

USO DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS COMO AGENTES DE BIOCONTROL PARA LA PRESERVACIÓN DE SILOS.

MERLO, Carolina
Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal.
IMBIV. CONICET. Cátedra de Microbiología.
Facultad de Ciencias Agropecuarias.
Universidad Nacional de Córdoba.

Introducción

En la mayoría de los sistemas de producción, los granos y forrajes son almacenados, para evitar el deterioro y mantener el contenido nutritivo. El almacenamiento se realiza utilizando silos y pueden comprender períodos que alcancen varios meses antes de su comercialización y/o utilización (Pieper et al., 2011; Idler et al., 2012). El ensilaje es un método de preservación de los cultivos (alfalfa, cebado, trigo, sorgo, maíz, etc) basado en la fermentación de las bacterias ácido lácticas (BAL) epificas bajo condiciones anaeróbicas (Dunière et al. 2013; Amanullah et al 2014; Wang et al. 2014; Yuan et al. 2015).

El proceso de ensilado implica muchos pasos que deben ser programados y controlados cuidadosamente para asegurar el éxito de ensilaje con mínimas pérdidas económicas y riesgos para la salud. El ensilaje presenta las siguientes etapas: cosechar en el momento óptimo de madurez, cortar, colocar en el silo, compactar y sellar para excluir el aire y almacenar. Una vez que el material ha sido compactado en los silos comienzan a suceder importantes cambios físicos, químicos y microbiológicos durante el almacenamiento (Dunière et al. 2013). En la primera etapa del proceso de ensilaje se consume el oxígeno por respiración residual de las células vegetales y la actividad de microorganismos aeróbicos (enterobacterias, hongos y levaduras) consumiendo carbohidratos como glucosa y fructosa. La actividad de los microorganismos aeróbicos persiste hasta que se consume todo el oxígeno o la acidificación es suficiente para frenar su metabolismo. Cuando se establecen condiciones anaeróbicas actúan las BAL produciendo ácidos orgánicos y disminuyendo el pH lo cual ayuda a conservar el silo. En los silos donde ocurre una extensa fase aeróbica, baja acidificación o incorporación de suelo, predominan microorganismos que deterioran el silo como Clostridios, levaduras, hongos y microorganismos patógenos accidentalmente incorporados (Channaiah et al. 2010; Crowley et al. 2013; Dunière et al. 2013, Muck 2013; Santos et al. 2013; Amanullah et al. 2014; Wang et al. 2014; Oliveira et al. 2015).

Debido a la creciente utilización de ensilaje en el mundo, es necesario asegurar que el silo producido sea de buena calidad. El uso de material vegetal inmaduro o de baja calidad, una pobre acidificación debido al insuficientemente rápido establecimiento de la anaerobiosis, y un insuficiente control de la contaminación por microorganismos patógenos llevan a un silo forrajero de baja calidad. La degradación de silo presenta un riesgo para la salud ya que puede ser un vector de transmisión de agentes patógenos a los animales y humanos. La salud humana y animal puede entonces estar amenazada a través de la enfermedad directa o por ser portadores asintomáticos de patógenos (Channaiah et al. 2010; Dunière et al. 2013).

Microorganismos contaminantes del silo

El ensilaje puede ser vector de diversos microorganismos indeseables que pueden perjudicar la conservación del silo y afectar la salud humana y animal. La microbiota indígena de los granos y el forraje consiste de virus, bacterias, hongos filamentosos, levaduras y protozoos (Oliveira et al. 2015). Aquellos microorganismos que degradan el material del silo son considerados microorganismos causante de deterioro e inducen a pérdidas económicas, mientras que aquellos que producen enfermedades en humanos y animales son microorganismos patógenos (Dunière et al. 2013).

Los hongos filamentosos y las levaduras son los principales microorganismos involucrados en el proceso de deterioración aeróbica del silo. Las levaduras son consideradas uno de los grupos más importantes involucrados en el deterioro aeróbico durante la fase aeróbica al comienzo del ensilaje y la fase de descarga del silo. Estos microorganismos son eucariotas anaerobios facultativos. Las levaduras son ácido tolerantes y durante la fase de descarga la oxigenación del silo activa la vía del metabolismo de los ácidos orgánicos incrementando el pH y permitiendo el crecimiento de microorganismos menos tolerantes a la acidez (Tabacco et al. 2011; Dunière et al. 2013; Muck 2013; Oliveira et al. 2015). Las levaduras degradan los compuestos solubles en CO₂ y alcoholes, los cuales son tóxicos, decreciendo el valor nutricional del silo (Dunière et al. 2013; Ferreira et al. 2013; Oliveira et al. 2015).

Los hongos también son microorganismos que están involucrados en la degradación y la contaminación del silo, son estrictamente aerobios por lo que solo pueden encontrarse en zonas aerobias. Los hongos productores de micotoxinas pueden estar presentes deteriorando el silo y generando pérdidas económicas, siendo los más comunes

Penicillium, *Fusarium* y *Aspergillus*. Las micotoxinas son metabolitos secundarios que pueden permanecer en el silo aún cuando el hongo ha desaparecido (Dunière et al. 2013; Oliveira et al. 2014; Bianchini et al. 2015).

Las bacterias indeseables que se encuentran en el silo están frecuentemente más asociadas a la producción de enfermedades que con la degradación del silo. La inclusión accidental de suelo en conjunto con el material vegetal durante el llenado del silo puede incorporar bacterias ácido butíricas. Estas bacterias forman esporas y transforman el ácido láctico en ácido butírico, hidrógeno y CO₂ a un pH relativamente bajo. Además, el crecimiento de las bacterias ácido butíricas induce un incremento de pH permitiendo el crecimiento de microorganismos menos ácido tolerantes que degradan el silo (Vissers et al. 2007; Dunière et al. 2013). Un rápido y pronunciado descenso de pH previene el crecimiento de los clostridios (Vissers et al. 2007). Los silos contaminados pueden ser un vector de bacterias ácido butíricas de los géneros *Clostridium* y *Bacillus*. Además, el consumo de forraje contaminado con estas bacterias puede producir enfermedades en los animales o contaminación de la leche que producen (Vissers et al. 2007).

Las especies de *Listeria* son ubicuas de todos los ambientes y pueden estar presentes en los silos. *L. monocytogenes* es un patógeno de origen alimentario y es la principal especie causante de listeriosis, enfermedad que incluye meningoencefalitis, aborto, septicemia, gastroenteritis y hasta la muerte. El riesgo para la salud humana ocurre como resultado de contacto directo con animales infectados o por ingestión de productos animales contaminados (Rodríguez Amado et al. 2012; Santos et al. 2013). Valores de pH mayores a 4,5 y escasa anaerobiosis en el silo incrementa el riesgo de presencia de *Listeria* spp. En análisis realizados en silos de pasturas y maíz se detectó un 82 % de *Listeria* spp. (Rodríguez Amado et al. 2012).

Escherichia coli también es una bacteria que puede ser encontrada en silos en donde no ha ocurrido una adecuada actividad fermentativa de las BAL, y por lo tanto el pH no es lo suficientemente bajo incrementando la sobrevivencia de *E. coli* patógenas como la cepa *E. coli* O157:H7. Por lo tanto el ganado alimentado con forraje proveniente de silos ha sido propuesto como un vehículo para la dispersión de *E. coli* patógenas (Dunière et al. 2013; Oliveira et al. 2014). Existen otras bacterias patógenas que pueden encontrarse en el silo. *Mycobacterium bovis* es una patógena que frecuentemente se encuentra en el silo y es causante de la tuberculosis bovina, siendo los humanos también susceptibles. Asimismo pueden encontrarse en el silo *Yersinia enterocolitica* causante de

enfermedades zoonóticas en humanos y animales; y *Campylobacter* sp., un importante patógeno de origen alimentario (Dunière et al. 2013).

Para inhibir el crecimiento de microorganismos contaminantes en el silo se han utilizado una gran variedad de ácidos como aditivos, sin embargo la seguridad de estos químicos es la principal preocupación al momento de su utilización (Pieper et al. 2011; Dunière et al. 2013). Por lo tanto, lograr una adecuada seguridad en los alimentos almacenados es uno de los problemas que requieren una urgente respuesta en la gran mayoría de los países en desarrollo. Es así que mantener la calidad de los silos es un objetivo de importancia no solo desde una visión sanitaria y nutricional sino también desde el punto de vista económico, en el precio final que este alcanza al momento de su comercialización. Como respuesta a estos problemas surge la necesidad de buscar nuevos métodos de control de plagas más comprometidos con el ambiente y con la salud del consumidor. Una opción más segura es el uso de aditivos biológicos como las BAL con la finalidad de promover una rápida acumulación de ácidos orgánicos producto de la fermentación y de esta manera lograr la preservación del silo (Santos et al. 2013; Wang et al. 2014)

Bacterias ácido lácticas: bacterias benéficas

Las BAL son microorganismos gram positivos, con forma de cocos o bacilos y ácido tolerantes. Estas bacterias no presentan movilidad y no forman esporas (Crowley et al. 2013; Brosnan et al. 2014). Las BAL incluyen a las homofermentativas de los géneros *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* y algunas *Lactobacillus* spp. que producen ácido láctico como producto final mayoritario; y las heterofermentativas de los géneros *Weissella*, *Leuconostoc* y algunas *Lactobacillus* que producen cantidades equimolares de ácido láctico, CO₂ y etanol. Las BAL son microaerofilas y su crecimiento depende de las azúcares disponibles, además, tienen requerimientos metabólicos que incluyen aminoácidos, vitaminas, purinas y pirimidinas (Crowley et al. 2013; Santos et al. 2013; Oliveira et al. 2014).

El uso de bacterias lácticas en los alimentos ha sido extensamente estudiado, ya que evitan el deterioro por otros microorganismos contaminantes e incluso mejoran su calidad y perfil nutricional (Blagojev et al. 2012; Crowley et al. 2013; Cheong et al. 2014; Oliveira et al. 2014). Además, las BAL son aceptadas como seguras para su uso en alimentos según la FAO y EFSA (Crowley et al. 2013), por lo que la fermentación de las BAL es

considerada un proceso biotecnológico simple y seguro para mantener y/o mejorar las propiedades de los alimentos (Blagojev et al. 2012; Crowley et al. 2013; Brosnan et al. 2014; Oliveira et al. 2014) y debido a ello existe un creciente interés en su investigación como potencial agente de biocontrol. Las BAL han sido aisladas de una amplia variedad de hábitats y presentan un amplio espectro de actividad antimicrobiana (Blagojev et al. 2012; Fhoula et al. 2013; Muck et al. 2013; Cheong et al. 2014; Bianchini 2015).

La fermentación láctica es una de las formas más importantes de biopreservación del silo. Cuando se establece la anaerobiosis en el silo las bacterias anaerobias facultativas llevan a cabo la fermentación heteroláctica lo que disminuye ligeramente el pH. Esta ligera acidificación sumada a la anaerobiosis promueve el desarrollo de las BAL ácido tolerantes como *Lactobacillus brevis*, *L. plantarum* y especies de *Pediococcus* que convierten los carbohidratos solubles principalmente en ácido láctico (Dolci et al. 2011; Dunière et al. 2013; Santos et al. 2013). En esta etapa los microorganismos compiten por los nutrientes disponibles y en los silos bien procesados las BAL dominan la fermentación produciendo una rápida disminución del pH que ayuda a preservar el silo (Dolci et al. 2011; Santos et al. 2013; Wang et al. 2014). Sin embargo el número de BAL en el material vegetal a ensilar es bajo (Ferreira et al. 2013; Rigueira et al. 2013). Es por esto que se utilizan aditivos en base a BAL para promover la actividad de estas bacterias y lograr una adecuada conservación del silo.

Entre los beneficios de la utilización de aditivos con BAL en el ensilaje se puede mencionar la inhibición del crecimiento de hongos filamentosos, levaduras y bacterias patógenas, adsorción de micotoxinas y el mejoramiento del valor nutricional de los silos. Diversos autores mostraron que la inoculación de silos con BAL aumenta la actividad fermentativa con la consecuente producción de ácidos orgánicos y disminución del pH, además de producir otros metabolitos que inhiben la actividad y desarrollo de microorganismos que deterioran el silo (levaduras clostridios y hongos productores de micotoxinas) y bacterias patógenas (Tabla 1) (Tabacco et al. 2011; Rodríguez Amado et al. 2012; Ferreira et al. 2013; Santos et al. 2013; Amanullah et al. 2014; Bianchini 2015; Jin et al. 2015; Yuan et al. 2015).

Existen numerosos estudios que evalúan inoculantes a base de BAL a lo largo de una gran variedad de forrajes (Tabla 1). Las bacterias más utilizadas comercialmente como inoculantes son BAL homofermentativas como *L. plantarum* (Amanullah et al. 2014), la cual mostró ser una de las especies más estudiadas como inoculante de silos (82%, Figura 1). El uso de BAL homofermentativas como *L. plantarum* es de relevancia en el

proceso de ensilaje para producir gran cantidad de ácido láctico y lograr una rápida disminución del pH y de esta manera preservar el silo. Además, se ha reportado que algunas cepas de *L. plantarum* producen metabolitos con actividad antifúngica cuando son usadas como inoculantes (Crowley et al. 2013; Bianchini 2015). Sin embargo, el ácido láctico puede ser oxidado por microorganismos aerobios afectando la estabilidad del silo, además de que existe una disminución en la producción de ácidos grasos volátiles antifúngicos con la utilización de solo *L. plantarum*.

Es por esto que también se ha buscado la utilización de BAL heterofermentativas. Entre las más estudiadas se encuentra *Lactobacillus buchneri* (Figura 1) que produce ácido acético y 1,2-propanodiol a partir de la degradación anaeróbica de ácido láctico, lo cual mejora la estabilidad aeróbica del silo (Tabacco et al. 2011; Muck 2013; Dolci et al. 2013). Existen estudios que evalúan la utilización de estas dos especies combinadas así como también la utilización de otras especies de BAL, aunque en menor proporción (Figura 1 y Tabla 1).

Ferreira et al. (2013) encontraron que silos experimentales inoculados con *Streptococcus bovis* presentaban menor valor de pH y menor número de enterobacterias que los silos inoculados con *Enterococcus faecium* y los sin inocular. Estos autores también observaron que la inoculación con la cepa *Streptococcus bovis* HC5 producía un silo con mayor valor nutritivo (mayor contenido de proteína cruda) debido a que esta cepa produce una bacteriosina (bovicina) que probablemente inhibe el crecimiento de bacterias proteolíticas como las enterobacterias y clostridios.

Santos et al. (2013) observó que la inoculación de silos de maíz con *L. Plantarum*, *L. buchneri* y *Leuconostoc mesenteroides* disminuía las poblaciones de hongos filamentosos levaduras y enterobacterias. Sin embargo, solo en los silos inoculados con *Leuconostoc mesenteroides* y algunas cepas de *L. plantarum* no se observaba presencia de *Listeria*.

Diferentes especies y a veces diferentes cepas de de la misma especie pueden producir diferentes mezclas de ácidos que en su conjunto presentan actividad antimicrobiana. Sin embargo debido a la compleja interacción y comúnmente sinérgica entre estos compuestos diferentes, el mecanismo de acción de la inhibición microbiana de las BAL es difícil de elucidar (Bianchini 2015). Carvalho et al. (2014) menciona que los comportamientos diferenciales de las cepas de BAL durante la fermentación de carbohidratos y el período de ensilaje refuerza la importancia de elegir cepas específicas para cada cultivo. En este sentido Bianchini (2015) menciona que la tasa de inhibición de actividad antifúngica de las BAL depende de la cepa de BAL y hongo evaluada.

La producción de micotoxinas es uno de los mayores problemas en el silo, ya que persisten aun cuando el hongo no está, las BAL también pueden inhibir o estimular la producción de micotoxinas. Algunas cepas de BAL tienen la capacidad de adsorber micotoxinas a través de fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno, o interacciones hidrofóbicas por lo que la utilización de cepas con estas características podría disminuir la contaminación por micotoxinas. Sin embargo se necesitan más estudios para entender el comportamiento en estos sistemas y su potencial como adsorbentes de micotoxinas (Blagojev et al. 2012; Ahlberg et al. 2015; Bianchini 2015). Por lo tanto las BAL son un método biológico novedoso para reducir la toxicidad de las micotoxinas o prevenir su absorción.

Producción de metabolitos por bacterias ácido lácticas

La actividad antimicrobiana de las BAL es atribuida a una amplia variedad de metabolitos que incluyen: ácidos orgánicos (ácido láctico, butírico, acético, propiónico, fórmico, ácido fenil-láctico y ácido hidroxifenil-láctico) (Crowley et al. 2013; Carvalho et al. 2014; Peyer et al. 2016), compuestos antagónicos (CO₂, etanol, peróxido de hidrógeno, ácidos grasos, diacetilo, acetoina, propionato, dipéptidos cíclicos y 3 hidroxí ácidos grasos), bacteriocinas (nisina, reuterina, nisin, reuterin, reutericyclin, pediocin, lacticin, enterocin, etc.) (Dalié et al. 2010; Blagojev et al. 2012; Rodríguez Amado et al. 2012; Da Silva Sabo et al. 2014; Bianchini 2015).

El principal efecto de la preservación de un silo es la acidificación la cual se logra por la fermentación de la BAL que produce ácidos orgánicos reduciendo el pH por debajo de 4 y de esta manera inhibe el crecimiento de microorganismos que deterioran el silo. La producción de esta acidificación depende de la anaerobiosis, de la capacidad buffer y de la materia seca del cultivo. Si la capacidad buffer es alta los microorganismos aeróbicos se mantendrán activos por un periodo más largo reduciendo el contenido de hexosas y pentosas disponibles para la fermentación de las bacterias ácido lácticas. Por otro lado, si la acidificación del silo es demorada, se desarrollan los clostridios que transforman el ácido láctico en ácido butírico (ácido más débil) con el consecuente incremento de pH y deterioro del silo (Oliveira et al. 2014)

La actividad microbiana de las BAL esta principalmente relacionada a la formación de ácidos orgánicos. La actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos puede estar relacionado con la reducción del pH en el medio, la reducción del pH intracelular debido al

pasaje de ácidos a través de la membrana celular, el cambio en la permeabilidad celular a través de la interferencia de las proteínas de membrana responsables del transporte activo de nutrientes, o debido a la toxicidad de la célula debido a la acumulación de compuestos alcalinos dentro de la célula (Dalié et al. 2010; Santos et al. 2013)

El ácido acético es uno de los ácidos orgánicos producidos por las BAL al cual se le atribuye gran parte de la actividad antimicrobiana en los silos. La producción de ácido acético mejora la estabilidad del silo debido a que inhibe el crecimiento de hongos y levaduras (Tabacco et al. 2011; Amanullah et al 2014; Jin et al. 2015). El ácido acético presenta mayor actividad antimicrobiana que el ácido láctico debido a su alto valor de pKa lo que causa un mayor nivel de disociación dentro de la célula. Santos et al. (2013) mencionan que el ácido acético fue capaz de reducir el crecimiento de levaduras y hongos filamentosos proveyendo una mayor estabilidad aeróbica al silo. Cuando el pH del silo es menor a 4,73, el ácido acético se encuentra principalmente en su forma no disociada, lo cual provoca que las membranas de los hongos filamentosos y levaduras se vuelvan permeables al ácido acético. Dentro de la célula el ácido es disociado ($\text{RCOO}^- + \text{H}^+$) debido al pH cercano a la neutralidad, liberando los iones H^+ y reduciendo el pH intracelular (Santos et al. 2013). Por lo tanto la reducción de las poblaciones de levaduras, hongos filamentosos y enterobacterias a través de la fermentación de la masa del silo se debe principalmente a las condiciones desfavorables para el desarrollo de estos microorganismos. Estos autores observaron que las concentraciones de ácido acético y propiónico luego del proceso de fermentación fueron mayores que la concentración inhibitoria mínima para estos microorganismos.

Peyer et al. (2016) menciona que el ácido acético es un mejor antifúngico que el ácido láctico, sin embargo, el ácido láctico es uno de los principales productos de la fermentación de las BAL que juega un papel fundamental en la inhibición del crecimiento de los hongos debido a que disminuye el pH del medio e incrementa la actividad antimicrobiana de los metabolitos. Estos autores probaron varios metabolitos producidos por las especies *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus brevis*, siendo los ácidos fenólicos más activos el ácido benzoico, ácido ferulico y el ácido p-cumarico. La eficacia como antifúngico del ácido ferulico y p-cumarico radica en el carácter hidrófobo debido a las cadenas laterales insaturadas, mientras que la alta eficiencia antifúngica del ácido benzoico radica en la no sustitución por grupos hidroxilos. No obstante, estos autores observaron que en el mosto fermentado son los ácidos orgánicos los principales

responsables de inhibir el crecimiento de los hongos, debido a que los ácidos fenólicos son liberados a una concentración menor a la concentración inhibitoria mínima.

Diversos autores mencionan que la actividad antimicrobiana de las BAL se debe a la actuación sinérgica de diversos ácidos en conjunto con otros metabolitos producidos por las BAL (Ahlberg et al. 2015). Crowley et al. (2013) menciona que el ácido acético presenta un efecto sinérgico con el ácido láctico en inhibir el crecimiento antifúngico.

Peyer et al. (2016) detectaron actividad antifúngica sinérgica cuando mezclaban 3-PLA y ácido hidroferulico. El 3-PLA puede ser formado por las BAL a través del catabolismo de los aminoácidos (fenilalanina) y es un compuesto antifúngico prometedor debido a que no es tóxico para los humanos y a su falta de olor natural comparado con otros metabolitos como por ejemplo el ácido acético. Broberg et al. (2007) encontraron concentraciones de 3 PLA más altas en silos inoculados con *L. plantarum* que en silos no inoculados sugiriendo que este compuesto contribuye con la actividad antimicrobiana. Estos autores detectaron una gran variedad de compuestos antifúngicos presentes en silos inoculados demostrando que la inoculación con BAL promueve la producción de compuestos con actividad antimicrobiana.

Dentro de los metabolitos producidos por las BAL, los ácidos grasos 3 hidroxí son compuestos reportados como potentes antifúngicos (Broberg et al. 2007; Dalié et al. 2010). La estructura del ácido graso es un importante factor antimicrobiano que requiere al menos un grupo hidroxilo y un doble enlace a lo largo de la cadena carbonada (Crowley et al. 2013)

Las bacteriocinas son proteínas biológicamente activas producidas por BAL que son activas contra muchas bacterias gram positivas (Rodríguez Amado et al. 2012; Da Silva Sabo et al. 2014). Cepas de *Pediococcus acidilactici* y *Lactococcus lactis* productoras de bacteriocinas (pediocina y nisina respectivamente) mostraron ser útiles para el control de *L. monocytogenes* en silos de pasturas y maíz. El uso de estas 2 especies productoras de bacteriocinas coinoculadas con *Lactobacillus plantarum* fue capaz de eliminar a *Listeria* después de 2 días de ensilaje, lo cual está relacionado con el bajo nivel de pH alcanzado en el silo (3,5-3,7) como consecuencia de la alta tasa de producción de ácido láctico y acético. El pH bajo promueve la liberación de las bacteriocinas (nisina y pediocina) de la superficie de las células y la actividad bacteriana de estas bacteriocinas es máxima a valores de pH de 3,5. Además, estas condiciones de ácidos pueden llevar a la acumulación de diversas sustancias antibacterianas que pueden actuar de manera sinérgica contra *L. monocytogenes* (Rodríguez Amado et al. 2012).

CONCLUSIONES

Los estudios científicos demuestran que la utilización de BAL es un método biológico exitoso para lograr la preservación del silo. El silo es un sistema complejo, y la mayoría de las investigaciones analizan los productos de fermentación mayoritarios, sin embargo se necesitan mayores esfuerzos en identificar los compuestos que se encuentran en menor proporción que pueden influir en la actividad antimicrobiana en los silos. Algunos de ellos son compuestos volátiles los cuales son de uso potencial para realizar un manejo integral del sistema complejo del silo.

REFERENCIAS

- Ahlberg SH, Joutsjoki V, Korhonen HJ. 2015. Potential of lactic acid bacteria in aflatoxin risk mitigation *International Journal of Food Microbiology* 207: 87-102.
- Amanullah SM, Kim DH, Lee HJ, Joo YH, Kim SB, Kim SC. 2014. Effects of Microbial Additives on Chemical Composition and Fermentation Characteristics of Barley Silage. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 27: 511-517.
- Asurmendi P, García MJ, Pascual L, Barberis L. 2015. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* by lactic acid bacteria isolated from brewer's grains used as feedstuff in Argentina. *Journal of Stored Products Research* 61: 27-31.
- Bianchini A. 2015. Lactic acid bacteria as antifungal agents. En: *Advances in Fermented Foods and Beverages*. Holzapfel W (ed.). Elsevier, EEUU.
- Blagojev N, Škrinjar M, Vesković-Moračanin S, Šošo V. 2012. Control of mould growth and mycotoxin production by lactic acid bacteria metabolites. *Romanian Biotechnological Letters* 17: 7219-7226.
- Broberg A, Jacobsson K, Ström K, Schnürer J. 2007. Metabolite Profiles of Lactic Acid Bacteria in Grass Silage. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 5547-5552.
- Brosnan B, Coffey A, Arendt EK, Furey A. 2014. The QuEChERS approach in a novel application for the identification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria cultures. *Talanta* 129: 364-373.

- Carvalho BF, Ávila CLS, Pinto JC, Neri J, Schwan RF. 2014. Microbiological and chemical profile of sugar cane silagefermentation inoculated with wild strains of lacticacid bacteria. *Animal Feed Science and Technology* 195: 1–13.
- Channaiah LH, Subramanyam B, McKinney LJ, Zurek L. 2010. Stored-product insects carryantibiotic-resistantandpotentially virulententerococci. *FEMS Microbiol Ecol* 74: 464-471.
- Cheong EYL, Sandhu A, Jayabalan J, Kieu Le TT, Nhiep NT, My Ho HT, Zwielehner J, Bansal N, Turner MS. 2014. Isolation of lactic acid bacteria with antifungal activity against the common cheese spoilage mould *Penicillium commune* and their potential as biopreservatives in cheese. *Food Control* 46: 91-97.
- Crowley S, Mahony J, van Sinderen D. 2013. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology* 33: 93-109.
- Dalié DKD, Deschamps AM, Richard-Forget F. 2010. Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control* 21: 370–380.
- da Silva Sabo S, Vitolo M, Domínguez González JM, de Souza Oliveira RP. 2014. Overview of *Lactobacillus plantarum* as a promising bacteriocin producer among lactic acid bacteria. *Food Research International* 64: 527-536.
- Dolci P, Tabacco E, Cocolin L, Borreani G. 2011. Microbial Dynamics during Aerobic Exposure of Corn Silage Stored under Oxygen Barrier or Polyethylene Films. *Applied and Environmental Microbiology* 77: 7499–7507.
- Dunière L, Sindou J, Chaucheyras-Durand F, Chevallier I, Thévenot-Sergentet D. 2013. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Animal Feed Science and Technology* 182: 1-15.
- Ferreira DJ, Lana RP, Zanine AM, Santos EM, Veloso CM, Ribeiro GA. 2013. Silage fermentation and chemical composition of elephant grass inoculated with rumen strains of *Streptococcus bovis*. *Animal Feed Science and Technology* 183: 22– 28.
- Fhoula I, Najjari A, Turki Y, Jaballah S, Boudabous A, Ouzari H. 2013. Diversity and Antimicrobial Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Rhizosphere of Olive Trees and Desert Truffles of Tunisia. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International* 2013: 1-14.
- Jin L, Duniere L, Lynch JP, McAllister TA, Baah J, Wang Y. 2015. Impact of ferulic acid esterase producing lactobacilli and fibrolytic enzymes on conservation

- characteristics, aerobic stability and fiber degradability of barley silage. *Animal Feed Science and Technology* 207: 62-74.
- Muck RE. 2013. Recent advances in silage microbiology. *Agricultural and Food Science* 22: 3–15.
- Oliveira PM, Zannini E, Arendt EK. 2014. Cereal fungal infection, mycotoxins, and lactic acid bacteria mediated bioprotection: From crop farming to cereal products. *Food Microbiology* 37: 78-95.
- Peyer LC, Axel C, Lynch KM, Zannini E, Jacob F, Arendt EK. 2016. Inhibition of *Fusarium culmorum* by carboxylic acids released from lactic acid bacteria in a barley malt substrate. *Food Control* 69: 227-236
- Pieper R, Hackl W, Kornb U, Zeyner A, Souffrant WB, Pieper B. 2011. Effect of ensiling triticale, barley and wheat grains at different moisture content and addition of *Lactobacillus plantarum* (DSMZ 8866 and 8862) on fermentation characteristics and nutrient digestibility in pigs. *Animal Feed Science and Technology* 164: 96-105.
- Rigueira JPS, Pereira OG, Ribeiro KG, Mantovani HC, Agarussi MCN. 2013. The chemical composition, fermentation profile, and microbial populations in tropical grass silages. *R. Bras. Zootec.* 42: 612-621.
- Rodriguez Amado I, Fuciños C, Fajardo P, Guerra NP, Pastrana L. 2012. Evaluation of two bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria as inoculants for controlling *Listeria monocytogenes* in grass and maize silages. *Animal Feed Science and Technology* 175: 137-149.
- Santos AO, Ávila CLS, Schwan RF. 2013. Selection of tropical lactic acid bacteria for enhancing the quality of maize silage. *Journal of Dairy Science* 96: 7777-89.
- Schmidt RJ, Kung Jr L. 2010. The effects of *Lactobacillus buchneri* with or without a homolactic bacterium on the fermentation and aerobic stability of corn silages made at different locations. *Journal of Dairy Science* 93: 1616-1624.
- Tabacco E, Righi F, Quarantelli A, Borreani G. 2011. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *J. Dairy Sci.* 94 :1409-1419.
- Vissers MMM, Driehuis F, Te Giffel MC, De Jong P, Lankveld JMG. 2007. Concentrations of Butyric Acid Bacteria Spores in Silage and Relationships with Aerobic Deterioration. *J. Dairy Sci.* 90: 928–936.

Yuan XJ, Guo G, Wen A, Desta ST, Wang J, Wang Y, Shao T. 2015. The effect of different additives on the fermentation quality, in vitro digestibility and aerobic stability of a total mixed ration silage. *Animal Feed Science and Technology* 207: 41-50.

Wang C, Han H, Gu X, Yu Z, Nishino N. 2014. A survey of fermentation products and bacterial communities in corn silage produced in a bunker silo in China. *Animal Science Journal* 85: 32–36.

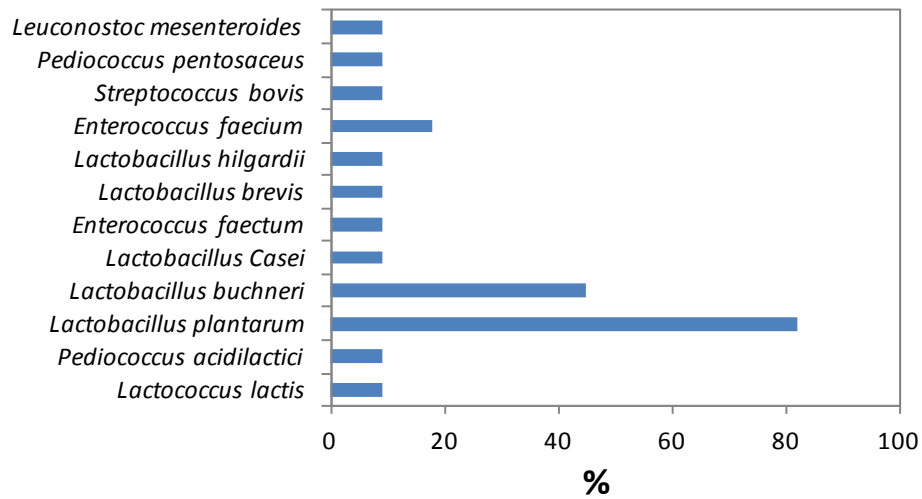


Figura 1: Porcentaje de las especies más investigadas como inoculantes de silo.

Tabla 1: Aditivos de bacterias ácido lácticas inoculados en silos de diferentes cultivos con actividad antimicrobiana.

Especies bacterianas inoculadas	Compuestos evaluado en el silo	Espectro de actividad microbiana	Cultivo ensilado	Referencia
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactococcus lactis</i>	Ácido láctico, ácido acético, etanol	<i>Listeria monocytogenes</i>	Raigrás	Rodríguez Amado et al. (2012)
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Pediococcus acidilactici</i>	Ácido láctico, ácido acético,	<i>Listeria monocytogenes</i>	Raigrás	Rodríguez Amado et al. (2012)
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Pediococcus acidilactici</i>	Ácido láctico, ácido acético, etanol	<i>Listeria monocytogenes</i>	Raigrás	Rodríguez Amado et al. (2012)
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactococcus lactis</i>	Ácido láctico, etanol	<i>Listeria monocytogenes</i>	maíz	Rodríguez Amado et al. (2012)
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Pediococcus acidilactici</i>	Ácido láctico	<i>Listeria monocytogenes</i>	maíz	Rodríguez Amado et al. (2012)
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Pediococcus acidilactici</i>	Ácido láctico, etanol	<i>Listeria monocytogenes</i>	maíz	Rodríguez Amado et al. (2012)
<i>Lactobacillus buchneri</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus Casei</i>	Ácido acético, ácido láctico, ácido succínico etanol, ácidos grasos volátiles	Hongos y levaduras	cebada	Jin et al. (2015)
<i>Lactobacillus buchneri</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Enterococcus faecium</i>	Ácido acético, ácido láctico, ácido succínico etanol, ácidos grasos volátiles	Hongos y levaduras	cebada	Jin et al. (2015)
<i>Enterococcus faecium</i>	Ácido láctico, ácido acético, ácido butírico, ácido propiónico	Hongos, levaduras y enterobacterias	Pasto elefante	Ferreira et al. (2013)
<i>Streptococcus bovis</i>	Ácido láctico, ácido acético, ácido butírico,	Hongos, levaduras y	Pasto elefante	Ferreira et al. (2013)

<i>Lactobacillus buchneri</i>	ácido propiónico Ácido láctico, ácido acético, ácido butírico, ácido propiónico y alcohol	enterobacterias Hongos, levaduras y enterobacterias	Maíz	Santos et al. (2013)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Ácido láctico, ácido acético, ácido butírico, ácido propiónico, 1-2 propanodiol y alcohol	Hongos, levaduras y enterobacterias	Maíz	Santos et al. (2013)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Ácido láctico, ácido acético, ácido butírico, ácido propiónico, 1-2 propanodiol y alcohol	Hongos, levaduras, enterobacterias y <i>Listeria</i> spp	Maíz	Santos et al. (2013)
<i>Lactobacillus plantarum</i> (UFLA SLM08 y 45)	Ácido láctico, ácido acético, ácido butírico, ácido propiónico, 1-2 propanodiol y alcohol	Hongos, levaduras, enterobacterias y <i>Listeria</i> spp	Maíz	Santos et al. (2013)
