

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/364237895>

Uso de inoculantes em silagens: fatores que afetam o alcance de bons resultados

Conference Paper · October 2022

CITATIONS

0

READS

307

4 authors:



Thiago Carvalho Da Silva
Federal Rural University of Amazonia

91 PUBLICATIONS 905 CITATIONS

SEE PROFILE



Francy Manoely da Silva Lima
Federal Rural University of Amazonia

2 PUBLICATIONS 5 CITATIONS

SEE PROFILE



Rayssa Marcelle Martins Pereira
Western Paraná State University

1 PUBLICATION 0 CITATIONS

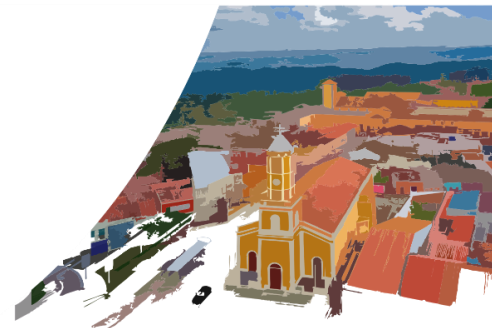
SEE PROFILE



Anibal Coutinho do Rêgo
Federal University of Ceará

95 PUBLICATIONS 549 CITATIONS

SEE PROFILE



Uso de inoculantes em silagens: fatores que afetam o alcance de bons resultados

Thiago Carvalho da Silva⁽¹⁾; Francy Manoely da Silva Lima⁽²⁾; Rayssa Marcelle Martins Pereira⁽²⁾; Anibal Coutinho do Rego⁽³⁾

⁽¹⁾Professor; Universidade Federal Rural da Amazônia; Belém, Pará; thiago.silva@ufra.edu.br; ⁽²⁾Estudante; Universidade Federal Rural da Amazônia; Belém, Pará; ⁽³⁾Professor; Universidade Federal do Ceará.

RESUMO: A utilização de inoculantes em silagens é considerado um tema bastante polêmico e recorrente, devido às variações observadas nos seus efeitos no campo e aos dados inconsistentes. Inoculantes microbianos, são definidos como produtos que contém microrganismos vivos que podem beneficiar diferentes espécies de vegetais e são historicamente utilizados em diversos segmentos relacionados à agricultura e à indústria de alimentos. Por se tratar de material biológico, diversos fatores podem afetar a viabilidade dos inoculantes microbianos para silagem. Entretanto, tal fato é desconsiderado em algumas situações de campo, ou até mesmo de pesquisa. Além dos diversos fatores inerentes ao material ensilado que pode afetar a eficácia dos inoculantes, pode-se citar os fatores físicos e ambientais, geralmente negligenciados a nível de propriedade, como tipo de inoculante, armazenamento, prazo de validade, dose aplicada, qualidade da água utilizada na aplicação, condições de aplicação, distribuição e homogeneização adequada, dentre outros. O seguinte texto abordará as questões relacionadas aos fatores que afetam o alcance de bons resultados com a utilização de microbianos em silagens, ou seja, fatores que afetam a sua eficácia. Dentro das Bactérias Ácido Láticas utilizadas em inoculantes, destaca-se o gênero *Lactobacillus*, o qual recentemente passou por uma reclassificação. As bactérias lácticas podem ser agrupadas de acordo com o tipo de metabolismo: homofermentativas, heterofermentativas e heterofermentativas facultativas. A eficácia de um inoculante depende do tipo e viabilidade das bactérias no inoculante, do número e tipos de microrganismos naturais na forragem, método de aplicação, características da forragem ensilada e tipo de prática de ensilagem empregada.

PALAVRAS-CHAVE: aditivos microbianos, bactérias, leveduras, qualidade sanitária da silagem

1. INTRODUÇÃO

Inoculantes microbianos, são definidos como produtos que contém microrganismos vivos que podem beneficiar diferentes espécies de vegetais (Santos et al., 2019). Inoculantes microbianos são historicamente utilizados em diversos segmentos relacionados à agricultura e à indústria de alimentos. Os inoculantes microbianos podem ser utilizados como biofertilizantes e promotores de crescimento (segundo mecanismos de ação diretos e indiretos), como biopesticidas, biofungicidas, bioherbicidas, além dos diversos usos no processamento de alimentos (Alori e Babalola, 2018). Nesse contexto, inoculantes microbianos são utilizados na conservação de alimentos na forma de silagem.

A utilização de inoculantes em silagens sempre foi um tema bastante polêmico e recorrente, devido às variações observadas nos seus efeitos no campo e aos dados inconsistentes. Ao estudar o histórico do uso de inoculantes observa-se que ao longo dos anos os critérios de seleção e de aplicação destes foram aprimorados com o auxílio de técnicas moleculares e genéticas, mas que ainda existe muita dúvida sobre a sua real eficácia.

Por se tratar de material biológico, diversos fatores podem afetar a viabilidade dos inoculantes microbianos para silagem. Entretanto, tal fato é desconsiderado em algumas situações de campo, ou até mesmo de pesquisa. Fatores inerentes ao material ensilado, como concentração de matéria seca (MS), carboidratos solúveis (CS), capacidade tampão (CT), estágio de crescimento ou estágio fenológico, presença de compostos inibidores de crescimento, bem como a população epifítica, podem afetar de alguma forma o crescimento e a eficácia dos inoculantes microbianos. Além destes, a eficácia dos inoculantes é fortemente afetada por fatores físicos e ambientais, geralmente negligenciados a nível de propriedade, como tipo de inoculante, armazenamento, prazo

de validade, dose aplicada, qualidade da água utilizada na aplicação, condições de aplicação, distribuição e homogeneização adequada, dentre outros.

É importante ressaltar que o processo de ensilagem, consiste no armazenamento de alimentos volumosos ou concentrados em condições de anaerobiose, visando a predominância da fermentação láctica para inibição da maior parte da atividade de microrganismos deterioradores e de enzimas do alimento, com a consequente preservação do valor nutritivo do material ensilado. A ensilagem é um processo de alta complexidade, que requer planejamento e minimização de erros na execução, pois qualquer falha em uma das etapas pode comprometer todo processo.

Por isso, ao abordar o uso de inoculantes microbianos, devemos assegurar que todas as etapas de confecção da silagem estão sendo executadas dentro das recomendações, caso contrário, isso também poderá diminuir ou anular o seu efeito. Os principais inoculantes microbianos utilizados em silagens são as bactérias lácticas, ou bactérias ácido-lácticas (BAL). O uso de BAL como inoculantes microbianos com o objetivo de melhorar o perfil fermentativo das silagens tem sido amplamente documentado em trabalhos de pesquisa (Penteado et al., 2007; Ávila et al., 2009; Jalč et al., 2009; Reich & Kung Jr, 2010; Nair et al., 2020).

O presente texto abordará as questões relacionadas aos fatores que afetam o alcance de bons resultados com a utilização de microbianos em silagens, ou seja, fatores que afetam a sua eficácia.

2. CLASSIFICAÇÃO DOS INOCULANTES MICROBIANOS UTILIZADOS COMO ADITIVOS PARA SILAGEM

Os inoculantes microbianos são muito utilizados, em virtude da segurança e facilidade de uso, além de não serem corrosivos e não poluírem o ambiente (Ávila, et al. 2009).

Visando melhorar o perfil fermentativo das silagens teve início a utilização de aditivos durante a ensilagem, tendo como objetivo original assegurar que as BAL dominariam a fermentação, resultando numa silagem bem preservada (McDonald, 1981). Virtanen (1929), citado por McDonald (1981), trabalhando na Finlândia adotaram outra abordagem e recomendaram a rápida acidificação da cultura com ácidos minerais até o pH de 3,5, o qual era considerado o suficiente para inibir o crescimento microbiano.

Os aditivos foram classificados em quatro grandes grupos por McDonald (1981), incluindo aqueles que estimulam a fermentação, outros que inibem certos tipos de fermentação, os que controlam a deterioração aeróbica e os que fornecem nutrientes. Os aditivos dos dois primeiros grupos atuam no controle da fermentação, seja pelo favorecimento da fermentação láctica (estimulantes) ou pela inibição parcial ou completa de microrganismos indesejáveis no processo de ensilagem. Os inoculantes microbianos podem atuar tanto como estimuladores e inibidores da fermentação e também como controlador da deterioração aeróbica.

Antes de ser comercializado os aditivos devem apresentar alguma comprovação de que não são tóxicos aos animais e não apresentam efeitos adversos sobre a fermentação ruminal. Além disso as recomendações devem considerar a viabilidade econômica e não apenas os resultados científicos (McDonald, 1981). Entretanto, observa-se que apenas poucos trabalhos são realizados considerando a viabilidade econômica da utilização dos aditivos, fato de grande relevância para o setor produtivo.

O uso de inoculantes microbianos tem como ponto positivo o menor custo em relação aos demais aditivos químicos utilizados (Woolford, 1984). Antes de iniciar a discussão sobre inoculantes, torna-se pertinente uma breve descrição das bactérias lácticas e das principais rotas metabólicas observadas neste grupo de microrganismos, uma vez que são o principal grupo de inoculantes microbianos.

2.1. Bactérias lácticas

Bactérias lácticas são um grupo de microrganismos gram-positivos, que não formam esporos, catalase-negativos, em formato de cocos ou bacilos, fastidiosos e com alta tolerância a baixo pH (Pahlow et al., 2003; Kaban et al., 2008).

As BAL pertencem à ordem Lactobacilales e estão difundidas atualmente em seis famílias: *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcaceae*, *Lactobacillaceae*. O desenvolvimento das técnicas genótípicas ocasionou uma série de reclassificações dos gêneros de BAL, sendo estas destacadas na Figura 1.

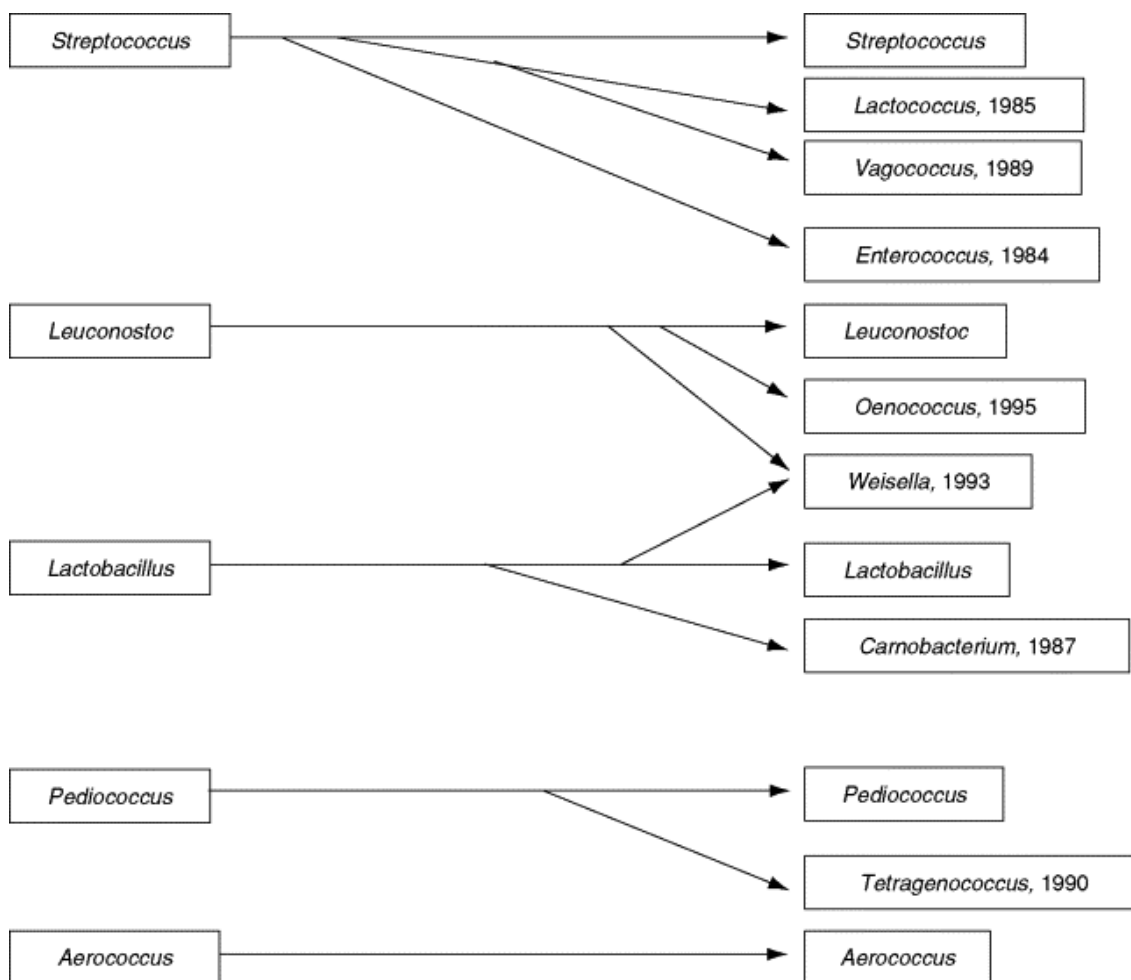


Figura 1. Gêneros de bactérias lácticas de importância nos alimentos e mudanças na nomenclatura de 1980 para 2000. Fonte: Mozzi, 2016.

Dentro do grupo das BAL, destacamos o gênero *Lactobacillus*, devido à importância na composição de inoculantes microbianos para silagens e também por ter passado por uma reclassificação recente.

2.2. Gênero *Lactobacillus*

Recentemente, o gênero *Lactobacillus* passou por uma reclassificação, onde os nomes de alguns gêneros de BAL tiveram seus nomes modificados e outros permaneceram sem alteração.

Com a nova classificação, o gênero *Lactobacillus* foi subdividido em 25 gêneros, sendo *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* e 23 outros novos gêneros. O que englobava 261 espécies passou a ter entre 38 espécies, sendo as demais distribuídas nos outros gêneros (Lima e Castro, 2021).

A nova classificação promove ampla repercussão, já que algumas espécies pertencentes do gênero *Lactobacillus* possuem importância no comércio, seja na formulação de alimentos ou utilização de aditivos microbianos. Alguns microrganismos tiveram suas nomenclaturas alteradas, outras mantiveram demonstrado na Tabela 1. (Mari, 2021)

Tabela 1. Nomenclatura antiga e nomenclatura atual de microrganismos do gênero *Lactobacillus*.
Fonte: Mari, 2021

Como era	Como ficou
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Lentilactobacillus buchneri</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Latilactobacillus curvatus</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Lactobacillus diolivorans</i>	<i>Lentilactobacillus diolivorans</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i>
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	<i>Lentilactobacillus hilgardii</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Ligilactobacillus salivarius</i>

O conhecimento dos microrganismos utilizados como inoculantes microbianos para silagem é o ponto de partida para a obtenção de sucesso com a sua utilização. Dessa forma, saber qual tipo de inoculante utilizar e em qual cultura utilizar torna-se primordial para a obtenção de bons resultados.

3. TIPOS DE INOCULANTES MICROBIANOS UTILIZADOS COMO ADITIVOS PARA SILAGEM

As bactérias lácticas podem ser agrupadas de acordo com o tipo de metabolismo: homofermentativas, heterofermentativas e heterofermentativas facultativas.

As BAL homofermentativas caracterizam-se pela taxa de fermentação mais rápida, menor proteólise, maior concentração de ácido láctico, menores teores de ácidos acético e butírico, menor teor de etanol, e maior recuperação de energia e matéria seca (MS). Bactérias heterofermentativas obrigatórias utilizam pentoses como substrato para produção de ácido acético e propiônico, os quais são efetivos no controle de fungos, sob baixo pH. As heterofermentativas facultativas utilizam a mesma via das hexoses das homofermentativas, porém são capazes de fermentar pentoses, pois possuem as enzimas aldolase e fosfoctolase (White, 2000).

Os primeiros inoculantes consistiam apenas de bactérias lácticas homofermentativas e tornaram-se populares no final da década de 70 e início da década de 80 (Kung et al., 2003). Os resultados não apresentavam consistência devido a uma série de fatores, como baixa taxa de inoculação e viabilidade das bactérias questionável e algumas das bactérias utilizadas não preenchiam todos os critérios preconizados na seleção de inoculantes. Entretanto, avanços em tecnologia e na compreensão sobre o processo de ensilagem possibilitaram melhorias nos resultados obtidos (Kung et al., 2003).

Woolford (1984) afirmou que muitos outros fatores, além da população inicial de BAL, poderia influenciar a dominância do inoculante no processo fermentativo. Wieringa e Beck (1964), citados por Woolford (1984), ressaltaram que apenas uma pequena porção da população epifítica tinha a habilidade de iniciar rapidamente a fermentação e proporcionar rápido decréscimo no pH. Whittenbury, em 1961, e Wieringa e Beck, em 1964, sugeriram que alguns critérios a serem satisfeitos antes de considerar uma cultura bacteriana como inoculante ou durante o processo de

seleção e “screening”.

Estes critérios, citados por Woolford (1984), McDonald (1981) e Kung et al. (2003), são:

- apresentar alta taxa de crescimento e a habilidade de competir e dominar outros microrganismos;
- ser homofermentativa;
- ser ácido-tolerante e capaz de crescer e acidificar a silagem rapidamente;
- capaz de fermentar uma alta diversidade de açúcares;
- não apresentar degradação de ácidos orgânicos;
- apresentar crescimento em diferentes condições e temperaturas;
- não apresentar atividade proteolítica.

Uma consequência imediata da aplicação destes critérios foi a exclusão das BAL heterofermentativas do processo de screening bacteriano. Além dessas, outras como as bactérias propiônicas, também não preenchiam os critérios definidos. A partir deste ponto, as principais opções concentraram-se entre os pediococci e os lactobacilli homofermentativos. *L. plantarum* e *Pediococcus acidilactic* tornaram-se as culturas mais utilizadas como inoculantes, por satisfazerem os critérios definidos por Whittenbury e apresentarem predominância no processo fermentativo, como citado anteriormente (McDonald, 1981; Kung et al., 2003). Entretanto, como descrito por Pahlow (2003), estes microrganismos tem sido classificados recentemente como heterofermentativos facultativos, pois quando se encontram em condições de baixa energia, podem fermentar pentoses e formar outros produtos além do ácido láctico.

Durante muito tempo foram realizadas pesquisas utilizando BAL homofermentativas, no intuito de promover uma rápida acidificação e inibição de microrganismos deterioradores e aumentar a eficiência da fermentação e a recuperação de matéria seca (RMS) após a ensilagem, como descrito na Figura 2.

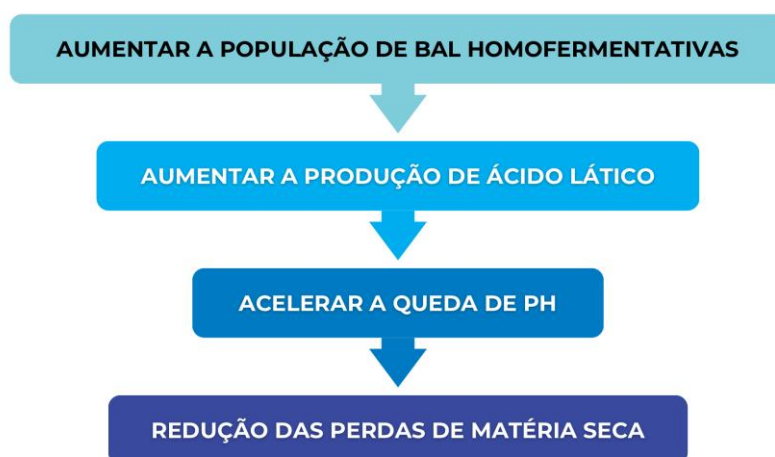


Figura 2. Objetivos e efeitos da utilização de inoculantes contendo bactérias lácticas homofermentativas ou heterofermentativas facultativas.

Seguindo a linha de utilização de inoculantes homofermentativos, Meeske & Basson (1998) avaliaram o efeito de inoculantes contendo *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* e *L. plantarum*, sobre silagem de milho não verificaram efeito de inoculantes compostos de BAL sobre o pH e a produção de ácido láctico em silagem de milho. Segundo os autores, a elevada concentração de bactérias ácido-lácticas antes da ensilagem (microflora epifítica), quando comparados aos valores do número destas bactérias no material ensilado, levaram a tais resultados.

No decorrer da história evolutiva dos inoculantes, um marco pode ser definido após a publicação de um trabalho publicado por Weinberg e Muck (1996) proporcionou uma visão geral

da utilização de inoculantes em silagens e as novas tendências e oportunidades relacionadas a este tema. Diante do contexto discutido dos efeitos dos inoculantes homofermentativos em silagens de milho, Weinberg e Muck (1996) citaram que:

- as bactérias lácticas homofermentativas não apresentavam efeitos na fermentação da silagem de milho, pois essa já era naturalmente adequada
- bactérias lácticas heterofermentativas apresentavam atividade na fase final de fermentação produzindo ácido lático e acético, sendo este último inibidor do crescimento de leveduras durante a exposição aeróbia

A partir dessa descoberta, uma série de pesquisas culminaram no desenvolvimento de uma nova categoria de inoculantes, visando o controle da população de leveduras e aumento da estabilidade aeróbia (Figura 3).



Figura 3. Objetivos e efeitos da utilização de inoculantes contendo bactérias lácticas heterofermentativas.

4. FATORES INERENTES AO MATERIAL ENSILADO QUE INFLUENCIAM A EFICÁCIA DOS INOCULANTES MICROBIANOS

4.1. Características da planta: matéria seca, carboidratos solúveis e capacidade tampão

Dentre os fatores que podem influenciar a atividade dos inoculantes microbianos destacam-se a espécie forrageira, a concentração de MS, carboidratos solúveis, a densidade populacional de bactérias epifíticas, a capacidade tampão. Além disso, as etapas de corte e picagem podem influenciar a população epifítica das plantas, e o modo de aplicação dos inoculantes apresenta grande relevância sobre a eficácia destes, sendo algumas vezes o responsável pelo insucesso da utilização destes produtos.

Para discutir os fatores inerentes ao material ensilado que podem afetar a fermentação e consequentemente a eficácia dos inoculantes microbianos, discutiremos o trabalho de Heinritz et al. (2012). Discutiremos os princípios básicos da ensilagem e a importância dos carboidratos solúveis, principais substratos necessários à fermentação. Dez leguminosas foram ensiladas e o capim *Urochloa* (Syn. *Brachiaria*), híbrido Mulato II CIAT 36087 foi utilizado para efeito de comparação. Todas as forragens foram submetidas aos seguintes tratamentos:

- 1- Controle- sem aditivos;
- 2- SA - adição de sacarose (20 g/kg matéria natural (MN));
- 3- BAL- inoculante bacteriano *Lactobacillus* sp. CIAT S66.7 (105 cfu/g MN); e
- 4- SA + BAL

Algumas forragens foram submetidas ao emurchecimento até atingir teor de MS maior do que

300 g/kg de MN (13%). Este passo pode ser considerado decisivo no processo de ensilagem das leguminosas, porém durante o emurchecimento os carboidratos solúveis que já se encontram em baixas concentrações podem ter as perdas aumentadas devido à intensa atividade respiratória das plantas nesta situação. Por isso, os aditivos têm sido preferidos ao emurchecimento.

Os resultados da Figura 1, mostram que a disponibilidade de substrato para a fermentação é mais determinante e eficaz no favorecimento da fermentação láctica do que a adição exclusiva dos microrganismos. Destacamos aqui um ponto crucial para a obtenção de sucesso com o uso de inoculantes microbianos em silagens: a disponibilidade de substratos para a fermentação. Ao adicionar apenas a BAL às espécies com baixas concentrações de carboidratos o efeito tem magnitude menor e semelhante à adição de sacarose citada anteriormente. Muitos dos insucessos observados com a adição de inoculantes bacterianos ao processo de ensilagem são atribuídos à falta de substrato. Isto porque mesmo a população de BAL sendo aumentada, se não houver disponibilidade de carboidratos solúveis o seu desenvolvimento não será potencializado.

Por outro lado, as espécies que já apresentavam elevada concentração de carboidratos solúveis e elevada relação WSC/BC, como *Canavalia brasiliensis*, *Clitoria ternata* e *Lablab purpureus*, não apresentaram efeitos pronunciados da adição de sacarose sobre o pH aos três dias de ensilagem. Isso indica que o primeiro passo ao se pensar em ensilar uma cultura ou utilizar aditivos é conhecer as suas características considerando os principais fatores que influenciam no coeficiente de fermentabilidade: MS, CS e CT.

Woolford (1984) relata que a relação entre carboidratos solúveis e teor de matéria seca como determinante da capacidade tamponante da massa ensilada. De acordo com Woolford (1984), a relação entre estes fatores pode ser representada pela equação: $y = 450 - 80x$, onde y corresponde ao conteúdo de MS em e x, a relação entre açúcares solúveis e capacidade tampão. Se a concentração de carboidratos é suficientemente alta, as condições são mais favoráveis para o estabelecimento e crescimento de bactérias homofermentativas, permitindo a conservação da forragem no meio ácido, devido à produção de ácido láctico.

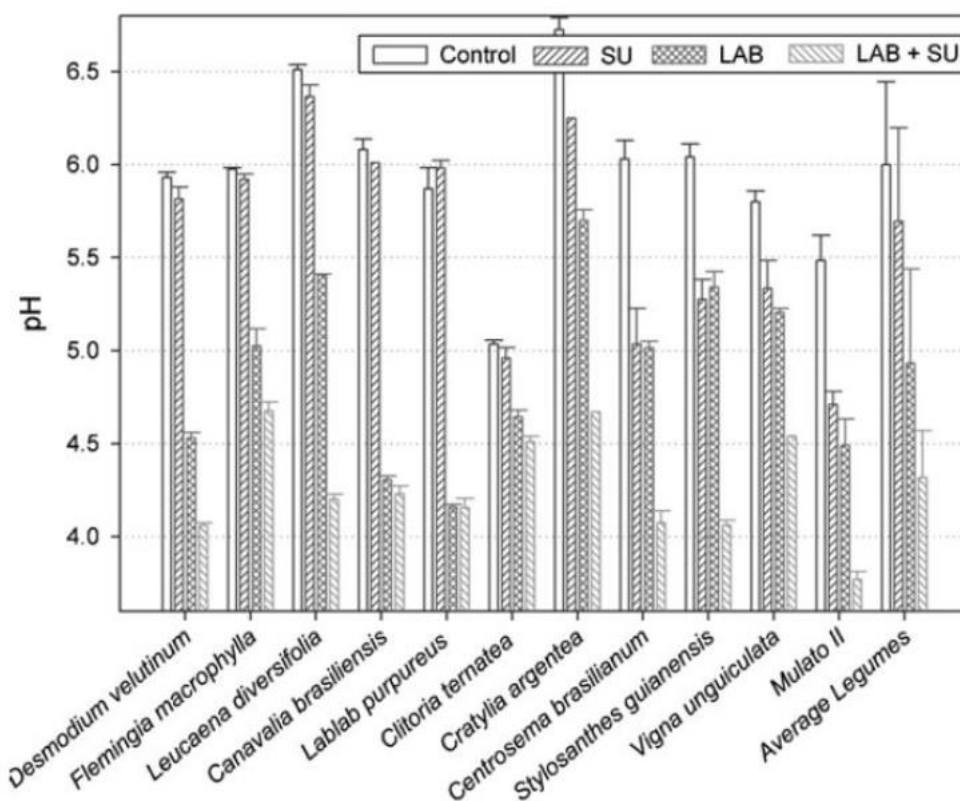


Figura 1. Valores de pH de silagens diferentes espécies após três dias de fermentação. Fonte: Heinritz et al. (2012)

Com base no trabalho de Heinritz et al. (2012) é possível inferir que, assegurando-se a

disponibilidade de substrato, a presença de bactérias ácido-láticas homofermentativas é recomendada em silagens. A geração de CO₂ resulta em perda de carbono, ou seja, perda de nutrientes dos materiais das plantas. Portanto, bactérias como *Lactiplantibacillus plantarum* e *Pediococcus* sp., são desejáveis no processo de fermentação de silagens. Além disso, a intensidade das respostas pode variar de acordo com a espécie vegetal e com o microrganismo estudado, sugerindo uma especificidade entre estes dois componentes.

Dessa forma, constatamos que:

- o efeito do inoculante microbiano objetivando a queda do pH deve ser monitorado nos períodos iniciais da fermentação
- o efeito do inoculante microbiano varia em função das características da cultura ensilada
- a falta de substrato diminuirá o efeito do inoculante microbiano
- em situações específicas é necessária a adição de açúcares para que o inoculante apresente efeito.

5. ASSOCIAÇÃO ENTRE O TIPO DE INOCULANTE E O MATERIAL ENSILADO VISANDO O SUCESSO NA UTILIZAÇÃO

Existem diversos tipos de inoculantes no mercado sendo comercializados e na maioria das vezes o ponto mais importante é negligenciado. A primeira pergunta a ser feita quando se pensa em utilizar um inoculante microbiano é: qual a cultura ou alimento irei ensilar? Com base na resposta dessa pergunta, haverá o direcionamento para diferentes tipos de inoculantes, como descrito no tópico anterior.

Cada cultura apresenta características importantes que afetam o processo de fermentação. Dessa forma, as culturas utilizadas para a produção de silagem, apresentam diferentes situações críticas, que estão relacionadas com as suas características (Figura 4).

Culturas com baixa concentração de CS e MS no momento da colheita, como leguminosas e capins tropicais, tendem a apresentar fermentação lenta e maior dificuldade de queda do pH. Em trabalho de Heinritz et al. (2012) apresentou a influência da baixa concentração de MS e CS em culturas ensiladas, afirmando maior tempo para alcançar o pH e fermentação ideal. Para essas culturas recomenda-se a utilização de inoculantes homofermentativos e heterofermentativos facultativos, como: *Lactiplantibacillus plantarum*, *Pediococcus Pentosaceus*, *Weissela* spp., *Enterococcus faecium*, dentre outros.



Figura 4. Relação entre características das culturas utilizadas para produção de silagem e recomendação de aditivos.

Por outro lado, culturas com elevada concentração de CS ou elevada concentração de MS serão mais suscetíveis à deterioração aeróbia, ocasionada principalmente por leveduras. Nesses casos, recomenda-se a utilização de inoculantes heterofermentativos, como: *Lentilactobacillus buchneri*, *Levilactobacillus brevis*, *Lentilactobacillus hilgardii*.

Recentemente, a combinação de dois ou mais microrganismos com finalidades diferentes tem sido avaliada na pesquisa e no campo. Inoculantes contendo bactérias homofermentativas e heterofermentativas fazem parte de um combo visando acelerar a fermentação e ao mesmo tempo melhorar a estabilidade aeróbia. É importante refletir e consultar os resultados de pesquisa disponíveis acerca do produto que se pretende utilizar.

Diante das opções, o mais importante é conhecer o problema ou a condição de ensilagem ou de pós-abertura que se deseja melhorar. Esse caminho irá direcionar para qual inoculante microbiano utilizar. Acreditamos que este seja um dos pontos de grande relevância, dentre aqueles que afetam a obtenção de sucesso com o uso de inoculantes microbianos em silagens.

6. OUTROS FATORES QUE PODEM AFETAR EFICÁCIA DOS INOCULANTES MICROBIANOS

Diversos fatores podem influenciar o efeito dos inoculantes microbianos. Alguns dos principais fatores relacionados ao material ensilado já foram discutidos. Além destes, é possível elencar fatores básicos que, aliados aos conhecimentos da cultura a ser ensilada, são responsáveis pela obtenção de sucesso com o uso de inoculantes. Dentre esses, discutiremos alguns principais abaixo.

6.1. Condições adequadas de ensilagem

A utilização do inoculante microbiano é apenas uma etapa na adoção da tecnologia, ou seja, deve ser realizada assumindo-se que todas as etapas da ensilagem (planejamento, cultivo, colheita, compactação, vedação e utilização) estão sendo executadas segundo as recomendações técnicas. Falhas em qualquer etapa do processo irão comprometer o efeito do inoculante. Com isso, visando a maior eficácia do inoculante microbiano, deve-se sempre buscar uma silagem bem confeccionada.

Em algumas situações, espera-se que o inoculante opere literalmente um milagre para corrigir falhas no processo de confecção da silagem, sendo que este não é o seu objetivo. A demora no enchimento do silo, por exemplo, pode comprometer o efeito do inoculante devido ao consumo dos açúcares durante o período em que a forragem permanece exposta ao oxigênio.

Como descrito ao longo desse texto, o inoculante microbiano atuará ou melhorando a fermentação ou aumentando a estabilidade aeróbia e para isso são necessários requisitos básicos, como adequada compactação, disponibilidade de substratos, dentre outros.

6.2. Quantidade de bactérias lácticas aplicadas

A população de BAL aplicada deve ser pelo menos 10% maior que a natural bactérias que estão na forragem. A maioria dos inoculantes são aplicados a uma taxa de 100.000 células por g (UFC/g) de silagem, mas aplicando *L. buchneri* a 400.000 a 600.000 UFC/g podem melhorar ainda mais sua eficácia (Kleinschmit & Kung Jr, 2006). A inoculação em taxas que são mesmo apenas 1% a menos do que as populações naturais podem resultar nesses aditivos tendo pouco impacto na qualidade da silagem (Muck 1989). Consequentemente, adequadas taxas de aplicação são importantes para estimar o valor dos inoculantes.

6.3. Condições de armazenamento e de aplicação

Os inoculantes microbianos são organismos vivos, geralmente armazenados em sachês embalados a vácuo, ou potes de plástico, na forma de liofilizada (em pó). Esses aditivos geralmente têm de um a dois anos de validade e devem ser armazenados. O simples fato de utilização do produto fora do prazo de validade já compromete o resultado.

Diversos fatores relacionados às condições de aplicação poderão afetar a viabilidade e o efeito dos inoculantes microbianos:

- quantidade de inoculante utilizado em relação à quantidade de material ensilado

- local e forma de aplicação do inoculante
- qualidade da água utilizada
- temperatura da água utilizada
- temperatura ambiente no momento da aplicação
- condições de armazenamento do inoculante diluído em água antes da aplicação

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para fazer uma silagem de boa qualidade, deve-se considerar as características da planta e dos fatores microbianos e ambientais que influenciam a fermentação da silagem, os quais afetam o valor nutricional e a qualidade da silagem.

A eficácia de um inoculante depende do tipo e viabilidade das bactérias no inoculante, do número e tipos de microrganismos naturais na forragem, método de aplicação, características da forragem ensilada e tipo de prática de ensilagem empregada. Esses fatores devem ser considerados como um pacote integrado, pois a negligência de qualquer um dos componentes pode levar a uma falha no processo de preservação da forragem. Os inoculantes microbianos podem facilitar o processo de ensilagem, mas não substituem a atenção aos fatores fundamentais que são a chave para fazer uma silagem de boa qualidade.

Os avanços na ciência dos inoculantes produziram inoculantes que podem melhorar a fermentação (1ª geração), melhorar a estabilidade aeróbia da silagem (2ª geração) e, no caso de inoculantes de 3ª geração, até mesmo a digestibilidade da fibra.

Os inoculantes de quarta geração estão com o foco no fornecimento de silagem com propriedades probióticas que podem proporcionar desempenho de benefícios à saúde do animal.

As interações microbianas que ocorrem dentro do silo são de alta complexidade, o que torna impossível garantir uma resposta fixa para o uso de inoculantes, uma vez que diversos fatores influenciam o seu efeito. Dessa forma, o uso de inoculantes microbianos é uma forma de assegurar a uniformização da silagem e a sua adequada preservação, mas nunca a correção de falhas no processo de ensilagem.

8. REFERÊNCIAS

Ávila, C.L.S., Pinto, J.C., Figueiredo, H.C.P. et al. Estabilidade aeróbia de silagens de capim-mombaça tratadas com *Lactobacillus buchneri*. Revista Brasileira de Zootecnia, Vol. 38, n.5, pp.779-787, 2009.

Alori E. T. and Babalola O. O. Microbial Inoculants for Improving Crop Quality and Human Health in Africa. 2018. Front. Microbiol. 9:2213. doi: 10.3389/fmicb.2018.02213

Heinritz, S.N.; Martens, S.D.; Avila, P.; Hoedtje, S. The effect of inoculant and sucrose addition on the silage quality of tropical forage legumes with varying ensilability. Animal Feed Science and Technology, v.174, n.3, p.201-210, 2012.

Jalčí, D., Laukova, A., Simonova, M., Váradyová, Z. & Homolka, P. The use of bacterial inoculants for grass silage: their effects on nutrient composition and fermentation parameters in grass silages. Czech Journal of Animal Science, v.54, n. 2, pp.84-91, 2009.

Kaban G., Kaya M. Identification of lactic acid bacteria and Gram-positive catalase-positive cocci isolated from naturally fermented sausage (sucuk) J. Food Sci. v. 73, n.8, p. 385-388, 2008.

KLEINSCHMIT, D.H. E KUNG, L. The effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and

Pediococcus pentosaceus R1094 on the fermentation of corn silage. *Journal of Dairy Science*, v.89, n.10, pp.3999 – 4004, 2006b.

Kung, L., Stokes, M.R. e Lin, C.J. Silage Additives. 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.

Lima TA de S, Castro AKF de. ALTERAÇÃO TAXONÔMICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Lactobacillus*. ANVISA [Internet]. 2021. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/ptbr/centraisdeconteudo/publicacoes/alimentos/perguntas-e-respostas/Alteracao-taxonmica-de-linhagens-lactobacillus_1a-versao.pdf

MARI, L. Entenda a reclassificação do gênero *lactobacillus*. *Feed Food*. 2021. Disponível em: <https://feedfood.com.br/entenda-a-reclassificacao-do-genero-lactobacillus>

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

Mozzi, F. Lactic acid bacteria. In: *Encyclopedia of food and health*. B. Caballero, P.M. Finglas, F. Toldrá (Eds.), Academic Press, Oxford, pp. 501-508, 2016.

MCDONALD, P. *The biochemistry of silage*. Chichester: John Wiley & Sons, 1981. 218p.

Muck, R. E. 1989. Effect of inoculation level on alfalfa silage quality. *Trans. ASAE* 32:1153 – 1158.

Nair, J.; Huaxin, N.; Andrada, E.; Yang, h.; Chevaux,E.; Drouin, P.; McAllister, T. A.; Wang, Y. Effects of inoculation corn silage with *Lactobacillus buchneri* on silage quality, aerobic stability, nutrient digestibility, and growth performance of growing beef cattle. *Journal of Animal Science*, Volume 98, Issue 10, October 2020, skaa267, <https://doi.org/10.1093/jas/skaa267>

Pahlow, G, Muck, R.E., Driehuis, F., Oude Elfering, S.J.W.H. e Spoelstra, S.F. 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.

Penteado, D.C.S; Santos, E.M.; Carvalho, G.G.P., Oliveira, J., Zanine, A.M., Pereira, O.G., Ferreira, C.L.L.F. Inoculação com *Lactobacillus plantarum* da microbiota em silagem de capim-mombaça. *Archivos de Zootecnia*, v.56, p.191-202, 2007.

Reich, L.J. & Kung Jr, L. Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Animal Feed Science and Technology*, v.159, n.34, p.105-109, 2010

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Express*, v. 9, n. 1, p. 205, dez. 2019.

Weinberg, Z.G. e Muck, R.E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiol. Rev.* v.19, n.1, pp.53-68, 1996.

Wieringa, G.W. e Beck, T. Investigations on the use of cultures of lactic acid bacteria in preparation of silage in small containers. 1. Obtaining actives *Lactobacillus* cultures for inoculation trials. *Wirtschaftseigene Futter*, v.10, pp.34- 44, 1964.

Woolford, M.K. *The silage fermentation*. New York, Marcel Dekker. 1984, p.23- 132

White, D. *The physiology and biochemistry of prokaryotes (2)*. Oxford University Press, 2000.

Whittenbury, R. *An investigation of the acid bacteria*. University of Edinburgh. 1961