



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/texto.php?id=500>>.

Papel da fermentação propionica na produção de silagem

Wender Ferreira de Souza¹, João Paulo Sampaio Rigueira¹, Lílian Oliveira Rosa², Luciana Rodrigues da Cunha³, Karina da Silva Chave⁴,
Célia Lucia de Luces Fortes Ferreira⁵

¹Doutorando e ²Mestranda do programa de pós graduação em Zootecnia – UFV/MG; ³Doutoranda e ⁴Mestranda do programa de pós graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFV/MG; ⁵ Prof. Titular do Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFV/MG.

RESUMO

A intensificação da produção bovina apresenta a necessidade da utilização estratégica de forragens conservadas, principalmente na forma de silagem. O uso de silagem como volumoso na época seca é uma prática bastante conhecida dos criadores de gado leiteiro e na engorda de bovinos de corte em confinamento. O processo de ensilagem tem como objetivo principal elevar ao máximo a preservação dos nutrientes encontrados na forragem, com mínimo perda de matéria seca e de energia. A utilização de culturas microbianas que controlam a fermentação por vias metabólicas de degradação de substratos que sejam energeticamente mais eficientes é considerada fundamental na produção de silagens. Inoculantes microbianos desenvolvidos a partir da própria planta que se deseja ensilar têm revelado melhor padrão

fermentativo e maior recuperação da matéria seca ensilada. Isto demonstra a necessidade de estudos envolvendo a avaliação e a quantificação da flora microbiana nas diferentes plantas utilizadas para ensilagem no nosso país, sendo que as espécies microbianas em uso no mercado nacional atualmente, foram na sua maioria, desenvolvidas em outros países. Além da aplicação de inoculantes feitos a partir de microrganismos isolados da própria planta, é importante a combinação desses microrganismos capazes de direcionar uma boa fermentação a espécies do gênero *Propionibacterium*. Bactérias propiônicas, pelo acúmulo do propionato no final do processo de ensilagem, tem a capacidade de controlar sua estabilidade aeróbia. O propionato atua principalmente nas leveduras que constituem o maior problema de estabilidade, no momento de abertura do silo.

ABSTRACT

The intensive cattle management leads to the necessity of forage strategies, mainly as silage. The silage utilization in the dry season as part of the cattle feeding is a common practice. The ensiling procedure has mainly the objective to increase the forage nutrients and to decrease losses in the dry matter and energy. The application of microorganisms as starter cultures to control fermentation is important in the silage production. Microorganisms isolated from the plants themselves, render more efficient inoculants. This demonstrates the necessity of evaluating and quantification studies from endogenous forage. The majority of the nationwide used inoculants is originally from abroad. Despite of the inoculants being originated from the very forage, it is important also the combination of such starter organisms with species from *Propionibacterium*. Among the different metabolites, *Propionibacterium* spp. are able to produce organic acids, mainly propionic acid, which accumulates in the end of the fermentation process and helps to ensure the stability of the silage. Propionic acid is a potent inhibitor of yeast.

Introdução

A grande dependência das pastagens e das condições climáticas são as maiores causas da baixa produtividade e da qualidade insatisfatória da produção de bovinos no Brasil. Dessa forma, a intensificação da produção bovina de corte apresenta a necessidade da utilização estratégica de forragens conservadas, principalmente na forma de silagem, em seu sistema produtivo, em complementação ao manejo de pastagens e em combinação com o uso racional de grãos.

O uso de silagem como volumoso na época seca é uma prática bastante conhecida dos criadores de gado leiteiro e na engorda de bovinos de corte em confinamento. Dentre as forrageiras utilizadas, destaca-se principalmente o milho (*Zea mays*), devido ao elevado teor de carboidrato solúvel, sendo este essenciais para acelerar a fermentação láctica, altos rendimentos de matéria seca (MS) /hectare e adaptação às condições tropicais.

O processo de ensilagem tem como objetivo principal elevar ao máximo a preservação dos nutrientes encontrados na forragem, com mínimo perda de matéria seca e de energia. Isto pode ser atingido pela obtenção e manutenção de um ambiente anaeróbico no silo, por meio de adequado manejo durante a ensilagem, de modo a favorecer principalmente o crescimento de bactérias lácticas e, concomitantemente, a produção de ácido láctico e rápida acidificação da massa ensilada. Essas condições limitarão o crescimento de microorganismos deterioradores da silagem, como, por exemplo, bactérias do gênero clostridium e enterobactérias, favorecendo, assim, a manutenção da qualidade nutricional da silagem, bem como sua qualidade higiênica (Pereira & Santos, 2006).

O potencial de uma planta para ensilagem é dependente do teor original de umidade, que deve situar-se próximo a 70%, do conteúdo de carboidratos solúveis (acima de 8% na MS) e do baixo poder tampão, que não deve oferecer resistência à redução do pH para valores entre 3,8 e 4,0 (McCullough, 1977).

As variáveis mais utilizadas 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 uma boa fermentação no silo (Ashbell & Weinberg, 2003), evitando fermentações indesejáveis. Além disso, a matéria seca está intimamente ligada à maturidade da planta, e, à medida que ocorre seu amadurecimento, menor será o teor de nitrogênio não protéico, proteína bruta e digestibilidade *in vitro* da matéria seca das silagens (Snyman & Joubert, 1996).

Portanto, pode-se inferir que o processo de ensilagem é complexo devido aos vários fatores que se relacionam, como a espécie vegetal utilizada e suas características físico-químicas, tanto quanto a variação da microflora epifítica entre espécies vegetais, das condições climáticas, da condução das operações de ensilagem, da extensão do período de conservação e do manejo do fornecimento da silagem após a abertura do silo. Além disso, envolve mudanças bioquímicas dos substratos, devido à ação de vários grupos de microrganismos. Desta forma, o conhecimento da microflora pode auxiliar na compreensão das interações que possam ocorrer dentro do silo, podendo tornar-se mais um parâmetro para avaliação da qualidade de silagens.

Processo de ensilagem e inoculantes bacterianos estimulantes da fermentação

O processo de ensilagem pode ser dividido em quatro fases: (Muck e Pitt, 1993; Oude Elferink et al, 2002, Kung Jr. 2002): 1-fase aeróbica; 2-fase de fermentação ativa; 3- fase estável e 4- fase de descarga (retirada da silagem). A primeira fase ocorre durante o enchimento do silo, estendendo-se até poucas horas do fechamento do mesmo. Nesta fase, o oxigênio presente na forragem ensilada é reduzido através da respiração de células da planta e de microrganismos aeróbicos. Além disso, enzimas das plantas, como as proteases e carboidrases, são ativas nesta fase, desde que o pH situe-se numa

faixa de 5,5 a 6,0. O excesso de oxigênio, caracterizado por uma lenta operação de distribuição de forragem no silo ou de forma irregular, tamanho inadequado de picagem do material e inadequado teor de matéria seca, faz com que haja uma degradação indesejável de proteína (presença de amônia livre) uma produção excessiva de calor além de promover o crescimento de leveduras e mofo. O termino da fase é caracterizado pela exaustão de oxigênio no silo. O declínio crescente de oxigênio da inicio a fase de fermentação ativa (segunda fase), a qual leva de uma a quatro semanas (Muck e Pitt, 1993), dependendo das propriedades da forrageira ensilada. Inicialmente ocorre a proliferação de bactérias anaeróbicas produtoras de ácido acético (enterobactérias) e de outras bactérias produtoras de ácido láctico heterofermentativas. A produção destes ácidos reduz o pH e quando este cair abaixo de cinco, essas bactérias decrescem e as BAL homofermentativas dominam a fermentação (McAllister & Hristov, 2002).

Com o pH atingindo valores entre 3,8-4,5 e com a exclusão de oxigênio mantida, o crescimento de todos os microrganismos é inibido, caracterizando assim a próxima fase, a fase estável. Contudo que evite-se a entrada de ar no silo, pouca atividade biológica poderá ocorrer durante a fase estável. Desta forma, a qualidade nutricional da silagem poderá ser mantida quase que indefinidamente. Microrganismos ácidos tolerantes (clostrídios e enterobactérias) permanecem no estágio inativo ou na forma de esporos, sendo que algumas enzimas (proteases e carboidrases) e alguns microrganismos, como por exemplo, *Lactobacillus buchneri*, podem permanecer em pequenas concentrações (Oude Elferink et al, 2002).

Finalmente por ocasião da retirada da silagem para alimentação animal (4 fase), a silagem é novamente exposta ao oxigênio de modo inevitável. O processo de deterioração pode ser dividido em dois estádios, sendo o primeiro caracterizado pela utilização de ácidos orgânicos, que preserva a silagem, por leveduras e por bactérias formadoras de ácido acético, causando o aumento do pH e portanto o segundo estágio é caracterizado pelo aumento da temperatura

e atividade de microrganismos que deterioram a silagem, como bacilos, mofos e enterobactérias (Oude Elferink et al, 2002).

Em princípio, qualquer espécie forrageira, anual ou perene, pode ser ensilada. Segundo McDonald et al. (1991) o primeiro objetivo do processo de ensilagem é preservar a cultura pela fermentação natural em condições anaeróbias. O segundo é inibir a atividade de microrganismos indesejáveis como os clostrídios e as enterobactérias, devido a sua capacidade de deteriorar a matéria orgânica e originar perdas energéticas. Os clostrídeos estão geralmente presentes nas folhas colhidas, na forma de esporos, mas iniciam sua multiplicação tão logo as condições no silo tornarem-se anaeróbias. O crescimento destes microrganismos é indesejável, pois produzem o ácido butírico e degradam os aminoácidos levando a uma depreciação do valor nutritivo da silagem (Pitt, 1990).

O pH indica, geralmente, se a fermentação foi adequada ou não. Os valores adequados situam-se entre 3,8 e 4,2, sendo que, acima desse valor, há a indicação de fermentação butírica (McDonald et al., 1991). O ácido láctico produzido, principalmente pelas bactérias do ácido láctico (BAL) utilizam como principal substrato carboidratos solúveis (Weinberg & Muck, 1996). O acúmulo desse ácido é responsável pela redução dos valores de pH, das concentrações de ácido butírico e de nitrogênio amoniacal (Langston et al., 1962).

Os teores de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) são geralmente elevados nas silagens mal-conservadas McDonald et al. (1991). O nitrogênio amoniacal, expresso em % N-Total, indica a quantidade de proteína degradada durante a fase de fermentação ou, ainda, a ocorrência de um aquecimento excessivo do material ensilado, silagens de boa qualidade apresentam valores de N-NH₃ até 8% do N-total (Silveira, 1975). Vale destacar que os valores de N-NH₃ estabelecidos por Mahana & Chase (2003), como limite para silagens de leguminosas é de 15% do N- total.

A população de BAL varia com o estágio de maturação da planta colhida e com a época do ano. O crescimento de BAL com a idade de rebrotação, segundo Knicky (2005), se deve ao aumento do conteúdo de carboidratos

solúveis e ao teor de matéria seca, bem como da diminuição aniônicas com sais de ácidos orgânicos, nitrato, sulfato, entre outras. Em condições de clima temperado, populações máximas de BAL normalmente são registradas em meados da fase de crescimento (Pahlow et al., 2003).

Materiais ricos em carboidratos solúveis podem ser adicionados em silagens com intuito de aumentar a disponibilidade de energia para o efetivo crescimento de bactérias ácido lácticas. Essa prática é de importância em silagens de leguminosas que apresentam deficiência destes substratos (McDonald et al., 1991). Entre os produtos utilizados, destaca-se: açúcares, melão, cereais, polpa cítrica, entre outros.

A adição de melão, em forragens para ensilagem foi amplamente praticada no passado, sendo sua popularidade perdida parcialmente para os ácidos orgânicos e inorgânicos em razão da dificuldade de sua aplicação. Entretanto tem-se observado, um ressurgimento do interesse pela utilização desse aditivo, pelo fato de garantir o sucesso desse aditivo na fermentação, principalmente em países tropicais, onde várias espécies necessitam de adequada concentração de açúcares fermentescíveis (Kung et al., 2003).

Estudo desenvolvido por Kung et al. (2003), mostrou que a adição de sacarose em silagem de gramínea, não somente estimulou o crescimento das BAL, mas também o de clostrídios e leveduras.

Concentração de carboidratos solúveis pode influenciar o padrão e a extensão da fermentação, pois a acidificação só poderá prosseguir caso haja substratos fermentescíveis disponível para as bactérias. Leguminosas possuem baixas concentrações de carboidratos solúveis e elevado poder tamponante e necessitam da adição de açúcares ou que parte de sua umidade seja removida pelo emurchecimento para a sua fermentação (Wilkinson et al., 2003).

Segundo Kung (2000), na forragem destinada à produção de silagem, a presença de bactérias desejáveis e indesejáveis é algo esperado. Neste contexto, a adição de um inoculante microbiano tem a finalidade de propiciar o rápido crescimento de BAL homofermentativas, que poderão dominar a fermentação e, como consequência propiciar silagem de alta qualidade, pelo

acúmulo de ácido láctico nessa fase da fermentação, o que contribuiria para a segurança do processo. No entanto, bactérias heterofermentativas e bactérias do ácido acético, têm um papel fundamental na proteção da silagem, pelo acúmulo do ácido acético que, devido ao seu pKa, é mais eficiente na inibição de microrganismos indesejáveis. Isso se deve principalmente ao acetato que se encontra menos dissociado que o ácido láctico, o que facilita sua penetração na membrana plasmática das leveduras (Danner et al. 2003).

Nas plantas recém picadas estão presentes as BAL que são anaeróbias facultativas e as enterobactérias, facultativas. Esses grupos de bactérias fermenta principalmente açúcares (glucose e frutose). As enterobactérias como por exemplo, *Escherichia coli*, são contaminantes naturais dessas plantas e crescem na primeira fase do processo e são logo suplantadas pelas BAL. Produzem dentre outros metabólitos, álcool etílico, grande quantidade de CO₂ e ácido acético. As BAL homofermentativas, por sua vez, produzem principalmente ácido láctico que acumulado diminui o pH para níveis nos quais os grupos indesejáveis são inibidos, direcionando o processo para uma fermentação desejável (Woolford, 1984).

Grande parte dos aditivos microbianos é composto exclusivamente de BAL homofermentativas ou heterofermentativas facultativas. Esses produtos têm sido utilizados para melhorar a conservação da forragem e também para inibir a produção de clostrídios em silagens com umidade inferior a 25% MS (Bolsen et al., 1995). No entanto o melhor desempenho dos aditivos ocorre em silagens com teores de MS superior a 30% (Ribeiro et al., 2005). Dependendo da forragem, baixa taxa de proteólise e deaminação resultaram da inibição de bactérias do gênero *Clostridium* e de proteases da planta pela rápida acidificação do meio (Kung et al., 2003).

A ineficiência de alguns inoculantes comerciais pode estar relacionada ao tipo bactérias utilizadas, principalmente aquelas que não são capazes de competir eficientemente com a microflora epifítica (Pitt et al., 1990). Os *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus* e *Pediococcus spp.* são os microrganismos que dominam a microflora homofermentativa.

Em anos recentes, a BAL heterofermentativa, *L. buchneri*, tem sido estudada como aditivo para aumentar a estabilidade aeróbica de silagem (Muck, 1996). *Lactobacillus buchneri* produz altas concentrações de ácido acético em silagens. Experimentos em silos laboratoriais indicaram que esta aplicação na ensilagem melhorou a estabilidade aeróbica das silagens (Driehuis et al. 1999a; Ranjit et al. 2002; Weinberg et al. 2002; Filya 2003a; Muck 2004). Oude Elferink et al. (2001) mostrou que *L. buchneri* melhorou a estabilidade aeróbica pela fermentação do ácido acético para ácido acético, 1,2-propanodiol e pequenas quantidades de etanol. Embora a extensão da fermentação heterolática seja usualmente considerada como indesejável comparado com a fermentação homolática (McDonald et al. 1991), melhoras na estabilidade aeróbica durante armazenamento prolongado e alimentação pode ser benéfica, diminuindo as perdas de MS decorrentes de heterofermentativas menos importantes (Kung and Ranjit 2001).

Na etapa inicial, imediatamente após o fechamento do silo, enterobactérias e BAL crescem em ambiente parcialmente anaeróbio. No decorrer do processo fermentativo, o ambiente torna-se mais anaeróbio, e com um Eh (potencial de oxidação-redução) mais favorável para os microrganismos anaeróbios estritos, principalmente espécies do gênero *Clostridium*. No entanto, esses não desenvolvem em ambiente ácido, razão pela qual, é de extrema importância a presença de BAL ativas. As mudanças nos primeiros dias são críticas para o sucesso ou fracasso da silagem. Se as condições forem favoráveis, as BAL acidificam rapidamente o ambiente inibindo o desenvolvimento de outros grupos menos desejáveis, resultando num ambiente estável com pH baixo. Se o pH não diminuir rapidamente os microrganismos indesejáveis são capazes de competir por nutrientes, reduzindo as chances futuras de obtenção de uma silagem estável (Jaster, 1995).

Os nutrientes preservados e/ou produzidos pela presença de bactérias homoláticas durante a fermentação podem ser consumidos quando o silo é aberto (Muck, 2004), pois o lactato pode servir de substrato para os

microrganismos deterioradores, o que determinaria a redução da estabilidade aeróbia dessas silagens (Kung et al., 2003). Por outro lado, esse mesmo lactato, poderá servir de substrato para bactérias propiônicas, o que resultaria em efeito inverso, de extrema importância para uma silagem estável. Portanto, a presença de espécies do gênero *Propionibacterium* está sendo cada vez mais empregada na composição de inoculantes.

A adição de ácidos láctico, acético e propiônico poderiam aumentar a estabilidade, pois esses ácidos inibem microrganismos deterioradores (Moon, 1983). Essa é uma característica comum, que ocorre naturalmente em silagens de capins tropicais, em decorrência de fermentações inadequadas (Andrade & Melotti, 2003; Silva et al., 2005).

No passado, a inclusão de ácidos em silagens era feita em altas doses (10 a 20 g/kg), o que geralmente provocava esterilização do alimento, prejudicando o processo fermentativo (Kung et al., 2003). O acúmulo de informações revelando a função de diferentes grupos microbianos durante o processo de ensilagem tem enfatizado o importante papel das bactérias propiônicas com o acúmulo do propionato.

Bactérias propiônicas no processo de ensilagem

Bactérias propiônicas pertencem à classe das *Actinobacteria*, gênero *Propionibacterium*. Apresentam-se como bacilos curtos, Gram positivos, em agrupamentos formando uma palissada também conhecida por "escrita chinesa". São pleomorfos e essa pleomorfia depende do meio em que crescem. Não formam esporos e crescem somente em baixas concentrações de oxigênio. Ocorrem naturalmente no rúmen e no intestino de ruminantes, no solo e na silagem. (FOX, 1996)

As principais espécies de interesse tecnológico são: *Propionibacterium acidipropionici*, *Propionibacterium jensenii*, *Propionibacterium thoenii*, *Propionibacterium freudenreichii subsp. freudenreichii* e *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* sendo que as duas últimas espécies são muito

utilizadas na indústria de laticínios. O pH ideal de crescimento fica entre 6,0 e 7,0 (mas podem crescer, ainda que muito lentamente, nos limites extremos de pH 4,6 até 8,5). Sendo mesófilos, a temperatura ideal de crescimento é 30 °C, mas podem crescer mesmo a 12 °C e há registros de estirpes crescendo a 4 °C (Cummins & Jonhson, 1986).

Há uma variedade de estirpes desse gênero, disponíveis comercialmente tanto para uso na indústria de laticínios, quanto para o uso como inoculantes em silagens. Essas estirpes apresentam diferenças sutis em suas atividades metabólicas, que são de grande importância no resultado final da fermentação propiônica.

A fermentação propiônica é representada pela equação de Fitz, estabelecida em 1880, cuja estequiometria resultando nos componentes formados quando bactérias propiônicas fermentam o ácido láctico:

Equação de FITZ:



Fonte: Furtado, 2007

Pelo balanço dessa Equação conclui-se que de cada 3 moléculas-gramas de ácido láctico, correspondendo a 3 x 90 (peso molecular do ácido láctico) = 270 gramas, são obtidos: 18 g de água; 44 g de dióxido de carbono; 60 g de ácido acético; 148 g de ácido propiônico.

Além do ácido propiônico o gênero *Propionibacterium* é caracterizado pela produção do ácido acético e grande quantidade de CO₂, durante a fermentação de carboidratos solúveis e do ácido láctico (McDonald et al., 1991).

Filya et al. (2004) estudaram a inoculação do *Propionibacterium acidipropionici* associado ou não ao *Lactobacillus plantarum* na fermentação e na estabilidade aeróbia de silagens de trigo, de sorgo e de milho e observaram que o *P. acidipropionici* foi eficiente no controle do desenvolvimento de

leveduras e fungos filamentosos nas fases de fermentação e de estabilidade aeróbia (Kung et al., 2003).

Atualmente, na Europa e nos Estados Unidos, os aditivos bacterianos são os mais comumente utilizados na ensilagem de milho, gramíneas e leguminosas, que podem ser emurhecidas até níveis superiores a 300 g/kg MS. Essa associação entre emurhecimento e uso de aditivos visa melhorar a fermentação e o valor nutritivo da silagem (Mühlbach, 2000). Entretanto, não há aditivos eficientes para o controle da instabilidade aeróbia das silagens, mas a

adição dos ácidos propiônico e benzóico pode melhorar a estabilidade da planta ensilada (Lindgren, 1999). O propionato tem sido efetivo na prevenção da deterioração aeróbia nas silagens por inibir o crescimento de fungos e, conseqüentemente, reduzir o aquecimento da massa de forragem ensilada (Pitt, 1990).

O crescimento de microrganismos indesejáveis pode ser evitado por ácidos orgânicos fracos, como o ácido propiônico (McDonald et al., 1991). O uso do ácido propiônico mostrou-se eficiente no controle do desenvolvimento de fungos e na melhoria da estabilidade aeróbia de silagens de azevém e milho (Ohyama et al., 1975; Britt et al., 1975).

Em alguns casos, foi observado efeito da inoculação de espécies do gênero *Propionibacterium* em silagens sobre o desempenho animal. Estudos têm mostrado melhor desempenho com melhorias de 25-40% no consumo, ganho de peso vivo, eficiência alimentar e/ou produção de leite. (Weinberg et al., 2003).

Em virtude das grandes alterações no valor nutritivo da silagem, muitas vezes é necessário a presença de algum aditivo no processo de ensilagem. O inoculante bacteriano, *Propionibacterium acidipropionici* associado ou não ao *Lactobacillus plantarum* destacou-se na estabilidade aeróbia de silagens, onde o inoculante mostrou-se eficiente no controle do desenvolvimento de leveduras e fungos nas fases de fermentação e de abertura do silo. Nesse estudo observou-se ainda que a utilização de *L. plantarum* de forma isolada foi

benéfica durante o período de fermentação (Kung et al., 2003), enquanto as bactérias do gênero *Propionibacterium* atuaram de maneira mais pronunciada na fase de estabilidade aeróbia, em virtude do controle de leveduras e fungos.

Considerações Finais

A utilização de culturas microbianas que controlam a fermentação por vias metabólicas de degradação de substratos que sejam energeticamente mais eficientes é considerada fundamental na produção de silagens.

Inoculantes microbianos desenvolvidos a partir da própria planta que se deseja ensilar têm revelado melhor padrão fermentativo e maior recuperação da matéria seca ensilada. Isto demonstra a necessidade de estudos envolvendo a avaliação e a quantificação da flora microbiana nas diferentes plantas utilizadas para ensilagem no nosso país, sendo que as espécies microbianas em uso no mercado nacional atualmente, foram na sua maioria, desenvolvidas em outros países. Além da aplicação de inoculantes feitos a partir de microrganismos isolados da própria planta, é importante a combinação desses microrganismos capazes de direcionar uma boa fermentação a espécies do gênero *Propionibacterium*. Bactérias propiônicas, pelo acúmulo do propionato no final do processo de ensilagem, têm a capacidade de controlar sua estabilidade aeróbia. O propionato atua principalmente nas leveduras que constituem o maior problema de estabilidade, no momento de abertura do silo.

Referências bibliográficas

- ANDRADE, S.J.T.; MELOTTI, L. Inoculantes bacterianos na ensilagem do capim- elefante (*Pennisetum purpurem*, Schum). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, p.219-223, 2003.
- ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.F. 2003. Silage from tropical cereals and forage crops. <http://www.fao.org/ag/agp/agpc/gp/silage/html/paper7.htm>
- BOLSEN, K.K.; ASHBELL, G.; WILKINSON. Silage additives. In: CHESSON, A.; WALLACE, R.J. (Ed.) **Biotechnology in animal feeds and animal feeding**. Weinhein: VCH Press, 1995. p.33-34.

Souza, W.F., Rigueira, J.P.S., Rosa, L.O. et al. Papel da fermentação propionica na produção de silagem. PUBVET, Londrina, V. 3, N. 3, Art#500, Fev 1, 2009.

- BRITT, D.G.; HUBER, J.T.; ROGERS, A.L. Fungal growth and acid production during fermentation and refermentation of organic acid treated corn silages. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.532-539, 1975.
- CUMMINS, C.S; JOHNSON, J.L. Genus *Propionobacterium*. Orla-Jensen 1909, p.1346-1353. In: SNEATH, P.H.A.; MAIR, N.S.; SHARPE, M.E; HOLT, J.G. (eds) **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, vol.2. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986.
- DANNER, H.; HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; BRAUN, R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**. Baltimore, v.69, n.1, p.562-567, 2003.
- DRIEHUIS, F., OUDE ELFERINK, S.J.W.H. and SPOELSTRA, S.F. (1999) Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. **Journal Applied Microbiology**, 87, 585-594.
- FILYA, I.; SUCU, E.; KARABULUT, A. The effect of *Propionibacterium acidipropionici*, with or without *Lactobacillus plantarum*, on the fermentation and aerobic stability of wheat, sorghum and maize silages. **Journal Applied Microbiology**, v.97, p.818-821, 2004.
- FILYA, I. (2003a) The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of wheat, sorghum, and maize silages. *J Appl Microbiol* 95, 1080-1086.
- FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. V. 2, Major cheese groups. London U. K. Chapman & Hall, 2. ed., 1996. 577 p.
- FURTADO, M. M. **Queijos com olhaduras**. 1ª edição. Ed. Fonte e comunicações. São Paul. 2007. p 179.
- JASTER, E.H. **Legume and grass silage preservation**. Crop Science Society of Agromony. California Politechnic State University, San Luis Obispo, California. USA. 91-115p. 1995.
- KNICKY, M. Possibilites to improve silage conservation. In: <http://dissepsilon.slu.se/archive/00000834/01/thesisforepsilon2.pdf>. (consultado em 17/12/2005) .
- KUNG Jr., L. 2002. A review on silage additives and anzymes. www.ag.udel.edu/departament/anfs/faculty/kun.../a_review_on_silage_additives_and.html
- Kung, L. Jr and Ranjit, N.K. (2001) The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *J Dairy Sci* 84, 1149-1155.
- KUNG JR, L.; ROBINSON, J.R.; RANJIT, N.K.; CHEN, J.H.; GOLD, C.M.; PESEK, J.D. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1479-1486, 2000.
- KUNG Jr., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. **Silage Additives**. In: SILAGE SCIENCE AND TECHNOLOGY. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, 2003.p.305-343.
- LANGSTON, C.W.; WISEMAN, H.G.; GORDON, C.H. et al. 1962. Chemical and bacteriological changes in grass silage during early stages of fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 45, n. 3, p. 396-402.
- LINDGREN, S. Can HACCP Principles be applied for silage safety? In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 7., Uppsala, 1999. **Proceedings...** Uppsala: Swedish University of Agricultural Science, 1999. p.51-66.
- MAHANA, B.; CHASE, L.E. Practical application and solution to silage problems. In: SILAGE SCIENCE AND TECHNOLOGY. Madison. **Proceedings...** Madison: ASCSSA-SSSA, Agronomy, 42,. p.31-93, 2003.

Souza, W.F., Rigueira, J.P.S., Rosa, L.O. et al. Papel da fermentação propionica na produção de silagem. PUBVET, Londrina, V. 3, N. 3, Art#500, Fev 1, 2009.

McALLISTER, T.A., HRISTOV, A.N. **The fundamentals of making good quality silage**. 2002.

McCULLOUGH, M.E. 1977. **Silage and silage fermentation**. Feedstuffs. p.49-52.

McDONALD, P. HENDERSON, A.R., HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2nd ed. Chalcombe Publ., Bucks, England. 1991.

MUCK, R.E., PITT, R.E: Ensiling and its effect on crop quality. In: Silage Production From Seed to Animal. **Proceedings...From the National Silage Conference**. 1993, Syracuse, NY. NRAES, 67, p. 57-66. 1993.

MUCK, R.E. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. **Transactions of the ASAE**, v.47, p.1011-1016, 2004.

Muck, R.E. (1996) A lactic acid bacteria strain to improve aerobic stability of silages. In US Dairy Forage Research Center 1996 Research Summaries. pp. 42-43. Madison, WI: US Dairy Forage Research Center.

MÜHLBACH, P.R.F. Additives to improve the silage making process with tropical forages. In: FAO ELECTRONIC CONFERENCE ON TROPICAL SILAGE, Rome, 1999. **Proceedings...** Rome: FAO, 2000. p.151-164.

PAHLOW, G; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. 1.ed. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p.31-94.

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

PITT, R. E. **Silage and hay preservation**. Ithaca:Northeast Regional Agricultural Engineering Service, 1990. 53p. (NRAES-5).

OHYAMA, Y.; MASAKI, S.; HARA, S. Factors influencing aerobic deterioration of silages and changes in chemical composition after opening silos. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.26, p.1137-1147, 1975.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H., DRIEHUIS, F., GOTTSCHAL, J. C. et al. **Silage fermentation processes and their manipulation**. 2002.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H., KROONEMAN, J., GOTTSCHAL, J.C., SPOELSTRA, S.F., FABER, F. and DRIEHUIS, F. (2001) Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2 propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl Environ Microbiol* 67, 125-132.

RANJIT, N.K., TAYLOR, C.C. and KUNG, L. Jr (2002) Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass Forage Sci* 57, 73-81.

RIBEIRO, J.L.; QUEIROZ, O.C.M.; NUSSIO, L.G. Desenvolvimento de aditivos microbianos para ensilagem: Realidades e Perspectivas. In: Volumosos na Produção de Ruminantes. Jaboticabal, 2005. **Anais...** Jaboticabal,SP: FUNEP, 2005. p.1-23.

SHURKHNO, R. A.; GAREEV, R. G.; ABUL'KHANOV, A. G. et al. Fermentation of high-protein plant biomass by introduction of lactic acid bacteria. **Appl. Bioch. Microb.**, 41, n.1 p.69-78, 2005.

SILVA, B.C.; PEREIRA, O.G.; PEREIRA, D.H. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes e ganho de peso de bovinos de corte alimentados com silagem de *Brachiaria brizantha* e concentrado em diferentes proporções. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1060-1069, 2005.

SILVEIRA, A.C. Técnicas para produção de silagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 2., 1975, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1975. p. 156-186.

SNYMAN, L.D.; JOUBERT, H.W. Effect of maturity stage and method of preservation in the yield and quality of forage sorghum. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57 (1/2):63-73, 1996.

Souza, W.F., Rigueira, J.P.S., Rosa, L.O. et al. Papel da fermentação propionica na produção de silagem. *PUBVET*, Londrina, V. 3, N. 3, Art#500, Fev 1, 2009.

WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 53-68. 1996.

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

WEINBERG, Z.G., ASHBELL, G., HEN, Y., AZRIELI, A., SZAKACS, G. and FILYA, I. (2002) Ensiling whole-crop wheat and corn in large containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 28, 7–11.

WILKINDON, J.M.; BOLSEN, K.K.; LIN, C.J. **History of silage**. In: *SILAGE SCIENCE AND TECHNOLOGY*. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, 2003.p.1-30.

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