

Populações microbianas e composição química de silagem de milho

POZZA, M. S. Dos S^{1*}; POZZA, P. C.²; TSUTSUMI, C. Y.³; ALMEIDA, R. Z.⁴;
NUNES R. V.⁵; SABEDOT, M. A.⁶; ZAMBOM, M. A.⁷.

^{1*}Magali Soares dos Santos Pozza. Zootecnista/Mestrado e Doutorado em Tecnologia de Alimentos. Professora CCA/MCR. e-mail: magasspozza@hotmail.com.

²Paulo César Pozza. Zootecnista/Mestrado e Doutorado em Nutrição de Monogástricos. professor CCA/MCR.

³Claudio Yuji Tsutsumi Eng. Agrônomo/Mestrado e Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas. Professor CCA/MCR

⁴Ruthiele Zeni Almeida Zootecnista/MCR.

⁵Ricardo Vianna Nunes Zootecnista/ Mestrado e Doutorado em Nutrição de Monogástricos. Professor CCA/MCR.

⁶Mayara Andressa Sabedot Zootecnista/MCR.

⁷Maximiliane Alarvase Zambom Zootecnista/ Mestrado e Doutorado em Nutrição de Ruminantes. Professora CCA/MCR.

RESUMO

Avaliaram-se as populações microbianas, o pH e a composição química de silagens de milho produzidas ou não com inoculantes bacterianos, em seis períodos abertura dos silos (1, 3, 7, 14, 28 e 56 dias). Foi usado um arranjo fatorial 6 x 3 (seis períodos de fermentação x três inoculantes), em um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Avaliou-se os inoculantes microbianos Kera Sil® e Lacto Sil® e tratamento controle (sem inoculante). Aos 56 dias de fermentação, as contagens de bactérias ácido lácticas não diferiram entre os tratamentos e o tratamento contendo o inoculante Kera Sil® apresentou menores contagens de fungos e de aeróbios mesófilos. Com relação aos valores de pH, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os teores de matéria seca, proteína bruta, matéria mineral, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido não foram influenciados pelos períodos de fermentação. Palavras-chaves: bactérias ácido lácticas, bromatologia, mofos, silagem.

ABSTRACT

Microbial populations and chemical composition of corn silage

Microbial populations, pH and chemical composition of corn silage, produced or not with bacterial inoculants, were examined in six periods of opening of the silos (1, 3, 7, 14, 28, and 56 days). Treatments were performed in a completely randomized block design, in a 6 x 3 factorial arrangement (six fermentation periods x three inoculants), with three replicates. The bacterial inoculants Kera Sil® and Lacto Sil®, as well as the control treatment (without inoculation) were evaluated. At 56 days of fermentation, the counts of lactic acid bacteria did not differ among treatments, and the treatment with inoculant Kera Sil® had lower counts of fungi and mesophilic aerobes. The pH values did not differ among treatments. The contents of dry matter (DM), crude protein (CP), ash (A), neutral detergent fiber (NDF), and acid detergent fiber (ADF) were not affected by the fermentation periods.

Key-words: lactic acid bacteria, bromatology, molds, silage.

INTRODUÇÃO

A silagem de milho é um alimento volumoso utilizado, durante todo o ano, na maioria dos sistemas de produção de leite que adotam o confinamento e, como suplemento, nos sistemas de produção a pasto. Cultivares destinadas à ensilagem, devem apresentar elevada produção de matéria seca/ha, ser ricos em carboidratos solúveis, produzir silagem de bom valor nutritivo e permitir a maximização do consumo pelos animais (ROTH & UNDERSANDER, 1995). A primeira característica possibilita menor custo por tonelada de material e as duas últimas, melhor desempenho animal e redução no uso de concentrados.

O processo de ensilagem não melhora a qualidade do alimento, mas visa manter a qualidade do material original (VAN SOEST, 1994). Assim, é de extrema importância que este processo seja realizado de forma correta, minimizando as perdas energéticas inevitáveis (calor e CO₂) do sistema, durante a fermentação dos carboidratos solúveis em ácido lático.

O estudo da flora epifítica ou flora original das plantas, segundo Pahlow (1989), tem revelado resultados variáveis quanto à composição e ao número de micro-organismos, uma vez que estão sujeitos aos elementos do clima, os quais são influenciados pela localização geográfica onde os estudos são conduzidos. Desse modo, os elementos do clima e a composição das plantas irão interferir diretamente nos vários complexos bioquímicos e processos microbiológicos que transcorrem desde o momento da colheita da forragem até o fornecimento da silagem ao animal. Dos fatores que determinam o padrão de fermentação durante a ensilagem, os intrínsecos à planta forrageira são representados pelo adequado teor de umidade, elevado teor de carboidratos solúveis e o baixo poder tampão (COSTA et al. 2001).

A qualidade da silagem depende, basicamente, do material ensilado e do tipo de microrganismo que atuará durante o processo de fermentação e após a abertura dos silos (JOBIM et al. 1997). Segundo Muck (1996) o efeito esperado da inoculação microbiana é a diminuição das perdas de nutrientes. Entretanto, o processo fermentativo promove solubilização parcial da hemicelulose, diminuindo a fração de fibra em detergente neutro da silagem, podendo aumentar a digestibilidade da matéria seca. Outro efeito esperado é a redução nas perdas do conteúdo protéico da silagem, como consequência da inibição da proteólise promovida por bactérias do gênero *Clostridium* e por enterobactérias.

Aditivos estimulantes da fermentação durante a ensilagem são usados para aumentar a probabilidade de obtenção de fermentação satisfatória e silagem de alto valor nutritivo com mínimas perdas na ensilagem (SHARP et al., 1994). Por outro lado, na maioria dos estudos com inoculantes foi observada redução na estabilidade aeróbica das silagens inoculadas (SPOELSTRA, 1994). Entretanto são apontadas algumas hipóteses para o insucesso da utilização de inoculantes em silagens. Dentre elas destacam-se: a atividade competitiva de população epífita da planta originada a partir de cepas selvagens, o baixo teor de açúcares da forragem, os efeitos do antecedente histórico da cultura agrícola utilizada como fonte de forragem, excesso de oxigênio, extremos de atividade de água na massa ensilada, problemas na aplicação do produto (KUNG Jr. et al, 2003).

Os micro-organismos homofermentativos caracterizam-se pela taxa de fermentação mais rápida, menor proteólise, maior concentração de ácido lático, menores teores de ácidos acético e butírico, menor teor de etanol, e maior recuperação de energia e matéria seca. Bactérias heterofermentativas utilizam ácido lático e glicose como substrato para produção de ácido acético e propiônico, os quais são efetivos no controle

de fungos, sob baixo pH (ZOPOLLATTO et al. 2009). Estudos recentes mostraram que algumas bactérias heterofermentativas (*Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus brevis*) produzem ferulato-esterases, enzimas que aumentam a degradação da parede celular, liberando mais carboidratos solúveis para a fermentação ou utilização pelas bactérias do rúmen (NSEREKO et al., 2008).

A presença de oxigênio pela entrada de ar durante o período de estocagem ou na abertura do silo, favorece o crescimento de micro-organismos aeróbicos. Esses micro-organismos utilizam vários substratos derivados diretamente da forragem ou indiretamente da fermentação. O resultado dessa atividade é a perda de nutrientes, e conseqüente redução no valor nutritivo da silagem (HONIG & WOOLFORD, 1980). É importante ressaltar que as perdas ocorridas durante a deterioração aeróbica são provocadas pela atividade microbiana, mas essa atividade é limitada, normalmente, por fatores químicos e físicos, como fornecimento de oxigênio e alterações da temperatura (WILLIANS et al., 1994).

Com base no exposto, objetivou-se avaliar os efeitos de dois inoculantes sobre o desenvolvimento de populações microbianas como contagem total de aeróbios mesófilos, contagem de bactérias lácticas e de fungos, assim como avaliar a composição química, o pH e temperatura da silagem de milho planta inteira em diferentes tempos de abertura dos silos.

MATERIAL E MÉTODOS

A silagem de milho planta inteira foi obtida no município de Marechal Cândido Rondon (PR), região oeste do Paraná, que apresenta altitude média de 400 m, latitude 24°33'40" S, longitude 54° 04' 00" W. O clima é subtropical com chuvas bem distribuídas sendo o solo classificado como argissolo vermelho eutrófico (PVe) (IAPAR, 2006). O experimento foi conduzido nos meses de julho a setembro de 2009 no laboratório de Microbiologia e Bioquímica da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Como silos experimentais foram utilizados sacos de polietileno de 50L contendo aproximadamente 6 kg de silagem por silo. Antes do enchimento, cada saco plástico foi colocado dentro de um outro idêntico para melhor segurança do processo de ensilagem.

O enchimento dos silos experimentais foi feito compactando-os manualmente, tomando-se o cuidado de expulsar o máximo possível de ar para evitar a proliferação de fungos nos espaços vazios. Os sacos foram etiquetados para identificação dos tratamentos e levados a um local seco para armazenamento, onde permaneceram por um período de 56 dias.

Utilizou-se um arranjo fatorial 6 x 3, onde o fator A foi representado por seis períodos de fermentação (1, 3, 7, 14, 28 e 56 dias) e o fator D pela utilização de inoculante [tratamento controle e dois inoculantes (Kera Sil® e Lacto Silo®)], em um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições.

Os inoculantes comerciais avaliados foram: Kera Sil®, contendo os seguintes níveis de garantia: *Pediococcus acidilactici* e *Lactobacillus plantarum* (80×10^9 UFC/g) e Lacto Silo® contendo *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sp* e *Pediococcus acidilactici*. Os inoculantes foram adicionados às silagens distribuídas sob uma lona plástica, sendo utilizada uma lona para cada tratamento. Utilizou-se um pulverizador, com capacidade para 2 l, respeitando-se as recomendações dos fabricantes, sendo Lacto silo® um frasco de 430 gr para 50 toneladas de silagem e Kera sil® um sachet de 200g para 40 toneladas de

silagem. As silagens foram armazenadas em temperatura ambiente, até o momento da abertura dos silos, compreendido pelos períodos de fermentação.

As análises microbiológicas foram realizadas no material após a adição dos inoculantes (Tempo 1) e nos diferentes períodos de fermentação (3, 7, 14, 21 e 56 dias). Nas amostras (50 g) foram adicionados 450 mL de água destilada estéril procedendo-se as diluições que variaram de 10^{-1} a 10^{-9} (GONZÁLEZ e RODRIGUES, 2003), usando-se garrafas para água de diluição contendo 99,9 mL de água destilada estéril. A semeadura foi feita em triplicata para cada diluição e meio de cultura. Para contagem total de aeróbios mesófilos usou-se o Ágar Nutriente (Himedia) com incubação a 35°C por 48 horas; para contagem de bactérias lácticas (BAL) o ágar MRS (De Man, Rogosa e Sharpe) procedendo-se a incubação a 35° por 48 horas. Para avaliação da contaminação por bolores e leveduras, placas contendo ágar PDA (Potato dextrose Agar- Himedia) glicosado acidificado com solução de ácido tartárico a 10% em pH 3,5 foram incubadas à $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 5 dias. A determinação do pH das silagens foi efetuada de acordo com Silva & Queiroz (2002) e a temperatura das amostras foi medida com o uso de um termômetro portátil.

As determinações de matéria seca (MS), extrato etéreo (EE), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB), foram realizadas segundo procedimentos descritos por Silva e Queiroz (2002), utilizando amostras moídas em moinho do tipo Willey com peneira de 1 milímetro.

Os dados foram submetidos às análises estatísticas utilizando o Programa SISVAR (FERREIRA, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas interações significativas para as variáveis em estudo. As contagens de bactérias lácticas diferiram entre os inoculantes avaliados e o tratamento controle ($p < 0,05$) nos primeiros sete dias de vedação dos silos, não diferindo estatisticamente após este período. Schaefer et al. (1989) estudaram a inoculação de silagens da parte aérea e de grãos úmidos de milho e verificaram maiores efeitos da adição de inoculante sobre a contagem microbiológica nas silagens de grãos úmidos. Segundo McDonald et al. (1991), o número de bactérias ácido lácticas necessário para que ocorra acentuada queda de pH é de cerca de $8,0 \log/\text{g}$, sendo encontrado estes valores após 14 dias de fermentação e na silagem controle, após o sétimo dia (Tabela 1).

Os maiores valores para contagem total de aeróbios mesófilos foram obtidos para as silagens com adição de inoculantes após sete dias de armazenamento.

No presente trabalho, as menores contagens de fungos filamentosos e de leveduras foram observadas aos 56 dias de armazenagem para a silagem com o inoculante Kera Sil® (3,96). Woolford (1990) observou que silagens que apresentarem contagem de leveduras superior a $5,0 \log/\text{g}$ de silagem são mais susceptíveis à deterioração e Jobim et al. (1999) constataram população de leveduras, em silagem de grão úmido, na ordem de $6,4 \log/\text{g}$ de silagem. Segundo Arcuri et al. (2003) a presença de fungos filamentosos tem pronunciado efeito no valor nutritivo do material, pois degradam o mesmo e podem produzir toxinas que afetam o metabolismo animal.

Em geral, os bolores são aeróbios, exigem pH ótimo para crescimento entre 5-6 e a seqüência normal de reprodução é: esporo; esporo com tubo germinativo; hifa; micélio (conjunto de hifas); órgãos de frutificação; novos esporos. Para que o fungo produza seus órgãos de frutificação, pode levar de 3 a 14 dias, variando em função da espécie (RUIZ, 1992). Neste experimento, pode-se inferir que a contagem de fungos filamentosos na abertura dos silos (T1- Tempo 1), dada a ausência de O_2 , foi de esporos.

Tabela 1. Populações microbianas (\log_{10}) da silagem de milho planta inteira para os diferentes períodos de fermentação e inoculantes bacterianos

Inoculante	Período de fermentação (dias)					
	1	3	7	14	28	56
Bactérias lácticas (log/g)						
Controle	6,80 ^{b*}	9,14 ^a	8,61 ^a	8,61 ^a	8,43 ^a	9,06 ^a
Kera Sil®	7,41 ^a	7,25 ^c	7,56 ^b	8,56 ^a	8,51 ^a	8,75 ^a
Lacto Silo®	6,68 ^b	8,49 ^b	7,51 ^b	8,51 ^a	8,33 ^a	9,28 ^a
Contagem total de aeróbios mesófilos (log/g)						
Controle	7,77 ^a	8,95 ^a	8,83 ^b	8,40 ^a	8,22 ^b	8,34 ^b
Kera Sil®	7,72 ^a	5,76 ^c	8,56 ^a	8,37 ^a	8,65 ^a	8,13 ^c
Lacto Silo®	7,54 ^b	6,73 ^b	9,19 ^c	8,48 ^a	8,03 ^c	9,11 ^a
Bolores/Leveduras (log/g)						
Controle	6,00 ^a	6,36 ^a	7,54 ^a	7,67 ^c	5,66 ^b	4,77 ^a
Kera Sil®	5,82 ^a	6,26 ^a	6,04 ^c	8,18 ^b	6,10 ^a	3,96 ^b
Lacto Silo®	3,00 ^b	6,43 ^a	7,17 ^b	8,83 ^a	5,48 ^b	4,92 ^a
Temperatura (°C)						
Controle	22	22	19	23	22	21
Kera Sil®	24	24	19	23	23	21
Lacto Silo®	22	23	20	23	23	21

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de SNK.

A inoculação com bactérias homofermentativas produtoras de ácido láctico pode melhorar a qualidade da silagem promovendo rápida e eficiente produção de ácido láctico e redução do pH (GIMENES et al. 2005). Entretanto, isto parece não reduzir a quantidade de leveduras, pois estas podem crescer em pH baixo (LINDGREN et al., 1985).

Com relação aos valores de pH não houve diferença significativa entre os tratamentos; constatando-se maiores valores médios (5,55) para o Tempo 1 de abertura dos silos. Segundo Lindgren (1985), o pH ainda é usado como um critério de qualidade importante no julgamento da qualidade de fermentação das silagens. O pH da silagem de milho avaliada mostrou-se adequado ($< 4,2$) podendo-se dizer que as silagens em estudo, foram bem conservadas durante o período de armazenamento, pois na abertura dos silos apresentaram valores satisfatórios de pH. As maiores temperaturas observadas foram verificadas no 3º dia de fermentação, sendo encontrados os valores de 24°C.

Com relação à qualidade nutricional, as médias obtidas de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e Matéria Mineral (MM) estão apresentadas na Tabela 2.

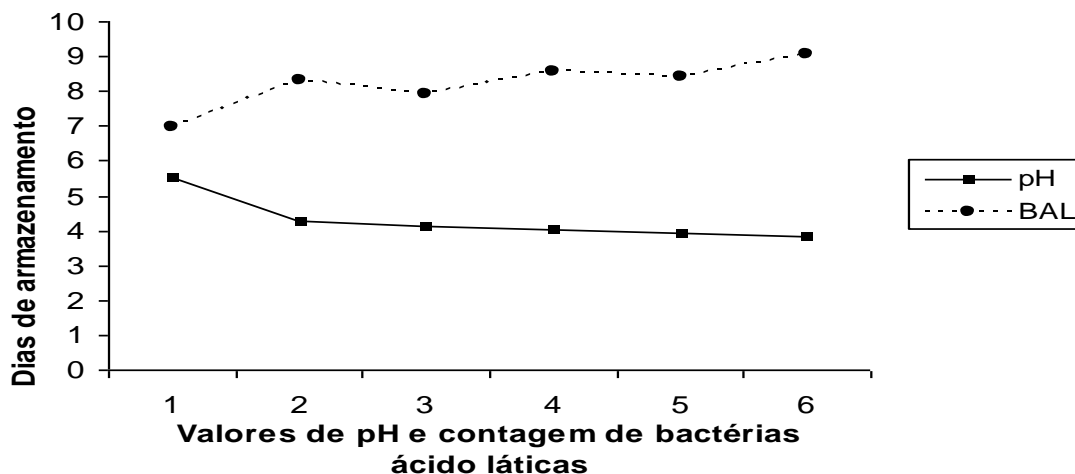


Figura 1. Valores médios, dos três tratamentos, de pH e de contagem de bactérias ácido lácticas (BAL) (log/g) em função dos dias de armazenamento do material ensilado avaliado periodicamente.

Tabela 2. Médias de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM) e fibra em detergente neutro (FDN) observados na silagem de milho nos 6 períodos de fermentação.

Inoculante	Período de fermentação (dias)					
	1	3	7	14	28	56
MS (%)						
Controle	32,92 ^{a*}	35,76 ^b	35,34 ^a	33,89 ^c	37,17 ^a	33,43 ^b
Kera Sil®	32,91 ^a	35,22 ^c	35,00 ^a	35,18 ^b	34,21 ^c	34,09 ^a
Lacto Silo®	32,93 ^a	36,34 ^a	35,34 ^a	36,13 ^a	36,78 ^b	34,24 ^a
PB (%)						
Controle	7,57 ^a	8,23 ^a	7,75 ^a	7,27 ^b	7,85 ^{ab}	7,76 ^a
Kera Sil	7,41 ^a	7,78 ^a	7,90 ^a	7,90 ^{ab}	6,81 ^b	7,54 ^a
Lacto Silo	7,72 ^a	7,95 ^a	7,30 ^a	8,40 ^{ab}	7,31 ^{ab}	7,58 ^a
MM (%)						
Controle	4,76 ^a	4,06 ^b	4,10 ^b	4,77 ^a	3,53 ^b	4,27 ^b
Kera Sil	4,75 ^a	4,61 ^a	4,49 ^a	4,56 ^b	4,36 ^a	4,67 ^a
Lacto Silo	4,75 ^a	3,81 ^c	3,83 ^c	3,61 ^c	3,61 ^b	4,05 ^c
FDN (%)						
Controle	52,93 ^a	47,01 ^b	47,01 ^b	53,91 ^a	44,95 ^b	49,16 ^a
Kera Sil	52,93 ^a	51,03 ^a	51,03 ^a	48,68 ^b	48,72 ^a	48,83 ^a
Lacto Silo	52,69 ^a	45,34 ^b	45,34 ^b	47,77 ^b	49,87 ^a	46,88 ^a

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de SNK.

Os teores de MS foram acima dos 25% preconizados por McDonald et al. (1991) e entre os valores citados como adequados por Jobim (2010) cujos teores devem estar entre 28 a 40%; como condição necessária para que as perdas de efluentes dentro do silo sejam minimizadas e, conseqüentemente, ocorra a manutenção dos nutrientes do material ensilado. Os valores de MS acima de 40% estão relacionados com a baixa

compactação ocasionando uma série de fenômenos indesejáveis provocados pela entrada de ar no silo, favorecendo o desenvolvimento de micro-organismos aeróbios e anaeróbios facultativos.

Os teores médios de PB foram de 7,67 %; sendo pouco alterados ao longo do período de fermentação. Resultados semelhantes foram constatados por Pereira et al (2007) e por Silva (2001). Ao final do período de fermentação, os valores de matéria mineral foram maiores para o tratamento Kera Sil®; porém não houve diferença com entre os tratamentos com relação à percentagem de FDN.

CONCLUSÃO

As silagens produzidas podem ser consideradas de boa qualidade fermentativa e o uso do inoculante Kera Sil® reduziu a contagem de fungos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCURI, P. B., CARNEIRO, J. C., LOPES, F. C. F. Microrganismos indesejáveis em forragens conservadas: efeito sobre o metabolismo de ruminantes. In: *Volumosos na Produção de Ruminantes: Valor Alimentício de Forragens*. Reis, R. A., Bernardes, T.F., Siqueira, G.R. Moreira, A.L. (Ed.). 2003. Jaboticabal. **Anais...**, FUNEP. p. 51-70. 2003.

COSTA, C., MONTEIRO, A. L. G., BERTO, D. A. et al. Impacto do uso de aditivos e/ou inoculantes comerciais na qualidade de conservação e no valor alimentício de silagens. In: *SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS*. 1, 2001, Maringá. *Anais...* Maringá: UEM, 2001, p. 87-126.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: Sistemas de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Versão 4.3. Lavras: UFLA. 2002.

GIMENES, A. L. G.; MOREIRA, F. B.; MIZUBUTI, I. Y.; PEREIRA, E. S. Efeitos da utilização de inoculantes em silagens de forrageiras sobre os teores de proteína e fibra, digestibilidade dos nutrientes, pH, fermentação e estabilidade aeróbia. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 4, p. 601-610, out./dez. 2005.

GONZÁLEZ, G.; RODRÍGUEZ, A. A. Effect of storage method on fermentation characteristics, aerobic stability and forage intake of tropical grasses ensiled in round bales. **Journal Dairy Science**, v. 86, n.3, p. 926-933.

HONG, H.; WOOLFORD, M. K. Changes in silage exposure to air. In: *FORAGE CONSERVATION IN THE 80's*, 1979, Brighton. **Proceeding...** Oxford: British Grassland Society, 1980. p.76-87.

IAPAR. Cartas climáticas do Paraná. Disponível em: http://200.201.27.1/Site/Sma/Cartas_Climaticas/Classificacao_Climatica.htm. Acesso em 13 out. 2010.

JOBIM, C. C.; REIS, R. A.; SHOKEN-ITURRINO, R. P. et al. Desenvolvimento de microrganismos durante a utilização de silagem de grãos úmidos de milho e de espigas de milho sem brácteas. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.21, p.671-676, 1997.

JOBIM, C. C. Produção de forragens conservadas para alimentação de bovinos. In: **Bovinocultura leiteira. Bases zootécnicas, fisiológicas e de produção**. SANTOS, G.T.; MASSUDA, E.M.; KAZAMA, D.C.S.; JOBIM, C.C., BRANCO, A.F. Maringá:Eduem, 2010.

KUNG JR., L.; STOKES, M. R.; LIN, C. J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; LINDGREN, S.; PETTERSSON, K.; KASPERSSON, A.; JONSSON, A.; LINGVALL, P. Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.36, p.765-774, 1985.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe Pub, 1991. 340p.

MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. (Eds.) **Silage science and technology**. Wisconsin: ASA; CSSA; SSSA, 2003. p.305-360.

NSEREKO, V. L.; SMILEY, B. K.; RUTHERFORD, W. M. et al. Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p.122- 135, 2008.

PAHLOW, G. Ecological studies of epiphytic lactic acid bacteria (Lab) on whole plant maize and in inoculated silage. In: **FOOD FOR THOUGHT**, 2., 1989, Johnston. **Proceedings...** Johnston: Pioneer Hi-Bred International, 1989.

PEREIRA, O. G.; ROCHA, K. D.; FERRERIA, C. L. L. Composição química, caracterização e quantificação da população de microrganismos em capim-elefante cv. Cameroon (*Pennisetum purpureum*, Schum.) e suas silagens. **R. Bras. Zootec.**, v.36, n.6, p.1742-1750, 2007.

RUIZ, R. L. **Microbiologia Zootécnica**. São Paulo: Roca, 314p. 1992.

ROTH, G., UNDERSANDER, D. Corn silage production, management, and feeding. **American Society of Agronomy**, Madison, WI, 42p. 1995.

SILVA, D. J. (1998). **Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. 2ed. Viçosa: UFV. 166p.

SILVA, A.V. **Populações microbianas em plantas de milho e sorgo, produtos da fermentação e desempenho de bovinos de corte, suplementados com suas silagens, tratadas com inoculantes microbianos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 122 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.

SCHAEFER, D. M., BROTZ, P. G., ARP, S. C. et al. Inoculation of corn silage and high moisture corn with lactic acid bacteria and its effects on the subsequent fermentations and on feedlot performance of beef steers. **Animal Feed Science and Technology**, 1989, vol. 25, p.23-38.

SHARP, R.; HOPPER P. G.; ARMSTRONG, D. G. The digestion of grass silages produced using inoculants of lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v.49, p.42-53, 1994.

SPOELSTRA, S. F. Influences of air on silage preservation and aerobic stability. In: GENERAL MEETING OF THE EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION, 15., 1994, Wageningen. **Proceedings...** Wageningen: 1994. p.566-577.

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

WILLIAMS, A. G.; LOWE J. F.; REES D.V. The effect of oxygen concentration on changes in microbial population, temperature and dry-matter content grass silage. **Grass and Forage Science**, v.49, p.183-191, 1994.

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

WOOLFORD, M. K. Microbiological screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silages additives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.26, n.2, p.229- 237. 1975.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J. L. P.; NUSSO, L. G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **R. Bras. Zootec.**, v.38, p.170-189, 2009.