres (Rafinha), Rafaela Ferreira, Elizabeth Barbosa (Beth), Sylmara Luz, Onel Solano (Cubano), pelo companheirismo e momentos de descontrações inesquecíveis;

Ao Engenheiro Agrônomo Andreos Ramiro Pinto Leite, pelo apoio na elaboração da matéria-prima utilizada na dissertação;

Aos inúmeros estagiários, que passaram pela equipe de pesquisa do Professor Dr. Almir Vieira Silva, em especial, a Minelli Xavier, Lorenzo Irino, Dean Moacir, Joicy Cortez, Rafael Paulino, Sanna Siglea e Denise Freitas pelo auxílio prestado durante o desenvolvimento da pesquisa;

A zootecnista Edwana Monteiro e a agrônoma Márcia Aviz, pelo companheirismo, amizade e descontração no ambiente de trabalho;

Aos técnicos Ricardo Silva (Laboratório de Análise de Alimentos/UFRA), Ivanildo José Lobo e José Carlos Dias (Laboratórios de Nutrição Animal/EMBRAPA), pela orientação e ajuda na realização das análises laboratoriais;

Ao secretário do mestrado em Ciência Animal Rodrigo Rodrigues Virgolino, pela presteza e eficiência, quando solicitado;

A coordenadora do mestrado em Ciência Animal Dra. Sheyla Farhayldes Souza Domingues, pela atenção, paciência e compreensão nos momentos difíceis;

Enfim, a todos que direta ou indiretamente colaboraram para realização desse trabalho,
MEU MUITO OBRIGADA.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais volta ao seu tamanho original.”

(Albert Einstein)

RESUMO

Na conservação de alimentos para animais, os inoculantes microbianos são empregados na busca da melhoria do padrão de fermentação de silagens, por meio do estímulo ao desenvolvimento populacional dos microrganismos benéficos deste processo conservativo, como acontece para as bactérias produtoras de ácido lático, em detrimento a inibição dos microrganismos indesejáveis, tais como leveduras e clostrídios. O estudo proposto avaliou o efeito do uso de diferentes inoculantes microbianos à fresco e liofilizados utilizando a cultura do sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], como matéria-prima para ensilagem, a fim de indicar a possibilidade do emprego de inoculantes microbianos desenvolvidos no nosso país. Foram realizados dois experimentos, em um mesmo silo, Experimento 1 (tratamentos com inoculantes liofilizados, na região superior do silo) e Experimento 2 (tratamentos com inoculantes à fresco, na região inferior do silo), com cinco tratamentos e três repetições por silo, sendo os tratamentos caracterizados como controle (sem inoculante), inoculante microbiano comercial (IC) e distintos inoculantes confeccionados à partir de bactérias lácticas isoladas da planta de sorgo: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus rhamnosus*. Quando da ensilagem, foram utilizados três silos experimentais de madeira, que foram abertos em distintos períodos, ou seja, 1, 3 e 28 dias após a ensilagem. Foi utilizado o delineamento experimental em parcelas subdivididas no tempo, no qual os três períodos de abertura foram às parcelas e os cinco tratamentos as subparcelas, em delineamento inteiramente casualizado. No experimento 1, os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) sofreram efeito dos inoculantes microbianos no 3º e 28º dia de abertura dos silos, obtendo menores valores nos tratamentos IC e LPP (*L. plantarum* + *L. paracasei*). No experimento 2, os teores de FDN, apresentaram efeito no 28º dia de abertura do silo, demonstrando que os tratamentos IC e LPP diferiram entre si, sendo estatisticamente iguais aos demais. A combinação dos isolados microbianos liofilizados de *L. plantarum* e *L. paracasei* mostrou potencial para uso prático, pois foi tão efetivo quanto o tratamento IC.

Palavras-chave: Bactérias lácticas. Conservação das silagens. *Lactobacillus plantarum*. *Lactobacillus paracasei*. *Lactobacillus rhamnosus*.

ABSTRACT

In the conservation of animal feed, the microbial inoculants are used in pursuit of improving the standard fermentation of silages, by encouraging the population development of the beneficial microorganisms in this process conservative, as the bacteria that produce lactic acid, rather than using inhibition of undesirable microorganisms such as yeasts and clostridia. The proposed study evaluated the effect of using different microbial inoculants to using fresh and freeze-dried sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], as raw material for silage, to indicate the possibility of using microbial inoculants developed in the Brazil country. Were conducted two experiments in the same silo, Experiment 1 (treatment with freeze-dried inoculants in the upper region of the silo) and Experiment 2 (treatment with inoculants to cool in the lower silo), with five treatments and three replicates per silo the treatments being characterized as a control (without inoculum), commercial inoculant (IC) and the different inoculants made from lactic acid bacteria isolated from the sorghum plant: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus*. When silage were used three experimental silos of wood, which were opened at different periods, 1, 3 and 28 days after ensiling. We used the experimental design in split plot in time, in which the three periods were open on plots and subplots the five treatments in a completely randomized design. In experiment 1, the levels of neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) had the effect of microbial inoculants on the 3rd and 28th day of opening the silos, getting lower values in treatments IC and LPP (L. plantarum + L. paracasei. In experiment 2, NDF, had an effect on the 28th day of opening of the silo, showing that the IC and LPP treatments differed significantly, being statistically equal to others. The combination of freeze-dried microbial isolates of L. plantarum and L. paracasei showed potential for practical use because it was so effective as treatment failure.

Key-words: Lactic acid bacteria. Conservation of silage. *Lactobacillus plantarum*. *Lactobacillus paracasei*. *Lactobacillus rhamnosus*.

LISTA DE ILUTRAÇÕES

Quadro 1	Gêneros de bactérias do grupo láctico e sua morfologia.....	27
Quadro 2	Classificação do gênero <i>Lactobacillus</i> em grupos de acordo com sua habilidade fermentativa e algumas espécies que os compõem.....	29
Quadro 3	Espécies de <i>Clostridium</i> presentes em silagens.....	32
Quadro 4	Lista de alguns inoculantes comerciais existentes no mercado, seus fabricantes e sua composição.....	39
Figura 1	Organização dos experimentos nos silos.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição dos tratamentos contendo inoculantes microbianos liofilizados.....	43
Tabela 2	Composição dos tratamentos contendo inoculantes microbianos à fresco.....	44
Tabela 3	Composição bromatológica e digestibilidade “ <i>in vitro</i> ” da matéria seca da planta de sorgo antes da ensilagem.....	47
Tabela 4	Teores de matéria seca (%) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	48
Tabela 5	Teores de proteína bruta (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	49
Tabela 6	Teores de fibra em detergente neutro (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	50
Tabela 7	Teores de fibra em detergente ácido (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	51
Tabela 8	Teores de celulose (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	51
Tabela 9	Teores de hemicelulose (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	52
Tabela 10	Teores de lignina (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	53
Tabela 11	Teores dos carboidratos solúveis em álcool (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	53

Tabela 12	Valores da digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (%) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	54
Tabela 13	Valores de pH (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	55
Tabela 14	Teores de nitrogênio amoniacal/NT (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	56
Tabela 15	Teores de ácido láctico (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	57
Tabela 16	Teores de ácido acético (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	58
Tabela 17	Teor de ácido butírico (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.....	59
Tabela 18	Teores de matéria seca (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	60
Tabela 19	Teores de proteína bruta (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	61
Tabela 20	Teores de fibra em detergente neutro (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	62
Tabela 21	Teor de fibra em detergente ácido (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	63
Tabela 22	Teores de celulose (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	63
Tabela 23	Teores de hemicelulose (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	64

Tabela 24	Teores de lignina (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	65
Tabela 25	Teores dos carboidratos solúveis em álcool (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	65
Tabela 26	Valores da digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	66
Tabela 27	Valores de pH (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	67
Tabela 28	Teores do nitrogênio amoniacal/NT (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	68
Tabela 29	Teores de ácido láctico (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	69
Tabela 30	Teores de ácido acético (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	70
Tabela 31	Teores de ácido butírico (% MS) da silagem de sorgo tratadas com diferentes inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS

BAL	Bactérias Produtoras de Ácido Lático
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
C	Tratamento Controle sem inoculante
IC	Tratamento com Inoculante Microbiano Comercial
LPP	Tratamento com Inoculante Microbiano <i>Lactobacillus plantarum</i> / <i>Lactobacillus paracasei</i>
LPR	Tratamento com Inoculante Microbiano <i>Lactobacillus plantarum</i> / <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
LP	Tratamento com Inoculante Microbiano <i>Lactobacillus plantarum</i>
MS	Matéria Seca
PB	Proteína Bruta
FDN	Fibra em Detergente Neutro
FDA	Fibra em Detergente Ácido
HEM	Hemicelulose
CEL	Celulose
LIG	Lignina
CHOS	Carboidratos Solúveis em Álcool
DIVMS	Digestibilidade <i>in vitro</i> da Matéria Seca
N-NH ₃ /NT	Nitrogênio Amoniacal em relação ao Nitrogênio Total

SUMÁRIO

	pág.
1	INTRODUÇÃO..... 16
2	REVISÃO DE LITERATURA..... 19
2.1	CULTURA DO SORGO PARA PRODUÇÃO DE SILAGEM 19
2.2	ENSILAGEM E SILAGEM..... 20
2.3	MICROBIOTA EPIFÍTICA..... 24
2.3.1	Bactérias Lácticas..... 25
2.3.1.1	Gênero <i>Lactobacillus</i> 27
2.3.2	Enterobactérias..... 30
2.3.3	Gênero <i>Clostridium</i>..... 31
2.3.4	Gênero <i>Bacillus</i>..... 32
2.3.5	Gênero <i>Listeria</i>..... 33
2.3.6	Mofos e leveduras..... 34
2.4	ÁCIDOS ORGÂNICOS..... 35
2.5	ADITIVOS PARA SILAGEM..... 36
2.5.1	INOCULANTES MICROBIANOS..... 37
2.6	COMPOSIÇÃO DO INOCULANTE..... 38
2.7	DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE DA SILAGEM..... 41
3	MATERIAL E MÉTODOS..... 42
3.1	LOCAL E CLIMA..... 42
3.2	PLANTIO, COLHEITA, PREPARO DAS AMOSTRAS E ARMAZENAMENTO. 42
3.3	ANÁLISES LABORATORIAIS..... 45
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 47
4.1	EXPERIMENTO 1 – INOCULANTES MICROBIANOS LIOFILIZADOS..... 48
4.1.1	Composição bromatológica e digestibilidade “<i>in vitro</i>” da matéria seca..... 48
4.1.2	Produtos da Fermentação..... 55
4.2	EXPERIMENTO 2 – INOCULANTES MICROBIANOS À FRESCO..... 59
4.2.1	Composição bromatológica e digestibilidade “<i>in vitro</i>” da matéria seca..... 59
4.2.2	Produtos da Fermentação..... 66
5	CONCLUSÕES..... 72
	REFERÊNCIAS..... 73

1 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira baseia-se na utilização das pastagens, as quais representam à forma mais prática e econômica de alimentação de ruminantes, no entanto a sazonalidade na oferta de alimento proveniente do pasto constitui-se um dos fatores mais restritivos da produção de bovinos em pastagens no Brasil. Uma das alternativas para solucionar os problemas ocasionados pela distribuição irregular de forragem ao longo do ano, seria o manejo racional da mesma, associado à conservação da forragem excedente, na forma de silagem, para ser utilizada durante o período de escassez (RIBEIRO; QUEIROZ; NUSSIO, 2005).

Na Região Amazônica, apesar de existir condições favoráveis à produção, como elevado suprimento anual de energia radiante, precipitação pluvial abundante, que permite elevada produção de forrageiras de boa qualidade, durante praticamente o ano inteiro, há ainda a necessidade de suprir as demandas nutricionais dos animais em períodos de menor disponibilidade de forragem, com reduzido valor nutritivo. O uso da silagem neste contexto pode contribuir para elevar a produtividade animal e, conseqüentemente, a rentabilidade dos sistemas produtivos amazônicos (LOURENÇO JÚNIOR et al., 2004).

Diversas gramíneas e leguminosas são utilizadas para confecção de silagens, mas a cultura do sorgo apresenta-se bem adaptada a este processo, por sua facilidade de cultivo e altos rendimentos, especialmente em locais onde é freqüente a ocorrência de longos períodos de estiagens (ZAGO, 1991).

A ensilagem tem como principal objetivo a preservação original dos nutrientes presentes na forragem fresca, durante o armazenamento, com o mínimo de perdas de matéria seca e energia. Para tal, é necessário que a respiração da planta, a atividade proteolítica, bem como a atividade clostrídica e o crescimento de microrganismos aeróbios, sejam limitados. Esses problemas podem ser superados com o rápido enchimento do silo para obtenção e manutenção de um ambiente anaeróbio no silo dentro de mesmo (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Durante este processo, a forragem verde é colocada no silo e começam a ocorrer transformações importantes da massa até que irão diminuir de intensidade propiciando que o material ensilado adquira características de silagem. Após o fechamento do silo o material deverá apresentar quantidades suficientes de ácido láctico capazes de inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis e a atividade do catabolismo enzimático da planta (BOLSEN et

al., 1992). A eficiência da fermentação, na preservação das silagens, e, conseqüentemente, a qualidade da silagem dependerá, principalmente, das bactérias epífitas presentes na forragem trazida do campo e que são compactadas e colocadas dentro do silo (WOOLFORD, 1984).

A população de microrganismos epifíticos, entre eles as bactérias produtoras de ácido láctico, pode ser inicialmente pequena nas plantas forrageiras (SPECKMAN et al., 1988), sendo esta afetada pelas condições ambientais (umidade, temperatura, radiação solar, espécie e características da planta), mas tende a atingir números expressivos, que podem variar ao longo do tempo, interferindo na eficiência e na qualidade final da silagem, mesmo quando o uso adequado das práticas de produção são seguidas com rigor (ASHBELL, 1995). Estes microrganismos epifíticos têm sido utilizados na confecção de inoculantes microbianos, a fim de favorecer a conservação da matéria seca ensilada, reduzindo as fermentações indesejáveis e aumentando a estabilidade aeróbia (HENDERSON, 1993).

No processo de ensilagem, é possível que o uso de diversos inoculantes contendo bactérias homofermentativas, possuam uma maior eficiência quanto a produção de ácido láctico (GIMENES et al., 2006), no entanto, segundo Contreras-Gevea e Muck (2006), a combinação de bactérias homofermentativas com heterofermentativas proporcionam também uma boa fermentação e recuperação de matéria seca, através da maior concentração de ácido acético que dá a silagem a possibilidade de apresentar uma maior estabilidade aeróbica.

Inoculantes microbianos desenvolvidos a partir da própria planta que se deseja ensilar têm revelado melhor padrão fermentativo e maior recuperação da matéria seca ensilada do que inoculantes confeccionados com microrganismos isolados de outras plantas. Isto demonstra a necessidade de estudos envolvendo a avaliação e a quantificação da microbiota primitiva nas plantas comumente utilizadas para ensilagem no nosso país, haja vista que, os microrganismos contidos nos inoculantes comerciais, foram isolados e desenvolvidos em outros países (DAESCHEL; ANDERSON; FLEMING, 1987).

Segundo Ashbell (1995), inoculantes utilizados em determinadas regiões com sucesso podem não ser eficientes em outras, indicando possível influência das condições do local sobre o efeito do inoculante na silagem. Além disto, a bactéria a ser indicada para compor um dado inoculante deverá atender requisitos básicos, tais como eficiência na competição com a flora microbiana natural da própria planta, ser efetiva junto ao processo fermentativo no interior do silo, dentre outras particularidades, capazes inclusive de beneficiar o desempenho dos animais (MUCK, 1993).

O conhecimento profundo das características dos microrganismos até hoje encontrados e que atuam na ensilagem, é tido como o caminho inicial de novas descobertas na área de

conservação de alimentos vegetais. De modo a desenvolver tecnologias capazes de garantir melhores condições para que as plantas forrageiras sejam ensiladas com menores perdas, reforça Silva; Ferreira; Fernandes (2004).

O estudo teve como objetivo avaliar culturas de bactérias lácticas coletadas em silagem de sorgo, no Estado do Pará, quanto à eficiência do uso como inoculantes microbianos frescos e liofilizados no processo de fermentação e preservação dos nutrientes da própria silagem de sorgo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O SORGO NA PRODUÇÃO DE SILAGEM

O sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é de origem africana e pertencente à família *Gramineae*. É o quinto cereal mais plantado no mundo, atrás do trigo, arroz, milho e cevada (RIBAS et al., 2007).

O sorgo, pela adaptação geográfica, é uma opção de cultura para contornar adversidades e limitações regionais em solo e clima, explorando, de forma sustentável, as características agronômicas locais, sem prejuízos à produtividade animal, com qualidade nutricional. Para Barbosa e Silva (2002), o aumento do cultivo do sorgo pelos agricultores brasileiros, deve-se provavelmente às características de cultivo, tais como à tolerância ao déficit hídrico, sua capacidade de explorar maior volume de solo e por apresentar um sistema radicular abundante e profundo (STONE et al., 1996), além da capacidade de apresentar rendimento produtivo semelhante ao milho, quanto à matéria seca, em condições de estresse (SINGH; SINGH, 1995).

Na última década, a produção nacional de sorgo aumentou em cerca de 40% ao ano. Nesse período, houve o acréscimo em torno de 50% na sua produtividade e a área cultivada aumentou em 300%. De acordo com o levantamento da safra 2007/2008 (CONAB, 2008), a cultura do sorgo apresentou incremento de 24% na produção total, em relação à safra anterior, ou seja, de 1,4 para 1,8 milhões de toneladas. Fato ocasionado pelo aumento da área cultivada em 14,5%, enquanto a produtividade se manteve praticamente estável.

O sorgo se destaca como espécie que tem resistência a fatores adversos de ambiente, com elevadas produções de massa seca por área, bom padrão de fermentação e elevado valor nutritivo das silagens produzidas. Por esses motivos, ocorre no Brasil um importante aumento das áreas cultivadas com sorgo destinado à ensilagem (PEDREIRA et al., 2003).

A variabilidade genética dessa espécie permitiu a obtenção de grande número de híbridos, com características agronômicas e valores nutritivos diferentes, com consequentes variações na produtividade e padrões de fermentação, resultando em silagens com diferentes qualidades. Além do valor nutritivo, próximo ao da silagem de milho, a planta de sorgo conserva vivo seu sistema radicular possibilitando a rebrota, caso haja condições de umidade, temperatura e fertilidade do solo, de até 60% da produção de matéria seca do primeiro corte,

reduzindo significativamente o custo de produção da silagem (MIRANDA; REZENDE; VALENTE, 2002).

Segundo Miranda e Pereira (2006), agronomicamente o sorgo apresenta três tipos de cultivares com características bem distintas:

1)Sorgos forrageiros tradicionais: são plantas de porte alto, acima de 2,70 metros de altura, o que confere a essas cultivares um alto potencial de produção de massa verde. A qualidade da silagem desse tipo de sorgo é inferior a uma boa silagem de milho, devido à baixa produção de grãos;

2)Sorgos de duplo-propósito são plantas que produzem silagem de qualidade comparável à de milho. São híbridos de porte médio, com plantas variando de 2,00 a 2,30 metros de altura. A produção de massa verde é alta, variando de 40 a 55 t/ha no primeiro corte, com boa produção de grãos (4 a 6 t/ha), o que confere alta qualidade à silagem;

3)Sorgos Graníferos: são cultivares de porte baixo, apresentando altura inferior à 1,70 metros, desenvolvidas especialmente para a produção de grãos, podendo chegar a 8,0 t/ha de grãos secos, ou mais. Quando utilizados para silagem, a produção de massa verde é muito baixa, geralmente abaixo de 30 t/ha, mas a qualidade da silagem é elevada, devido à alta percentagem de grãos na matéria seca.

2.2 ENSILAGEM E SILAGEM

A ensilagem é prática antiga, realizada pelos egípcios entre 1000 e 1500 a.C. Em épocas remotas, usava-se o processo de ensilagem como forma de conservar folhas de videira e gramíneas para o período de escassez. No Brasil, a introdução da técnica de ensilagem ocorreu, provavelmente, no século passado (ANDRIGUETO et al., 2002).

Segundo Woolford (1984), a silagem é o produto formado quando gramíneas ou outro material com teor de umidade suficientemente alto, sujeito a deteriorização por microrganismos aeróbicos, é armazenado anaerobicamente. Já para Andrigueto et al. (2002), o termo silagem é definido como produto decorrente de processo de acidificação fermentativa de forragens verdes, que resulta na preservação, servindo como alimento ao gado. Enquanto Cardoso e Silva (1995), denominam de silagem, a forragem verde, com alto teor de umidade, conservada por meio de processo de fermentação anaeróbica.

O processo de ensilagem é o método de conservação de forragens mais empregado no mundo todo. Quantidades adequadas de forragens de alta qualidade constituem a base da crescente produção leiteira e de carne. A silagem cresce em popularidade devido à possibilidade de incremento do potencial produtivo do solo, redução do custo de produção do alimento, baixo índice de perdas e melhoria na qualidade da forragem (BJORGE, 1998). Outro fator que tem contribuído para o aumento da ensilagem é a integração lavoura-pecuária, entrando o componente agrícola como forma de reduzir o custo de recuperação ou renovação da pastagem (SILVA, 2001).

Dos fatores que determinam o padrão de fermentação durante a ensilagem, os intrínsecos à planta forrageira são representados pelos adequados teores de umidade, carboidratos solúveis e por apresentarem um baixo poder tampão. Com relação aos fatores do meio, uma fermentação adequada só é garantida em ambiente de anaerobiose, pelo emprego adequado das técnicas de produção, tais como colheita do material no momento certo, tamanho adequado das partículas, rápido enchimento do silo, compactação para efetiva expulsão do oxigênio do interior do material ensilado, até a perfeita vedação do silo a fim de evitar a infiltração de ar e/ou água (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991), assim compor proteção externa, sobretudo aos roedores e outros tipos de animais potencialmente capazes de representar risco ao silo.

Durante a operação de abastecimento do silo, se esta for demorada, as atividades respiratórias do material da planta e, especialmente dos microrganismos aeróbicos, podem provocar considerável aumento de temperatura e perdas de digestibilidade, sobretudo da fração protéica (SILVA; FERREIRA; FERNANDES, 2004).

Para a obtenção da silagem, o metabolismo das bactérias produtoras de ácido lático deve ser estimulado. Segundo Santos, Zanine e Oliveira (2006), o tamanho da partícula, a compactação do material e a vedação adequada do silo influenciam diretamente a qualidade da fermentação. Quanto mais rapidamente for a anaerobiose estabelecida dentro do silo, mais rapidamente as bactérias ácido lácticas poderão atuar para que aconteça um adequado processo de conservação.

Os processos biológicos envolvidos na transformação da forragem úmida em silagem, em meio anaeróbio e na utilização da mesma são divididos em várias etapas: inicialmente, quando a planta é colhida, os microrganismos aeróbios epifíticos convertem carboidratos solúveis em dióxido de carbono, água e calor. Desta forma, o oxigênio contido na massa ensilada é rapidamente consumido após o fechamento do silo (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Quanto mais controlada for a fase aeróbica (fase I), melhor a qualidade do

produto final. De acordo com Vilela (1998), o aumento de temperatura nessa fase favorece a “caramelização” da silagem, isto é, a condensação de carboidratos e aminoácidos, evento conhecido por ‘reação de Maillard’, cujo produto confere cor marrom ao alimento e reduz a disponibilidade da proteína aos ruminantes, que não dispõem das enzimas digestivas necessárias para digerir os complexos formados nessa reação (MAHANNA, 1997).

Em seguida, inicia-se a fase anaeróbia ou fase fermentativa (fase II), que vai de 24 a 72 horas após o fechamento do silo, sendo a fase onde é possível observar a rápida multiplicação de bactérias lácticas heterofermentativas e das enterobactérias, que se mantêm em grande número, enquanto o pH da massa for alto (em torno de 7,0). À medida que diminui o pH do material ensilado a valores abaixo de cinco, será observada a crescente produção de ácido acético, ácido láctico e CO₂, e as bactérias heterofermentativas diminuem sua atividade (SILVA; FERREIRA; FERNANDES, 2004).

A fase III ou fase de transição ocorrerá quando o declínio do pH favorecer o aumento da eficiência das bactérias produtoras de ácido láctico (BAL), homofermentativas. O pH começará a ser efetivo quando a população de BAL é da ordem de 10⁸ ufc/g⁻¹ de forragem. Simultaneamente acontece a estabilização da temperatura da silagem entre 30° e 40°C. Esta condição ocorrerá a partir de uma semana do fechamento do silo.

Na fase IV ou fase de estabilização, a concentração de ácido láctico oriundo da fermentação dos carboidratos solúveis é elevada, ficando o material ensilado potencialmente conservado (HOLZER et al., 1999; SILVA; FERREIRA; FERNANDES, 2004). Esta é a fase mais longa do processo de ensilagem e caracteriza-se pela estabilidade do pH, que se mantêm baixo e inibe o crescimento de bactérias putrefativas, mofos e leveduras.

A fase seguinte (Fase V) é considerada de definição do pH e de conversão do ácido láctico, e por isto dependerá grandemente da umidade e do tipo da forragem que foi utilizada para ser conservada. Forrageiras contendo baixos teores de carboidratos solúveis (4 – 6%) e alta capacidade tamponante irão geralmente atingir o pH terminal próximo de 4,5, valor que se encontra fora do intervalo tido como ótimo (3,8 – 4,2), e que indica a ocorrência de fermentações indesejáveis. As silagens de milho e sorgo, que possuem altos níveis de carboidratos solúveis e baixa capacidade tamponante, apresentam um pH final mais baixo. É importante considerar que o pH sozinho não é um bom indicador da qualidade da fermentação, sendo, portanto, necessário à avaliação de outros parâmetros para que uma boa caracterização possa ser efetuada (SILVA; FERREIRA; FERNANDES, 2004).

De acordo com estes mesmos autores, na fase VI ou fase de abertura do silo ocorrerá a exposição do material ensilado ao ar atmosférico.

É importante ser lembrado que a silagem é um alimento conservado, mas não inerte, pois, segundo Zago (1999), quando da abertura do silo, as populações de microrganismos aeróbios retomam seu crescimento, o que inevitavelmente deteriorará a silagem. Este processo é caracterizado por aumentos de temperatura, pH e oxidação dos produtos da fermentação (RODRIGUES et al., 2002). Neste sentido, Kung Jr. (2001) comenta que a silagem que possui microrganismos aeróbios em sua massa quando exposta ao ar, resulta na ocorrência de perdas de matéria seca e conseqüente perda da qualidade da silagem.

Os processos de enchimento, fermentação e fechamento influenciam as perdas na abertura do silo, além do tempo de exposição da silagem ao oxigênio atmosférico, durante a abertura. Para que esse tipo de manejo seja possível, é necessário o correto dimensionamento do silo, sem que haja excesso de movimento do material que permanecerá armazenado (SILVA; FERREIRA; FERNANDES, 2004).

Quando o silo é aberto, a face da abertura que permanece em contato direto com o ar atmosférico rapidamente sofrerá ação de microrganismos oportunistas que iniciam atividade metabólica produzindo calor e consumindo nutrientes. (SIQUEIRA; BERNARDES; REIS, 2005). De acordo com Schmidt (2006), a perda de componentes nutritivos após a abertura dos silos é, também, fator determinante do valor nutritivo das silagens. O autor completa, que a exposição da silagem ao oxigênio, tanto no painel do silo, quanto no cocho ao fornecer aos animais é inevitável, permitindo o crescimento de microrganismos aeróbios que causem deterioração da forragem. Por isso, além de contribuírem para a redução de perdas oriundas do processo de ensilagem, os aditivos têm sido preconizados para aumentar a estabilidade aeróbia de silagens.

A utilização dos nutrientes da silagem pelo processo respiratório de levedura e mofos resulta na produção de CO₂, H₂O e calor. Bactérias ácido-acéticas e bacilos também podem estar envolvidos em algumas circunstâncias. Mofos podem produzir aflatoxinas e/ou outros compostos tóxicos, que podem comprometer a saúde dos animais. O aumento da temperatura do silo após a abertura depende dos níveis de microrganismos aeróbicos ou dos seus esporos viáveis na silagem no momento da abertura do silo, do tempo de exposição da silagem antes do fechamento do silo, das características da silagem, e da temperatura ambiente. Quanto maior a quantidade de microrganismos aeróbicos após a abertura do silo, mais rápido será o aquecimento da silagem. Portanto, o manejo dos processos de enchimento, fermentação e fechamento do silo têm efeito sobre as possíveis perdas que venham ocorrer quando da abertura do silo (SILVA; FERREIRA; FERNANDES, 2004).

As bactérias que compõem os inoculantes de silagens fermentam açúcares (glicose e frutose) em ácido lático, resultando na menor quantidade de perdas na fermentação (McDONALD e HENDERSON, 1981). Assim, acelerando o processo de fermentação com o aumento da produção de ácido lático e a rápida queda do pH, poderia resultar em menor perda de nutrientes, maior estabilização da silagem após a abertura do silo e em produção de silagem com maior qualidade (LAVEZZO, 1993; BOLSEN; ASHBELL; WILKINSON, 1995). Muck e Kung Jr. (1997) verificaram em uma de suas revisões efeito inconsistente dos inoculantes contendo BAL homofermentativas, sobre a estabilidade aeróbia das silagens. A razão deste achado inclui o fato do ácido lático, isoladamente, não exercer ação antifúngica eficiente, além da redução da síntese de ácido acético, devido a fermentação homolática predominante. Já Kung Jr. (2001) ressalta que silagens tratadas com bactérias homofermentativas podem ser estáveis, caso a prática de alimentação e o manejo do silo forem adequados. Porém, o número de produtores que utilizam silagem e, dominam esta tecnologia, ainda é restrito, o que condiciona a busca de novos aditivos capazes de melhorar a estabilidade pós-abertura.

2.3 MICROBIOTA EPÍFITA

Os microrganismos naturalmente presentes nas plantas forrageiras, também caracterizados como sendo a microflora epifítica, são os responsáveis pela fermentação das silagens, afetando a estabilidade aeróbica das mesmas. O número de microrganismos epifíticos varia grandemente, sendo afetado pelo tipo de forragem, estágio de maturidade das plantas, clima, tamanho do corte e modo como a forragem picada é acondicionada (LIN et al., 1992).

A flora microbiana da cultura forrageira antes da ensilagem é diferente daquela encontrada ao longo do processo de fermentação ou na silagem, tanto em número, como taxonomicamente. Os principais microrganismos presentes nas plantas, segundo Pahlow, Muck e Driehuis (2003), são as bactérias produtoras de ácido lático (BAL), enterobactérias, leveduras e mofos. Na concepção de Langston e Bowman (1960 apud PAHLOW; MUCK; DRIEHUIS, 2003), a microbiota total, em forragens frescas, antes da ensilagem, varia entre 10^5 e 10^9 ufc/g⁻¹ de forragem.

Durante o processo de ensilagem ocorre o desenvolvimento e predominância de grupos diferentes de microrganismos nas diferentes fases do processo, observando-se, portanto, uma sucessão de microrganismos que estão diretamente relacionados com a concentração de O₂ e com o pH do meio (MEESKE; BASSON; EMANUEL, 1999).

Jobim, Gonçalves e Santos (2001), afirmaram que as plantas forrageiras são naturalmente contaminadas por microrganismos epífitas, benéficos ou não, e o desenvolvimento de cada espécie dependerá dos tipos de condições encontradas no meio. No processo de confecção da silagem a presença ou ausência de O₂ no interior do silo determinará o desenvolvimento microbiano, mesmo que temporariamente, sendo observados três tipos de microrganismos: aeróbios, anaeróbios e anaeróbios facultativos. A ação dos diferentes grupos de bactérias levará a formação de produtos de maior ou menor importância para a conservação e qualidade da silagem.

Há uma escassez de informações relacionadas às bactérias epífitas das forrageiras, sobretudo quanto ao grupo caracterizado como bactérias lácticas, que são responsáveis pela produção do ácido láctico, tido como sendo fundamental para uma boa conservação da silagem, bem como para o fornecimento de energia, quando esta constitui parte da dieta dos ruminantes (PAHLOW, 1989).

Os principais grupos de microrganismos, desejáveis ou não, envolvidos com a produção de silagens são caracterizados, à seguir:

2.3.1 Bactérias ácido lácticas

O grupo de bactérias ácido lácticas (BAL) é constituído por microrganismos associados a diversos alimentos incluindo a silagem, o milho, as hortaliças, a cevada, a carne e o leite (CARR; CHILL; MAIDA, 2002; HICKEY, 2002; FERREIRA, 2003).

As BAL estão presentes na microbiota primitiva de forrageiras perenes e anuais, sendo essenciais ao longo de toda a fermentação das silagens. Este importante grupo de microrganismos destaca-se pela diversificação quanto às espécies e números, partindo do limite de detecção 10¹ a 10⁶ ufc g⁻¹ de forragem, de acordo com as distintas plantas, solos e estações do ano (PAHLOW; MUCK; DRIEHUIS, 2003). Populações dentro dessa faixa têm sido também registradas em condições tropicais, para diferentes espécies forrageiras (ROCHA, 2003; PEREIRA; SOUZA; PENTEADO, 2005; PENTEADO et al., 2006).

Observou-se ainda que o período em que as BAL se tornam predominante dentro do silo varia, sendo dependente da composição da microbiota epífita, da quantidade de carboidratos solúveis e do teor de matéria seca do material colhido. Quanto mais rápido o desenvolvimento das bactérias láticas, mais acentuada é a queda do pH e, conseqüentemente, a inibição de microrganismos indesejáveis, tais como as enterobactérias e bactérias clostrídicas (SANTOS, 2007).

As BAL são microrganismos anaeróbios, anaeróbios facultativos ou microaerófilos que apresentam melhor desenvolvimento em meios com baixas tensões de oxigênio. Apresentam-se sob a forma de cocos ou bacilos, asporogênicos, não redutores de nitrato a nitrito, gelatinase negativos e incapazes de utilizar o lactato. São quimiorganotróficas, basicamente sacarolíticas, e atuam preferencialmente sobre os carboidratos. Classificam-se como mesófilas ou termófilas, com temperaturas ótimas de crescimento variando entre 30 e 37°C e 45 e 50°C, respectivamente. Como produto do metabolismo primário dos açúcares produzem o ácido láctico e necessitam de grande quantidade destes, assim como de vitaminas do complexo B e de alguns aminoácidos, em determinadas espécies, para obtenção da energia necessária à biossíntese e reprodução (FERREIRA, 1987; KLEIN et al., 1998; CARR; CHILL; MAIDA, 2002; FERREIRA, 2003).

Por várias décadas, foram considerados como verdadeiros componentes do grupo láctico os gêneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* e o recém denominado *Lactococcus* (VEDAMUTHU et al., 1992; CARR; CHILL; MAIDA, 2002; FERREIRA, 2003). Após inúmeras agregações, desagregações e reclassificações, juntamente com o aparecimento de novos gêneros, o grupo de bactérias ácido lácticas está atualmente constituído por 15 gêneros de bactérias (Quadro 1).

Os gêneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, e *Streptococcus* são as bactérias que constituem o principal grupo de microrganismos que são regularmente associados à silagem (PAHLOW; MUCK; DRIEHUIS, 2003).

Gêneros	Morfologia
<i>Aerococcus</i>	Cocos, pares/ aglomerados/ tétrades
<i>Atopobium</i>	Bacilos, pares
<i>Bifidobacterium</i>	Pleomorfos
<i>Brochothrix</i>	Cocos, ovóides/ pares
<i>Carnobacterium</i>	Bacilos, pares
<i>Enterococcus</i>	Cocos, isolados/ cadeia
<i>Lactobacillus</i>	Bacilos, isolados/ pares/ cadeia
<i>Lactococcus</i>	Cocos, pares/ cadeias curtas
<i>Leuconostoc</i>	Cocos, ovóides/ pares/ cadeias curtas
<i>Oenococcus</i>	Cocos, ovóides/ pares
<i>Pediococcus</i>	Cocos, tétrades
<i>Streptococcus</i>	Cocos, isolados/ cadeias de tamanhos variados
<i>Tetragenococcus</i>	Cocos, ovóides/ pares/ tétrades
<i>Vagococcus</i>	Cocos, ovóides/ pares, tétrades
<i>Weissella</i>	Cocos, ovóides/ pares

Fonte: Ferreira, 2003.

Quadro 1. Gêneros de bactérias do grupo láctico e sua morfologia.

Com base no metabolismo fermentativo as BAL podem ser classificadas em homofermentativas ou heterofermentativas. As homofermentativas produzem ácido láctico como o principal produto da fermentação da glicose, enquanto que as heterofermentativas produzem diversos metabólitos como produtos resultantes da fermentação da glicose, tais como o ácido acético, CO₂ e etanol, além do próprio ácido láctico. O grupo das bactérias lácticas homofermentativas inclui os gêneros *Streptococcus*, *Pediococcus* e os *Lactobacillus* homofermentativos, e o grupo heterofermentativo inclui os gêneros *Leuconostoc* e um subgrupo do gênero *Lactobacillus* (CARR; CHILL; MAIDA, 2002).

2.3.1.1 Gênero *Lactobacillus*

O gênero *Lactobacillus* apresenta-se sob a forma de bacilos ou cocobacilos gram positivos, isolados, aos pares ou formando correntes curtas, anaeróbios facultativos ou microaerófilos. Não formam esporos, são catalase negativa, porém algumas espécies podem produzir pseudocatalase. São na maioria imóveis e crescem na faixa de temperatura que varia entre 2 e 53°C (FERREIRA, 2003). Eles são uma parte importante do grupo de BAL, chamado como tal, porque a maioria dos seus membros converte lactose e outros açúcares em ácido láctico. Eles são comuns e geralmente benignos (FERRERO et al., 1996; VÁSQUEZ et al., 2005).

Para as espécies do gênero *Lactobacillus*, três grupos foram definidos com base na presença ou ausência das enzimas aldolase e fosfoquetolase desde a última edição completa do Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (KANDLER; WEISS, 1986). Os agrupamentos dependem de propriedades bioquímicas e fisiológicas e não são mais baseados em critérios clássicos de Orla-Jensen (1919), como a morfologia e a temperatura, por serem estes requisitos insuficientes para o ajuste de muitas espécies descritas recentemente no tradicional sistema de classificação (PAHLOW; MUCK; DRIEHUIS, 2003).

Estes grupos são: Grupo I – Homofermentadores obrigatórios: são os que fermentam hexoses quase que exclusivamente (> 85%) a ácido láctico, mas são incapazes de fermentar pentoses. Estes não possuem a fosfoquetolase. Grupo II – Heterofermentadores facultativos: assim como o Grupo I, também fermentam hexoses quase que exclusivamente a ácido láctico. São também capazes de fermentar pentoses e possuem as enzimas aldolase e fosfoquetolase. Grupo III – Heterofermentadores obrigatórios: são capazes de fermentar as hexoses a outros produtos, além do ácido láctico (PAHLOW; MUCK; DRIEHUIS, 2003).

Os *Lactobacillus* que utilizam a via glicolítica para o metabolismo do açúcar e em condições de baixa tensão de oxigênio tem como produto principal o ácido láctico, sendo denominados de homofermentadores. Outras bactérias, denominadas de heterofermentativas, pertencentes a este mesmo gênero, possuem capacidade genética para formar outros produtos a partir do piruvato, como o acetato, o etanol e o CO₂. A formação desses compostos pode ser verificada em condições de baixa disponibilidade de glicose e, são atribuídas as baixas concentrações de frutose 1-6 bifosfato, ativador essencial da lactato desidrogenase. Sob tais condições, a homofermentação efetivamente se torna heterofermentação, tendo como principais produtos o etanol, o ácido acético, o manitol e o ácido fórmico (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). O Quadro 2 mostra a divisão do gênero *Lactobacillus* de acordo com a habilidade fermentativa das espécies que o compõem.

A bactéria *Lactobacillus plantarum* é comumente encontrada em chucrute, picles, azeitonas e outros materiais vegetais, alguns queijos e enchidos fermentados. Este microrganismo é gram-positivo, e não cresce em temperatura entre 15 a 45°C. *L. plantarum* tem um dos maiores genomas conhecidos de bactérias lácticas e é uma espécie muito flexível e versátil. *L. plantarum* é a bactéria mais comum utilizada em inoculantes microbianos para silagem. Estudos têm demonstrado o efeito positivo desta bactéria sobre o perfil fermentativo e valor nutricional de silagens (MEESKE; BASSON; EMANUEL, 1999; MEESKE; BASSON, 1998; DRIEHUIS; OUDE ELFERINK; VAN WIKSELAAR, 2001).

Todavia, trata-se de estudos que foram realizados com microrganismos isolados em condições temperadas, sendo necessário o isolamento e a utilização de espécies de *Lactobacillus* isolados em condições tropicais, para se obter melhores resultados por ocasião da ensilagem de gramíneas de clima tropical (ZANINE et al. 2007). *L. plantarum* pode ser adicionado como inoculante com objetivo de promover o abaixamento do pH, a produção de ácido láctico e a inibição de enterobactérias e bactérias produtoras de ácido butírico (EMANUEL; JOCHMANN; GADEKEN, 2005).

Grupo I	Grupo II	Grupo III
Homofermentativo	Heterofermentativo	Heterofermentativo
Obrigatório	Facultativo	Obrigatório
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. acetotolerans</i>	<i>L. brevis</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>L. bavaricus</i>	<i>L. buchneri</i>
<i>L. cryspatus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. celobiosus</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>L. curvatus</i>	<i>L. fructivoruns</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>L. intestinalis</i>	<i>L. hilgardii</i>
<i>L. delbrueckii ssp. delbrueckii</i>	<i>L. murinus</i>	<i>L. kefir</i>
<i>L. delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	<i>L. pentosus</i>	<i>L. panis</i>
<i>L. delbrueckii ssp. lactis</i>	<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	<i>L. sanfrancisco</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>L. paracasei ssp. Tolerans</i>	
<i>L. kefiranoferiens</i>	<i>L. plantarum</i>	
<i>L. salivarius ssp. salivarius</i>	<i>L. rhamnosus</i>	
<i>L. salivarius ssp. salicinus</i>		

Fonte: Ferreira, 2003.

Quadro 2. Classificação do gênero *Lactobacillus* em grupos de acordo com sua habilidade fermentativa e algumas espécies que os compõem.

As bactérias *Lactobacillus rhamnosus* são gram-positivas, não esporuladas, desprovidas de citocromos, anaeróbias, mas aerotolerantes (HOLZAPFEL et al., 2001). Apresentam-se como bacilos não móveis, que crescem em temperatura de 10°C, porém alguns em temperaturas entre 15 e 45°C. Essa espécie produz L (+) ácido láctico e fermenta amidalina, arbutina, celobiose, frutose, galactose, beta-gentiobiose, gluconato, glicose, lactose, manitol, manose, maltose, melezitose, N-acetilglicosamina, ramnose, ribose, salicina, sorbitol, turanose e trealose. Não possui a capacidade de hidrolisar arginina e uréia, porém hidrolisa esculina (CARR; CHILL; MAIDA, 2002).

A espécie *L. rhamnosus* possui cepas aptas a colonizar vários ambientes naturais e criados pelo homem, como boca, trato intestinal, laticínios, produtos vegetais, ensilagem, esgoto e alimentos deteriorados (FELIS et al., 2001; STILES; HOLZAPFEL, 1997; HAMMES; HERTEL, 2002).

A bactéria *Lactobacillus paracasei* é gram-positiva, catalase-negativa, ácido-tolerante, anaeróbia e estritamente fermentativa (HOLZAPFEL et al., 2001). Caracteriza-se por crescer em temperaturas entre 10 e 40°C, não apresenta motilidade, produz L (+) ácido láctico a partir de amidalina, arbutina, celobiose, frutose, galactose, glicose, maltose, manitol, manose, melezitose, N-acetilglicosamina, salicina, turanose e trealose e não hidrolisa arginina, esculina ou uréia (CARR; CHILL; MAIDA, 2002). A espécie *L. paracasei*, bem como a *L. rhamnosus* coloniza vários ambientes naturais ou criados pelo homem, como intestino humano e boca além de produtos vegetais e ensilagem (HAMMES; HERTEL, 2002).

2.3.2 Enterobactérias

Este grupo de microrganismos desperta muito interesse pelo fato de algumas espécies serem patogênicas ao homem, plantas e animais. São definidas como gram-negativas, não esporuladas, anaeróbias facultativas, normalmente móveis e fermentadoras de carboidratos (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). O caminho mais comum de inibição desses microrganismos é promovendo a anerobiose e a rápida fermentação que leva a produção de ácido láctico (OSTLING; LINDGREN, 1995).

As enterobactérias são o segundo grupo microbiano mais numeroso da microflora epifítica ativa no silo, e, portanto, o mais importante em competição com a microflora de BAL, produzindo principalmente ácido acético (PAHLOW; MUCK; DRIEHUIS, 2003).

Dentre os integrantes da família Enterobacteriaceae, os coliformes compreendem os mais abundantes microrganismos aeróbios que estão presentes nas silagens (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Independente da população epifítica por ocasião da colheita, o número de enterobactérias poderá aumentar substancialmente durante os primeiros dias após a ensilagem, com populações tão altas quanto 10^8 - 10^{10} ufc g^{-1} forragem fresca, em silagens de gramíneas e leguminosas (LINDGREN et al., 1985). Silagens com alta população de enterobactérias são caracterizadas por aumentar a produção de ácido acético, amônia, aminas e os valores de pH (PEREIRA; SANTOS, 2006).

Diante do exposto, torna-se evidente que a presença desses microrganismos é indesejável, pois competem pelos nutrientes a serem disponibilizados às bactérias ácido-láticas, além de produzirem toxinas e relevante quantidade de amônia, durante a ensilagem. Os principais produtos decorrentes da fermentação desses microrganismos são o lactato, o acetato, o succinato e o etanol (HENDERSON, 1993).

2.3.3 Gênero *Clostridium*

Os clostrídios são microrganismos anaeróbicos indesejáveis que podem se apresentar na forma de esporos nas plantas, mas não pertencem a microbiota epifítica das culturas, surgindo a partir da contaminação do solo pelo emprego de adubos mal compostados e contaminados (FENLON; HENDERSON; ROOKE, 1995). São responsáveis por grandes perdas no interior do silo, pois produzem CO_2 e ácido butírico em vez de ácido láctico (SANTOS; ZANINE; OLIVEIRA, 2006). A temperatura de crescimento dos clostrídios varia entre 20 e 45°C e eles apresentam baixa atividade metabólica sob valor de pH inferior a 4,0. O desenvolvimento destes microrganismos dependerá, além do meio anaeróbico, do tipo de fermentação ou acidificação do meio (ANDRIGUETTO et al., 2002). As espécies mais comuns em silagens estão apresentadas no Quadro 3.

Fermentadores de lactato	Fermentadores de aminoácidos	Outros
<i>C. butyricum</i>	<i>C. bifermentans</i>	<i>C. sphenoides</i>
<i>C. paraputrificum</i>	<i>C. sporogenes</i>	<i>C. perfringens</i>
<i>C. tyrobutyricum</i>		

Fonte: McDonald, Henderson e Heron, 1991.

Quadro 3. Espécies de *Clostridium* presentes em silagens.

Os clostrídios podem ser agrupados em dois grupos fisiológicos: esporos sacarolíticos, que fermentam principalmente açúcares em ácidos orgânicos, e esporos proteolíticos, que fermentam principalmente aminoácidos. Alguns destes microrganismos também utilizam açúcares e ácidos lático como fonte de energia, gerando butirato, dióxido de carbono e hidrogênio. Como apenas um mol de butirato é produzido a partir de dois moles de lactato, e o ácido butírico é um ácido fraco, o pH aumenta, favorecendo o crescimento de clostrídios proteolíticos, que podem degradar seletivamente muitos aminoácidos (FENLON; HENDERSON; ROOKE, 1995). Fenlon et al. (1995) sugerem que, em conjunto com enterobactérias, os clostrídios sejam responsáveis pela produção de grande parte do conteúdo de nitrogênio presente em forma de amônia em silagens mal preservadas.

2.3.4 Gênero *Bacillus*

Os bacilos possuem a forma de bastonetes, gram-positivos, esporulados, em geral são móveis, aeróbios ou anaeróbios facultativos e fermentam principalmente as proteínas. Muitas espécies estão presentes no solo e nos vegetais em decomposição. Alguns causam enfermidades ao homem e animais, outros estão relacionados com alteração do valor nutritivo dos alimentos (COLLINS; LYNE, 1989).

Segundo McDonald, Henderson e Heron (1991), bactérias do gênero *Bacillus* contribuem pouco ou nada na preservação de silagem, desempenhando grande importância no processo de deteriorização aeróbia, sob condições de pH acima 5,0 e temperatura alta. As principais espécies implicadas na deteriorização são *B. cereus*, *B. firmus*, *B. lentus* e *B. sphaericus* (LINDGREN et al., 1985).

2.3.5 Gênero *Listeria*

O gênero *Listeria* é formado por bacilos gram-positivos, móveis, anaeróbicos facultativos, amplamente distribuídos na natureza, encontrados em matéria orgânica vegetal, águas poluídas, fezes, solo e silagens, sendo a espécie *L. monocytogenes* tida como o microrganismo patogênico mais frequentemente associado à silagem, amplamente distribuído na vegetação, na interface entre a planta e o solo (FENLON; HENDERSON; ROOKE, 1995). Esta espécie pode sobreviver por até dois anos no solo seco e nas fezes, sendo capaz de crescer sob temperaturas entre 4° e 44°C (WOOLFORD, 1990).

A *L. monocytogenes*, é a cepa mais patogênica ao homem e aos animais entre as espécies de *Listeria*. Ao contrário da maioria dos patógenos de origem alimentar que geralmente provocam sintomas gastrintestinais, as principais manifestações clínicas da listeriose são inicialmente semelhantes às de um resfriado, com febre baixa e mal-estar geral, podendo progredir para meningite, meningoencefalite, septicemia, aborto ou parto prematuro (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001).

Os animais podem ser infectados pela ingestão de vários tipos de alimentos contaminados, como pastagens frescas, palha e outros tipos de alimentos (McCARTHY, 1990), mas a silagem é o alimento que com maior frequência é associado à listeriose dos ruminantes (FENLON, 1999).

Esta associação foi pela primeira vez estabelecida em 1922 na Islândia, local onde ficou conhecida como a doença da silagem Gray (1966 apud GUERRA, 2005), (GRAY, 1966). Desde então, a relação entre listeriose e consumo de silagem tem sido estudada, seja em respeito ao gado leiteiro (RYSER; MARTH, 1991), ovino (RISSI, et al. 2010) e caprino (GUEDES et al. 2007).

Muitos dos casos são resultantes do consumo de silagem de má qualidade, ou seja, silagem de fermentação inadequada, com valores de pH variando entre 3,8 e 4,5 (OSTLING; LINDGREN, 1993; RYSER; ARIMI; DONNELLY, 1997).

Woolford (1990) descreve que muitas espécies de *Listeria* têm sido isoladas de silagem, principalmente perto da superfície, onde o desenvolvimento de mofos é evidente e a alimentação com essa silagem parece aumentar a susceptibilidade do animal a doenças. Por isso, a eliminação dessa silagem mal conservada, no momento de fornecer aos animais, previne problemas de contaminação não só com a *Listeria*, mas também com outros

microrganismos, como mofos (aflatoxinas) e esporos de clostrídios (MUCK; SHINNERS, 2001).

Em estudo com silagem de azevém, Fenlon e Wilson (1998) avaliaram a deterioração aeróbia durante 90 dias, confirmando a relação entre a presença de *L. monocytogenes* e enterobactérias nas silagens deterioradas, o que mostra que esse último grupo microbiano pode ser um indicador do risco potencial da contaminação por *L. monocytogenes*.

2.3.6 Mofos e leveduras

Os mofos, sobretudo as espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, crescem nos fenos e nas silagens produzindo toxinas que podem acarretar problemas aos animais (MAHANNA, 1994). Pelo fato dos mesmos serem aeróbios obrigatórios, o fechamento completo e eficiente do silo produz uma silagem sem a presença desses microrganismos (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). A ocorrência de mofos em silagens está associada, principalmente, a má compactação, que permite a entrada de ar no silo. O alto conteúdo de matéria seca e o tamanho de partículas são fatores predisponentes ao desenvolvimento de mofos e leveduras (MUCK; SHINNERS, 2001; PEREIRA; REIS, 2001). Segundo Fenlon, Henderson e Rooke (1995), os mofos podem estar presentes na ensilagem na forma de esporos, restringindo a fermentação láctica da silagem e tornando-as altamente contaminadas, embora às vezes esta situação seja imperceptível a olho nu.

Tão logo o silo é aberto, as leveduras iniciam o processo de oxidação dos ácidos orgânicos produzidos na fase de conservação (fase anaeróbica), e por conseqüência, haverá elevação do pH, com desenvolvimento de outros microrganismos, como mofos, *Bacillus* e *L. monocytogenes* (WOOLFORD, 1990; DRIEHUIS; OUDE ELFERINK, 2000), razão pela qual o manejo após a abertura do silo tem também grande relevância para a manutenção do valor nutritivo do alimento que será ofertado aos animais (CHEN; WEINBERG, 2009).

O desenvolvimento das leveduras pode ser prolongado, e o seu controle é dificultado, por não serem inibidas pelo pH normalmente encontrado nas silagens. Na maioria das espécies de leveduras o pH ótimo encontra-se entre 3,5 e 6,5, sendo que algumas espécies são capazes de sobreviver em pH igual ou inferior a 2 (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Deve se considerar que, sempre que houver penetração de ar nas silagens, as leveduras e os mofos, além de causarem a deteriorização aeróbica e perdas no valor nutritivo da forragem, promovem a elevação do pH, aumentando o risco de desenvolvimento de microrganismos patogênicos (ROTZ; MUCK, 1994).

2.4 ÁCIDOS ORGÂNICOS

Vários ácidos orgânicos são produzidos durante a fermentação de silagens como: láctico, acético, butírico, isobutírico, propiônico, valérico, isovalérico, succínico e fórmico (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991), mas na avaliação da qualidade do processo fermentativo, os mais comumente utilizados são os ácidos láctico, butírico e acético. Apesar de todos os ácidos formados na fermentação contribuírem para redução do pH da silagem, o ácido láctico possui fundamental papel nesse processo por apresentar maior constante de dissociação que os demais, por isto, é o mais forte e o maior responsável pelo abaixamento do pH para a faixa de 3,8-4,2 (MOISIO; HEIKONEN, 1994).

Embora o conteúdo do ácido láctico seja frequentemente utilizado na avaliação da qualidade da fermentação, a quantidade, necessária para reduzir rapidamente o pH e impedir os processos que promovem a deterioração do material ensilado, varia conforme a capacidade de tamponamento da forrageira e depende do conteúdo de umidade da silagem. Foi observado ainda, que não há um único conteúdo de ácido láctico em silagens capaz de permitir a eficiente conservação da forragem, o que inviabiliza o estabelecimento de níveis deste ácido como parâmetro a ser seguido isoladamente na avaliação do processo fermentativo (TOMICH et al., 2003).

Já o conteúdo de ácido butírico reflete a extensão da atividade clostridiana sobre a forragem ensilada e está relacionado a maiores valores finais de pH nas silagens (KUNG; SHAVER, 2001). O conteúdo desse ácido pode ser considerado um dos principais indicadores negativos da qualidade do processo fermentativo. A sua presença também em níveis elevados é indicativa das silagens que apresentaram perdas acentuadas de matéria seca e energia em comparação ao conteúdo observado para a forragem original, antes da sua fermentação. O conteúdo de ácido butírico é positivamente correlacionado à redução da palatabilidade e do consumo da forragem (TOMICH et al., 2003). Segundo Roth e Undersander (1995) uma

silagem para ser considerada de muito boa qualidade, deve apresentar níveis de ácido butírico inferiores à 0,1% MS.

Para o ácido acético, que sempre está presente nas silagens, foi observado ser ideal que a sua presença seja inferior em relação à proporção encontrada para o ácido láctico. Sua presença resulta principalmente, da ação de bactérias lácticas heterofermentativas e enterobactérias sobre os açúcares, podendo, algumas vezes, ser formado pela degradação do citrato, malato e aminoácidos (MOISIO; HEIKOMEN, 1994). As bactérias produtoras de ácido acético são as primeiras a atuar, mas logo são inibidas pelo aumento de temperatura e acidez do meio (ANDRIGUETTO et al., 2002). Silagens bem conservadas devem apresentar reduzido conteúdo de ácido acético, cujo nível também pode ser utilizado como parâmetro para a avaliação da qualidade do processo fermentativo (TOMICH et al., 2003). De acordo com Rodriguez et al. (1999) uma silagem de qualidade muito boa deve apresentar níveis de ácido acético inferiores a 2,5% MS).

2.5 ADITIVOS PARA SILAGEM

Os resultados obtidos com o uso dos vários aditivos existentes no mercado, quanto à preservação da silagem, além de respostas no desempenho animal, são extensivamente estudados ao longo da sua produção e utilização em todo o mundo (HARRISON; BLAUWIEKEL; STOKES, 1994). Estes trabalhos têm abrangido uma variedade de espécies forrageiras e de aditivos, porém não de forma ampla o suficiente para esclarecer as variações encontradas dentro das espécies investigadas, quando são utilizados diferentes aditivos.

De acordo com McDonald, Henderson e Heron (1991) os aditivos comerciais podem ser classificados em cinco categorias: 1) fontes de nutrientes e/ou MS, incluindo minerais e nitrogênio não protéico; 2) inibidores de fermentação; 3) inibidores da deteriorização aeróbica; 4) estimulantes da fermentação, como inoculantes microbianos e enzimas; 5) materiais absorventes que são adicionados às plantas que apresentam baixo conteúdo de matéria seca, a fim de evitar a formação de efluentes, como consequente perda de nutrientes e poluição de cursos de água.

O desenvolvimento de aditivos para silagem objetiva reduzir perdas na produção da mesma e melhorar seu valor nutritivo (COAN et al., 2005). Segundo Schmidt (2006) a escolha do aditivo deve ser baseada em critérios que considerem aspectos como: redução de

perdas de matéria seca (MS) quando da ensilagem, melhoria na qualidade higiênica, inibição das fermentações secundárias, aumento da estabilidade aeróbia, incremento do valor nutritivo pela maior eficiência de utilização da silagem pelo sistema digestivo do ruminante, além de proporcionar ao produtor um retorno maior que o custo investido no aditivo.

Como menciona Santos (2007), nem sempre o uso de aditivos vem acompanhado de melhora no desempenho de animais recebendo silagens tratadas. Entretanto mesmo que isso não aconteça, se o aditivo for capaz apenas de alterar o padrão de fermentação de silagens, reduzindo as perdas totais e aumentando a recuperação de MS de forma economicamente viável, sua utilização já se torna justificável.

Vários aditivos são propostos e usados na redução da deteriorização aeróbia, uma vez que eles têm propriedades antimicrobianas contra a microbiota representada pelos mofos que se desenvolvem na silagem em presença de ar (MUCK, 1988). A decisão quanto ao uso de um determinado aditivo deve contemplar a eficiência, o custo e a necessidade do produto. Os aditivos não devem ser utilizados com o objetivo de compensar práticas inadequadas na produção e utilização de silagens (MAHANNA, 1993; MUCK, 1993). Entre os resultados experimentais, alguns são contraditórios e a recomendação do melhor aditivo dependerá entre outros aspectos, da disponibilidade na região e das características produtivas de cada propriedade (VILELA, 1984).

2.5.1 INOCULANTES MICROBIANOS

No grupo dos aditivos estimulantes, encontram-se os inoculantes microbianos que são adicionados à silagem para estimular a fermentação láctica, resultando em rápida e intensa produção de ácido láctico que acelera a queda de pH, melhorando a preservação e minimizando perdas (WEINBERG et al., 1995). Esses inoculantes microbianos são compostos por bactérias ácido-láticas, adicionados ou não de enzimas (celulases, amilases e hemicelulases), e abrangem a classe dos aditivos com mais rápido desenvolvimento em todo o mundo (COAN et al., 2005). Apresentam as seguintes vantagens: facilidade de uso, não oferecem riscos à saúde humana e dos animais domésticos, não são corrosivos, não poluem o meio ambiente e são facilmente conservados, visando à comercialização (FILYA et al., 2000).

O sucesso do uso do inoculante microbiano está vinculado a três fatores: 1) a população natural de bactérias lácticas, 2) conteúdo de açúcares da forragem, e 3) a(s) cepa(s)

de bactéria(s) presente(s) no inoculante. Este último, diz respeito à compatibilidade entre a planta e os microrganismos, visto que as bactérias constituintes dos inoculantes devem ser eficientes na competição com a flora microbiana natural da planta, devendo ainda se mostrarem efetivas junto ao processo fermentativo, condições que resultarão num maior desempenho do animal (MUCK, 1993). Hill (1989 apud MUCK, 1996), constatou que quando três estirpes de *Lactobacillus plantarum*, isoladas de milho, alfafa e sorgo foram co-inoculadas em cada uma destas plantas, a estirpe dominante em cada silagem foi a natural de cada planta. Isto sugere que a bactéria isolada de determinada planta pode não ter o efeito esperado, quando aplicada em outra diferente.

A recomendação desta tecnologia baseia-se no desejo de elevar a população de BAL ao mínimo de 10^6 ufc/g de forragem fresca no início do processo fermentativo, por ser considerada como população mínima necessária para que seja assegurada posição dominante do inoculante adicionado sobre as bactérias epifíticas e garantam boa preservação dos nutrientes da silagem (MAHANNA, 1993; ROOKE, 1990). A silagem sem inoculante possui, em média, 10 bactérias lácticas por grama de forragem, por isso a demora da fermentação láctica, que possibilita o crescimento de mofos e microrganismos patogênicos, deteriorando a silagem e colocando em risco a saúde dos animais (OLIVEIRA, 2005).

2.6 COMPOSIÇÃO DO INOCULANTE

Tão importante para o sucesso da inoculação quanto à quantidade de microrganismos inoculantes é a composição microbiana do inóculo a ser adicionado à silagem (MORAIS, 1995). O inoculante pode ser utilizado separadamente ou em misturas para cobrir um largo espectro de efeitos benéficos (KNICKÝ, 2005).

A maioria dos inoculantes microbianos comerciais de silagem contém culturas vivas de espécies homofermentativas, como de *Lactobacillus*, *Pedicoccus* ou *Streptococcus*, com predominância de *Lactobacillus plantarum* (Quadro 4).

A bactéria *L. plantarum*, é considerada como a mais adequada para o processo de inoculação pelos critérios de Whittenbury (1961 apud ANDRIGUETO et al., 2002). Contudo, o próprio Whittenbury (1961 apud MERRY; CUSSEN MACKHNNA; JONES, 1993), considera *L. plantarum* de pouca eficiência na produção de ácido láctico enquanto o pH não atingir valores inferiores a 5.

Inoculante	Fabricante	Composição	Referência
Sil All	Alltech, Inc.	<i>L. plantarum</i> , <i>P. acidilactici</i> e <i>S. faecium</i>	http://www.alltech.com/About/sil-All.htm acesso: 30/03/08
Pioneer 1174	Pioneer Hi-Bred Internacional, Inc.	<i>L. plantarum</i> , <i>E. faecium</i>	http://pioneer.com/Products/Inoculants/1174/tabid/129/Default.aspx acesso: 30/03/08
Lalsil CL	Lallemand S.A.	<i>L. plantarum</i> e <i>P. acidilactici</i>	http://www.lallemandanimalnutrition.com/products acesso: 30/03/08
Silobac	Chr. Hansen Ltd.	<i>L. plantarum</i> e <i>P. pentosaceus</i>	http://www.purinadobrasil.com.br/produtos_silobac.asp acesso: 30/03/08
Biotal Supersile	Biotal Inc.	<i>L. plantarum</i> e <i>P. pentosaceus</i>	http://www.biotal.co.uk/agricultural/grass acesso: 30/03/08
Promote AS	Cargill	<i>L. plantarum</i>	http://www.cargillpromote.com/Screens/Solutions/ForagePreservation/ProductInfo.aspx acesso: 30/03/08
Ecosyl 50T DG	Ecosyl Products Inc.	<i>L. plantarum</i>	http://www.ecosyl.co.uk/us/ecosyl50tdg.htm acesso: 30/03/08
Durasile	Durapak Agri Ltd.	<i>L. plantarum</i> e <i>P. acidilactici</i>	http://www.durapakagri.ie/fca.htm acesso: 30/03/08
Agros Clamp	Volac Internacional Ltd.	<i>L. plantarum</i>	http://www.volac.com/content/agrosclamp.asp acesso: 30/03/08
Bio Max Milho/Sorgo	Katec	<i>L. plantarum</i>	http://www.katec.com.br/ acesso: 30/03/08
Ucaferm hidrosoluble	Nutrilac	<i>L. plantarum</i> , <i>E. faecium</i> e <i>P. acidilactici</i>	http://www.nutrilac.fr/f_fourrage.htm acesso: 30/03/08
Bactensil 2000 Granules or Liquid	Co-operative Animal Health Ltd.	<i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>P. pentosaceus</i>	http://www.cahl.ie/shop/asp/prodtype.asp?prodtype=62 acesso: 30/03/08

Quadro 4. Lista de alguns inoculantes comerciais existentes no mercado, seus fabricantes e sua composição.

A combinação de *L. plantarum* com outras bactérias homofermentativas ou heterofermentativas, para que atuem em faixas de pH variáveis ao longo do processo de ensilagem, tem sido utilizada em muitos inoculantes disponíveis atualmente no mercado. (FITZSIMMONS et al.,1992).

Resultados de pesquisas têm comprovado que a aplicação de *L. plantarum* associado a outras espécies homofermentativas (*Enterococcus faecium* e/ou *Pediococcus sp*) ou

heterofermentativas (*Lactobacillus buchneri*) ou ambos, pode-se obter melhorias adicionais ao processo de ensilagem (RANJIT; KUNG, 2000; DRIEHUIS; OUDE ELFERINK; VAN WIKSELAAR, 2001).

Rodrigues et al. (1994), ao avaliar o efeito do inoculante microbiano contendo *L. plantarum* sobre a silagem de sorgo forrageiro, produzida em mini silos, conclui que houve efeito positivo, com redução do pH e maior população de bactérias produtoras de ácido láctico na silagem proveniente da forragem inoculada.

Froetschel et al. (1994), ensilaram milho e sorgo, com ou sem inoculante microbiano, em silos de concreto com capacidade para 900 kg e detectaram aumento do teor dos ácidos láctico, acético e graxos voláteis totais e diminuição na perda da MS em 7,1%, concluindo que houve melhor preservação para as forragens inoculadas.

Eichelberg, Siewerdt e Silveira (1997), observaram efeito do uso do inoculante microbiano sobre silagens de milho, preparadas com a inclusão de níveis crescentes de soja, mediante uso de inoculantes microbianos contendo *Lactobacillus plantarum* e *Streptococcus faecium*. Estes autores notaram efeito heterogêneo sobre os parâmetros analisados (pH, proteína bruta, digestibilidade *in vitro* da matéria seca, fósforo e cálcio), impedindo a indicação definitiva da vantagem ou não de sua utilização.

Ranjit e Kung (2000), ao trabalharem com *Lactobacillus buchneri*, bactéria heterofermentativa, observaram diminuição de ácido láctico, aumento de ácido acético e menor crescimento de leveduras (*Saccharomyces*, *Candida*, *Cryptococcus* e *Pichia spp*), prevenindo a deterioração aeróbia quando a silagem foi exposta ao ar. Ohmomo et al. (2002), em experimento com isolados de *L. rhamnosus* e *L. plantarum* encontraram efeito positivo na produção de ácido láctico em ambos os isolados e na combinação dos mesmos.

De acordo com Weinberg e Muck (1996), o insucesso no emprego de um inoculante microbiano pode estar relacionado a variação da população epifítica de bactérias lácticas, a infecção do inoculante por bacteriófagos, as cepas podem não ter crescido no vegetal ensilado e/ou pode ter ocorrido problemas técnicos para manter viáveis os microrganismos do inoculante até a hora da aplicação.

Os inoculantes microbianos disponíveis atualmente no mercado são quase todos liofilizados, devido à facilidade de manuseio e o tempo de estocagem de bactérias viáveis (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). No entanto, para Merry et al. (1995), ao comparar o efeito de culturas liofilizadas com frescas verificaram que a principal vantagem da cultura fresca em relação à liofilizada, quando adicionadas à forragem, foi proporcional devido ao seu estado metabólico, visto que as culturas liofilizadas provavelmente sofrem

efeitos negativos a coleta, a desidratação e ao longo do processo de liofilização, caso sejam realizadas operações de forma incorreta. Apesar de a liofilização exigir grande demanda energética e ser de alto custo, é o processo mais conveniente em termos de longevidade, distribuição e manuseio seguro do produto.

2.7 DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE DA SILAGEM

O termo qualidade de silagem, segundo Tomich et al. (2003) se refere à eficiência do processo fermentativo de promover a conservação dos valores de composição e digestibilidade da forrageira original na forragem ensilada e não é utilizado para designar o valor nutritivo do volumoso.

Os parâmetros mais utilizados na avaliação da qualidade da silagem são os teores de ácidos orgânicos (lático, acético e butírico), nitrogênio amoniacal e pH. No entanto, o teor adequado de matéria seca, antes da ensilagem, é um fator importante para que ocorra boa fermentação no silo (ASHBELL; WEINBERG, 2003), evitando fermentações indesejáveis. Além disso, a matéria seca está intimamente ligada à maturidade da planta e a espécie forrageira e, à medida que ocorre seu amadurecimento, menor será o teor de nitrogênio não protéico, proteína bruta e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca das silagens (SNYMAN; JOUBERT, 1996).

Guim, Andrade e Malheiros (1995), observaram a melhora na digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, extrato não nitrogenados e nos nutrientes digestíveis totais de silagem de milho com alto teor de matéria seca (37%), mediante emprego de inoculante microbiano, porém não observaram efeitos em silagens com baixo teor de matéria seca (25%). Por outro lado, Daenicke et al. (1999) demonstraram que não houve efeito da utilização de inoculantes microbianos sobre a digestibilidade de silagens de milho ou sorgo.

Backes et al. (2000), descreveram que a adição de inoculante microbiano (*L. plantarum* e *S. faecium*) não provocou efeito significativo sobre a degradação da matéria seca e proteína bruta da silagem de milho. Todavia, houve tendência de maior degradação da proteína bruta em silagem de milho sem inoculante microbiano após 24 horas de incubação. Em silagens de capim-elefante com uso de inoculantes microbianos, Guim, Andrade e Malheiros (1995), observaram que o emprego deste instrumento técnico resulta em menor

degradação da matéria seca, mas não houve diferença na degradação da fibra em detergente neutro.

Bolsen et al. (1992), usando inoculantes microbianos e enzimáticos, relataram não haver variação na contagem microbiana durante o período de ensilagem, mas notaram o aumento da eficiência de fermentação (maior porcentagem de ácido lático e menor pH, ácido acético, etanol e amônia) em silagem de alfafa, e verificaram que em silagem de milho o uso do inoculante microbiano não apresentou efeito na contagem de microrganismos e nas características de fermentação durante o período de ensilagem.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO E CLIMA

A pesquisa foi desenvolvida nas dependências da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), localizada em Belém, Pará, cujas coordenadas geográficas são 1° 28' de latitude sul e 48° 27' de longitude oeste de Greenwich, em tipo climático Afí, segundo a classificação de Köppen, caracterizado por chuvas abundantes durante o ano inteiro, com período mais chuvoso, de janeiro a junho, e menos chuvoso, de julho a dezembro, com precipitação pluviométrica de 2.870 mm/ano, temperatura média anual de 26°C e umidade relativa de 85 % (BASTOS et al., 1986). O solo da área utilizada é do tipo Latossolo Amarelo, fase pedregosa, cujas análises físicas e químicas revelaram os seguintes teores: areia grossa 31%, areia fina 37%, limo 18%, argila total 14%, pH 5,7, Al 0,55 cmol.dm⁻³, Ca 1,21 cmol.dm⁻³, Mg 1,28 cmol.dm⁻³, K 0,08 cmol.dm⁻³, Na 0,10 cmol.dm⁻³, P 1,60 mg.dm⁻³.

3.2 PLANTIO, COLHEITA, PREPARO DAS AMOSTRAS E ARMAZENAMENTO

No experimento utilizou-se o híbrido de sorgo de duplo propósito BR-700 (Monsanto do Brasil). O sorgo teve seu plantio realizado em área de 0,2 ha, previamente submetida à

aração e gradagem. A adubação de plantio empregada foi de 20 Kg de N, 80 Kg de P₂O₅ e 60 Kg de K₂O (N-P-K), e posteriormente, feita adubação nitrogenada (20 kg de N/ha), sob cobertura, aos 28 dias após a emergência das plantas visando obter produtividade entre 30 e 40 t/ha de forragem fresca. Empregou-se espaçamento entre linhas de 0,7m, sendo as sementes espaçadas de cinco centímetros e plantadas à profundidade de dois centímetros. As plantas foram colhidas quando os grãos atingiram o estágio farináceo, aos 90 dias, após a semeadura.

O material foi picado em partículas de tamanho médio de dois centímetros, com picadeira estacionária de forragem. A forragem picada foi transportada imediatamente até o local onde ocorreu o processo de ensilagem. A estocagem foi realizada a campo em três silos experimentais de madeira, medindo aproximadamente 1,0m x 0,5m x 0,5m (altura x largura x comprimento) cada, sendo obtida densidade final de 600 kg/m³ de silagem. Cada silo correspondeu aos seguintes períodos de abertura: 1, 3 e 28 dias.

Realizou-se dois experimentos por silo, EXPERIMENTO 1 (tratamentos com inoculantes liofilizados, na região superior) e EXPERIMENTO 2 (tratamentos com inoculantes à fresco, na região inferior), com cinco tratamentos e três repetições por silo, em esquema de parcelas subdivididas onde os três períodos de abertura foram as parcelas, e os cinco tratamentos as subparcelas no delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos estão descritos de forma detalhada nas Tabelas 1 e 2.

EXPERIMENTO 1: INOCULANTES MICROBIANOS LIOFILIZADOS

Tabela 1. Composição dos tratamentos contendo inoculantes microbianos liofilizados.

Tratamentos	Composição
Controle (C)	Sem inoculante
Inoculante Microbiano Comercial (IC)	<i>L. plantarum</i> , <i>S. faecium</i> , <i>P. acidilactici</i> , amilase, celulase, dextrose e hemicelulase
<i>L. plantarum</i> / <i>L. paracasei</i> (LPP)	<i>L. plantarum</i> (70%) + <i>L. paracasei</i> (30%)
<i>L. plantarum</i> / <i>L. rhamnosus</i> (LPR)	<i>L. plantarum</i> (70%) + <i>L. rhamnosus</i> (30%)
<i>L. plantarum</i> (LP)	<i>L. plantarum</i> (100%)

EXPERIMENTO 2: INOCULANTES MICROBIANOS À FRESCO

Tabela 2. Composição dos tratamentos contendo inoculantes microbianos à fresco.

Tratamentos	Composição
Controle (C)	Sem inoculante
Inoculante Microbiano Comercial (IC)	<i>L. plantarum</i> , <i>S. faecium</i> , <i>P. acidilactici</i> , amilase, celulase, dextrose e hemicelulase
<i>L. plantarum</i> / <i>L. paracasei</i> (LPP)	<i>L. plantarum</i> (70%) + <i>L. paracasei</i> (30%)
<i>L. plantarum</i> / <i>L. rhamnosus</i> (LPR)	<i>L. plantarum</i> (70%) + <i>L. rhamnosus</i> (30%)
<i>L. plantarum</i> (LP)	<i>L. plantarum</i> (100%)

No tratamento com inoculante microbiano comercial utilizou-se MAIZE-ALL, da Alltech do Brasil. Os inoculantes dos demais tratamentos foram produzidos no Laboratório de Bactérias Láticas da UFRA, a partir de isolados microbianos oriundos da planta de sorgo, sendo no EXPERIMENTO 1 inoculantes microbianos liofilizados e no EXPERIMENTO 2 inoculantes microbianos à fresco.

Na seleção dos isolados microbianos, o parâmetro básico adotado foi a rapidez de crescimento da cultura e a sua homogeneidade (permitiu menor contaminação), dos quais foram selecionadas três cepas com alto potencial para utilização em processos de ensilagem: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus rhamnosus*.

Os inoculantes microbianos do Experimento 1, foram liofilizados de forma a manter conservada as características originais do isolado microbiano e, após a reidratação, recompor-se normalmente. Momentos antes da inoculação, as soluções eram misturadas, assepticamente, de modo a se obter as concentrações desejadas de cada componente.

A aplicação do inoculante microbiano comercial ocorreu após diluição em água, de acordo com as instruções do fabricante, para concentração de 10g do produto por tonelada de material fresco. Os demais inoculantes testados contendo *L. plantarum* + *L. paracasei*, *L. plantarum* + *L. rhamnosus* e *L. plantarum* foram diluídos previamente em água, sendo retirado 1 mL do inoculante para cada 1Kg de forragem, e aplicados possibilitando a concentração de 10^6 ufc/mL.

Para as culturas mistas (*L. plantarum* + *L. paracasei* e *L. plantarum* + *L. rhamnosus*), obedeceu-se a relação de 70:30, pipetando-se 0,7 mL de uma cultura e 0,3 mL da outra, sendo adicionado no mesmo frasco antes de ser aspergida sobre a forragem.

As suspensões de inoculantes microbianos foram pulverizadas sobre porções de forragem picada, de acordo com os tratamentos previamente estabelecidos. As amostras foram homogeneizadas, mediante uso de luvas descartáveis para cada tratamento. As porções de forragem inoculada, ou não, foram armazenadas conforme cada tratamento em sacos plásticos com furos padronizados de modo a facilitar a compactação e eliminação do ar do interior dos mesmos, quando colocados nos silos.

Entre os experimentos colocou-se camada de forragem, bem como no fundo, nas laterais e topo dos silos (Figura 1). A parede interna de cada silo foi revestida com lona plástica para facilitar a vedação do material ensilado. Após compactação e preenchimento total dos silos, estes foram vedados com a lona e colocados pesos de areia em cima a fim de evitar a entrada de ar e exposição aos efeitos prejudiciais do sol e/ou furo por animais e outros.

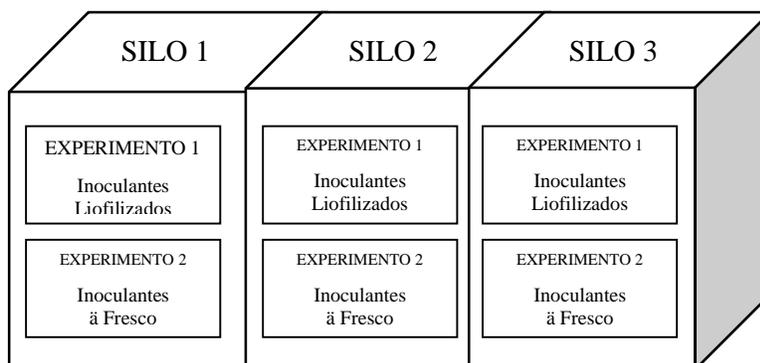


Figura 1. Organização dos experimentos nos silos.

3.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

A segunda fase dos experimentos realizou-se no Laboratório de Análise de Alimentos do Instituto de Saúde e Produção Animal da UFRA.

Ao 1º, 3º e 28º dia de ensilagem, um silo foi aberto e o conteúdo dos tratamentos pesados. Posteriormente, o material de cada tratamento foi homogeneizado e dividido em três frações, para a determinação da composição químico-bromatológica da silagem. A primeira fração foi submetida à pesagem e pré-secagem em estufa de ventilação forçada à 65°C de temperatura durante 72 horas. Após este período o material foi deixado à temperatura ambiente por duas horas, para estabilização e obtenção de peso constante, e imediatamente

pesado para determinação da matéria pré-seca. As amostras pré-secas foram então moídas em moinho estacionário tipo “Thomas-Willey”, utilizando-se peneira de 1 mm, sendo em seguida acondicionadas em recipientes de vidro com tampa para determinação dos teores de matéria seca (MS) em estufa a 105°C, conforme método recomendado por Silva e Queiroz (2002), proteína bruta (PB), pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2000), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina - método sequencial (SILVA; QUEIROZ, 2002), carboidratos solúveis em álcool (CHOs) por Bailey (1967) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) segundo Tilley e Terry (1963) – modificado por Silva e Queiroz (2002). A segunda fração foi utilizada para determinação dos teores de pH (SILVA; QUEIROZ, 2002) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃), segundo AOAC (2000). Para o pH foram coletadas amostras de 25 g das silagens, às quais adicionou-se 100 mL de água destilada, seguindo-se repouso por 2 horas para determinação do pH. Em outra amostra de 25 g de cada tratamento, adicionou-se 50 mL de uma solução de H₂SO₄ a 0,2 N, permanecendo em repouso por 48 horas em geladeira, fazendo-se em seguida filtragem em papel de filtro do tipo “Whatman 54”. Esse filtrado permaneceu em geladeira até as determinações de nitrogênio amoniacal. A terceira fração foi mantida em freezer, até o final do experimento, para determinação dos ácidos graxos voláteis (ácido láctico, ác. acético e ác. butírico). Após descongelamento as amostras foram tratadas com ácido metafosfórico na proporção de quatro partes de suco para uma de ácido, e em seguida centrifugadas, acondicionadas em tubos de 15 mL e recongeladas, para posterior análise dos ácidos graxos voláteis por cromatografia gasosa, em aparelho “Varian, modelo 2485”, usando-se coluna de vidro de um quarto de polegada de diâmetro e “Chromosorb” 101 de 80 a 100 “mesh”, como fase estacionária (AOAC, 2000). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do Statistical Analysis System (SAS, 2001), segundo o método de Tukey.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição bromatológica e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca da planta de sorgo antes da ensilagem é apresentada na Tabela 3. O teor de MS encontra-se acima dos 25% preconizados por McDonald, Henderson e Heron (1991) como condição necessária para que as perdas de efluentes dentro do silo sejam minimizadas, e conseqüentemente ocorra manutenção dos nutrientes da massa vegetal. Forragem úmida favorece o desenvolvimento de bactérias do gênero *Clostridium*, produtoras de ácido butírico. Entretanto forragem muito seca torna difícil a compactação e eliminação do ar. Segundo os mesmos autores, a MS é um dos fatores que afeta o tipo de fermentação e a conservação da massa ensilada.

Tabela 3. Composição bromatológica e digestibilidade “*in vitro*” da matéria seca da planta de sorgo antes da ensilagem.

Parâmetro	Composição
Matéria Seca (%)	31,5
Proteína Bruta (%MS)	6,1
Fibra em Detergente Neutro (%MS)	65,4
Fibra em Detergente Ácido (%MS)	34,9
Celulose (%MS)	29,1
Hemicelulose (%MS)	30,5
Lignina (%MS)	5,7
Carboidratos Solúveis em Álcool (%MS)	7,72
DIVMS (%)	65,3

O teor de PB de 6,1% está dentro da faixa considerada ideal para realizar ensilagem que pode variar entre 6 e 9%, segundo Pedreira et al. (2003).

Os teores das frações fibrosas são próximos aos mencionados por Pedreira et al. (2003), em avaliação de híbridos de sorgo que encontraram uma variação de 57,0% a 70,3% nos teores de FDN, 29,8% a 36,2% para FDA, 25,3% a 31,2% para Celulose e 3,6% a 5,5% para Lignina.

A variação dos teores de FDN, FDA, Celulose e Lignina, entre híbridos de sorgo, também foram observadas por Pesce, Gonçalves e Santos (2000), os quais apresentaram

resultados de 20 cultivares de sorgo variando de 57,2 a 66,5%, 31,9 a 36,8%, 4,0 a 5,7% e 27,6 a 31,7% respectivamente.

Os teores de nutrientes obtidos indicam que o sorgo utilizado para produção das silagens, e posterior inoculação microbiana, encontrava-se sob condições adequadas para produção de um volumoso de boa qualidade, após fechamento dos silos experimentais.

4.1 EXPERIMENTO 1 - INOCULANTES MICROBIANOS LIOFILIZADOS

4.1.1 Composição bromatológica e digestibilidade “*in vitro*” da matéria seca.

Ao analisar o efeito dos tratamentos nos dias de abertura, observa-se diferença significativa ($P < 0,05$) para o teor MS em todos os períodos de abertura, cujos valores encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Teores de matéria seca (%) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	28,59 B	28,85 C	29,07 B
IC	28,07 B	28,68 C	28,55 C
LPP	30,35 A	30,76 A	30,28 A
LPR	30,48 A	29,58 B	29,85 A
LP	30,78 A	30,63 AB	30,53 A

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=1,70%.

Os teores de MS nos tratamentos LPP, LPR e LP no 1º e 28º dia de abertura do silo, assemelham-se entre si diferindo estatisticamente de C e IC. No 3º dia de fermentação os tratamentos C e IC comportaram-se de forma semelhante, diferindo dos demais tratamentos.

Os valores de MS obtidos são próximos aos de Campos et al. (2006a), para silagem de sorgo, entre 29,01 e 33,58% e Koc, Coskuntuna e Ozduven (2008), variaram 28,95 e 32,97% para silagem de milho, que obtiveram silagens bem preservadas.

Na Tabela 5 encontram-se os teores de PB da silagem de sorgo, em função dos tratamentos utilizados, conforme os períodos de fermentação.

Para PB detectou-se efeito ($P>0,05$) dos tratamentos no 28º dia de abertura do silo, com menores teores de PB em todos os tratamentos com inoculante, no entanto o tratamento LP não apresenta diferença significativa de C.

Os teores de PB dos tratamentos permaneceram estáveis ao longo do processo de fermentação, o que se esperava, visto que o ideal são os teores de PB das silagens permanecerem inalterados ao longo do período de fermentação (VAN SOEST, 1994).

Tabela 5. Teores de proteína bruta (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura.

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	5,59	5,42	6,10 A
IC	5,85	5,82	5,37 B
LPP	4,98	5,92	5,38 B
LPR	6,08	5,93	5,45 B
LP	5,06	5,26	5,66 AB

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=5,93%.

Campos et al. (2006a) e Grise et al. (2006), não observaram variações nos teores de PB das silagens de sorgo que produziram em trabalho com inoculante microbiano.

Na Tabela 6 encontram-se os teores de FDN dos tratamentos pelos períodos de abertura dos silos. Ao longo dos períodos de abertura não houve diferença significativa ($P>0,05$), mas todas as silagens apresentaram teor de FDN inferior àquele da matéria original (Tabela 3), indicando que os microrganismos presentes na massa ensilada degradaram parte dessa fração fibrosa.

Ao analisar o efeito dos inoculantes microbianos dentro do 3º dia, observa-se que o tratamento LPP e IC são semelhantes estatisticamente, no entanto IC não diferiu dos tratamentos LPR e LP.

Tabela 6. Teores de fibra em detergente neutro (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	58,36	60,41 A	60,61 A
IC	56,83	57,92 BC	56,38 B
LPP	58,30	55,10 C	56,76 B
LPR	57,89	59,95 AB	59,03 AB
LP	57,60	59,44 AB	58,08 AB

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=2,24%.

No 28º dia de abertura, constatam-se menores teores de FDN aos tratamentos com inoculante, sendo que os tratamentos LPR e LP não diferiram estatisticamente de C. Xing, Chen e Han (2009), observaram redução dos teores de FDN para silagem de palha de sorgo tratada com *L. plantarum*, após 60 dias de ensilagem, comparados ao tratamento Controle.

Silva, A. (2001), em estudo com silagens de milho e sorgo inoculadas, constatou menores teores de FDN nas silagens de milho tratadas com inoculantes microbianos, registrando-se menor valor naquela tratada com mesmo inoculante microbiano comercial utilizado neste experimento. Por sua vez, para silagem de sorgo, registrou-se menor FDN, na silagem não tratada.

Os teores de FDA das silagens de sorgo, tratadas ou não com inoculantes microbianos, são apresentados na Tabela 7 em função dos períodos de abertura dos silos. No 3º dia de abertura do silo os tratamentos IC e LPP comportaram-se semelhantes entre si, no entanto o tratamento IC apresenta semelhança estatística também com LPR e LP.

Ao observar o efeito do inoculante microbiano, no 28º dia de abertura do silo, verificou-se que os menores teores de FDA estão nos tratamentos IC e LPP, que por sua vez não diferiram ($P>0,05$) de LPR e LP. O tratamento C diferiu ($P<0,05$) apenas do tratamento IC e LPP, sendo estatisticamente igual aos demais.

O tratamento LPP apresentou menor teor no 3º dia de abertura entre os demais tratamentos com inoculante microbiano, conforme constatado também para o teor de FDN. No experimento de Xing, Chen e Han (2009), observaram redução dos teores de FDA para silagem de palha de sorgo tratada com inoculante *L. plantarum*, após 60 dias de ensilagem, comparados ao tratamento Controle, bem como em seu FDN.

Tabela 7. Teores de fibra em detergente ácido (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	30,96	35,80 A	34,67 A
IC	30,62	31,94 BC	31,93 B
LPP	31,22	30,44 C	31,36 B
LPR	32,21	33,79 AB	33,37 AB
LP	32,07	33,38 AB	33,39 AB

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=2,56%.

Aguiar, Lima e Farache (2000) e Rosa et al. (2000), diferentemente da estatística apresentada não observaram alterações nos teores de FDA ao final do processo de fermentação em seus tratamentos experimentais, com inoculantes microbianos em silagens.

Os teores de FDA foram superiores aos encontrados por Pedroso, Freitas e Souza (2000) e Vieira et al. (2004) para silagem do sorgo, que observaram, respectivamente, teores de 24,89 e 26,43% da MS para silagem tratada com inoculante microbiano e 22,53 e 23,13% da MS para o tratamento Controle e inferiores ao de Grise et al. (2006), que obteve 45,78% da MS para silagens tratadas e 44,95% da MS no Controle.

Os dados dos teores de celulose na silagem não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$) entre tratamentos e dias de abertura (Tabela 8).

Tabela 8. Teores de celulose (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	25,62	28,78	27,51
IC	23,04	26,57	25,71
LPP	26,02	25,54	26,07
LPR	26,43	28,25	27,55
LP	25,54	26,23	26,63

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=3,49.

No 3º dia de abertura do silo, observam-se menores valores numéricos de celulose nas silagens tratadas com inoculante microbiano, com atenção ao tratamento LPP que possuiu valor inferior às demais silagens inoculadas. Esse relativo aumento de solubilização da celulose notado no tratamento LPP pode ter contribuído diretamente para a maior preservação de seus nutrientes.

Na Tabela 9, encontram-se os teores de hemicelulose das silagens nos períodos de abertura dos silos. O teor de hemicelulose não apresentou diferença significativa ($P>0,05$) entre tratamentos no mesmo período, ou entre períodos de abertura. No entanto, observa-se redução numérica no teor do tratamento LPP no 3º dia de abertura, fato que pode ter influenciado à redução estatística do teor de FDN para este tratamento.

Tabela 9. Teores de hemicelulose (% MS), de silagens de sorgo tratadas com inoculante microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	27,24	26,62	26,43
IC	26,38	25,97	24,44
LPP	27,12	24,46	25,40
LPR	25,68	26,13	25,64
LP	25,83	26,61	24,68

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=4,25.

Houve redução nos teores de hemicelulose em relação ao material original (Tabela 3) em todos os tratamentos. Muck (1988) e Henderson (1993) pressupõem que, a hemicelulose é a principal fonte adicional de substratos para a fermentação, ocorrendo o desaparecimento de até 40% dessa fração. Rosa et al. (2000) pelos resultados obtidos em seu experimento concluíram que o tratamento com inoculante microbiano não interferiu significativamente nos valores de hemicelulose.

Os teores de lignina das silagens não foram influenciados pelos dias de abertura e ao avaliar o efeito dos tratamentos nos períodos de fermentação, não se detectou alterações significativas sobre os teores de lignina, estimando-se valores entre 5,06 e 6,75% (Tabela 10).

Van Soest (1994) relata que a celulose e a lignina se mantêm estáveis nas fermentações no interior do silo e que estas frações só são perdidas quando se tem a presença de mofos aeróbicos.

Tabela 10. Teores de lignina (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculante microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	5,53	5,70	6,67
IC	6,16	5,39	6,20
LPP	5,17	5,06	5,28
LPR	5,79	5,53	5,82
LP	6,51	6,59	6,75

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=7,31.

Os resultados corroboram com os observados por Silva et al. (2005), que estudaram o efeito da aplicação de inoculantes sobre silagens de duas espécies forrageiras e não observaram efeito do inoculante microbiano sobre os teores desse parâmetro.

Na Tabela 11 são apresentados os teores de CHOS das silagens. Observa-se que os tratamentos dentro e entre períodos de abertura não tiveram efeito dos inoculantes microbianos sobre esta variável.

Tabela 11. Teores dos carboidratos solúveis (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	4,17	3,95	3,40
IC	4,32	3,27	3,81
LPP	4,10	3,61	3,24
LPR	3,41	2,61	3,11
LP	3,51	2,99	2,81

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=12,62.

Observa-se que a partir do primeiro dia de fermentação houve a utilização de boa parte dos teores de CHOS, quando comparados aos valores registrados na planta antes da ensilagem, em média 7,72% na MS. Comportamento semelhante observado por Bernardino (1996), que verificou a utilização de aproximadamente metade dos teores em plantas de sorgo nas

primeiras 24 horas após ensilagem. De acordo com Gourley e Lusk (1977), são necessários 6 a 8% de carboidratos solúveis na matéria seca da forrageira a ser ensilada para ocorrer fermentação predominantemente homolática, com rápida queda de pH.

A maior parte dos CHOS é fermentada até sete dias pelas bactérias lácticas. A necessidade de constante produção de lactato para manutenção do pH faz com que o mínimo de 1% de carboidratos fermentáveis seja desejável para longos tempos de estocagem (VAN SOEST, 1994).

Os valores da DIVMS da silagem sem inoculante ou com inoculantes microbianos nos diferentes dias de abertura estão na Tabela 12.

Tabela 12. Valores da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (%) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	66,65 B	65,82 B	69,48
IC	69,88 A	69,50 A	69,07
LPP	70,53 A	67,70 AB	68,82
LPR	71,02 A	68,16 A	69,23
LP	70,05 A	66,36 B	69,23

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=2,72%.

Os valores dos tratamentos não foram influenciados pelos inoculantes microbianos ao longo dos períodos de abertura. Campos et al. (2006a), ao avaliarem o perfil de fermentação de silagem de sorgo, observaram que apenas a silagem não inoculada apresentou valores estáveis de DIVMS com o decorrer do período de ensilagem, resultados semelhantes ao observados por Borges (1995) e Porto (2002).

No 1º dia de abertura todos os inoculantes microbianos empregados foram estatisticamente semelhantes entre si, diferindo apenas do tratamento C. No 3º dia de abertura, detectou-se efeito ($P<0,05$) entre os tratamentos, onde se observou semelhanças estatísticas entre C, LP e LPP, este por sua vez não diferiu ($P>0,05$) dos tratamentos IC e LPR. Os valores obtidos são superiores aos dados encontrados na literatura, provavelmente decorrente do período precoce de colheita da forrageira no campo que ocorreu aos 90 dias após o plantio em estado farináceo dos grãos, em razão das condições edafoclimáticas favoráveis. Silva, A. (2001), utilizando silagem de sorgo encontrou valores entre 58,31 e 61,28%, com período de

colheita da forragem de 118 dias. Seguindo o critério de classificação qualitativa de Paiva (1976), as silagens experimentais foram classificadas como muito boa quanto à qualidade, pois apresentam valores de DIVMS superiores a 65%.

4.1.2 Produtos da Fermentação

A adição de inoculantes microbianos nas silagens não resultou em efeito ($P>0,05$) sobre os valores de pH dentro dos períodos de abertura, indicando a ocorrência de fermentação nas mesmas proporções (Tabela 13).

O valor de pH reduziu significativamente entre o 3º e 28º dia de abertura do silo em todos os tratamentos. Aos 28 dias após o início do processo fermentativo, todas as silagens estudadas apresentaram valores de pH estatisticamente iguais ($P>0,05$), considerados adequados para a preservação da silagem. Estes valores permitem classificar essas silagens de qualidade muito boa segundo Paiva (1976), que admite valores $< 3,8$. Acredita-se que as condições estabelecidas dentro dos silos foram favoráveis à predominância dos microrganismos desejáveis.

Tabela 13. Valores de pH (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	3,83 a	3,73 a	3,52 b
IC	3,86 a	3,71 a	3,45 b
LPP	3,81 a	3,81 a	3,52 b
LPR	3,83 a	3,74 a	3,51 b
LP	3,80 a	3,73 a	3,50 b

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=0,94.

A queda do pH ao longo do processo de fermentação, resultando em pH final baixo pode ajudar a minimizar a população de microrganismos que produzem altos níveis de ácido acético e butírico (VAN SOEST, 1994).

O pH no entanto, isoladamente, não é considerado como critério seguro para avaliação das silagens, porque seu efeito inibidor sobre as bactérias e enzimas das plantas depende da velocidade do declínio da concentração iônica e do grau de umidade do meio (VIEIRA et al., 2004).

Os valores de pH obtidos nos tratamentos são semelhantes aos obtidos por Silva et al. (2005) para silagem de sorgo, que encontraram pH de 3,63 para silagem não tratada e 3,62 tratada com inoculante.

Os resultados referentes à quantificação de N-NH₃/NT são apresentados na Tabela 14. Os teores de N-NH₃/NT para todos os tratamentos foram menores ao 1º dia de abertura do silo, com aumento significativo (P<0,05) nos demais períodos de abertura, no entanto os valores mantiveram-se em padrões adequados. De acordo com Oshima e McDonald (1978), AFRC (1987) e Henderson (1993) para que a silagem seja considerada de boa qualidade os níveis de N-NH₃/NT devem atingir no máximo entre 8 e 11%.

Tabela 14. Teores de nitrogênio amoniacal/NT (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	2,97 c	5,70 b	8,18 Ca
IC	2,74 c	6,59 b	10,46 Aa
LPP	3,10 c	5,68 b	9,40 Ba
LPR	3,65 c	6,57 b	8,55 Ba
LP	2,79 c	6,17 b	9,36 Ba

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha ou mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente (P>0,05) entre si pelo teste de Tukey. CV=9,75%.

No 28º dia de abertura, o tratamento IC apresentou teor de 10,46%, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Os tratamentos LPP, LPR e LP foram significativamente iguais (P>0,05), diferindo do tratamento C que registrou menor teor. Os teores finais de N-NH₃/NT para os tratamentos com e sem inoculantes, foram superiores aos descritos por Campos et al. (2006b), com 4,98 de N-NH₃/NT para silagem de sorgo inoculada e 6,26 N-NH₃/NT para Controle e inferiores aos descritos por Pedroso, Freitas e Souza (2000), que foram de 14,5% de N-NH₃/NT para tratamento com inoculante e 15,31% de N-NH₃/NT sem inoculante.

Os teores de ácido láctico não apresentaram diferenças significativas ao longo do processo de fermentação (Tabela 15).

Tabela 15. Teores de ácido láctico (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	1,67	1,82	3,30
IC	1,71	2,75	3,39
LPP	2,15	2,83	3,31
LPR	1,91	1,98	2,84
LP	1,56	1,89	2,60

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=30,13%.

No tratamento C no qual o material foi ensilado sem o uso de aditivos, o teor de ácido láctico na silagem foi de 3,30% na MS ao final da fermentação, valor que não apresenta diferença significativa ($P>0,05$) daqueles apresentados nos tratamentos com adição de inoculante microbiano. Estes resultados evidenciam a ocorrência em todos estes casos de fermentação láctica durante o período de ensilagem.

A presença de ácido láctico nas silagens de todos os tratamentos ao final do processo de fermentação, bem como teores adequados de pH, confirmam o desenvolvimento de fermentação láctica, que é o principal processo esperado na produção de silagens de boa qualidade.

Na Tabela 16, encontram-se os teores de ácido acético nos períodos de abertura dos silos. Nos tratamentos é observado efeito somente no 28º dia de abertura. O emprego dos inoculantes microbianos foi efetivo quanto à redução dos teores de ácido acético nos tratamentos IC, LPR e LP, provavelmente pelo aumento da capacidade destes em impedir a atuação dos microrganismos que convertem açúcares e ácido láctico em ácidos e etanol, que ao serem produzidos reduzem o valor nutritivo das silagens.

Os teores de ácido acético variaram de 0,58 até 1,60% na matéria seca, nas diversas silagens experimentais ao 28º dia de abertura do silo.

Tabela 16. Teores de ácido acético (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	0,72	0,68	1,60 A
IC	0,45	0,39	0,58 B
LPP	0,53	0,67	1,33 A
LPR	0,62	0,56	0,59 B
LP	0,61	0,62	0,86 B

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=47,75%.

Ao ensilarem o sorgo submetido à inoculação microbiana Rodrigues et al. (2002), observaram teores de ácido acético nas silagens entre 0,818 e 0,915% de ácido acético. Vieira et al. (2004), utilizaram inoculante microbiano em quatro híbridos de sorgo e obtiveram teores médios de 2,02 e 1,72% de ácido acético para silagem inoculada ou não, respectivamente.

Hinds et al. (1982), ensilaram sorgo com inoculante microbiano comercial e observaram valores respectivos de 1,58 e 1,82% de ácido acético para silagens com e sem inoculante. Segundo Kung Jr. (1996), a presença do ácido acético no silo é importante por ser um eficiente “inibidor” de mofos e leveduras que atuam prejudicando as silagens após os silos serem abertos e entrarem em contato com o oxigênio. Os teores de ácido acético observados para silagens produzidas neste estudo permite classificá-la qualitativamente como muito boa, segundo Rodriguez et al. (1999).

Os dados de avaliação dos níveis de ácido butírico das silagens submetidas aos cinco tratamentos encontram-se na Tabela 17. Notou-se que a adição dos inoculantes microbianos não alterou a concentração butírico das silagens.

Os teores de ácido butírico na MS obtidos nos tratamentos experimentais foram inferiores a 0,1%, o que permite classificá-los como de qualidade muito boa, segundo os critérios de Roth e Undersander (1995).

Tabela 17. Teor de ácido butírico (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos liofilizados, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	-	-	-
IC	-	0,05	0,08
LPP	0,03	0,04	0,03
LPR	0,06	0,07	-
LP	-	0,05	0,04

C: Controle/Sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV= 33,68%.

Rodrigues et al. (2002) e Silva, A. (2001), avaliaram o efeito da adição de inoculantes microbianos sobre o perfil fermentativo da silagem de sorgo e não encontraram alterações na concentração do ácido butírico em seus tratamentos.

4.2 EXPERIMENTO 2 - INOCULANTES MICROBIANOS À FRESCO

4.2.1 Composição bromatológica e digestibilidade “*in vitro*” da matéria seca.

Os teores de MS das silagens experimentais são apresentados na Tabela 18. Os tratamentos não diferiram em mesmo período ou entre períodos de fermentação.

Alguns estudos mostram mesmo resultado sobre o teor de MS, seja em silagens inoculadas com *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ou *L. casei*, e armazenadas a temperaturas de 25 e 48 °C (CAI et al., 1999), em silagem de sorgo, produzida em mini silos, com 56 dias de fermentação (VIEIRA et al., 2004), ou ainda, estudando a adição de inoculantes microbianos comerciais em silagens de girassol (RODRIGUES, et al., 2001).

Tabela 18. Teores de matéria seca (%) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	30,23	30,72	28,98
IC	30,49	30,71	28,32
LPP	30,44	30,13	29,35
LPR	29,95	28,57	27,74
LP	29,31	29,53	28,67

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=2,29%.

Porém, Silva et al. (2005), ao trabalharem com inoculação microbiana, verificaram nas silagens de milho reduções nos teores de MS em todos os tratamentos e na silagem de sorgo apenas nas silagens tratadas com inoculantes. Contrariando esse resultado Rodrigues et al. (2004) e Luther (1986), observaram incrementos nos teores de MS das silagens, após o processo de ensilagem.

Os teores observados nos tratamentos experimentais ao final do processo de ensilagem são considerados de boa qualidade de acordo com a classificação proposta por McDonald, Henderson e Heron (1991). Os teores foram superiores ao de Grise et al. (2006) que ao avaliarem silagem de sorgo submetidas à inoculação microbiana obtiveram valores médios nos tratamentos com inoculantes de 22,7% de MS e Controle 19,8%, porém inferiores ao de Pedroso, Freitas e Souza (2000), que ao analisar o efeito de inoculantes microbianos sobre a qualidade da silagem de sorgo encontraram valores médios de MS de 41,28% para o tratamento Controle e 41,72% para o inoculado.

A análise dos teores de PB mostra que não houve diferença significativa dentro e entre períodos de abertura (Tabela 19). Tais resultados indicam que tanto o processo fermentativo natural quanto os tratamentos experimentais com inoculantes microbianos não alteraram os teores de PB da biomassa fermentada. Antunes (2001), assim como Borges (1995) trabalharam com silagem de sorgo inoculada e não observaram variações no teor de PB ao longo do processo de ensilagem.

Tabela 19. Teores de proteína bruta (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	5,58	4,89	5,12
IC	5,66	4,74	5,40
LPP	5,83	5,22	5,23
LPR	5,18	5,34	5,49
LP	5,90	5,20	5,86

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=4,20%.

Os teores de PB encontrados nos tratamentos estão de acordo com os valores obtidos por Campos et al. (2006a), que ao trabalharem com inoculante microbiano em silagem de sorgo observaram valores de 5,95% de PB na MS para o tratamento com inoculante e 5,15% de PB na MS para o sem inoculante, e inferior aqueles encontrados por Rodrigues et al. (2002) o qual cita valores entre 13 e 14% de PB na MS em silagem de sorgo.

Vieira et al. (2004) determinaram que a adição de inoculante microbiano na silagem de sorgo elevou a concentração de PB ao final do processo de ensilagem em relação ao Controle, indicando que a inoculação corrigiu uma provável deficiência na concentração de bactérias ácido lácticas nesse material.

Na Tabela 20 encontram-se os teores de FDN das silagens experimentais. Os tratamentos apresentaram teores de FDN inferiores aos das plantas antes da ensilagem, que correspondia a 65,37 % da MS, indicando que os microrganismos presentes na massa ensilada degradaram parte dessa fração fibrosa nas primeiras 24 horas após a ensilagem, visto que, após este tempo os teores se estabilizaram.

Ao analisar o efeito dos inoculantes microbianos dentro dos períodos, apenas no 28º dia de abertura do silo constatou-se que os tratamentos IC e LPP diferiram ($P < 0,05$) entre si, sendo estatisticamente iguais aos demais. Xing, Chen e Han (2009) observaram redução dos teores de FDN para silagem de palha de sorgo tratada com *L. plantarum*, após 60 dias de ensilagem, comparados ao tratamento controle.

Tabela 20. Teores de fibra em detergente neutro (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	59,02	57,16	56,76 AB
IC	58,73	56,71	57,27 A
LPP	58,21	56,97	55,08 B
LPR	57,96	58,03	56,12 AB
LP	58,01	58,16	56,10 AB

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=1,65%.

Vieira et al. (2004) e Grise et al. (2006) em estudo com silagem de sorgo não observaram alteração no teor de FDN na silagem de sorgo com adição de inoculante microbiano, bem como Silva et al. (2005), que em trabalho realizado com uso de inoculante microbiano em silagens de milho e sorgo não observaram efeito nas silagens tratadas com inoculante, apenas naquela não tratada, estimando-se teor máximo de 63,52% de FDN aos 18 dias.

Os resultados da análise de FDA das silagens experimentais de sorgo são apresentados na Tabela 21.

Não se observou efeito nos teores de FDA, no período ou entre períodos de abertura dos silos. Estes resultados concordam com os obtidos por Martins et al. (2002), Rodrigues et al. (2002) e Weinberg, Ashbell e Hen (1993), que estudaram a aplicação de inoculantes comerciais e não observaram efeito dos mesmos sobre esse parâmetro nutricional em silagem de sorgo. Avaliando silagens de sorgo e milho tratadas com inoculante microbiano, Silva et al. (2005) não encontraram influência no período de fermentação sobre os teores de FDA da silagem de sorgo não tratada com valor médio de 33,12% e daquela tratada com o Inoculante Microbiano Comercial de 34,20%.

Tabela 21. Teor de fibra em detergente ácido (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	30,88	31,18	32,93
IC	30,73	31,94	32,03
LPP	31,75	31,72	30,97
LPR	29,29	29,91	30,29
LP	30,52	30,78	30,86

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=2,45%.

Os teores de FDA dos tratamentos encontram-se dentro da faixa registrada em outros trabalhos, no Brasil, tais como aqueles observados por Vieira et al. (2004) e Rosa et al. (2000), na avaliação de silagens de sorgo e milho respectivamente.

Os teores de celulose nas silagens experimentais não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) no período e entre os períodos de avaliação (Tabela 22).

Tabela 22. Teores de celulose (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	24,57	24,36	27,58
IC	25,02	26,55	26,73
LPP	26,08	25,76	26,20
LPR	24,73	24,82	25,32
LP	25,72	25,44	24,92

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=2,99%.

Rodrigues et al. (2002) ao estudar o efeito da aplicação de inoculantes comerciais sobre a composição bromatológica e perfil fermentativo da silagem de sorgo, não observaram efeitos sobre os teores de celulose, mesmo quando alguns dos produtos utilizados continham celulase e hemicelulase em sua composição.

Na Tabela 23, encontram-se os resultados de hemicelulose. Durante os períodos de fermentação não houve diferença significativa nos teores de hemicelulose das silagens experimentais. Ao 3º dia de fermentação o tratamento LPP diferiu significativamente de LPR e LP, porém apresentou semelhança ($P>0,05$) com C e IC. Vieira et al. (2004) estudando o efeito da aplicação de inoculante microbiano em silagem de sorgo não observaram efeito do inoculante sobre esse parâmetro nutricional.

Tabela 23. Teores de hemicelulose (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	28,13	26,04 ABC	24,10
IC	27,99	23,76 BC	25,34
LPP	26,45	23,24 C	23,82
LPR	27,67	28,51 AB	26,43
LP	28,49	28,57 AB	25,24

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=2,98%.

O conteúdo do tratamento LPP é inferior a todos os demais tratamentos ao 3º e 28º dia de abertura, o que provavelmente possibilitou a diminuição do valor de FDN para este tratamento. Segundo Muck (1988) e Morrisson (1988), a redução no teor de hemicelulose da silagem tratada com inoculante microbiano é a principal responsável pela diminuição dos valores de FDN nas silagens.

Pode se atribuir esse efeito quando o inoculante possui em sua composição enzimas, entretanto o tratamento LPP não possui enzima hemicelulase, o que leva supor a possibilidade do efeito ter sido ocasionado pela própria ação da bactéria utilizada na inoculação. A presença de enzimas na composição dos inoculantes microbianos pode ser eficiente na quebra de constituintes que compõem os carboidratos estruturais das células vegetais e, desta forma, fornecer açúcares adicionais como substrato para os microrganismos (O'KIELY; FLYNN, 1985). De acordo com Hunt et al. (1993), a hemicelulose provavelmente é o principal substrato para a fermentação após a utilização dos carboidratos solúveis, podendo haver degradação de até 50% do total presente no material original.

Os teores de lignina na silagem de sorgo em função dos períodos de abertura do silo encontram-se na Tabela 24.

Tabela 24. Teores de lignina (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	6,31	6,82	5,72
IC	5,70	5,39	5,27
LPP	5,68	5,96	4,79
LPR	4,55	5,08	5,11
LP	4,80	5,34	5,98

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=6,83%.

Observa-se que os teores dessa fração não diferiram ($P>0,05$) entre os períodos e dentro dos períodos de abertura estudados. O mesmo Vieira et al. (2004) e Rodrigues et al. (2002), observaram em seus experimentos. Tal comportamento era esperado, uma vez que esta fração segundo Van Soest (1994), mantém-se inalterada ao longo do processo fermentativo.

Na Tabela 25 observa-se redução nos teores de CHOS a partir do primeiro dia de fermentação pelas bactérias lácticas, quando comparados aos valores registrados na planta antes da ensilagem, de 7,72% na MS. Após esse tempo, o consumo de substratos fermentáveis manteve-se estabilizado, uma vez que o pH já se encontra baixo o suficiente para inibir a maioria dos processos biológicos.

Tabela 25. Teores dos carboidratos solúveis (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	2,95	3,04	2,40
IC	3,17	3,35	3,01
LPP	3,25	4,06	2,80
LPR	3,18	3,30	2,90
LP	2,96	3,12	2,89

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=7,72%.

Os teores residuais de CHOS determinados no 28º dia de abertura dos silos são superiores aos observados por Campos et al. (2006b) e inferiores aos determinados por Rodrigues et al. (2004). Ambos os autores, não observaram efeito dos inoculantes microbianos ao longo do processo fermentativo.

A adição de inoculante microbiano na silagem de sorgo não propiciou efeito significativo na DIVMS (Tabela 26), concordando com os estudos de Rodrigues et al. (2002) e Vieira et al. (2004).

Os valores finais de DIVMS do presente trabalho são superiores ao da literatura (AGUIAR; LIMA; FARACHE, 2000; CAMPOS et al., 2006a; RODRIGUES et al., 2004), provavelmente atribui-se a idade de colheita da cultura para preparo da silagem de 90 dias, idade inferior aos dos autores citados.

Tabela 26. Valores da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (%) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	69,21	68,43	67,14
IC	67,81	65,55	68,56
LPP	69,44	63,79	69,80
LPR	67,27	68,08	68,07
LP	66,75	61,90	70,80

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=2,23%.

Sabe-se que os componentes fibrosos são inversamente relacionados à digestibilidade e, à medida que a planta envelhece, ocorre aumento na percentagem dos componentes estruturais da parede celular em relação ao conteúdo celular resultando em queda do valor nutritivo.

De acordo com os critérios para classificação da qualidade da silagem de sorgo de BORGES (1995), as silagens dos tratamentos são consideradas de muito boa qualidade (>65%) no 28º dia de abertura dos silos.

4.2.2 Produtos da Fermentação

Na Tabela 27, verifica-se com relação aos dias de ensilagem que o pH declinou progressivamente, apresentando diferença significativa ($P < 0,05$) em todos os tratamentos.

Tabela 27. Valores de pH (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	3,81 a	3,77 a	3,48 b
IC	3,84 a	3,74 b	3,49 c
LPP	3,81 a	3,75 a	3,49 b
LPR	3,82 a	3,75 a	3,50 b
LP	3,83 a	3,75 b	3,46 c

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem significativamente ($P > 0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=0,45%.

Nos tratamentos IC e LP observaram-se declínio a partir do 3º dia de abertura, diferentemente dos demais tratamentos que sofreram redução estatística dos seus valores somente no 28º dia.

Campos et al. (2006b) e Koc, Coskuntuna e Ozduven (2008), ao avaliarem o perfil fermentativo de silagens de sorgo e milho, respectivamente, observaram o mesmo efeito decrescente nos tratamentos durante os períodos de fermentação.

No experimento de Rocha Jr. et al. (2000) o pH das silagens dos sete tipos de sorgo avaliados já se encontrava estabilizado aos sete dias de ensilagem e aos 56 dias oscilou de 3,5 a 4,3.

O pH é um indicador de qualidade de silagens, visto que a redução do pH é função direta da fermentação láctica (FENLON; HENDERSON; ROOKE, 1995). De acordo com a classificação qualitativa de silagens proposta por Paiva (1976), todas as silagens experimentais foram consideradas de muito boa qualidade, por serem inferiores a 3,8.

Ao analisar o efeito dos inoculantes microbianos entre tratamentos experimentais nos períodos de abertura, os teores de pH das silagens não foram influenciados pelo seu uso, sendo este achado semelhante aos observado por Rodrigues et al. (2002), Grise et al. (2006) e Baytok, Karsl e Muruz (2005) que não notaram alterações de pH quando utilizaram inoculantes microbianos em silagens.

Pesce et al. (1998), ao trabalharem com 20 híbridos de sorgo forrageiro, não constataram diferenças nos valores de pH das silagens tratadas, com inoculantes microbianos, ao final do processo de ensilagem e os resultados oscilaram de 3,5 a 3,7. Entretanto, Ely, Sudweeks e Moon (1981), Cai et al. (1999) e Rodrigues et al. (2001), observaram diminuição do pH, comparado ao grupo Controle, mediante o emprego de inoculantes microbianos.

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

Os resultados referentes à quantificação de N-NH₃/NT mostram o incremento em todos os tratamentos com o passar dos dias de fermentação, atingindo valores entre 9,43 e 10,83% ao 28º dia de fermentação (Tabela 28).

Tabela 28. Teores do nitrogênio amoniacal/NT (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	2,92 c	7,18 b	9,97 a
IC	2,37 c	6,74 b	10,83 a
LPP	2,80 c	5,85 b	9,43 a
LPR	2,30 c	7,18 b	10,28 a
LP	2,13 c	6,04 b	10,57 a

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=8,31%.

Quanto aos teores de N-NH₃/NT entre os tratamentos, no 28º dia de abertura não foi observado alteração significativa desses parâmetros, estando de acordo com Pedroso, Freitas e Souza (2000), Rodrigues et al. (2002), Vieira et al. (2004), Rocha et al. (2006) e Koc, Coskuntuna e Ozduven (2008), mas discordando de Baytok, Karsl e Muruz (2005) e Rodrigues et al. (2001), os quais obtiveram diferença entre o tratamento controle e os demais.

Os valores finais obtidos no presente trabalho se apresentaram baixos, comparados aos observados por Pedroso, Freitas e Souza (2000), que avaliando silagem de sorgo com e sem inoculante microbiano encontraram, respectivamente, 14,50 e 15,31% de N-NH₃/NT e Hinds

et al. (1982) que obtiveram valor de 17,45% de N-NH₃/NT em um dos tratamentos com inoculante microbiano de seu experimento com silagem de sorgo.

Segundo a classificação qualitativa de AFRC (1987), em relação aos teores de N-NH₃/NT, as silagens dos tratamentos experimentais são consideradas muito boa ou boa, pois se encontram no intervalo entre 0-10% e 10-15%, respectivamente. Porém, assim como o pH, a porcentagem de N-NH₃/NT, isoladamente, não é um indicador confiável na avaliação qualitativa de silagens.

Na Tabela 29 são apresentados os teores de ácido lático em porcentagem da MS.

Tabela 29. Teores de ácido lático (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	3,09	2,74	2,87 B
IC	2,05	3,55	3,66 B
LPP	2,50	2,63	2,90 B
LPR	2,85	3,02	3,55 B
LP	2,43	3,07	5,15 A

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=31,20%.

Os teores de ácido lático não apresentaram diferença significativa durante os períodos de avaliação. Somente no 28º dia de abertura dos silos, notou-se diferença significativa ($P<0,05$) entre o tratamento LP e os demais que permaneceram estatisticamente iguais entre si.

Meeske et al. (1983) e Sanderson (1993), observaram aumento na produção de ácido lático nas silagens de sorgo tratadas com inoculantes enzimo-microbianos ou microbianos, quando comparados às silagens controles ao final do processo de fermentação.

Os resultados de ácido acético em porcentagem da MS, encontram-se na Tabela 30. Não houve diferença ($P>0,05$) entre tratamentos ao longo do processo de fermentação de 28 dias.

Rodrigues et al. (2002), ao avaliar silagem de sorgo e Koc, Coskuntuna e Ozduven (2008), trabalhando com silagem de sorgo e milho, observaram que os níveis de ácido acético das silagens inoculadas ao final do processo de ensilagem, não sofreram efeito do inoculante.

Tabela 30. Teores de ácido acético (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	0,98	0,74	0,74
IC	1,82	1,71	0,74
LPP	0,89	0,89	0,46
LPR	1,65	1,65	0,60
LP	1,87	1,01	0,63

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=44,02%.

Os teores de ácido acético variaram de 0,46 a 1,87%, sempre inferior a 2%, o que segundo Nogueira (1995) classifica as silagens avaliadas como muito boa quanto a qualidade. Segundo Moisis e Heikonen (1994), o alto conteúdo de ácido acético parece restringir a fermentação láctica, mas se faz necessária a sua presença, pois segundo Kung Jr. (1996), o ácido acético inibe mofos e leveduras que atuam prejudicialmente sobre silagens, após abertura de silos.

A Tabela 31 mostra os resultados de ácido butírico em porcentagem de MS. Os tratamentos não diferiram entre si ($P>0,05$), dentro e entre cada período de abertura com os teores de ácido butírico variando de 0,03 a 0,07% na matéria seca.

Tabela 31. Teores de ácido butírico (% MS) de silagens de sorgo tratadas com inoculantes microbianos à fresco, em diferentes dias de abertura

Tratamentos	Períodos de abertura dos silos (dia)		
	1	3	28
C	0,04	-	0,04
IC	0,03	0,03	-
LPP	-	-	-
LPR	0,05	-	-
LP	0,04	0,04	0,07

C: Controle sem inoculante; IC: Inoculante Microbiano Comercial; LPP: *L. plantarum* e *L. paracasei*; LPR: *L. plantarum* e *L. rhamnosus*; LP: *L. plantarum*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente ($P>0,05$) entre si pelo teste de Tukey. CV=34,91%.

Ao final do processo de ensilagem, as silagens tratadas com e sem inoculantes microbianos foram classificadas com qualidade muito boa, visto que mostraram níveis inferiores a 0,1% de ácido butírico, de acordo com Paiva (1976).

Durante o processo de fermentação não houve variação ($P>0,05$) dos teores de ácido butírico, no entanto ao 28º dia de fermentação o tratamento LP, apresentou uma elevação do seu nível, não sendo significativo, o que pode ter sido ocasionado por uma ação de bactérias putrefativas (clostrídios, por exemplo), na fase inicial da ensilagem. No entanto, acredita-se que estes microrganismos foram pouco efetivos, pois segundo McDonald, Henderson e Heron (1991), sob condição de anaerobiose e pH abaixo de 4,2, estes são completamente inibidos.

5 CONCLUSÕES

O tratamento LPP liofilizado e o IC no Experimento 1 reduziram significativamente o teor de FDN mostrando a efetividade do processamento para a conservação da atividade microbiana do inoculante.

A análise de AGV não apresentou diferença estatística nos dois experimentos.

A combinação dos isolados microbianos liofilizados de *L. plantarum* e *L. paracasei* mostrou potencial para uso prático, pois foi tão efetivo quanto o tratamento IC.

REFERÊNCIAS

AFRC. Technical Committee on Responses to Nutrients. Report n. 2. Characterization of feedstuffs. **Nutrition Abstracts and Reviews**, (Series. B), v. 57, p. 713-736. 1987.

AGUIAR, E.M.; LIMA, G.F.C.; FARACHE, W.S. Composição químico-bromatológica das silagens de sorgo forrageiro tratadas com diferentes aditivos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000. CD-ROM.

ANDRIGUETO, J.M.; et al. **Nutrição Animal - As bases e os fundamentos da nutrição animal- Os alimentos**. Reimpressão-v.1. São Paulo: Nobel, 2002. 395 p.

ANTUNES, R.C. **Padrão de fermentação das silagens de seis genótipos de milho (Zea mays L.)**. 2001. 50 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2001.

ASHBELL, G. **Basic principles of preservation of forage, by-products and residues as silage or hay**. Bet Dagan: Agricultural Research Organization, The Volcani Center, p. 58, 1995.

AOAC - ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 17 ed., Washington D.C.: AOAC, 2000.

BACKES, A.A.; et al. **Avaliação da degradabilidade ruminal “in situ” da matéria seca e proteína bruta de alguns alimentos**. 2000. Disponível em: <<http://www.sbz.org.br/anais2000/Ruminantes/1077.pdf>>. Acesso em: janeiro de 2007.

BAILEY, R.W. Quantitative studies of ruminant digestion of ingested plant carbohydrates from the reticulo rumen. **Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 1, p. 15-32. 1967.

BARBOSA, A.P.R.; SILVA, P.S.L. Avaliação dos Rendimentos de Grãos e Forragem de Cultivares de Sorgo Forrageiro. **Caatinga**, Mossoró – RN, v. 15, n. 1/2, p. 7-12, 2002.

BARRY, T.N.; et al. Some observations on aerobic deterioration in untreated silagens and in silagens made with formaldehyde-containing additives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 31, n. 2, p. 133-146, 1980.

BASTOS, T.X.; et al. O estado atual dos conhecimentos de clima da Amazônia brasileira com finalidade agrícola. In: SIMPÓSIO DO TRÓPICO ÚMIDO, 1., 1986, Belém - PA. **Anais...** Belém: Embrapa- CPATU, 1986. p. 19-43. (Documentos, 36).

BAYTOK, E., KARSL, A., M., MURUZ, H. The Effects of Formic Acid, Molasses and Inoculant as Silage Additives on Corn Silage Composition and Ruminal Fermentation Characteristics in Sheep. **Journal of Veterinary and Animal Sciences**, n. 29, p. 469-474, 2005.

BERNARDINO, M.L.A. **Avaliação nutricional de silagens de híbridos de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] de porte médio com diferentes teores de taninos e suculência no colmo**. 1996. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 1996.

BJORGE, M. **Silage Production: Ensiling Process**, 1998. Disponível em: <<http://www.agric.gov.ab.ca/crops/forage/silage/silaege1.html>>. Acesso em: dezembro de 2007.

BOLSEN, K.K.; ASHBELL, G.; WILKINSON, P. Silage additives. In: CHESSON, A.; WALLACE, R.J. **Biotechnology in animal feeds and animal feeding**. Weinheim: VCH Press, p. 33-34, 1995.

BOLSEN, K.K.; et al. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfafa and corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 3066-3083, 1992.

BORGES, A.L.C.C. **Qualidade de silagens de híbridos de sorgo de porte alto com diferentes teores de tanino e de umidade no colmo, e seus padrões de fermentação**. 1995. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 1995.

CAI, Y.; et al. Characterization and identification of *Pediococcus* species isolated from forage crops and their application for silage preparation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2901-2906, 1999.

CAMPOS, M.M.; et al. Perfil de fermentação de silagens do híbrido de sorgo (*sorghum bicolor* (L.) moench) br 601 com aditivos: 1- teor de matéria seca, perdas de matéria seca e digestibilidade in vitro da matéria seca. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. CD-ROM (a).

CAMPOS, M.M.; et al. Perfil de fermentação de silagens do híbrido de sorgo (*Sorghum bicolor* (L) Moench) BR 601 com aditivos: 1- teor pH, nitrogênio amoniacal, proteína bruta e carboidratos solúveis. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. CD-ROM (b)

CARDOSO, E.G.; SILVA, J. M. **Silos, silagem e ensilagem**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, n. 2, 1995.

CARR, F.J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The lactic acid bacteria: A literature survey. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 28, n. 4, p. 281-370, 2002.

CHEN, Y.; WEINBERG, Z.G. Changes during aerobic exposure of wheat silages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 154, p. 76-82, 2009.

CHURCH, D.C. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. Prentice Hall, New Jersey, 1988, p. 564.

CLEALE, R.M.; et al. Effect of inoculant of whole plant corn forage with *Pediococcus acidilacti* and *Lactobacillus xylosus* on preservation of silage and heifer growth. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 3, p. 711-718, 1990.

COAN, R.M.; et al. Inoculante Enzimático-Bacteriano, Composição Química e Parâmetros Fermentativos das Silagens dos Capins Tanzânia e Mombaça. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 2, p. 416-424, 2005.

COLLINS, C.H.; LYNE, P.M. **Microbiological Methods**. 5 ed. London: Butterworths & Publishers, 1989, p. 524.

CONAB - Companhia Nacional de abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo_safra.pdf> Acesso em: Julho 2008

CONTRERAS-GEVEA, F.C.; MUCK, R. Microbial Inoculants for silage. **Focus on Forage**, v. 8, n. 4, 2006.

DAENICKE, R.; et al. Influence of lactic acid bacteria as inoculant in corn silage on digestibility of crude nutrients and performance of dairy cows. **Landbauforsch Volkenrode**, v. 49, n. 2, p. 64-69, 1999.

DAESCHEL, M.A.; ANDERSON, R.E.; FLEMING, H.P. Microbial ecology of fermenting plant materials. **FEMS Microbiology**, v. 46, n. 3, p.357-367, 1987.

DRIEHUIS F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H. The impact of the quality of silage on animal health and food safety: a review. **Veterinary Quarterly**, v. 22, p. 212-217, 2000.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; VAN WIKSELAAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculant with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v. 56, n. 4 p.330-343, 2001.

ELY, L.O.; SUDWEEKS, E.M.; MOON, N.J. Inoculation with *Lactobacillus plantarum* of alfalfa, corn, sorghum and wheat silage. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 12, p. 2378-2387, 1981.

EICHELBERG, L.; SIEWERDT, L.; SILVEIRA Jr, P. Efeitos da inclusão de níveis crescentes de forragem de soja e uso de inoculante na qualidade da silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 5, p. 867-874, 1997.

EMANUEL, V.; JOCHMANN, K.; GADEKEN, D. Isolation of a *Lactobacillus plantarum* strain used for obtaining a product for the preservation of fodders. **Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 5, p. 403-408, 2005.

FELIS, G.E.; et al. Comparative sequence analysis of a *recA* gene fragment brings new evidence for a gänge in the taxonomy of the *Lactobacillus casei* group. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 2113-2117, 2001.

FENLON, D.R.; HENDERSON, A.R.; ROOKE, J.A. The fermentative preservation of grasses and forage crops. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 79, (Suppl. 1), p. 118-131, 1995.

FENLON, D.R.; WILSON, J. The quantitative assessment of *Listeria monocytogenes* growth in a laboratory ensiling system allowing limited aerobic spoilage. **Grass and Forage Science**, v. 53, n. 3, p. 292-295, 1998.

FERREIRA, C.L.L.F. **Produtos lácteos fermentados**. Aspectos bioquímicos e tecnológicos. Viçosa: Imprensa Universitária da UFV, 1987.

FERREIRA, C.L.L.F. Grupo de bactérias lácticas – Caracterização e aplicação tecnológica de bactérias probióticas. In: **Prebióticos e Probióticos: Atualização e Prospecção**. Viçosa, 2003. 206 p.

FERRERO, M.; et al. Molecular characterization of *Lactobacillus casei* strains. **FEMS Microbiology**, v. 140, n. 2/3, p. 215-219, 1996.

FILYA, I.; et al. The effects of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of wholecrop wheat silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 88, p. 39-46, 2000.

FITZSIMMONS, A.; et al. Assessment of *Pediococcus acidilactici* as a potential silage inoculant. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 9, p. 3047-3052, 1992.

FROETSCHER, M.A.; et al. Effects of inoculation on preservation and utilization of tropical corn and sorghum silages. **Journal of Dairy Science**, v. 77, Suppl. 1, p. 338, 1994.

GIMENES, A.L.G.; et al. Degradabilidade *in situ* de silagens de milho confeccionadas com inoculantes bacteriano e/ou enzimático. **Acta Science Animal**, v. 28, n. 1, p. 11-16, 2006.

GOURLEY, L.M., LUSK, J.W. Sorghum silage quality as affected by soluble carbohydrate, tannins and others factors. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 32., 1977. Mississippi. **Proceedings...** Mississippi: Mississippi State University, 1977. p.157-170.

GRISE, M.M.; et al. Efeito do uso de inoculantes sobre o pH e a composição bromatológica da silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 2, p. 13-16, 2006.

GUIM, A.; ANDRADE, P.; MALHEIROS, E.B. Efeito de inoculante microbiano sobre o consumo, degradação *in situ* e digestibilidade aparente de silagens de milho (*Zea mays* L). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 24, n. 6, p. 1045-1053, 1995.

HAIGH, P.M.; PARKER, J.W.G. Effect of silage additives and wilting on silage fermentation, digestibility and intake, and on live weight changes of young cattle. **Grass and Forage Science**, v. 40, n. 2, p. 429, 1985.

HAMMES, W.P.; HERTEL, C. Research approaches for pre- and probiotics: challenges and outlook. **Food Research International**, v. 35, n. 2/3, p. 165-170, 2002.

HARRISON, J.H.; BLAUWIEKEL, R.; STOKES, M.R. Fermentation and utilization of grass silage. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 10, p. 3209-3235, 1994.

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

HENDERSON, A.R.; McDONALD, P. The effect of range of commercial inoculants on the biochemical changes during the ensilage of grass in laboratory studies. **Research and Development in Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 171, 1984.

HICKEY, R. Novel genetic tools for improving food cultures. **Farm and Food**, v. 12, n. 1, p. 32-34, 2002.

HINDS, M.; BRETHOUR, J.; BOLSEN, K.; ILG, H. **Inoculant and urea-molasses additives for forage sorghum silage**. Kansas State University- Manhattan, Cattlemen's Day, Report of Progress 413, p.11-15, 1982. Disponível em: <http://www.oznet.ksu.edu/forage/pubs/R413_51.PDF>. Acesso: Julho de 2008.

HOLZAPFEL, W.H.; et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. **Food Research International**, v. 73, n. 2 (Suppl), p. 365-373, 2001.

HOLZER, M.; et al. Effect of *Lactobacillus* sp and *Enterococcus* sp on ensilaging and aerobic stability. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE. 12, Uppsala. **Proceedings...**Uppsala: Sweden, 1999. p. 270-271.

HUNT, C.W.; et al. Effects of hybrid and ensiling with and without a microbial inoculant on the nutritional characteristics of whole-plant corn. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 38-43, 1993.

ÍTAVO, C.C.B.F.; et al. Padrão de fermentação e composição química de silagens de grãos úmidos de milho e sorgo submetidos ou não a inoculação microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 655-664, 2006.

JOBIM, C.C.; GONÇALVES, G.D.; SANTOS, G.T. Qualidade sanitária de grãos e de forragens conservadas “versus” desempenho animal e qualidade de seus produtos. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 1, 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.242-261.

KANDLER, O.; WEISS, N. Regular, nonsporing Gram-positive rods. In: SNEATH, P. H. A.; MAIR, N. S.; SHARPE, M. E.; HOLT, J. G. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, v. 2, 1986.

KLEIN, G.; et al. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, p. 103-125, 1998.

KNICKÝ, M. 2005. **Possibilities to improve silage conservation - effects of crop, ensiling technology and additives.** 2005. 34 f. Thesis (Doctoral) - **Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2005.**

KOC, F.; COSKUNTUNA, L.; OZDUVEN, M.L. The Effect of Bacteria+Enzyme Mixture Silage Inoculant on the Fermentation Characteristic, Cell Wall Contents and Aerobic Stabilities of Maize Silage. **Journal of Nutrition**, v. 7, n. 2, p. 222-226, 2008.

KUNG Jr., L. Aditivos microbianos e químicos para silagem: Efeitos na fermentação e resposta animal. In: WORKSHOP SOBRE MILHO PARA SILAGEM, 2, Piracicaba. **Anais...Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 53-74.**

KUNG Jr., L. Use of additives in silage fermentation. In: **Direct-fed microbial, enzyme and forage additive compendium**, Minnetonka: Miller Publishing CO, p. 37-42, 1996.

KUNG, L.; SHAVER, R. Interpretation and of silage fermentation analysis reports. **Focus on Forage**, v. 3, n. 13, 2001.

LAVEZZO, W. Ensilagem de capim-elefante. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 10. 1993, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luis de Queiroz, 1993. p.169-275.

LIDGREN, S.; et al. Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages. **Journal Science Food Agriculture**, v. 36, p. 765-774, 1985.

LIN, C.; et al. Epiphytic microflora on alfafa and whole-plant corn. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2484-2493, 1992.

LISETE, L.; et al. Fermentacion e ensilajes tropicales con la utilizacion de bacterias acido laticas aisadas en Cuba. **Pastos y Forrajes**, Cuba, v. 15, p. 63-9, 1992.

LOURENÇO JÚNIOR, J.B.; et al. Potencial nutritivo da silagem de sorgo. In: WORKSHOP SOBRE PRODUÇÃO DE SILAGEM NA AMAZÔNIA, 1., 2004, Belém-PA. **Anais...** Belém: Universidade Federal Rural da Amazônia, 2004, p. 83-100.

LUTHER, R.M. Effect of microbial inoculation of whole plant corn silage on chemical characteristics, preservation and utilization by steers. **Journal of Animal Science**, v. 63, n. 5, p. 1329-1336, 1986.

MAHANNA, B. Proper management assures high-quality feeds. **Feedstuffs**, v.10, p. 12-56, 1994.

MAHANNA, W.C. Silage fermentation and additive use in North America. In: **SILAGE PRODUCTION FROM SEED TO ANIMAL**, 1993. New York. **Proceedings ...**, New York: NRAES, n.67, p. 85-95, 1993.

MAHANNA, W.C. Troubleshooting silage problems with "Seed to Feed" considerations. In: **SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK**, 1997. Pennsylvania. **Proceedings ...**, Pennsylvania: NRAES, 1997, n. 99, p. 200-210.

MARTINS, R.L.; et al. Efeito do uso de inoculantes sobre o pH e a composição bromatológica da silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 39, 2002, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002. CD-ROM.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R. **The Biochemistry of Silage**. New York: John Willey. p. 226, 1981.

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

MEESKE, R.; et al. Ensiling forage sorghum at two stages of maturity with the addition of lactic acid bacterial inoculants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 43, n. 3, p.165-175, 1983.

MEESKE, R.; BASSON, H.M. The effect of a lactic acid bacterial inoculant on maize silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 70, n. 3, p. 239-247, 1998.

MEESKE, R.; BASSON, H.M.; EMANUEL, V. The effect of lactic acid and bacterial inoculant with enzymes on the fermentation dynamics, intake and digestibility of *Digitaria eriantha* silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 81, n. 3/4, p. 237-248, 1999.

MERRY, R.J.; CUSSEN MACKHNNA, R.F.; JONES, R. Biological silage aditives. **Ciencia e Investigacion Agraria**, v. 20, n.2, p. 372-401, 1993.

MERRY, R.J.; et al. Degradation of fructans by epiphytic and inoculated lactic acid bacteria and by plant enzymes durin ensilage of normal and sterile hybrid ryegrass. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 79, n. 1, p. 583-591, 1995.

MIRANDA, J.E.C.; PEREIRA, J.R. **Tipos de sorgo para silagem**. Instrução Técnica para o Produtor de Leite. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, n. 51, 2006.

MIRANDA, J.E.C.; REZENDE, H.; VALENTE, J.O. **Ensilagem do milho e do sorgo**. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 4p. Comunicado Técnico.2002.

MOISIO, T.; HEIKONEN, M. Lactic acid fermentation in silage preserved with formic acid. **Animal Feed Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 107-124, 1994.

MORAIS, J.P.G. **Avaliação do efeito de inoculante bacteriano sobre a qualidade de silagem e desempenho animal**. 1995, 75 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1995.

MORRISON, I.M. Influence of some chemical and biological additives on the fibre fraction of lucerne on ensilage in laboratory silos. **Journal of Agricultural Science**, v. 111, p. 35-39, 1988.

MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2992-3002, 1988.

MUCK, R.E. The role of silage additives in making high quality silage. In: NATIONAL SILAGE PRODUCTION CONFERENCE, 1993. New York. **Proceedings ...**, New York: NRAES, n.67, p. 106-116, 1993.

MUCK, R.E. Inoculant of silage and its effects on silage quality. In: INFORMATIONAL CONFERENCE WITH DAIRY AND FORAGE INDUSTRIES. **Proceedings...** US: Dairy Forage Research, Madison, 1996. p. 43-52.

MUCK, R.E.; KUNG Jr.; L. Effects of silage additives on ensiling. In: SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK. NRAES-99, Herchey, 1997. **Proceedings...** Herchey, NRAES, 1997. p. 187-210.

MUCK, R.E.; SHINNERS, K.J. Conserved forages (silage and hay): Progress and priorities. In: INTERNACIONAL GRASSLAND CONGRESS, 29, 2001, São Pedro. **Proceedings...** Piracicaba: Brazilian Society of Animal Husbandry, 2001, p.753-762.

NADEAU, U.M.G.; et al. Enzyme, bacterial inoculant and formic acid effects on silage composition of orchardgrass and alfafa. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1487-1502, 2000.

NOGUEIRA, F.A.S. **Qualidade das silagens de híbridos de sorgo de porte baixo com e sem teores de taninos e de colmo seco e succulento, e seus padrões de fermentação, em condições de laboratório.** 1995, 78 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 1995.

OHMOMO, S.; et al. Silage and microbial performance, old history but new problem. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 36, n. 2, p. 59 – 71, 2002. Disponível em: <<http://www.jircas.affrc.go.jp>>. Acesso em: janeiro de 2007.

O'KIELY, P.; FLYNN, V. Silage additives and preservatives. In: CATTLE PRODUCTION SEMINAR, 1985, Dublin. **Proceedings...** Dublin: Grange Research Center, 1985, p. 101-115.

OLIVEIRA, A.S. LactoSilo Enzimático: A importância do uso de inoculantes biológicos em silagem. **Informativo: Nitral Urbana**, n. 15, p. 6, 2005.

OSHIMA, M.; McDONALD, P. A review of the changes in nitrogenous compounds of herbage during ensilage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 29, p. 497-508, 1978.

OSTLING, C.E.; LINDGREN, S.E. Inhibition of enterobacteria and Listeria growth by lactic, acetic and formic acids. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 75, n. 1, p.18-24, 1993.

OSTLING, C.E.; LINDGREN, S.E. Influences of enterobacteria on the fermentation and aerobic stability of grass. **Grass and Forage Science**, v. 50, n. 1, p. 41-47, 1995.

PAHLOW, G. **Influence of harvesting procedure on the determination of epiphytic lactic acid bacteria from forage crops.** In: KONGRESSBAND, VDLUFA - Schriftenreihe, n. 28, 1989. p. 957-966.

PAHLOW, G., MUCK, R.E., DRIEHUIS, F. Microbiology of ensiling. In: Silage Science and Technology. Madison. **Proceedings...** Madison: ASA-CSSA-SSSA, n. 42, 2003. p. 31- 93.

PAIVA, J.A.J. **Qualidade das silagens da região metalúrgica de Minas Gerais.** 1976. 85 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1976.

PEDREIRA, M.C.; et al. Características agrônômicas e composição química de oito híbridos de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 5, p. 1083-1092, 2003.

PEDROSO, A.F.; FREITAS, A.R.; SOUZA, G.B. Efeito de Inoculante Bacteriano sobre a Qualidade da Silagem e Perda de Matéria Seca durante a Ensilagem de Sorgo. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 48-52, 2000.

PENTEADO, D.C.S.; et al. Efeito da inoculação com *Lactobacillus plantarum* proveniente da microbiota epifítica sobre o desenvolvimento das populações microbianas, pH e nitrogênio amoniacal em silagens de capim-mombaça. In: ZOOTEC, 2006, Recife-PE. **Anais...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2006, (CD-ROM).

PEREIRA, J.R.A.; REIS, R.A. Produção de silagem pré-secada com forrageiras temperadas e tropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 1, Maringá, 2001. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.64-86.

PEREIRA, O.G.; SANTOS, E.M. Microbiologia e processo de fermentação de silagens In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3, Viçosa, 2006. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. p.393-430.

PEREIRA, O.G., SOUZA, L.O.; PENTEADO, C.S. Populações microbianas, pH e relação nitrogênio amoniacal/N total em silagens de capim-elefante com diferentes idades de rebrotação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005, (CD-ROM).

PESCE, D.M.C. **Análise de vinte genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) de porte médio e alto, pertencentes ao ensaio nacional.** 1998. 88f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 1998.

PESCE, D.M.C.; et al. Determinação dos teores de PB, N-NH₃, pH e componentes da parede celular das silagens de 20 híbridos de sorgo forrageiro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998, p. 696-698.

PESCE, D.M.C.; GONÇALVES, L.C.; SANTOS, J.A. Análise de vinte genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) de porte médio e alto, pertencentes ao ensaio nacional. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 978-987, 2000.

PORTO, P.P. **Perfil de fermentação das silagens de três genótipos de girassol (*Helianthus annuus* L.) com aditivos.** 2002, 62 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.

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**, v. 83, n. 3, p. 526-535, 2000.

RIBAS, P.M.; et al. **Cultivo do Sorgo- Importância econômica**. Embrapa Milho e Sorgo, Sistemas de Produção, 2. Versão Eletrônica – 3. Ed., 2007. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo/importancia.htm>>. Acesso em: dezembro de 2007.

RIBEIRO, J.L.; QUEIROZ, O.C.M.; NUSSIO L.G. Desenvolvimento de Aditivos Microbianos para Ensilagem: Realidade e Perspectivas. In: REIS, R.A.; et al (Edit.). **Volúmosos na Produção de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2005, p. 1-23.

ROCHA, K.D. **Silagens de capim-elefante cv. Cameron, de milho e de sorgo produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos: populações microbianas, consumo e digestibilidade**. 2003. 93 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

ROCHA, K.D.; et al. Valor nutritivo de silagens de milho (*Zea mays* L.) produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 35, n. 2, p. 389-395, 2006.

ROCHA Jr., V.R.; et al. Avaliação de sete genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor*(L.)Moench) para produção de silagem. II- Padrão de fermentação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p.12-18, 2000.

RODRIGUES, A.A.; et al. Microbial inoculant and enzymes in forage sorghum ensiled under temperate and tropical environments. I. Microbial succession. **Journal of Dairy Science**, v. 77, (Suppl. 1). p. 301, 1994.

RODRIGUES, P.H.M.; et al. Efeitos da adição de inoculantes microbianos sobre a composição bromatológica e sobre a fermentação da silagem de girassol produzida em silos experimentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 2169-2175, 2001.

RODRIGUES, P.H.M.; et al. Efeitos da Adição de Inoculantes Microbianos sobre a Composição Bromatológica e Perfil Fermentativo da Silagem de Sorgo Produzida em Silos Experimentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 6, p. 2373-2379, 2002.

RODRIGUES, P.H.M.; et al. Avaliação do uso de inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa e nutricional da silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 538-545, 2004.

RODRIGUEZ, N.M.; et al. Silagem de sorgo de porte baixo com diferentes teores de tanino e de umidade no colmo. I - pH e teores de matéria seca e de ácidos graxos durante a fermentação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, p. 485-490, 1999.

ROOKE, J.A. The Numbers of Epiphytic Bacteria on Grass at Ensilage on Commercial Farms **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 51, p. 525-533, 1990.

ROSA, B.; et al. Composição bromatológica da silagem de milho (*Zea mays* L.) submetida a diferentes aditivos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 37, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000. CD-ROM.

ROTZ, C.A.; MUCK, R.E. **Changes forage quality during harvest and storage**. In: Forage quality, evaluation and utilization. Madison: ASA/ CSSA/SSSA, p. 828-868, 1994.

ROTH, G.; UNDERSANDER, D. Silage additives. In: **CORN SILAGE PRODUCTION MANAGEMENT AND FEEDING**. Madison: Madison American Society of Agronomy, 1995. p. 27-29.

RYSER, E.T.; ARIMI, S.M.; DONNELLY, C.W. Effects of pH on distribution of listeria ribotypes in corn, hay, and grass silage. **Applied Environment Microbiology**, v. 63, n. 9, p. 3695-3697, 1997.

SANDERSON, M. Aerobic stability and in vitro fiber digestibility of microbially inoculated corn and sorghum silages. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 2, p. 505-514, 1993.

SAS – STATÍSTICAL ANALYSIS SYSTEM. Versão 8.2. Cary: SAS Institute, 2001.

SANTOS, E.M. **Populações microbianas e perfil fermentativo em silagens de capins tropicais e desempenho de bovinos de corte alimentados com dietas contendo silagens de capim-mombaça**. 2007. 127 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.

SANTOS, E.M.; ZANINE, A.M.; OLIVEIRA, J.S. Produção de silagem de gramíneas tropicais. **Revista Electronica de Veterinaria -REDVET**, v. VII, n. 07, 2006. Disponível em: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070706.html>>. Acesso em: janeiro de 2007.

SCHMIDT, P. **Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar**. 2006. 228 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2006.

SILVA, A.V. **Populações microbianas em plantas de milho e sorgo, produtos da fermentação, consumo e desempenho de bovinos de corte, suplementados com suas silagens, tratadas ou não com inoculantes microbianos.** 2001. 11f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

SILVA, A.V.; FERREIRA, C.L.L.F.; FERNANDES, P.C.C. Potencial nutritivo da silagem de sorgo. In WORKSHOP SOBRE PRODUÇÃO DE SILAGEM NA AMAZÔNIA: A SILAGEM DE SORGO, 1, 2004, Belém. **Anais...** Belém: Universidade Federal Rural da Amazônia, 2004. p. 83-100.

SILVA, A.V.; et al. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho e sorgo tratadas com inoculantes microbianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 1881- 1890, 2005.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos. Métodos químicos e biológicos.** 3. ed. Viçosa: Editora UFV - Universidade Federal de Viçosa, 2002.

SILVA, F.F.; et al. Qualidade de silagens de híbridos de sorgo de portes baixo, médio e alto com diferente proporções de colmo + folhas/panícula. I Avaliação do processo fermentativo. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 28, p.14-20, 1999.

SILVA, J.M. **Silagem de forrageiras tropicais.** Campo Grande, MS: EMBRAPA GADO DE CORTE, n. 51, 2001.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos.** 2. ed. São Paulo: Varela, p. 259, 2001.

SIQUEIRA, G.R.; BERNARDES, T.F.; REIS, R.A. Instabilidade Aeróbia de Silagens: Efeitos e Possibilidades de Prevenção. In: REIS, R.A.; et al (Edit.). **Volúmosos na Produção de Ruminantes.** Jaboticabal: FUNEP, 2005, p. 25-60.

SNYMAN, L.D.; JOUBERT, H.W. Effect of maturity stage and method of preservation on the yield and quality of forage sorghum. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 63-73, 1996.

SPECKMAN, C.A.; et al. A survey for indigenous Lactobacillus species on standing field corn at ensiling maturity. **Journal of Animal Science**, v. 53, n.1, p. 99, 1988. (Suppl. 1)

STILES, M.E.; HOLZAPFEL, W.H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 1-29, 1997.

SINGH, B.R.; SINGH, D.P. Agronomic and physiological responses of sorghum, Maize and pearl millet to irrigation. **Field Crop Research**, v. 42, p. 57-67, 1995.

STONE, L.R.; et al. Response of corn, grain sorghum, and sunflower to irrigation in the High Plains of Kansas. **Agriculture Water Management**, v. 30, p. 251-259, 1996.

TOMICH, T.R.; et al. **Características Químicas para Avaliação do Processo Fermentativo de Silagens: uma Proposta para Qualificação da Fermentação**. Corumbá, MS: EMBRAPA-PANTANAL, 2003. (Documentos, 57). p. 20.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994, p. 476.

VÁSQUEZ, A.; et al. DNA-based classification and sequence heterogeneities in the 16S RNA genes of *Lactobacillus casei/paracasei* and related species. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 28, p. 430-441, 2005.

VEDAMUTHU, E.R.; et al. Acid-producing microorganisms. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. ed. Washington: American Public Health Association, 1992, p. 225-238.

VIEIRA, F.A.P.; et al. Qualidade de silagens de sorgo com aditivos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 6, 2004.

VILELA, D. **Aditivos na ensilagem**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1984. (Circular Técnica, 21). p.32.

VILELA, D. Aditivos para silagem de plantas de clima tropical. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, Botucatu-SP. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.73, 1998.

XING, L.; CHEN, L.J.; HAN, L.J. The effect of an inoculant and enzymes on fermentation and nutritive value of sorghum straw silages. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 488-491, 2009.

WEINBERG, Z.G.; et al. The effect of a propionic acid bacterial inoculant applied at ensiling, with or without lactic acid bacteria, on the aerobic stability of pearl millet and maize silages. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 78, p. 430-436, 1995.

WEINBERG, Z.G.; ASHBELL, G.; HEN, Y. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on aerobic stability of silages. **Journal Applied Bacteriology**, 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, Reviews**, v. 19, p. 53-68, 1996.

WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker, p. 350, 1984.

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

ZAGO, C. Silagem de sorgo. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS: Alimentação suplementar, 7., Piracicaba. **Anais...**, Piracicaba: FEAL, 1999. p.47-68.

ZAGO, C.P. Cultura de sorgo para produção de silagem de alto valor nutritivo. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 4., 1991, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1991. p. 169-217.

ZANINE, A.M.; et al. Características fermentativas e composição químico-bromatológica de silagens de capim-elefante com ou sem *Lactobacillus plantarum* e farelo de trigo isoladamente ou em combinação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 4, p. 621-628, 2007.