

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

QUALIDADE DA SILAGEM DE MILHO COM CAPIM-MARANDU E FEIJÃO-
GUANDU EM SISTEMA INTEGRADO DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA

JAQUELINE ROCHA WOBETO SARTO

Tese apresentada como parte das exigências para
obtenção do Título de Doutor em Zootecnia pelo
Programa de Pós-graduação em Zootecnia da
FMVZ – UNESP - Campus de Botucatu

BOTUCATU - SP
MARÇO DE 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

QUALIDADE DA SILAGEM DE MILHO COM CAPIM-MARANDU E FEIJÃO-
GUANDU EM SISTEMA INTEGRADO DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA

JAQUELINE ROCHA WOBETO SARTO
ZOOTECNISTA

Orientador: Prof. Dr. Ciniro Costa
Coorientadores: Prof. Dr. Paulo Roberto de Lima
Meirelles e Dr. Cristiano Magalhães Pariz

BOTUCATU - SP
MARÇO DE 2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

S251q Sarto, Jaqueline Rocha Wobeto, 1989-
Qualidade da silagem de milho com capim-marandu e feijão-guandu em sistema integrado de produção agropecuária / Jaqueline Rocha Wobeto Sarto. - Botucatu: [s.n.], 2018
59 p.: ils. color., grafs., tabs.

Tese (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2018
Orientador: Ciniro Costa
Coorientador: Paulo Roberto de Lima Meirelles;
Cristiano Magalhães Pariz
Inclui bibliografia

1. Feijão-guandu. 2. Milho doce. 3. Capim-marandu. 4. Silagem. I. Costa, Ciniro. II. Meirelles, Paulo Roberto de Lima. III. Pariz, Cristiano Magalhães. IV. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. V. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

DEDICATÓRIA

Ao meu marido Marcos. Aos meus pais Romeu e Marta.
A minha irmã Nathália. A família Sarto, dedico.

*“Não tente se tornar uma pessoa de sucesso, mas sim
uma pessoa de valor” (Albert Einstein)*

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido Marcos Sarto, que merece menção especial, o seu amor e dedicação para comigo tornaram os dias mais leves.

A minha família por me ensinar que nessa vida nada se perde, ou eu ganho ou eu aprendo (Nelson Mandela).

A Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – UNESP.

A Kansas State University – K-State, pelo período de estágio de pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – Capes, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Prof. Dr. Ciniro Costa, pela excelente orientação e confiança durante todo o doutorado, por sempre me encorajar a pensar de forma independente.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto de Lima Meirelles por me desafiar e enriquecer minhas ideias. Pela amizade e seus incansáveis conselhos.

Ao pesquisador Dr. Cristiano Magalhães Pariz, pelo auxílio nas atividades, amizade e orientação.

Aos professores e funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal e do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UNESP.

SUMÁRIO

CAPITULO 1.....	VII
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	8
1. Introdução.....	8
2. Produção de silagem na integração lavoura-pecuária	8
3. Microbiota da silagem.....	10
4. Micro-organismos desejáveis	11
4.1 Bactérias ácido lácticas (BAL)	11
5. Micro-organismos indesejáveis	12
5.1 Clostrídeos	12
5.2 Bolores e leveduras.....	13
5.3 Bactérias aeróbias formadoras de esporos.....	14
6. Valor Nutricional da silagem	14
7. Referências bibliográficas.....	15
CAPITULO 2	18
RESUMO	19
INTRODUÇÃO	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
Descrição do local.....	20
Delineamento experimental.....	21
Colheita	21
Amostragem e análises.....	22
Análise estatística	23
RESULTADOS.....	23
DISCUSSÕES	34
CONCLUSÕES	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
CAPITULO 3	40
RESUMO	41
1. Introdução.....	41
2. Material e métodos	42
2.1 Descrição do local	42
2.2 Delineamento experimental.....	43
2.3 Colheita e preparo dos silos.....	43

2.4 Amostragem e análises.....	44
2.5 Análise estatística.....	45
3. Resultados	45
4. Discussões.....	52
5. Conclusões.....	54
Referências bibliográficas.....	55
CAPITULO 4.....	58
IMPLICAÇÕES	59

CAPITULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

A baixa disponibilidade de chuvas e redução no valor nutritivo das forragens durante o período seco no Brasil contribuem para queda na produtividade da pecuária de leite e corte, tornando a conservação de forragem uma prática indispensável. A ensilagem constitui uns dos métodos mais importantes de conservação de forragens com a finalidade de suplementar a dieta dos animais durante esse período.

O processo de produção da silagem é denominado ensilagem, compreende corte, picagem, compactação e armazenamento do material em uma estrutura denominada silo. A ensilagem normalmente controla a atividade microbiana mediante combinação de ambiente anaeróbio juntamente com a fermentação natural dos açúcares da forragem a ácidos orgânicos que reduzem o pH, inibindo o desenvolvimento de micro-organismos indesejáveis (JOBIM et al., 2007).

O objetivo da ensilagem é conservar a máxima quantidade de matéria seca, nutrientes e energia da cultura, para posterior alimentação dos animais (KUNG, 2013). O processo de fermentação da forragem no interior do silo pode ser dividido em quatro fases: aeróbia inicial, fermentação, estabilização e pós abertura. Manter o ambiente em anaerobiose durante a fase de armazenamento, bem como a estabilidade aeróbia durante a fase de fornecimento no cocho, são fatores importantes para a preservação do valor nutritivo do material ensilado (GIMENES et al., 2006).

A produção de alimentos é de fundamental importância, em particular as forragens conservadas como feno, silagem e pré-secado. Estas estão sujeitas a abruptas mudanças em seu valor nutricional, principalmente devido à ocorrência de eventos microbiológicos e bioquímicos durante o processo de produção.

2. Produção de silagem na integração lavoura-pecuária

Sistemas agrícolas mistos que envolvem integração lavoura-pecuária (ILP) respondem por cerca de metade do alimento produzido no mundo (HERRERO et al., 2010). Uma definição consensual de sistemas de ILP proposta por pesquisadores da Embrapa Gado de Corte, Embrapa Cerrados, Embrapa Milho e Sorgo e Embrapa Arroz e Feijão, que avaliam esses sistemas é da seguinte forma: “Integração lavoura-pecuária são sistemas produtivos de grãos, carne, leite, lã, e outros, realizados na mesma área, em cultivo simultâneo, sequencial ou rotacionado, onde se objetiva maximizar a sua

utilização, os ciclos biológicos das plantas, animais, e seus respectivos resíduos, aproveitar efeitos residuais de corretivos e fertilizantes, minimizar e otimizar a utilização de agroquímicos, aumentar a eficiência no uso de máquinas, equipamentos e mão-de-obra, gerar emprego e renda, melhorar as condições sociais no meio rural, diminuir impactos ao ambiente, visando a sustentabilidade” (MACEDO, 2009).

A ILP pode ser feita pelo consórcio, sucessão ou ainda rotação de culturas anuais com forrageiras, sendo que os objetivos na atividade pecuária vão desde a recuperação de pastagens degradadas, a manutenção de altas produtividades das pastagens e, principalmente, a produção forrageira na entressafra (KLUTHCOUSKI e YOKOYAMA, 2003).

Além da diversificação das atividades e benefícios aos solos degradados, os sistemas integrados podem também ser utilizados na produção de silagem, evitando a escassez de alimentos durante a entressafra forrageira. De acordo com Millen et al. (2009), a silagem representa 67,7% da escolha dos nutricionistas a ser utilizada como fonte primária de volumoso, sendo que a silagem de milho é a mais utilizada, representando 38,10% deste total. Tradicionalmente, dentre as forrageiras utilizadas com o propósito de ensilagem, o milho é a que mais se destaca, sobretudo em razão do seu valor nutritivo e da boa produção de massa por unidade de área plantada (ZEOULA et al., 2003).

O consórcio de gramíneas e leguminosas na ensilagem é particularmente com o intuito de favorecer o aumento do teor de proteína bruta na silagem. Segundo Gomide et al. (1987), em decorrência do mais elevado teor proteico das leguminosas em relação ao milho, as silagens mistas das gramíneas com leguminosas podem garantir maior teor proteico nas silagens. Obeid et al. (1992), trabalharam com silagens oriundas de consórcio de milho e leguminosas, observaram maior consumo da matéria seca, assim como maior ganho de peso diário quando os animais receberam silagens do consórcio. Recentemente, estudos relacionados a utilização de espécies forrageiras leguminosas com a cultura do milho têm apresentado com resultados positivos para o milho (RAO e MATHUVA, 2000; HEINRICHS et al., 2005; NUNES et al., 2006).

Como alternativa, o feijão-gandu devido ao seu elevado teor de proteína pode ser usado na alimentação de ruminantes para equilibrar outros ingredientes alimentares pobres em proteína. Segundo Ajayi et al. (2009), a folhagem contém teores de proteína bruta e gordura de 20,2 % e 1,7 %, respectivamente. No entanto, ainda são escassos os

trabalhos que avaliam o comportamento químico e microbiológico de silagens provenientes do consórcio de milho com leguminosas.

3. Microbiota da silagem

Silagem com alto padrão de qualidade é o que se espera quando se efetua a conservação de forragens. A microbiota da silagem exerce papel fundamental na garantia da qualidade do material ensilado e pode ser dividida em dois grupos: micro-organismos desejáveis, representados pelas bactérias ácido lácticas (BAL), e os indesejáveis, associados às perdas durante a ensilagem e manejo do silo, como os Clostrídeos, enterobactérias, *Bacillus*, bactérias aeróbias formadoras de esporos, bolores e leveduras. No momento da ensilagem, a planta apresenta população epifítica composta tanto por micro-organismos aeróbios como anaeróbios, representados por bactérias, leveduras e fungos (MUCK, 2010).

As alterações ocorridas nos primeiros dias após a ensilagem são críticas para o sucesso da fermentação subsequente. Se as condições são apropriadas, as bactérias lácticas acidificam rapidamente o meio, a uma extensão em que os micro-organismos indesejáveis não sobrevivem, resultando em uma silagem estável, com baixo pH. Se o pH não é reduzido rapidamente, os micro-organismos indesejáveis podem competir pelos nutrientes, reduzindo as chances de obtenção de uma silagem estável. Portanto, a maneira mais efetiva de se inibir o crescimento destes micro-organismos é promover a rápida fermentação láctica (CASTRO et al., 2006).

Durante a fermentação da forragem ensilada, a utilização dos açúcares pelas BAL promove pequena variação na qualidade da forragem. A perda de matéria seca e energia ocorrerá, em maior ou menor proporção, em função da atuação dos vários micro-organismos que podem se desenvolver na massa ensilada (ROTZ e MUCK, 1994). Ressalta-se que a concentração de ácidos orgânicos, principalmente acético e láctico, interferem de forma significativa na estabilidade da silagem.

As bactérias anaeróbias do gênero *Clostridium* têm efeito negativo sobre a qualidade da silagem se o pH não for suficientemente baixo para inibir o seu crescimento. Esses micro-organismos fermentam açúcares, ácido láctico e aminoácidos, produzindo ácido butírico e aminas. Esse tipo de fermentação resulta em perdas significativas de matéria seca, e os produtos da fermentação reduzem a palatabilidade, além de diminuir a estabilidade da silagem (MAHANNA, 1994).

Um dos problemas que interferem no valor alimentício da silagem é a suscetibilidade à deterioração aeróbia após a abertura do silo. Castro et al. (2006), afirmam que o manejo de abertura do silo e de remoção da silagem para fornecimento aos animais promove a aeração do ambiente, que era estritamente anaeróbio. Sob essa condição, micro-organismos que permaneceram dormentes na ausência de oxigênio multiplicam-se, resultando na deterioração da silagem. Na prática, essa deterioração é geralmente manifestada pelo aumento na temperatura e pelo aparecimento de bolores e leveduras. Contudo, para a obtenção de silagens de melhor qualidade e valor nutricional, a eficácia no controle do crescimento de micro-organismos é fundamental, com objetivo exclusivo de favorecer fermentações desejáveis.

Muck et al. (1991), ressalta que a deterioração da silagem está associada principalmente ao desenvolvimento de bolores e leveduras, que apresentam alta resistência as variações de pH, e, no caso das leveduras, sobrevivem em meio anaeróbio. As leveduras provocam grande liberação de CO₂ pelo metabolismo dos açúcares, resultando em perdas de matéria seca, além da liberação de calor provocam aumento na concentração dos produtos da reação de “*Maillard*”.

4. Micro-organismos desejáveis

4.1 Bactérias ácido lácticas (BAL)

O termo bactérias ácido lácticas compreende um vasto número de gêneros (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Leuconostoc*) todos encontrados em silagens. Estes micro-organismos são agrupados em homofermentativos e heterofermentativos. No primeiro grupo estão aqueles responsáveis pela produção especialmente de ácido láctico a partir dos açúcares provenientes da fermentação. No caso dos heterofermentativos, outros produtos particularmente o ácido acético, etanol e dióxido de carbono, são comuns (MUCK, 2010).

As bactérias ácido lácticas estão presentes na microflora epifítica das forrageiras em geral, porém em quantidades baixas. A presença destas aumenta substancialmente entre o processo de colheita e principalmente após a ensilagem. Whinter e Kung Jr. (2003) efetuaram contagens de BAL na forragem fresca de 5,04 a 5,41 log UFC g⁻¹, após o segundo dia de ensilagem, sem adição de inoculante, verificaram aumento de colônias, 9,0 log UFC g⁻¹.

5. Micro-organismos indesejáveis

Micro-organismos indesejáveis estão associados às perdas durante as fases do processo de ensilagem, fase de fermentação e início da deterioração aeróbia. Muitos desses micro-organismos deterioradores não somente diminuem o valor nutritivo da silagem, como também têm efeito prejudicial à saúde animal, além de interferir na qualidade do produto final dos animais alimentados com essas silagens (JULIEN et al., 2008).

5.1 Clostrídeos

Três grupos de bactérias do gênero *Clostridium* estão presentes na silagem: Clostrídioproteolíticos, que quebram principalmente aminoácidos, *Clostridium butyricum*, grupo que fermenta carboidratos, e *Clostridium tyrobutyricum*, que fermenta alguns açúcares e também o ácido láctico (MUCK, 2010). Os produtos primários do *C. butyricum* grupo e *C. tyrobutyricum* são o ácido butírico, ácido acético, hidrogênio e dióxido de carbono (MUCK, 2010). Estas bactérias são obrigatoriamente anaeróbias, sua ação comumente ocorre após a queda na atividade das bactérias ácido lácticas.

A presença do gênero *Clostridium* é indesejável, principalmente, por reduzir a ingestão de silagens. Esse tipo de fermentação resulta em perdas significativas de MS e seus produtos reduzem a palatabilidade (MAHANNA, 1994; ROTZ e MUCK, 1994). Um dos mecanismos de controle do desenvolvimento de Clostrídiodepende da redução do pH (COAN et al., 2007). Clostrídios são sensíveis ao aumento da pressão osmótica (WOOLFORD, 1972).

A espécie é reconhecida pelo desenvolvimento principalmente durante a fase de fermentação da silagem. Entretanto em silagens de “boa qualidade”, MS acima de 30% e pH reduzido, como normalmente é o caso da silagem de milho, não se observa condições favoráveis ao desenvolvimento dos Clostrídios durante a fase de fermentação, sendo assim, o desenvolvimento dessa bactéria fica restrito a áreas sujeitas a deterioração aeróbia. Tabacco et al. (2009), ao analisarem a formação de esporos de *Clostridium* spp. em silagens de milho, observaram que, durante a exposição aeróbia, a contagem de esporos aumentou, cerca de 2 log NMP g⁻¹ na abertura, para mais de 6 log NMP g⁻¹ e esteve associada a uma progressiva deterioração aeróbia e às alterações nos parâmetros químicos da silagem.

5.2 Bolores e leveduras

Os principais gêneros de bolores que têm sido isolados em silagens são: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Absidea*, *Monoascus*, *Scopulariopsis* e *Trichoderma* e seu crescimento em silagens está associado a locais onde ocorre penetração de ar durante a fase de armazenamento, mas, principalmente, durante a fase de abertura do silo, na qual há maior difusão do oxigênio no material ensilado (EL-SHANAWANY et al., 2005).

Em comparação com outros micro-organismos em silagem, eles são, em média, os produtores mais lentos. Embora possam crescer numa vasta variedade de compostos, raramente são aparentes ou apresentam população suficiente para afetar bruscamente a qualidade da silagem, até que a mesma seja submetida a deterioração aeróbia substancial por leveduras e várias bactérias aeróbias (MUCK, 2010). Assim, sua presença visual é uma indicação de silagem consideravelmente inferior.

A presença destes micro-organismos é preocupante devido ao fato de produzirem micotoxinas, que podem, quando ingeridas, acarretar danos à saúde e produtividade dos animais. Micotoxinas não são preocupantes com relação a qualidade do silo, mas sim a saúde animal e o excesso destas no silo é uma indicação da exposição excessiva ao oxigênio.

As leveduras são talvez os micro-organismos aeróbios mais importantes em relação a qualidade da silagem. São responsáveis pelas perdas durante o processo de fermentação e início da deterioração aeróbia durante a fase de abertura. São capazes de exercer sua atividade metabólica tanto na presença quanto ausência de oxigênio (McDONALD et al., 1991). Ainda de acordo com o autor, a aeração da massa na ensilagem, devido ao tempo prolongado em contato com o O₂, promove a multiplicação das leveduras, o que leva à susceptibilidade da silagem em sofrer deterioração após a abertura do silo.

Este grupo é capaz de se desenvolver em pH 3,5, bem abaixo do pH da maior parte das silagens. Na maioria das vezes este é o primeiro grupo de micro-organismos a se desenvolver, quando que o oxigênio entra em contato com a silagem, seja durante o armazenamento ou durante manejo após abertura do silo (MUCK, 2010). Em silagens de milho, quando a massa entra em contato com o ar durante o desabastecimento do silo, populações de leveduras superiores a 10⁵ UFC g⁻¹ podem quebrar a estabilidade em poucas horas (MUCK, 2004).

5.3 Bactérias aeróbias formadoras de esporos

Este grupo representado nas silagens, principalmente por *Bacillus* spp. e *Paenibacillus* spp., são bactérias aeróbias, caracterizadas pelo alto potencial de deterioração após exposição do material ao O₂. Esses micro-organismos podem estar presentes na cultura ou ser oriundos de contaminação principalmente do solo, competindo com as BAL por carboidratos e seus produtos finais (McDONALD et al., 1991). A ocorrência de esporos *Bacillus* e *Paenibacillus* na silagem é de grande preocupação para os produtores de leite, porque os seus esporos podem sobreviver pasteurização e algumas estirpes são capazes de, posteriormente, germinar e crescer em condições de refrigeração do leite pasteurizado.

Em silagens de gramíneas perenes e milho, a presença de *Bacillus* pode variar de 10³ a 10⁹ esporos g⁻¹ de silagem. Altos níveis de esporos frequentemente são observados nas camadas superficiais do silo (GIFFEL et al., 2002).

6. Valor Nutricional da silagem

Os processos de conservação causam alterações acentuadas na composição química da forragem e podem afetar a sua qualidade, principalmente com relação ao valor nutricional da silagem.

As forragens conservadas podem ter seu valor nutritivo alterado, devido os procedimentos utilizados para a sua produção e conservação, e dos fenômenos bioquímicos e microbiológicos que ocorrem no processo (JOBIM et al., 2007). Por outro lado, o valor alimentício da silagem é dependente do padrão de fermentação, que por sua vez exerce influência marcante na composição química, ingestão e digestibilidade da forragem (SANTOS et al., 2010).

. Os vários fatores que influenciam a qualidade da forragem podem atuar de forma conjunta e/ou isolada e resultam em diferentes efeitos no processo fermentativo, conforme à espécie forrageira utilizada e condições ambientais.

A presença de micro-organismos deterioradores na forragem atrasa a fermentação, tem competição com as bactérias ácido-láticas por substrato e gera perdas, o que diminui o valor nutritivo do material (PEREIRA et al., 2014). Características como teor de matéria seca (MS), tamanho de partícula, densidade da massa no silo, manejo de descarregamento do silo, entre outros, podem influenciar as perdas de MS e energia. A exposição no campo, a fermentação, o efluente e a oxidação são as fontes de perdas em silagens (McDONALD et al., 1991).

7. Referências bibliográficas

- AJAYI, F.; AKANDE, S. R.; ADEGBITE, A. A.; IDOWU, B. Assessment of seven under-utilized grain legume foliage as feed resources for ruminants. *Livestock Research for Rural development*, v. 21, n. 9, 2009.
- CASTRO, F. G. F. et al. Effects of additive application on the microbial profile, physical parameters and aerobic stability of Tifton 85 (*Cynodon ssp.*) silages with different dry matter contents. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 35, n. 2, 2006.
- COAN, R. M. et al. Dinâmica fermentativa e microbiológica de silagens dos capins tanzânia e marandu acrescidas de polpa cítrica peletizada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 1502-1511, 2007.
- EL-SHANAWANY, A. A.; MOSTAFA, M. E.; BARAKAT, A. Fungal populations and mycotoxins in silage Assuit and Sohag governorates in Egypt, with special reference to characteristic Asperigilli toxins. *Mycopathologia*, New York, v. 159, n. 2, p. 281-289, 2005.
- GIFFEL, M. C. T. et al. Bacterial spores in silage and raw milk. *Antonie van Leeuwenhoek*, Amsterdam, v. 81 n. 1-4, p. 625-630, 2002.
- GIMENES, A.L.G. et al. Composição química e estabilidade aeróbia em silagens de milho preparadas com inoculantes bacteriano e/ou enzimático. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, Maringá, v. 28, n. 2, p. 153-158, 2006.
- GOMIDE, J. A. et al. Milho e sorgo em cultivos puros ou consorciados com soja, para produção de silagens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 16, n. 4, p. 308-317, 1987.
- HEINRICHS, R. et al. Características químicas de solo e rendimento de fitomassa de adubos verdes e de grãos de milho, decorrente do cultivo consorciado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 29, p. 71-79, 2005.
- HERRERO, M. et al. Smart investments in sustainable food production: revisiting mixed crop-livestock systems. *Science*, Washington, v.327, n. 5967, p.822-825, 2010.
- JOBIM, C.C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 36, p. 101-119, 2007.
- JULIEN, M. C. et al. Sources of clostridial in raw milk on farms. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 74, n. 20, p. 6348-6357, 2008.
- KLUTHCOUSKI, J.; YOKOYAMA, L.P. Opções de integração lavoura-pecuária. In: KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; AIDAR, H. (Ed.). *Integração lavoura-pecuária*. 1.ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. p.131-141.

- KUNG, L. The effects of length of storage on the nutritive value and aerobic stability of silages. In: *International symposium on forage quality and conservation*, 3 ed., Campinas. Proceedings... Piracicaba: FEALQ, 2013, p. 7-19.
- JOBIM, C.C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 36, p. 101-119, 2007.
- MACEDO, M.C.M.M. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 38, supl. especial, p.133-146, 2009.
- MAHANNA, B. Proper management assures high-quality silage, grains. *Feedstuffs*, v. 10, p.12-56, 1994.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S. J. E. *Biochemistry of silage*. 2 ed. Marlow: Chalcombe, 1991.
- MILLEN, D.D. et al. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brasil. *Journal of Animal Science*, Columbia, v. 87, n. 10, p. 3427-3439, 2009.
- MUCK, R.E.; PITT, R.E.; LEIBENSPERGER, R.Y. A model of aerobic fungal growth in silage. Microbial characteristics. *Grass and Forage Science*, v. 46, p. 293-290, 1991.
- MUCK, R. E. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. *Transactions of the ASAE*, v. 47, p. 1011-1016, 2004.
- MUCK, R. E. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 39, suplemento, p. 183-191, 2010.
- NUNES, H. V. et al. Influência de sistemas de culturas, mucuna-preta e adubação mineral sobre a qualidade fisiológica de sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 28, p. 6-12, 2006.
- OBEID, J. A.; GOMIDE, J. A.; CRUZ, M. E. Silagem de milho (*Zea mays*, L.) consorciada com leguminosas na alimentação de novilhos de corte em confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 39-44, 1992.
- PEREIRA, O.G.; SILVA, T.C.; LEANDRO, E.S. Práticas na ensilagem versus qualidade higiênica da silagem. p. 157-210. In: *V Simpósio de produção e utilização de forragens conservadas*. Anais... Maringá, 2014
- RAO, M. R.; MATHUVA, M. N. Legumes for improving maize yields and income in semi-arid Kenya. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v. 78, p. 123-137, 2000.
- SANTOS, M. V. F. et al. Factors affecting the nutritive value tropical forages silages. *Archivos de Zootecnia*, v. 59, p. 25-43, 2010.

TABACCO, E. et al. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of mize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v. 271, n. 1, p. 1-10, 2009.

WOOLFORD, M. K. Some aspects of the microbiology and biochemistry of silage makin. *Herbage Abastract*, Wallingford, v. 42, n. 2, p. 105-111, 1972.

ZEOULA, L. M. et al. Avaliação de Cinco Híbridos de Milho (*Zea mays*, L.) em Diferentes Estádios de Maturação; Composição Químico-Bromatológica. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 32, n. 3, p. 556-566, 2003.

CAPITULO 2

Qualidade da silagem de milho consorciada com capim-marandu e feijão-guandu

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar as características qualitativas de silagens provenientes do consórcio de gramínea e leguminosa em sistema integrado de produção agropecuária. Foram avaliados, nos anos 2015 e 2016 duas modalidades de silagens: o consórcio duplo de milho (*Zea Mays* L.) e capim-marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) (CMB) e consórcio triplo de milho, capim-marandu e feijão-guandu (*Cajanus cajan*) (CMBG); e três locais de amostragem no perfil do silo tipo “bag”: superior, médio e inferior. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2×3 , com 24 repetições. Apesar da inserção do feijão-guandu na silagem aumentar o teor de MS, as características qualitativas da silagem, bem como o processo fermentativo não afetados. O feijão-guandu pode ser uma alternativa para o aumento do teor de proteína bruta na silagem de milho em sistemas integrados de produção. Com exceção da temperatura, os locais de amostragem no perfil do silo não sofreram alterações.

Palavras-Chave: *Cajanus cajan*, composição microbiológica, temperatura da silagem, *Urochloa brizantha* cv. Marandu, *Zea Mays* L.

INTRODUÇÃO

Atualmente, o sistema de integração lavoura-pecuária (SIPA) com plantio direto (PD) está se tornando uma boa alternativa para os agricultores, uma vez que pode melhorar a renda econômica e a sustentabilidade da produção agrícola em regiões tropicais. Portanto, o SIPA está sendo promovido como a “nova revolução verde” nos trópicos (Mateus et al., 2007). Neste contexto, a produção de milho consorciada com leguminosas, como o feijão-guandu, é uma alternativa interessante para melhorar a diversificação das atividades agrícolas nas regiões tropicais (Baldé et al., 2011).

A utilização de forrageiras leguminosas em consórcio com o milho tem apresentado resultados produtivos positivos (Oliveira et al., 2011). O consórcio com leguminosas tem como objetivo principal o aporte de nitrogênio (N) no solo via fixação biológica do N atmosférico, visto que sistemas integrados de produção (SIPAs) são

limitados pela carência de N, com alta dependência do uso de adubo nitrogenado para o sucesso da produção (Rosolem et al., 2011).

A qualidade da silagem pode variar amplamente e essa variação deve-se a muitos fatores, incluindo a composição da forragem, as perdas durante o armazenamento e após a abertura do silo. A fase aeróbia pode alterar a composição química e afetar a segurança da silagem (Schmidt et al., 2015). Maiores perdas podem ocorrer durante a abertura do silo, causadas por micro-organismos aeróbios que utilizam a matéria seca (MS) como fonte de energia (Rees, 1982).

A deterioração aeróbia da silagem não só resulta em perdas no valor nutritivo (Whitlock et al., 2000), como também afeta negativamente a sua qualidade sanitária, devido ao aumento no risco de proliferação de micro-organismos potencialmente patogênicos ou de outra forma indesejáveis (Lindgren et al., 2002), promovendo efeitos sobre a saúde animal e humana (Ivanek et al., 2006; Vissers et al., 2007).

Pouco se sabe sobre a qualidade da silagem proveniente do consórcio de milho com leguminosas. A inserção do feijão-guandu em consórcio com o milho para a produção de silagem pode alterar o teor de MS e consequentemente modificar o perfil fermentativo da silagem, alterando a população microbiológica do silo. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar as características qualitativas de silagens provenientes do consórcio de gramínea e leguminosa em sistema de integração lavoura pecuária.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição do local

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP) no município de Botucatu/SP (22°51'01"S e 48°25'28"W, com altitude de 777 metros), durante os anos 2015 e 2016. De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Embrapa, 2013), o solo da área experimental é um Latossolo Vermelho Distrófico com 280, 90 e 630 g kg⁻¹ de areia, silte e argila, respectivamente. De acordo com a classificação de Köppen, o clima predominante na região é do tipo Cwa, tropical de altitude, com inverno seco e verão quente e chuvoso.

O híbrido simples (HS) de milho 2B587 PW (precoce) foi semeado no mês de dezembro de 2014 e 2015 a uma profundidade de 0,04 m, utilizando semeadora-

adubadora para SPD dotada de mecanismo para abertura de sulco do tipo haste sulcadora, com densidade de 70.000 sementes ha^{-1} . No consórcio de milho, capim-marandu se utilizou o espaçamento entrelinhas de 0,45 m. No consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu também se utilizou o espaçamento entrelinhas de 0,45 m e o feijão-guandu foi semeado nas entrelinhas do milho e capim-marandu na profundidade de 0,04 m, utilizando-se 15 sementes por metro (aproximadamente 60 kg de sementes ha^{-1}). Os capins foram semeados na quantidade de 550 pontos de valor cultural (VC) ha^{-1} . As sementes de capim-marandu foram misturadas ao adubo minutos antes da semeadura, acondicionadas no compartimento de fertilizantes da semeadora-adubadora e depositadas na profundidade de 0,08 m em relação a superfície do solo. A adubação mineral nos sulcos de semeadura, bem como, a adubação mineral de cobertura seguiu as recomendações de Cantarella et al. (1997).

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2×3 , com 24 repetições. Os tratamentos constaram de dois tipos de silagem: consórcio duplo de milho e capim-marandu (CMB) e consórcio triplo de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG); e três camadas de amostragem no perfil do silo tipo “bag”: superior, médio e inferior.

Colheita

A colheita mecânica para ensilagem foi realizada a uma altura de 0,45 m em relação à superfície do solo (Pariz et al., 2017). Foi utilizada colhedora de forragem modelo JF C-120 (12 facas) com plataforma de duas linhas em espaçamento reduzido de 0,45 m entrelinhas, sendo o material picado em partículas médias de 1,0 cm.

Posteriormente, o material picado de cada tratamento foi acondicionado em seis silos tipo “bag” com diâmetro de 1,5 m e comprimento de 30 m cada. Em seis silos, acondicionou-se a silagem proveniente do consórcio de milho e capim-marandu (CMB) e em seis silos, acondicionou-se a silagem proveniente do consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG). A densidade média das silagens foi de 615 para CMB e 637 para CMBG kg/m^3 no ano de 2015, e 630 para CMB e 693 para CMBG kg/m^3 no ano de 2016.

Amostragem e análises

Os silos foram abertos após 60 dias de ensilagem. Foi determinada a composição bromatológica da forragem anteriormente e após a ensilagem. A determinação dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e matéria mineral (MM) foram de acordo com as técnicas descritas pelo AOAC (1995). A fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA), foram de acordo com as técnicas descritas por Van Soest (1991), adaptado por Mertens (2002). Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados conforme equação proposta por Weiss, adotadas pelo NRC (2001).

$$NDT = 0,98 \times (100 - FDN_{cp} - PB - Cinzas - EE - 1) + 0,93 \times PB + 2,25 \times EE + 0,75 \times (FDN_{cp} - lignina) \times [1 - (lignina / FDN_{cp}) 0,667] - 7$$

Onde:

FDN_{cp} = fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína;

PB = proteína bruta;

EE = extrato etéreo.

Foram determinados os parâmetros de pH em potenciômetro digital, acidez total titulável (ATT), segundo descrito por AOAC (1980), atividade da água (A_w), condutividade elétrica (CE) segundo Kraus et al. (1997), contagens de bolores e leveduras segundo Beuchat et al. (2001), Clostrídios segundo Labbe (2001), esporos aeróbios segundo Stevenson e Segner (2001) e bactérias ácido lácticas segundo Hall et al. (2001). Foram determinadas as populações microbianas do material colhido antes da ensilagem.

Foi retirada uma camada de silagem de aproximadamente 20 cm no perfil do silo para a análise da temperatura da silagem. Com auxílio de termômetro digital, a temperatura foi analisada a uma profundidade de 25 cm em 12 pontos do painel do silo. A termografia do perfil do silo foi obtida por meio de termógrafo digital Testo[®] modelo 870. A coleta de dados para temperatura da silagem foi realizada a uma temperatura ambiente de 28 °C.

Para realização das contagens microbianas, 25 g de amostra foram transferidas para sacos estéreis em 225 mL de solução salina fisiológica e homogeneizados durante 30 segundos em misturador de laboratório Stomacher. As populações microbianas foram determinadas por meio de técnicas de culturas seletivas. Da solução obtida, pipetou-se 1

mL, com diluições que variaram de 10^{-1} a 10^{-9} usando-se tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina fisiológica.

As populações de micro-organismos nas silagens, foram determinadas por meio de técnicas de cultura utilizando os seguintes meios: Rogosa Agar para contagem de bactérias ácido lácticas, mantendo-se as placas em incubação a 30 °C por 48 horas; Reinforced Clostridial Agar para contagem de Clostrídios, mantendo-se as placas em incubação anaeróbia a 36 °C por 24 horas; Agar Padrão para contagem (PCA) para contagem de esporos aeróbios, mantendo-se as placas em incubação a 35 °C por 24 horas; Potato Dextrose Agar para contagem de bolores e leveduras, mantendo-se as placas em temperatura ambiente por 7 dias.

Análise estatística

Contagens microbianas foram transformadas em $\log_{10}$ para obter o log-normal dos dados distribuídos. Todos os dados foram inicialmente testados quanto à normalidade com o teste do procedimento UNIVARIATE de Shapiro-Wilk (1965) (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Os dados foram analisados utilizando o procedimento PROC MIXED do SAS e Satterthwaite aproximação para determinar graus de liberdade do denominador para o teste de efeitos fixos. Silagens e camadas no perfil dos silos bag foram considerados efeitos fixos, e anos agrícolas foram considerados efeitos aleatórios. Os resultados foram apresentados como médias de mínimos quadrados e separados por comparações de pares pré-planejados (PDIF). Separações de médias foram realizadas utilizando um teste de Tukey. Efeitos foram considerados significativos a $P \leq 0.05$.

RESULTADOS

Os componentes de produção do milho, capim-marandu e feijão-guandu estão apresentados na tabela 1. A proporção de grãos de milho foi de 57,9 e 52,7 % no CMB e CMBG respectivamente na silagem do ano de 2015. No ano de 2016 a proporção e grãos de milho foi menor com 46,3 e 53,4 no CMB e CMBG, receptivamente.

A proporção de capim-marandu e feijão-guandu na massa da silagem foi baixa. O conteúdo de feijão-guandu na silagem foi de 5,8 e 6,3% em 2015 e 2016, respectivamente. E o conteúdo de campim-marandu no ano de 2015 foi de 1,5 e 1,2% no CMB e CMBG respectivamente e 0,7 e 1,0% no CMB e CMBG respectivamente.

Tabela 1. Componentes da produção e produtividade do milho e do capim-marandu cultivados em consórcio com ou sem feijão-guandu para silagem

	2015		2016	
	CMB	CMBG	CMB	CMBG
<u>Milho</u>				
PFP (plantas ha ⁻¹)	79.937	81.172	66.040	85.184
NE (espigas ha ⁻¹)	72.222	77.777	66.049	78.703
PMS de grãos (kg ha ⁻¹)	6.738	7.244	6.188	6.926
Grãos (% na PMST)	57,9	52,7	46,3	53,4
<u>Capim-marandu</u>				
PMS na silagem (kg ha ⁻¹)	174	167	90	71
Proporção na silagem (% na PMST)	1,5	1,2	0,7	1
<u>Feijão-guandu</u>				
PMS na silagem (kg ha ⁻¹)	-	792	-	867
Proporção na silagem (% na PMST)	-	5,8	-	6,3

CMB: consórcio de milho e capim-marandu e CMBG: consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu
PFP, NE, PMS, PMST: população final de plantas, número de espigas por hectare, produtividade de massa seca e produtividade de massa seca total, respectivamente.

Os teores nutricionais das forrageiras no momento da ensilagem nos dois anos de cultivo estão descritos na tabela 2.

Tabela 2. Composição bromatológica das forrageiras anteriormente a ensilagem nos anos 2015 e 2016

Parâmetros*	CMB**		CMBG**	
	2015	2016	2015	2016
MS (%)	34,83	40,44	36,16	30,48
PB	6,99	5,95	7,88	7,30
MM	3,74	3,34	3,43	3,89
FDN	43,38	44,28	47,91	47,62
FDA	23,91	24,88	26,61	28,26
NDT	80,64	77,68	77,95	77,12

*MS, PB, MM, FDN, FDA e NDT: teores de matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e nutrientes digestíveis totais, respectivamente.

**CMB e CMBG: consórcio de milho + capim-marandu e milho + capim-marandu + feijão-guandu, respectivamente.

A população média de bactérias ácido lácticas na forrageira picada, anteriormente a ensilagem foi de 5,78 log UFC g⁻¹ no CMB e 5,01 log UFC g⁻¹ no CMBG (Tabela 3). Os valores encontrados na forragem in natura para bolores e leveduras foram elevados, com média de 6,92 e 7,38 log UFC g⁻¹ no CMB e no CMBG, respectivamente.

Tabela 3. População microbiana (log UFC g⁻¹) do material picado, antes da ensilagem nos anos 2015 e 2016

	CMB**		CMBG**	
	2015	2016	2015	2016
Bactérias ácido lácticas	5,56	6,01	4,90	5,12
Bolores e leveduras	6,94	6,90	7,46	7,30
Clostrídio	2,28	3,34	2,18	3,89
Esporos aeróbios	2,77	3,28	3,31	3,62

**CMB e CMBG: silagens provenientes do consórcio de milho + capim-marandu e milho + capim-marandu + feijão-guandu, respectivamente.

As características nutricionais em ambas as silagens nos dois anos estudados apresentaram comportamento semelhante. Foram observadas diferença estatística para MS, PB e FDA nos anos de 2015 e 2016 e MM e FDN no ano de 2015 em função do consórcio utilizado na produção da silagem (Figura 1).

O teor de matéria seca foi maior no consórcio triplo CMBG no ano de 2015, e 2016 em relação ao consórcio duplo CMB (Figura 1). A silagem CMBG no ano de 2015 apresentou maior teor de MM, entretanto no ano de 2016 não foi observada diferença significativa. A silagem CMBG em comparação a CMB foi caracterizada pelo maior teor de proteína bruta nos anos 2015 e 2016. Maiores teores de FDN foram observados na silagem do CMB em relação ao CMBG no ano de 2015, não houve diferença para o ano de 2016. A FDA nos anos de 2015 e 2016 foi maior no consórcio CMBG.

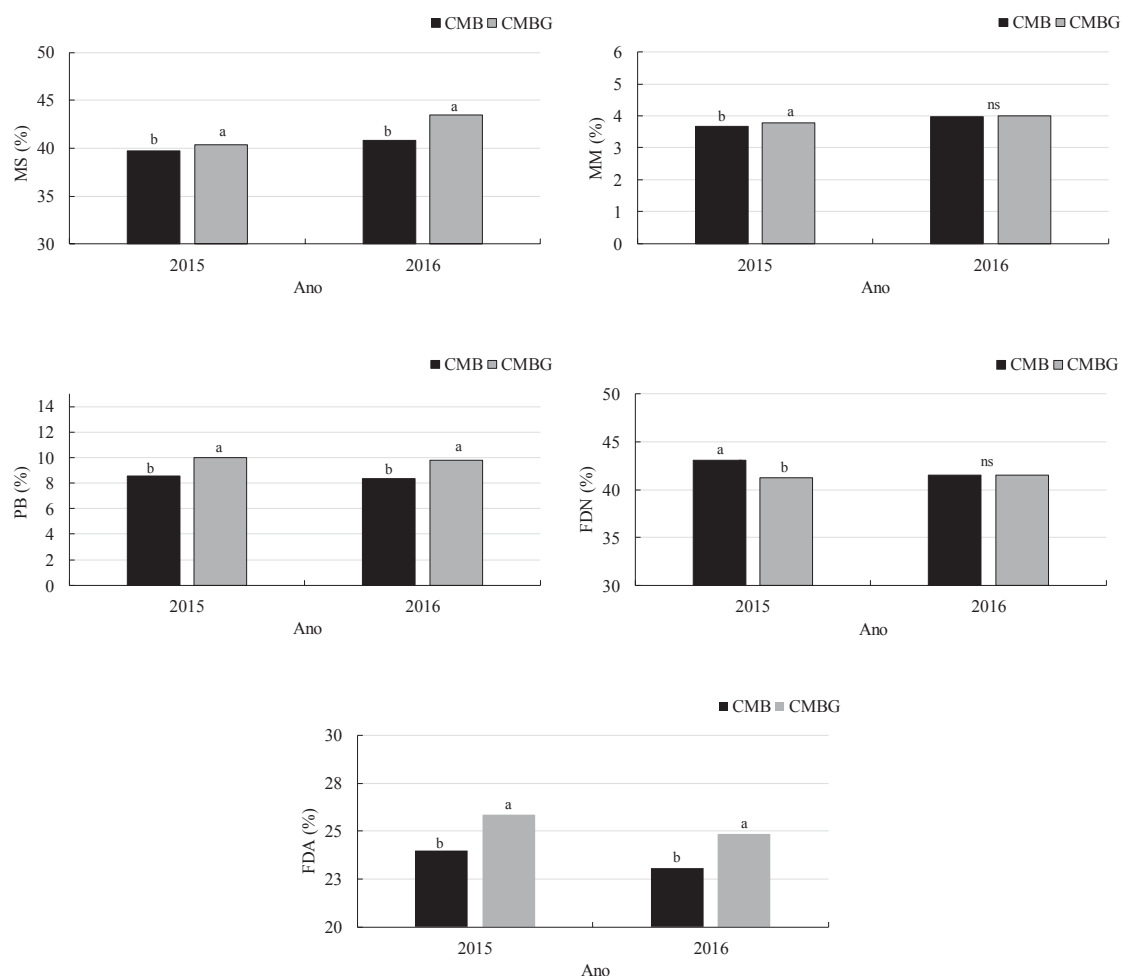


Figura 1. Matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) das silagens provenientes do consórcio de milho, capim-marandu (CMB) e consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), nos anos 2015 e 2016

A temperatura das silagens não diferiu no ano de 2015, contudo no ano de 2016 o CMB apresentou maior temperatura em relação a CMBG (Figura 2). O pH foi maior na silagem do CMBG nos anos de 2015 e 2016. A condutividade elétrica foi maior no CMB em 2015, e no CMBG em 2016. A acidez titulável não diferiu significativamente nas silagens nos dois anos de estudo, o mesmo ocorreu para atividade da água. Maiores teores de NH_3 foram observados na silagem do CMBG em relação ao CMB para os anos de 2015 e 2016.

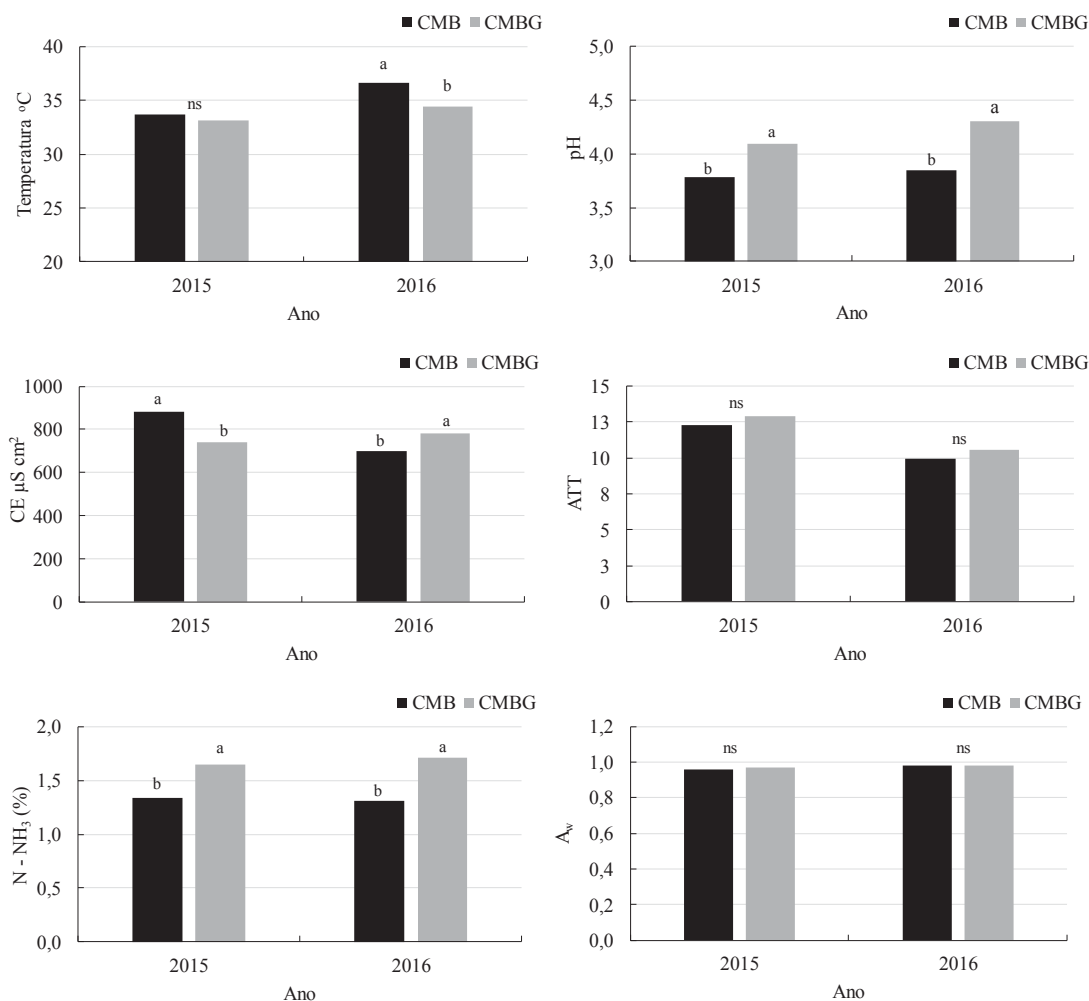


Figura 2. Temperatura, pH, condutividade elétrica (CE), acidez titulável (ATT), nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e atividade da água (A_w), das silagens provenientes do consórcio de milho, capim-marandu (CMB) e consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), nos anos 2015 e 2016

A forragem dos consórcios CMB e CMBG não influenciaram significativamente as populações microbiana na silagem (Figura 3). As bactérias ácido lácticas apresentaram média 7,58 e 7,60 log UFC g⁻¹ nos anos de 2015 e 2016 respectivamente. Os bolores e leveduras não diferiram significativamente em função da silagem. Verificou-se altas contagens para Clostrídios em ambas as silagens estudadas com 8,08 log UFC g⁻¹ para CMB e 7,78 log UFC g⁻¹ para CMBG 7,35 log UFC g⁻¹ para CMB e 7,42 log UFC g⁻¹ nos anos de 2015 e 2016 respectivamente. A população de esporos aeróbios não diferiu entre as silagens do CMB e CMBG (Figura 3).

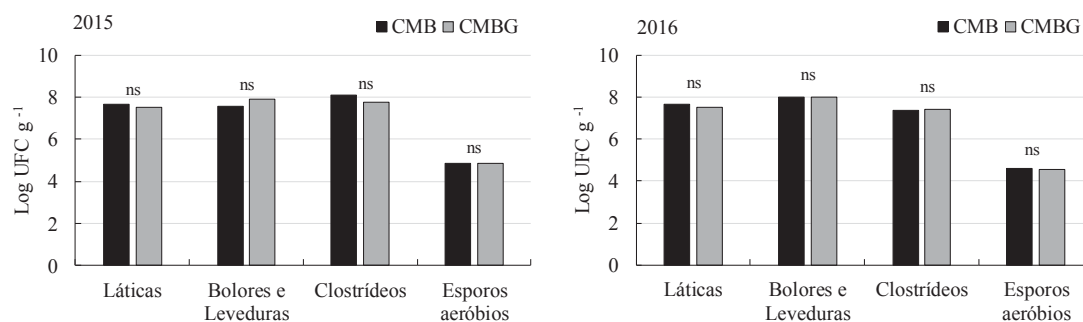


Figura 3. População microbiana das silagens provenientes do consócio de milho, capim-marandu (CMB) e consócio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), nos anos 2015 e 2016.

Em função das camadas do perfil do silo bag (Figura 4), a MS, MM e PB não foram influenciadas pelo local de coleta superior, médio e inferior, nos anos de 2015 e 2016. A FDN e FDA nos anos de 2015 não diferiram significativamente, entretanto no ano de 2016 a camada superior apresentou maiores teores de FND e FDA, em relação a camada inferior, contudo não diferindo da camada médio do perfil do silo.

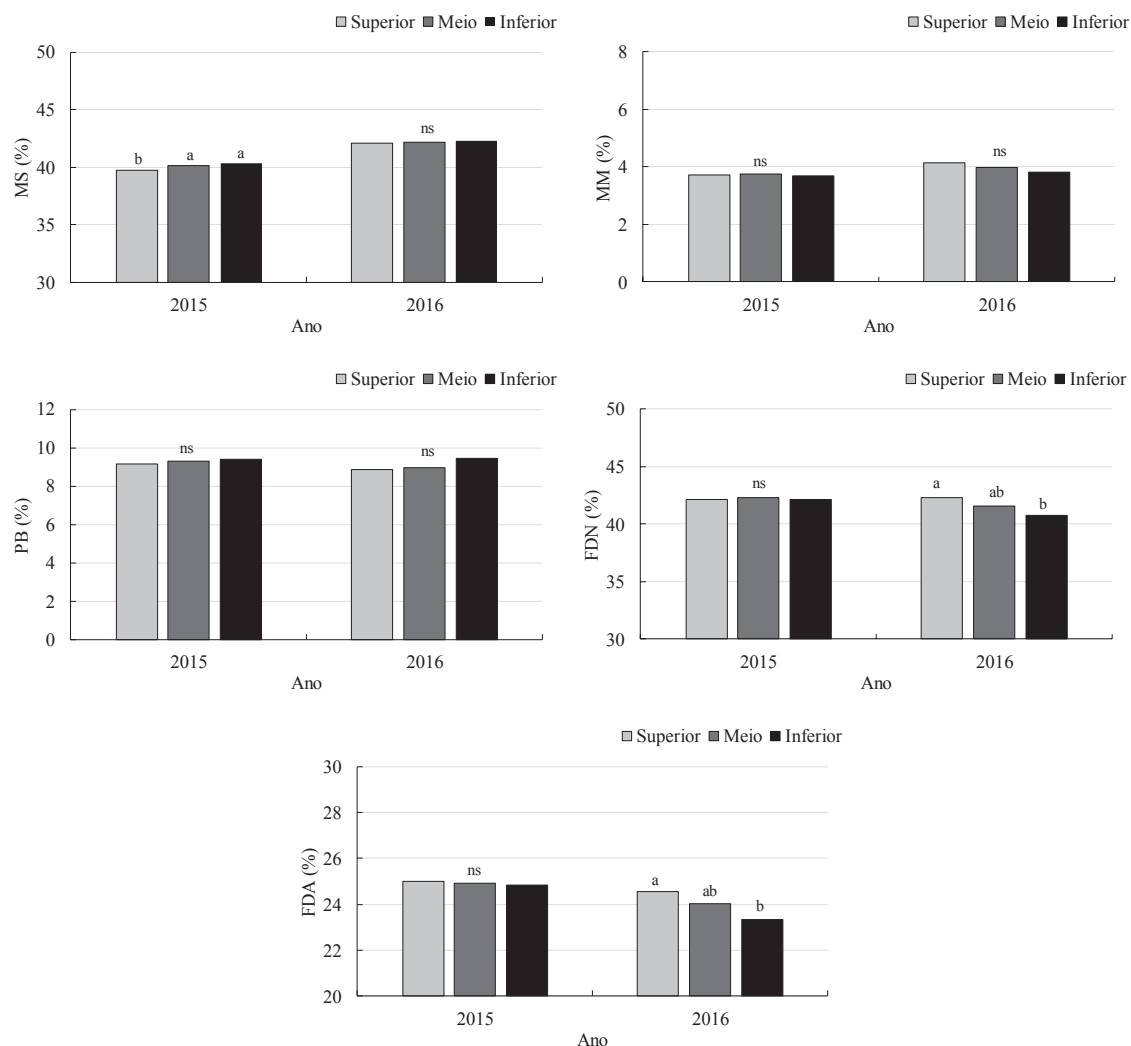
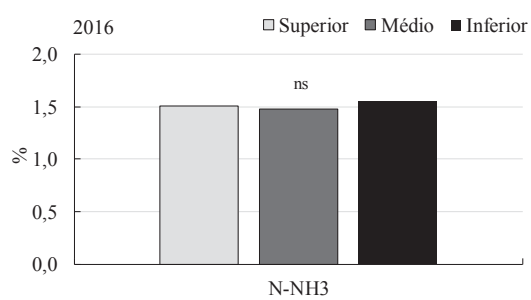
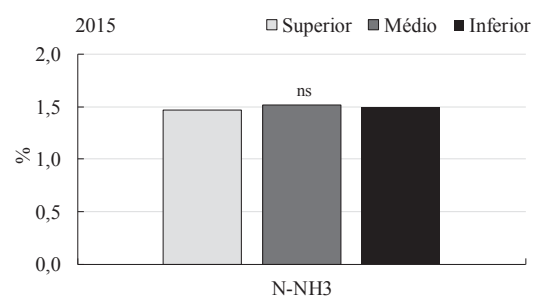
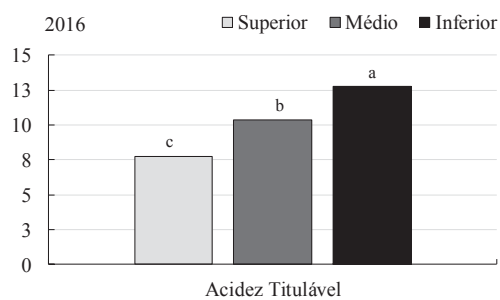
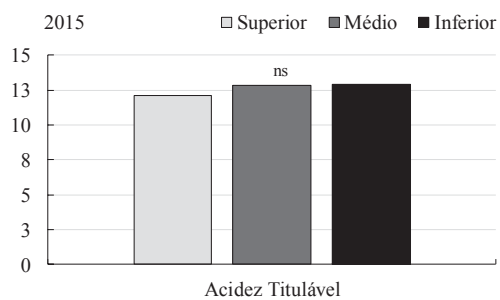
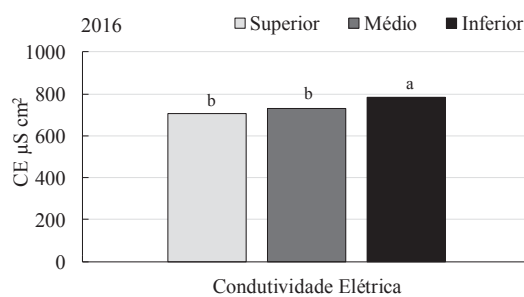
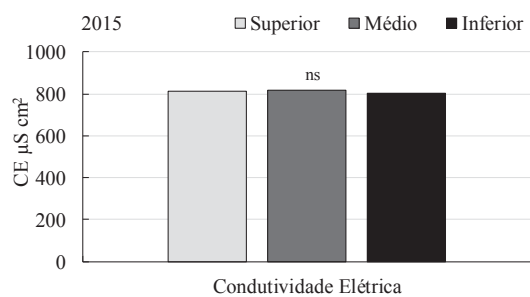
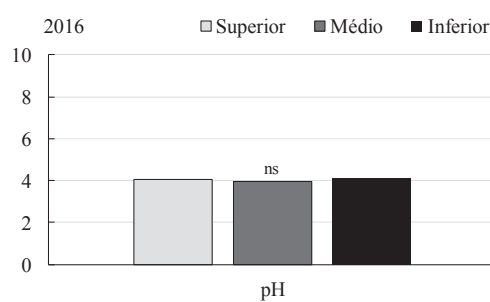
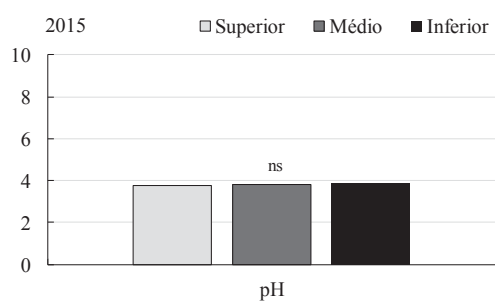
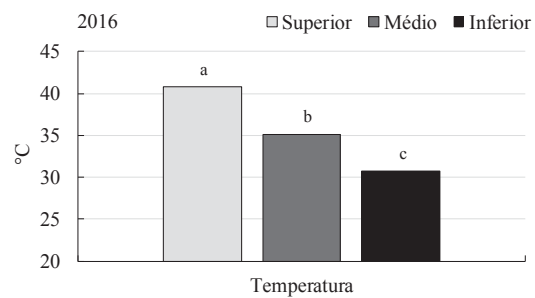
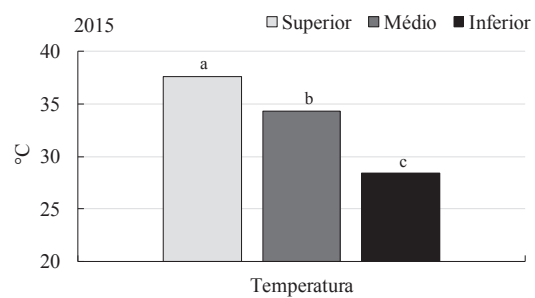


Figura 4. Matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) das silagens provenientes do consórcio de milho, capim-marandu (CMB) e consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), nas camadas superior, médio e inferior nos silos bag, nos anos 2015 e 2016

A temperatura das camadas no perfil dos silos bag são relatadas na figura 5. A temperatura da silagem na camada inferior do perfil do silo foi de 28,4 e 30,7 °C para os anos de 2015 e 2016 respectivamente. Esses valores foram menores que os observados na camada superior, de 37,6 e 40,7 °C nos anos de 2015 e 2016 respectivamente. Fica evidente que a temperatura do silo varia em função do local de coleta da amostra.

As amostras no perfil do silo não diferiram para o pH da silagem. A condutividade elétrica e acidez titulável no ano de 2016 foi maior na camada inferior do perfil do silo. Não foram encontradas diferenças significativas para NH_3 e atividade da água em função dos locais amostrados no perfil do silo.



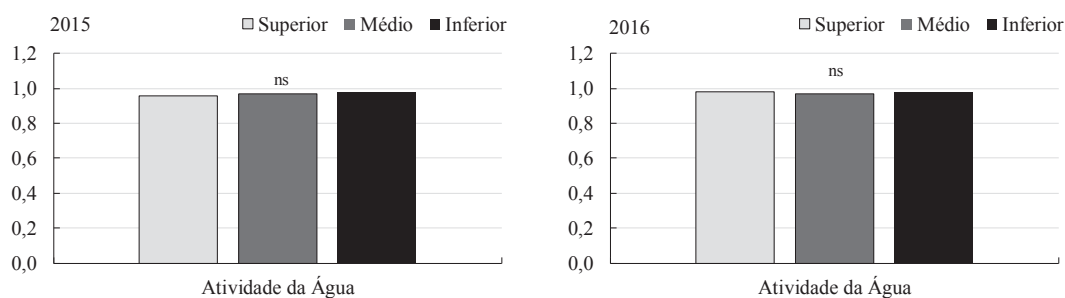


Figura 5. Temperatura, pH, atividade da água (A_w), acidez titulável (ATT), condutividade elétrica (CE) e nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) das silagens provenientes do consórcio de milho, capim-marandu (CMB) e consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), nas camadas superior, médio e inferior nos silos bag, nos anos 2015 e 2016

Não houve diferença significativa entre as camadas no perfil do silo bag para os micro-organismos estudados, lácticas, clostrídios, esporos aeróbios e bolores e leveduras, demonstrando que o perfil do silo não diferenciou a concentração dos micro-organismos na silagem (Figura 6).

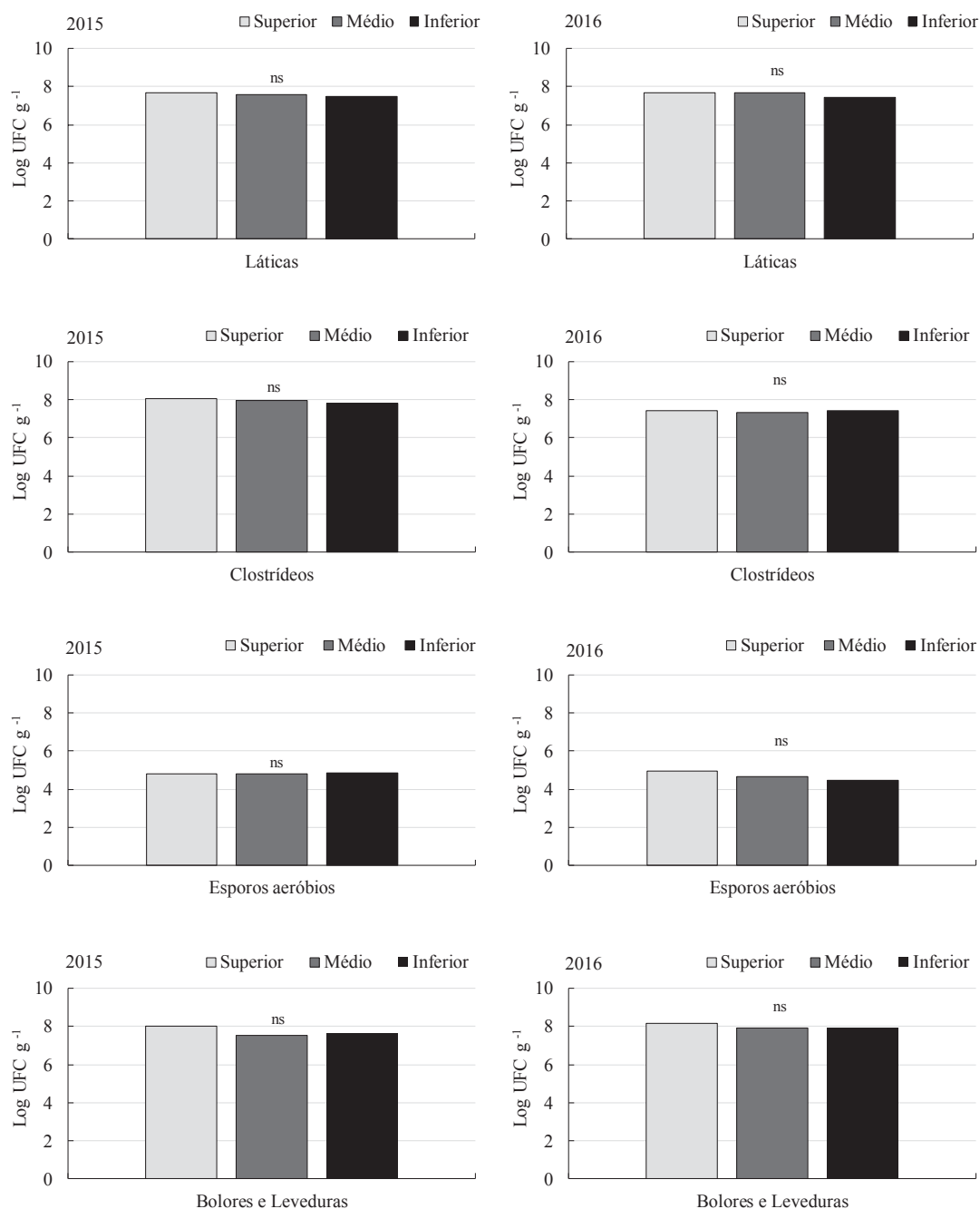


Figura 6. População microbiana das silagens provenientes do consócio de milho, capim-marandu (CMB) e consócio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), nas camadas superior, médio e inferior nos silos bag, nos anos 2015 e 2016.

Os dados de temperatura do silo obtido por meio de fotos termográficas são mostrados na figura 7. Pode-se observar que a superfície dos silos nas duas silagens estudadas apresentou tons mais avermelhados, indicativo de altas temperaturas. Foi registrada grande amplitude na temperatura, representado pelas cores heterogêneas no perfil do silo.

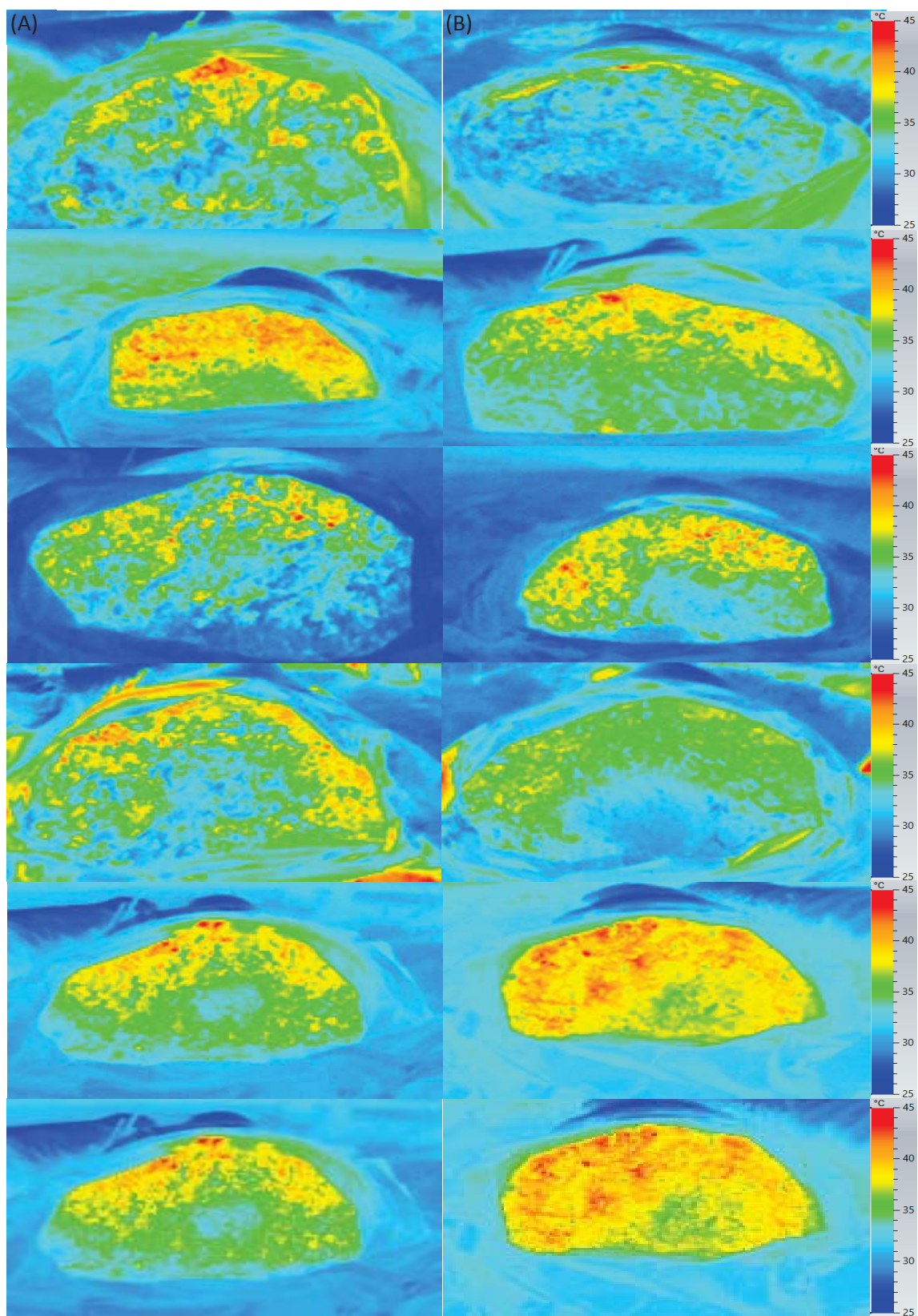


Figura 7. Termografia das alterações de temperatura no painel dos silos da silagem (A) CMB e (B) CMBG, no dia da abertura do silo, no ano de 2016. CMB e CMBG: silagens provenientes do consórcio de milho + capim-marandu e milho + capim-marandu + feijão-guandu, respectivamente.

DISCUSSÃO

Verifica-se que embora o teor de matéria seca tenha sido mais elevado no CMBG, as demais características químicas e bromatológicas, atestam que a inserção da leguminosa na silagem mantem os padrões desejados de uma silagem.

Como esperado a adição de feijão-guandu na silagem de milho foi capaz de aumentar os teores de PB da silagem, elevando em 17,9%. Contudo houve aumento significativo nos teores de FDA, sem no entanto, comprometer a dieta final.

A análise dos resultados referentes ao desenvolvimento de bactérias ácido lácticas permite observar que houve condições para crescimento adequado dessas bactérias nas duas silagens avaliadas (Figura 3), prova disso são os valores obtidos de pH, que foram satisfatórios, inclusive no CMBG, com a inserção da leguminosa (Figura 2).

Quanto maior a capacidade tampão da silagem, maior a quantidade de ácido láctico necessário para que o pH atinja níveis inibitórios à ação dos micro-organismos indesejáveis (Figura 2). Em ambas as silagens estudadas não foram verificadas diferença na acidez titulável, indicativo da baixa capacidade tampão do silo. Os valores da acidez titulável obtidos na silagem evidenciam a baixa resistência da massa a queda do pH, culminando em menor perda de NH_3 , com menor degradação de proteína. Embora as leguminosas sejam menos adequadas para a ensilagem de capim, por causa de sua capacidade de tamponamento maior e menor teor de carboidratos solúveis em água, a inserção da leguminosa na silagem não alterou sua capacidade tampão.

A condutividade elétrica avalia a intensidade da ruptura celular da forragem submetida ao corte e o consequente extravasamento de íons para a solução (Kraus et al., 1997). Tal fato pode estar associado ao tamanho de partículas da silagem, partículas menores apresentam maior liberação de efluente da massa, com maior o valor da CE.

A população microbiana não apresentou diferença entre as silagens estudadas, nem nas camadas do perfil do silo, entretanto observaram-se contagens elevadas de clostrídios, bolores e leveduras e esporos aeróbios o que pode comprometer a qualidade da dieta. As recomendações gerais sugerem que as silagens com 10^4 UFC g^{-1} geralmente são seguras para alimentar os ruminantes (Chen e Weinberg, 2009). Silagens com contagem de leveduras superior a $5,0 \log \text{UFC g}^{-1}$ são suscetíveis à deterioração (Woolford, 1972).

Verificou-se altas contagens para clostrídios em ambas as silagens estudadas. Woolford (1984), supõe que geralmente clostrídios podem multiplicar-se, quer durante a

fase inicial de fermentação da silagem ou numa fase posterior, em fermentações secundárias. É desejável que, em todo período de ensilagem, ocorra uma população reduzida de clostrídeos, pelo fato de que, as perdas por gases, decorrentes da fermentação de carboidratos, ácidos orgânicos e aminoácidos, realizadas por estes micro-organismos, ocasionam intensa perda de nutrientes (Muck, 1988).

A população de esporos aeróbios não diferiu entre o CMB e CMBG (Figura 3). Contudo a contagem deste grupo de micro-organismos foi baixa comparada ao encontrado por Borreani et al. (2013), em estudo nas silagens de milho com inoculantes, onde as populações de esporos aeróbios atingiram $7,73 \log \text{ UFC g}^{-1}$.

Com relação ao perfil do silo, é importante destacar a necessidade de produzir silagem uniforme de alta qualidade ao longo de todo perfil do silo (Muck, 2013). A utilização incorreta de silagens deterioradas principalmente a partir das camadas superiores dos silos, poderia resultar em aumento na contaminação final da dieta por micro-organismos indesejáveis, tais como bolores e esporos aeróbios (Borreani et al., 2013; Dunière et al., 2013).

De acordo com Borreani e Tabacco (2010), o aumento da temperatura na superfície do silo está claramente ligado à atividade microbiana aeróbia (especialmente, o crescimento bolores) e as mudanças de pH da silagem e a mensuração da temperatura podem ter aplicações para alertar os agricultores para o início de deterioração aeróbia e pode ser útil como índice na identificação da massa alterada invisível na silagem. De acordo com Kung et al. (2000), o crescimento de micro-organismos em silagens produz calor, que é um indicador típico de degradação aeróbia.

Na termografia do painel dos silos Bags, as silagens apresentaram cores visivelmente mais intensas na camada superior, em decorrência da maior deterioração aeróbia no local. As áreas do silo mais próximas a superfície são por natureza mais susceptíveis a infiltração de ar, devido à maior porosidade e dos materiais utilizados na cobertura da massa. Ressalta-se que a temperatura na camada superior foi mais elevada também em função da incidência direta dos raios solares.

Borreani e Tabaco (2010), avaliaram a temperatura em 11 localizações em 54 silos e correlacionados a temperatura com composição química e microbiana contagem. Amostras de áreas periféricas também mostraram maiores temperaturas, pH e contagem de leveduras do que amostras a partir da área central. Esses autores concluíram que a temperatura está ligada à atividade microbiana e pode ser um indicador importante dos estágios iniciais de degradação aeróbia.

CONCLUSÕES

Apesar da inserção do feijão-guandu na silagem aumentar o teor de MS, as características qualitativas da silagem, bem como o processo fermentativo não afetados.

O feijão-guandu pode ser uma alternativa para o aumento do teor de proteína bruta na silagem de milho em sistemas integrados de produção.

Com exceção da temperatura, os locais de amostragem no perfil do silo não sofreram alterações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC International. 1980. Official Methods of Analysis. 13th ed. Association of Official Agricultural Chemists, Washington.
- AOAC International. 1995. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Agricultural Chemists, Washington.
- Baldé, A.B., E. Scopel, F. Affholder, M. Corbeels, F.A.M. Da Silva, J.H.V. Xavier, and J. Wery. 2011. Agronomic performance of no-tillage relay intercropping with maize under smallholder conditions in Central Brazil. *Field Crops Res.* 124, 240–251.
- Beuchat, L. R., Cousin, M. A. 2001. Yeasts and molds. In: Downes F. P., Ito, K. (Ed.). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington: Apha, 209- 215.
- Borreani, G., Tabacco, E. 2010. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *Journal of Dairy Science* 93:2620–2629.
- Borreani, G., Dolci, P., Tabacco, E., Cocolin, L. 2013. Aerobic deterioration stimulates outgrowth of spore-forming *Paenibacillus* in corn silage stored under oxygen-barrier or polyethylene films. *Journal of Dairy Science* 96: 5206-5216.
- Cantarella, H., Raij, B.V., Camargo, C. Cereais. 1997. In: Raij, B. V. et al. *Recomendações de calagem e adubação para o Estado de São Paulo*. Campinas: IAC, (Boletim técnico, 100).
- Chen, y., weinberg, z. W. 2009. Changes during aerobic exposure of wheat silages. *Animal Feed Science and Technology* 154:76 – 82.
- 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.
- El-Shanawany, A. A., Mostafa, M. E., Barakat, A. 2005. Fungal populations and mycotoxins in silage Assuit and Sohag governorates in Egypt, with special reference to characteristic *Aspergilli* toxins. *Mycopathologia* 159:281-289.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2013. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3th (Ed.) Brasília, 353 p.

- Hall, P. A., Ledenbach, L., Flowers, R. C. 2001. Acid producing microorganisms. In: Downes F. P., Ito, K. (Eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington: Apha, pp. 201-207.
- Ivanek, R., Gröhn, Y., Wiedmann, M. 2006. *Listeria monocytogenes* in multiple habitats and host populations. A Review of available data for mathematical modeling. *Foodborne Pathogens and Disease* 3:319–336.
- Kraus, T. J., Koeger, R. G., Straub, R. J., Shinnors, K. 1997. Leachate conductivity as an index for quantifying level of forage conditioning. In: *Asae Annual International Meeting*, Minneapolis: ASAE, 12 p.
- Kung, L. Jr., Robinson, J. R., Ranjit, N. K., Chen, J. H., Golt, C. M. Pesek, J. D. 2000. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *Journal of Dairy Science* 83:1479–1486.
- Labbe, R.G. 2001. *Clostridium perfringens*. In: Downes F. P., Ito, K. (Ed). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington: Apha, pp. 325-330.
- Lindgren, S., Pahlow, G., Oldenburg, E. 2002. Influence of microbes and their metabolites on feed and food quality. In *Proc. 19th Gen. Meet. EGF, La Rochelle, France*. British Grassland Society, UK. pp. 503–511.
- Mateus, G.P., Crusciol, C.A.C., Borghi, E. 2007. Integrated crop-livestock: the new green revolution in the tropics. *Pesquisa e Tecnologia*, 4:1-5.
- Mertens, D.R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal AOAC International* 85:1217-1240.
- Muck, R.E. 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science* 71:2992-3002.
- Muck, R. E., Holmes, B. J. 2000. Factors affecting bunker silo densities. *Applied Engineering in Agriculture* 16:613–619.
- Muck R. E. 2013. Recent advances in silage microbiology. *Agricultural and Food Science* 22:3–15.
- NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th. (Ed.) Natl. Acad. Press, Washington, DC.

- Oliveira, P., Kluthcouski, J., Favarin, J.L., Santos, D.C. 2011. Consórcio de milho com braquiária e guandu-anão em sistema de dessecação parcial. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46:1184-1192.
- Rees, D.V.H. 1982. A discussion of sources of dry matter loss during the process of hay making. *Journal of Agricultural Engineering Research* 27:469-479.
- Rosolem, C. A., Soratto, R. P., Crusciol, C. A. C. 2011. Análise da situação geral. In: Soratto, R. P., ROsolem, C. A., Crusciol, C. A. C. (Ed.). *Integração lavoura-pecuária-floresta: alguns exemplos no Brasil Central*. Botucatu, pp. 103-104.
- Schmidt, P., Novinski, C. O., Junges, D., Almeida, R., Souza, C. M. 2015. Concentration of mycotoxins and chemical composition of corn silage: A farm survey using infrared thermography. *Journal of Dairy Science* 98:6609-6619.
- Stevenson, K.E., Segner, W.P. 2001. Mesophilic aerobic sporeformers. In: Downes F. P., Ito, K. (Ed). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington: Apha, pp. 223- 237.
- Tabacco, E., Piano, S., Cavallarin, L., Bernardes, T. F., Borreani, G. 2009. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of mize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. *Journal of Applied Microbiology* 271:1-10.
- Vissers, M. M., M. Te Giffel, M. C., Driehuis, F., De Jong, P., Lankveld. J. M. 2007. Minimizing the level of *Bacillus cereus* spores in farm tank milk. *Journal of Dairy Science* 90:3286–3293.
- Whitlock, L. A., Wistuba, T. J., Seifers, M.K., Pope, R.V., Bolsen, K.K. 2003. Effect of level of suface-spoiled on the nutritive value of corn silage diets. *Journal of Dairy Science* 83, 110-2000.
- Woolford, M. K. 1984. *The Silage Fermentation*. Marcel Dekker, New York.
- Woolford, M. K. 1972. Some aspects of the microbiology and biochemistry of silage making. *Herbage Abastract* 42: 105-111.

CAPITULO 3

Efeitos do tempo de estocagem na composição da silagem de milho consorciada com capim-marandu e feijão-guandu

RESUMO

Pouco se sabe sobre a qualidade da silagem de milho com a adição do feijão-guandu e o seu efeito sobre o tempo de armazenamento. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do período de armazenamento sobre os parâmetros nutricionais e químicos da silagem de milho consorciada com leguminosa. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 8. Os tratamentos constaram de dois tipos de silagem: consórcio duplo de milho e capim-marandu (CMB) e consórcio triplo de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), e oito tempos de armazenamento da silagem (1, 1 ½, 2, 3, 4, 5, 12 e 24 meses), com duas repetições. Períodos de armazenamento prolongado, até 2 anos, para culturas adequadamente ensiladas pode ser possível sem perdas na produção. A estabilidade do valor nutricional durante o tempo de armazenamento minimizou os efeitos das perdas da silagem. A inclusão do feijão-guandu na silagem de milho aumentou os teores de PB lignina e diminuiu a digestibilidade da silagem.

Palavras-chave: *Cajanus cajan*, qualidade da silagem, tempo de armazenamento, *Urochloa brizantha* cv. Marandu, *Zea Mays* L.

1. Introdução

O setor pecuário é um dos segmentos que cresce mais rápido na economia agrícola, particularmente no mundo em desenvolvimento. À medida que a demanda por carne e produtos lácteos continua a aumentar, surgem dúvidas sobre como essa demanda será atendida e por quem. O acesso a uma base forrageira permanente é uma prioridade fisiológica para os ruminantes e uma prioridade econômica para os agricultores. A produção de forragem é sazonal em muitas partes do mundo, com excedentes disponíveis durante a colheita e deficientes no inverno ou na estação seca (Dunière et al., 2013).

As quantidades de silagem de uma estação de colheita geralmente são suficientes para a alimentação até a nova silagem estar pronta. No entanto, às vezes é necessário usar silagens o mais rápido possível após a preparação, ou algumas vezes, as silagens são armazenadas durante muitos meses. Neste contexto, quanto é seguro usar a silagem depois

de ter sido preparada, e o que acontece com a silagem após o armazenamento prolongado (Weinberg e Chen, 2013).

A alimentação animal representa um dos maiores custos na produção animal (Khan et al., 2015). No Brasil, o clima tropical favorece a produção de forragens, cujo uso geralmente custa menos em relação aos ingredientes concentrados (milho e farelo de soja) e, portanto, são sempre usados em proporções elevadas em dietas de ruminantes, muitas vezes acima de 40% (Nicory et al., 2015; Silva et al., 2016).

Sendo assim, a utilização de forrageiras leguminosas em consórcio com o milho tem apresentado resultados produtivos positivos (Oliveira et al., 2011), afim de elevar o conteúdo de proteína bruta na silagem. Essa tecnologia promissora visa reduzir o custo da silagem para a produção pecuária durante períodos de baixo fornecimento de forragens (Paulino et al., 2009).

No entanto, pouco se sabe sobre a qualidade da silagem de milho com a adição do feijão-guandu e seu efeito sobre o tempo de armazenamento. Diante do exposto, nossa hipótese foi que a inserção do feijão-guandu na silagem pode alterar a composição bromatológica da silagem, sem comprometer o tempo de armazenamento. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do período de armazenamento sobre os parâmetros nutricionais e químicos da silagem de milho consorciada com leguminosa.

2. Material e métodos

2.1 Descrição do local

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP) no município de Botucatu/SP (22°51'01"S e 48°25'28"W, com altitude de 777 metros), durante o ano de 2015. De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Embrapa, 2013), o solo da área experimental é um Latossolo Vermelho Distrófico com 280, 90 e 630 g kg⁻¹ de areia, silte e argila, respectivamente. De acordo com a classificação de Köppen, o clima predominante na região é do tipo Cwa, tropical de altitude, com inverno seco e verão quente e chuvoso.

O híbrido simples (HS) de milho 2B587 PW (precoce) foi semeado no mês de dezembro de 2014 a uma profundidade de 0,04 m, utilizando semeadora-adubadora para SPD dotada de mecanismo para abertura de sulco do tipo haste sulcadora, com densidade

de 70.000 sementes ha^{-1} . No consórcio de milho, capim-marandu se utilizou o espaçamento entrelinhas de 0,45 m. No consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu também se utilizou o espaçamento entrelinhas de 0,45 m e o feijão-guandu foi semeado nas entrelinhas do milho e capim-marandu na profundidade de 0,04 m, utilizando-se 15 sementes por metro (aproximadamente 60 kg de sementes ha^{-1}). Os capins foram semeados na quantidade de 550 pontos de valor cultural (VC) ha^{-1} . As sementes de capim-marandu foram misturadas ao adubo minutos antes da semeadura, acondicionadas no compartimento de fertilizantes da semeadora-adubadora e depositadas na profundidade de 0,08 m em relação a superfície do solo. A adubação mineral nos sulcos de semeadura, bem como, a adubação mineral de cobertura seguiu as recomendações de Cantarella et al. (1997).

2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 8, com dois tipos de silagem (provenientes do consórcio de milho e capim-marandu (CMB) e consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG)), e oito tempos de armazenamento da silagem (1; 1 ½; 2; 3; 4; 5; 12 e 24 meses), com duas repetições.

2.3 Colheita e preparo dos silos

A colheita mecânica para ensilagem foi realizada a uma altura de 0,45 m em relação à superfície do solo (Pariz et al., 2017). Foi utilizada colhedora de forragem modelo JF C-120 (12 facas) com plataforma de duas linhas em espaçamento reduzido de 0,45 m entrelinhas, sendo o material picado em partículas médias de 1,0 cm.

Posteriormente, o material picado de cada tratamento foi acondicionado em silos experimentais, frascos de PVC, com capacidade para 4 L. Cada frasco foi preenchido com cerca de 1.600 g de matéria verde e armazenado a temperatura média de 25 °C. O frasco possuía uma tampa adaptada com válvula tipo *Bunsen* para o escape de gases e areia (0,5 kg) no fundo, separada da forragem por uma tela fina de plástico com malha adequada para evitar o contato entre a areia e a silagem. A compactação foi realizada com auxílio de prensa hidráulica, com acomodação de camadas de aproximadamente 0,05 m de espessura, obtendo-se uma massa específica entre 550 a 600 kg de matéria verde/ m^3 .

2.4 Amostragem e análises

Os silos de PVC foram amostrados nos oito tempos de armazenamento após a ensilagem. Em cada data de amostragem os silos também foram submetidos ao teste de estabilidade aeróbia, durante cinco dias.

Foi determinada a composição bromatológica. A determinação dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM) foram de acordo com as técnicas descritas pelo AOAC (2004). A fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina, foram de acordo com as técnicas descritas por Van Soest (1991), adaptado por Mertens (2002). As frações de hemiceluloses (HEMI) e celulose (CEL) calculados por diferença: $HEMI = FDN - FDA$; $CEL = FDA - (Lig + cinza residual)$. Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados conforme equação proposta por Weiss, adotadas pelo NRC (2001).

$$NDT = 0,98 \times (100 - FDN_{cp} - PB - Cinzas - EE - 1) + 0,93 \times PB + 2,25 \times EE + 0,75 \times (FDN_{cp} - lignina) \times [1 - (lignina / FDN_{cp}) 0,667] - 7$$

Onde:

FDN_{cp} = fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína;

PB = proteína bruta;

EE = extrato etéreo.

A digestibilidade do FDN foi determinada com a técnica de fermentação de 2 estágios de acordo com Tilley e Terry (1963), com todas as amostras em triplicata. Os carboidratos solúveis em água foram determinados pelo método do ácido fenol – ácido sulfúrico de Dubois et al. (1956).

Foram determinados os parâmetros de pH em potenciômetro digital, acidez total titulável (ATT), segundo descrito por AOAC (2004), condutividade elétrica (CE) para quantificação da intensidade de rompimento celular foi realizada de acordo Kraus et al. (1997) e NH₃ (Segundo).

Para a determinação da estabilidade aeróbia dos silos as amostras foram mantidas em sala fechada aclimatada, com temperatura média de 25 °C, onde foi monitorada a temperatura de cada silo diariamente em intervalos de 10 minutos. Para isso, uma sonda digital termômetro foi inserida na massa ensilada, em profundidade de 15 cm, durante cinco dias. A temperatura ambiente foi medida com o auxílio de uma sonda digital termômetro localizada próximo aos silos. A estabilidade aeróbia foi calculada como o

tempo, em horas, para que as silagens, após a abertura do silo, apresentassem temperatura 2°C mais elevada que a temperatura ambiente (Kung Jr. et al., 2000).

2.5 *Análise estatística*

Os dados foram analisados pelos procedimentos da análise de variância e regressão. Realizou-se o estudo para verificar se as pressuposições de distribuição normal de aditividade e de homocedasticidade dos dados foram atendidas. Para os fatores qualitativos (silagens CMB e CMBG), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância. Os fatores quantitativos (tempo de armazenamento em meses), procedeu-se à análise de regressão polinomial. Testou-se o modelo de regressão linear simples ($\hat{Y} = \beta_0 + \beta_1x$) e, em seguida, foi testado o modelo de segundo grau ($\hat{Y} = \beta_0 + \beta_1x + \beta_2x^2$), em que se considerou “ $\hat{Y}$ ” como variável dependente e “ x ” como variável independente, além de “ β_0 , β_1 , β_2 ” como coeficientes médio, de efeito linear e de efeito quadrático, respectivamente. Diante da semelhança estatística de dois modelos, optou-se pelo de maior ordem. Considerou-se tendência significativa aquela cujo modelo ajustado obteve $P < 0,05$. Como medida de precisão do modelo, utilizou-se o coeficiente de determinação (R^2/r^2). Empregou-se, como ferramenta de auxílio, o programa SAEG versão 9.0 (Saeg, 2005).

3. Resultados

Os componentes de proporções das silagens do consórcio duplo CMB e triplo CMBG são apresentados na Tabela 1. A proporção de grãos de milho em ambas as silagens foi alta, dando respaldo aos altos valores de NDT e digestibilidade na silagem encontrados no presente estudo.

Tabela 1

Componentes da produção e produtividade do milho e do capim-marandu cultivados em consórcio com ou sem feijão-guandu para silagem.

	CMB	CMBG
Milho		
PFP (plantas ha ⁻¹)	79.937	81.172
NE (espigas ha ⁻¹)	72.222	77.777
PMS de grãos (kg ha ⁻¹)	6.738	7.244
Grãos (% na PMST)	57,9	52,7
Capim-marandu		
PMS na silagem (kg ha ⁻¹)	174	167
Proporção na silagem (% na PMST)	1,5	1,2
Feijão-guandu		
PMS na silagem (kg ha ⁻¹)	-	792
Proporção na silagem (% na PMST)	-	5,8

CMB: consórcio de milho e capim-marandu e CMBG: consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu
PFP, NE, PMS, PMST: população final de plantas, número de espigas por hectare, produtividade de massa seca e produtividade de massa seca total, respectivamente.

Os dados da composição nutricional das silagens são apresentados na tabela 2. Foram observadas diferença estatística na MS, PB, FDN, FDA, celulose, lignina, hemicelulose, NDT e digestibilidade em função do CMB e CMBG.

Os teores de PB, foram maiores no CMBG, sendo que a inserção do feijão-guandu na silagem aumentou os teores de PB em 17,72 % comparado ao CMB.

Como esperado, a silagem do CMBG apresentou maiores teores nas frações fibrosas: FDN, FDA, celulose, lignina, hemicelulose com relação a silagem do CMB, consequentemente apresentando menor digestibilidade.

A digestibilidade média no CMBG foi de 74,2 % e de 81,2 % para o CMB (Tabela 2). Entretanto ambas as silagens apresentaram elevada digestibilidade, tal fator foi influenciado pela alta proporção de grãos nas silagens, corroborando com os valores de NDT encontrados.

Não foram encontradas diferença nos carboidratos solúveis nas silagens (Tabela 2).

Tabela 2

Valor nutricional das silagens provenientes do consórcio de milho e capim-marandu (CMB) e do consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG).

	MS	MN	PB	FDN	FDA	CEL	LIG	HEMI
	%							
CMB	33,7 b	3,4 a	7,9 b	42,0 b	28,1 b	18,3 b	3,2 b	13,9 b
CMBG	39,7 a	3,3 a	9,3 a	46,0 a	31,6 a	25,0 a	6,2 a	14,4 a
	NDT		Digestibilidade			Carboidratos solúveis		
	%							
CMB	78,1 a		81,2 a			4,1 a		
CMBG	72,6 b		74,2 b			4,9 a		

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose (CEL), lignina (LIG), hemicelulose (HEM) nutrientes digestíveis totais (NDT)

A inclusão da leguminosa na silagem não alterou os parâmetros de NH_3 , ATT, pH e CE (Tabela 3).

Tabela 3

Composição química das silagens provenientes do consórcio de milho e capim-marandu (CMB) e do consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG).

	NH_3	ATT	pH	CE
	%N			$\mu\text{S cm}^2$
CMB	1,7 a	14,8 a	4,2 a	735,2 a
CMBG	2,3 a	14,5 a	4,3 a	813,5 a

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Acidez titulável (ATT) e condutividade elétrica (CE)

Na análise de regressão das silagens, o efeito do tempo de armazenamento foi significativo para os teores de MS, PB, FDN, FDA, celulose, lignina, hemicelulose, NDT, digestibilidade e carboidratos solúveis ($P > 0,05$). Os efeitos do tempo de ensilagem sob os teores nutricionais no CMB e o CMBG são apresentados na figura 1 e 2.

Os teores de MS foram afetados de forma quadrática pelo período de armazenamento, com tendência de estabilidade após o 3 mês de armazenamento. A MM respondeu de forma linear negativa aos meses de armazenamento avaliados (Figura 2).

Os teores de PB e carboidratos solúveis apresentaram leve diminuição até os 12 meses de armazenamento, apresentando tendência a estabilização posterior aos 12 meses.

Os teores de NDT responderam de forma quadrática ao tempo de armazenamento das silagens. Houve moderado acréscimo nos teores de NDT conforme prolongamento do tempo de armazenamento.

A digestibilidade das silagens apresentou comportamento linear negativo. Houve decréscimo de 4,8 % e 6,4 % na digestibilidade no CMB e CMBG respectivamente, até os 24 meses de armazenamento.

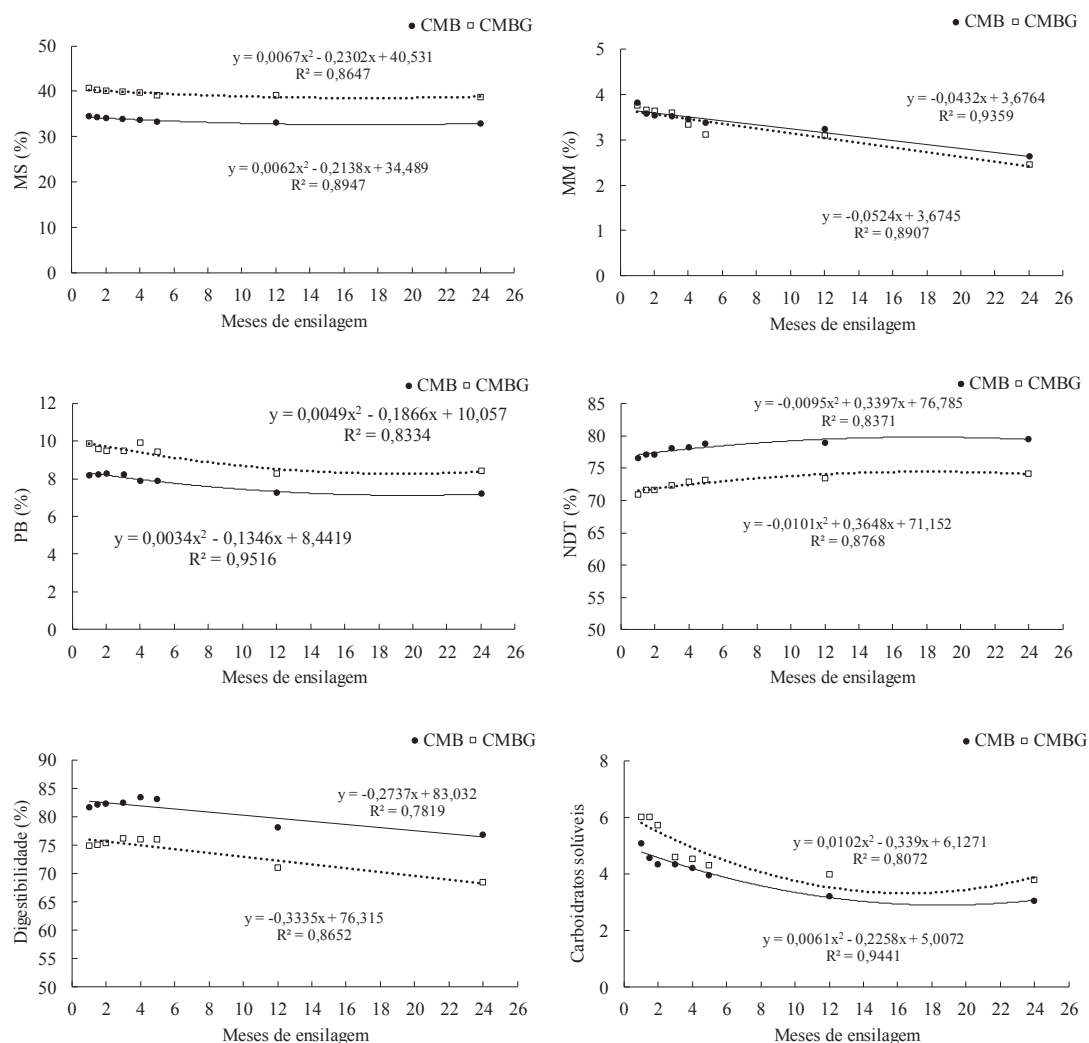


Figura 1. Matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nutrientes digestíveis totais (NDT), digestibilidade e carboidratos solúveis das silagens provenientes do consórcio de milho e capim-marandu (CMB) e do consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), nos tempos de abertura do silo (1, 1 ½, 2, 3, 4, 5, 12 e 24 meses)

O comportamento para as frações fibrosas da silagem FDN, FDA, celulose, lignina e hemicelulose foram similares, apresentando diminuição substancial nos teores de fibra e tendência a estabilização após 12 meses de armazenamento (Figura 2).

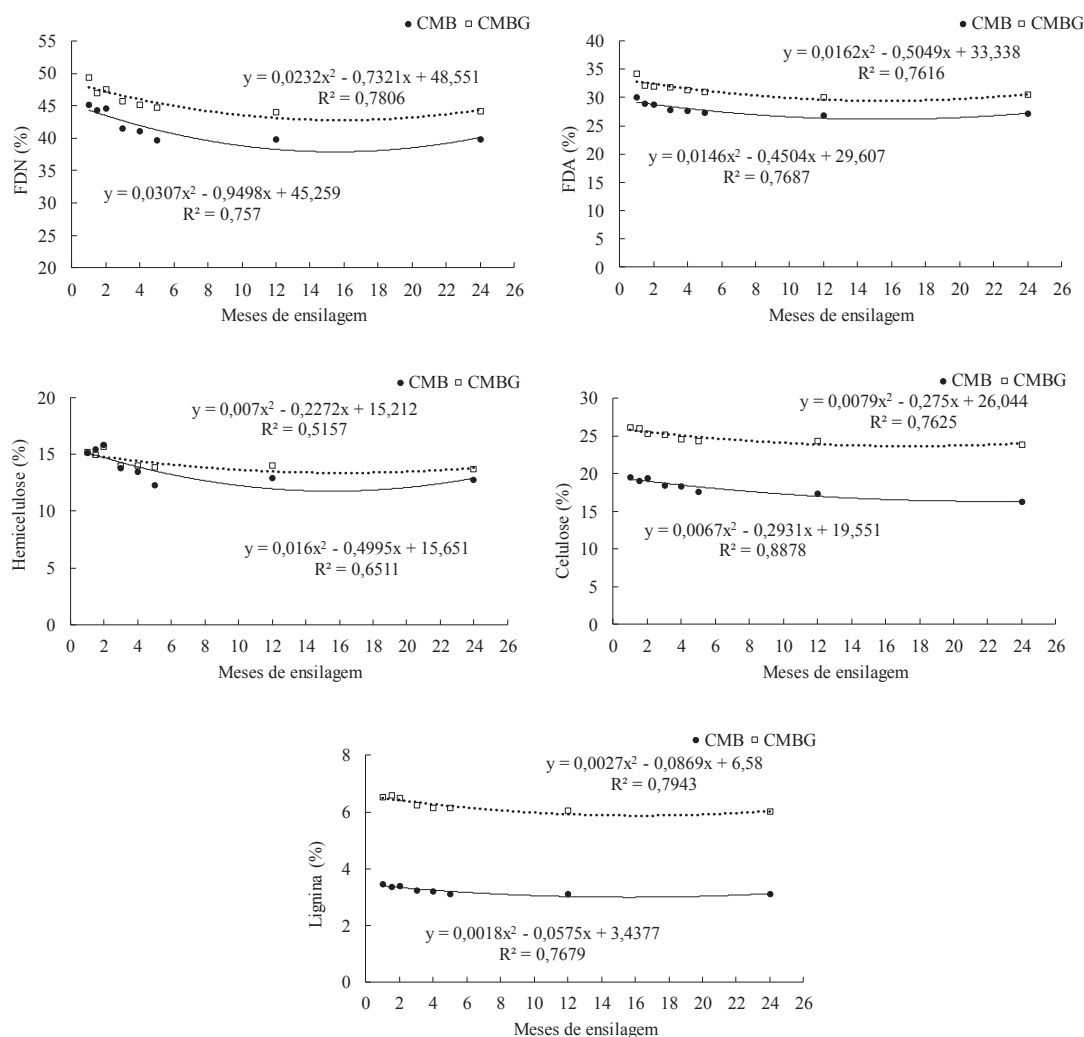


Figura 2. Fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (HEM), celulose (CEL) e lignina (LIG) das silagens provenientes do consórcio de milho e capim-marandu (CMB) e do consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), nos tempos de abertura do silo (1, 1 ½, 2, 3, 4, 5, 12 e 24 meses)

Na análise de regressão das silagens, o efeito do tempo de armazenamento foi significativo para os teores NH_3 , acidez titulável, pH e condutividade elétrica ($P > 0,05$). Os teores de NH_3 responderam de forma quadrática para os tempos de armazenamento, nas duas silagens estudadas (Figura 3). Foi verificado queda gradual durante até os 5 meses de armazenamento, com tendência de aumento após os 12 meses de armazenamento.

O pH apresentou valores similares nas duas silagens, não apresentando diferença significativa durante os dias de armazenamento, conseguindo manter a estabilidade

durante a ensilagem (Figura 3). Os valores de pH encontrados no presente trabalho, variaram entre 4,1 a 3,8 e 4,3 a 4,1 para CMB e CMBG respectivamente.

Foi observado decréscimo nos valores da condutividade elétrica e acidez titulável conforme aumento nos meses de armazenamento das silagens. Apresentando tendência de estabilidade após 12 meses de armazenamento para o CMB e CMBG.

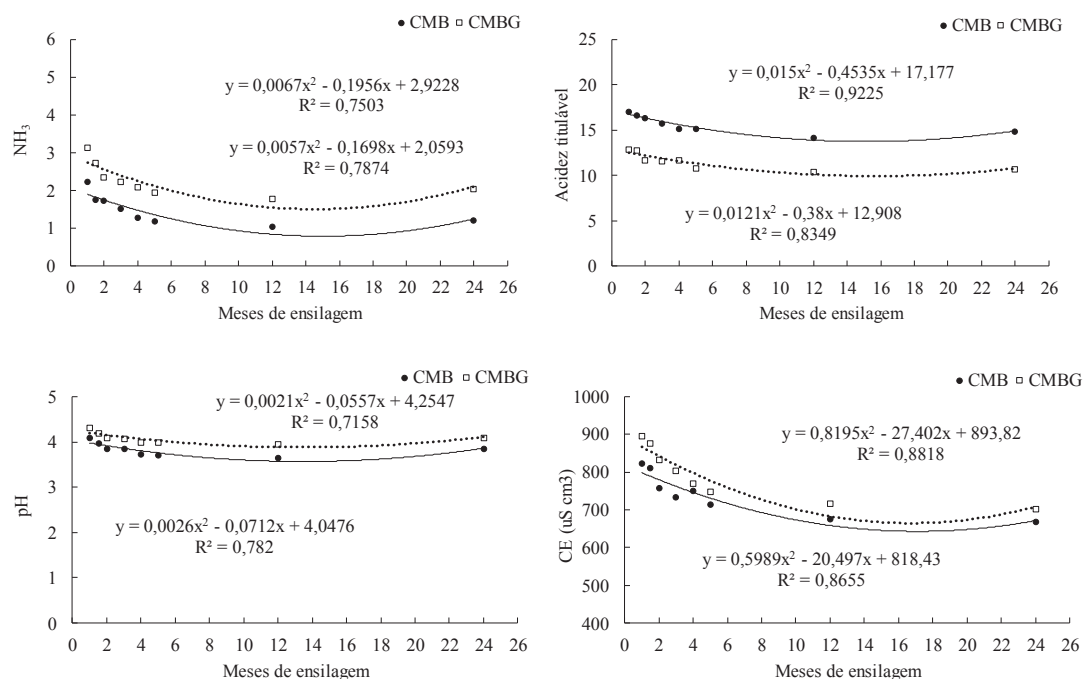


Figura 3. NH_3 , acidez titulável (ATT), pH e condutividade elétrica (CE) das silagens provenientes do consórcio de milho e capim-marandu (CMB) e do consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), nos tempos de abertura do silo (1, 1 ½, 2, 3, 4, 5, 12 e 24 meses)

Não houve quebra da estabilidade aeróbia das silagens, de acordo com a metodologia imposta ao estudo. Os dados de temperatura avaliados, permitem observar que o CMB e o CMBG nos tempos de armazenamento estudados, não apresentaram elevação da temperatura da silagem durante os cinco dias de exposição ao ar (Figura 4).

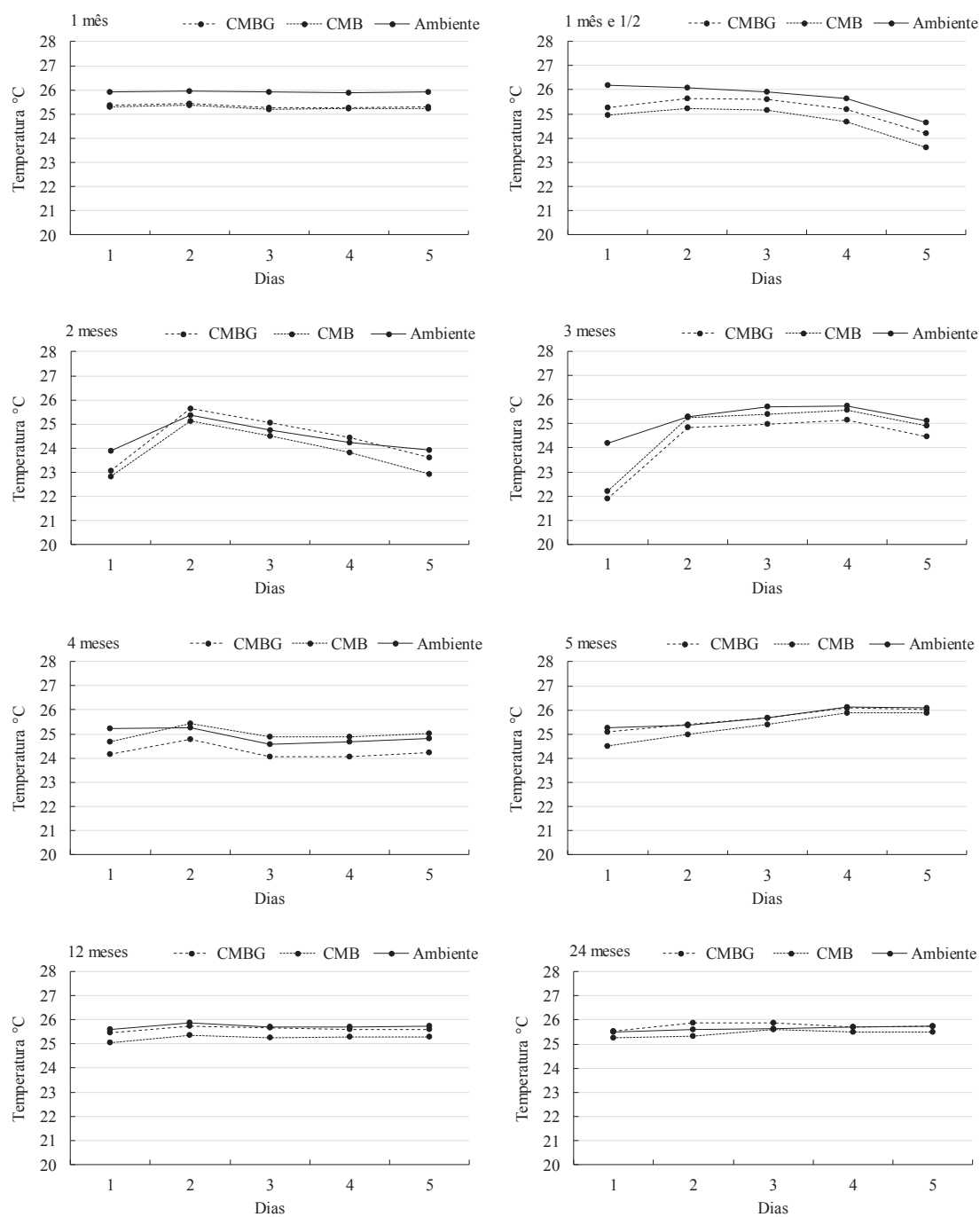


Figura 4. Temperatura ambiente das silagens provenientes do consórcio de milho e capim-marandu (CMB) e do consórcio de milho, capim-marandu e feijão-guandu (CMBG), nos tempos de abertura do silo (1, 1 ½, 2, 3, 4, 5, 12 e 24 meses), durante cinco dias de exposição ao ar

4. Discussão

O presente estudo foi realizado a fim de obter dados sobre a qualidade da silagem de milho utilizada após armazenamento curto ou prolongado, bem como a influência da inserção da leguminosa na conservação. A maioria de nossa discussão terá efeitos com bases no tempo de armazenamento das silagens consorciadas, e não centradas nas diferenças entre ambas.

A inserção da leguminosa na silagem de milho aumentou o teor de PB e os teores de fibra da silagem, bem como reduziu a digestibilidade, contudo a qualidade nutricional da silagem manteve-se dentro do preconizado para uma silagem de boa qualidade.

Com base nos efeitos do tempo de armazenamento, embora não seja diretamente fermentado por bactérias de ácido láctico, a fração fibrosa das silagens muda com o tempo de armazenamento, provavelmente ocasionada pelo desaparecimento de hemicelulose. Morrison (1979), relatou que a hidrólise ácida resulta em alguma degradação da hemicelulose durante a ensilagem. Herrmann et al. (2011), observaram que a FDN em silagem de milho diminuiu de 42,7% em forragem fresca para 36,9% em silagem armazenada por 365 dias, corroborando as informações anteriores.

Weinberg e Chen (2013), observaram que durante o ano de armazenamento da silagem de milho houve perda na MS e a digestibilidade da FDN diminuiu, divergindo do observado por Hallada et al. (2008), onde a digestibilidade da FDN da silagem de milho aumentou substancialmente com o tempo de armazenamento avançado.

No presente estudo, as perdas da MS aumentaram e a digestibilidade diminuiu, conforme o tempo de armazenamento, tal fato, pode ser atribuído a maior degradação da hemicelulose e celulose, frações de rápida e parcial degradação respectivamente. Com isso resultando na predominância de fibras como a lignina na silagem, sendo esta fração indigestível. A estabilidade da lignina em função do tempo de armazenamento da ensilagem condiz com estudos realizados por Herrmann et al., 2011.

As diferenças nos teores de lignina entre as silagens foram grandes (3% maior no CMBG). A presença deste indicador nas leguminosas, geralmente, são mais condensadas e se encontram em maior quantidade, para um mesmo estágio de maturidade, do que as encontradas em gramíneas (Grenet e Belse, 1991). A fração indigestível da FDN é a que mais afeta a utilização da fibra no rúmen. Huhtanen e Khalili (1991), mostraram uma relação negativa entre a digestibilidade in vivo da FDN e a quantidade de FDN total no rúmen.

Embora o feijão-guandu seja uma leguminosa, os teores de lignina são mais elevados devido a presença de caule lenhoso. Fukushima e Savioli (2001), observaram maior concentração de lignina na fração caule em relação a folha. Esta constatação vai ao encontro dos frequentes relatos na literatura, em que usualmente os caules exibem valores de digestibilidade menores que as folhas (Van Soest, 1994).

As concentrações de NH_3 , produtos de degradação de proteínas, geralmente aumentam em função do tempo de armazenamento da silagem (Der Bedrosian et al., 2012). Embora estes aumentos sejam indesejáveis, são geralmente inevitáveis porque a proteólise é o principal resultado de proteases vegetais e microbianas, enquanto que a desaminação ocorre através do metabolismo microbiano (Grum et al., 1991). Vale ressaltar que o CMBG apresentou teores de NH_3 superiores ao CMB em todos os tempos de armazenamento, podendo estar associado ao maior nível de proteínas na silagem com a inserção da leguminosa, permitindo o desenvolvimento de micro-organismos que degradam essa fração do alimento.

O meio ácido leva a degradação do componente de maior solubilidade, justificando o consumo acelerado de carboidratos solúveis conforme aumento no tempo de armazenamento das silagens. A ausência de efeito negativo de pH tanto pela inclusão de feijão-guandu na silagem bem como no tempo de armazenamento, ocorreu devido ao baixo nível de feijão-guandu na silagem. As leguminosas têm em seu metabolismo vias que levam a substratos que alcalinizam o meio. Contudo a presença do feijão-guandu na silagem foi suficiente para alterar o teor de proteína, mas não para alterar os parâmetros de pH. Outro fator que pode ter contribuído é a ausência de diferença na acidez titulável, consolidando a informação.

Condutividade elétrica avalia a intensidade da ruptura celular da forragem submetida ao corte e o consequente extravasamento de íons para a solução (Kraus et al., 1997). A inserção do feijão-guandu não provocou aumento da lise das células vegetais na silagem.

Coletivamente, os dados estudados sugerem que vários processos metabólicos importantes continuam no que foi considerado a fase estável da ensilagem. Embora a literatura faça referência a uma fase estável do processo de ensilagem (Pahlow et al., 2003).

Com relação a estabilidade aeróbia das silagens, possivelmente a densidade utilizada no presente estudo, dentro dos parâmetros recomendados para uma boa silagem, proporcionou maior quantidade de substratos disponíveis para consumo dos micro-

organismos na fase aeróbia (Amaral et al., 2008). Weinberg e Chen (2013), afirmam que os silos de PVC apresentam condições ideais de armazenamento das silagens. Em silos convencionais a penetração do ar e o manejo do silo para a alimentação dos animais, entre outros fatores como compactação podem afetar a qualidade da silagem e devem ser considerados.

5. Conclusões

Períodos de armazenamento prolongado, até 2 anos, para culturas adequadamente ensiladas pode ser possível sem perdas na produção.

A estabilidade do valor nutricional durante o tempo de armazenamento minimizou os efeitos das perdas da silagem.

A inclusão do feijão-guandu na silagem de milho aumentou os teores de PB lignina e diminuiu a digestibilidade da silagem.

Referências bibliográficas

- Amaral, R.C., Bernardes, T.F., Siqueira, G.R., Reis, R.A., 2008. Aerobic stability of marandu grass silages submitted to different packing intensities during ensiling. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37, 977-983.
- AOAC, 2004. Official Methods of Analysis, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Cantarella, H., Raij, B.V., Camargo, C. Cereais. 1997. In: Raij, B. V. et al. Recomendações de calagem e adubação para o Estado de São Paulo. Campinas: IAC, (Boletim técnico, 100).
- Der Bedrosian, M.C., Nestor, K.E.Jr., † Kung, L.Jr., 2012. The effects of hybrid, maturity, and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 95, 5115-5126.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebes, P.A., Smith, F., 1956. Método colorimétrico para determinação de açúcares e substâncias relacionadas. *Analytical Chemistry* 28, 350 – 356.
- Dunière, L., Sindou, J., Chaucheyras-Durand, F., Chevallier, I., Thèvenot-Sergentet, D., 2013. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Animal Feed Science and Technology* 182, 1-15.
- Fukushima, R.S., Savioli, N.M.F., 2001. Correlation Between *In vitro* Cell Wall Digestibility and Three Analytical Methods for Quantifying Lignin. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30, 302-309.
- Grenet, E.; Besle, J., 1991. Microbes and fiber degradation, In: Jouany, J.P. Rumen microbial metabolism and ruminant digestion, Paris, 107-129.
- Grum, D.E., Shockey, W.L., Weiss, W.P., 1991. Electrophoretic examination of alfalfa silage proteins. *Journal of Dairy Science* 74, 146-154.
- Khan, M.K., Jo, C., Tariq, M.R., 2015. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors. A review. *Meat Science* 110, 278 – 284.
- Kung, L.Jr., Robinson, J.R., Ranjit, N.K., Chen, J.H., Golt, C.M., Pesek, J.D., 2000. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *Journal of Dairy Science* 83, 1479–1486.

- Hallada, C.M., Sapienza, D.A., Taysom, D., 2008. Effect of length of time ensiled on dry matter, starch and fiber digestibility in whole plant corn silage. *Journal of Dairy Science* 91(E-Suppl. 1).
- Herrmann, C., Heiermann, M., Idler, C., 2011. Effects of ensiling, silage additives and storage period on methane formation of biogas crops. *Bioresource Technology* 102, 5153-5161.
- Huhtanen, P., Khalili, H., 1991. Sucrose supplements in cattle given grass silage based diet. 3. Rumen pool size and digestion kinetics. *Animal Food Science and Technology*, 33, 275.
- Mertens, D.R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC International* 85, 1217-1240.
- Morrison, I.M., 1979. Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effect of various additives on these changes. *Journal of Agricultural Science* 93, 581-586.
- Nicory, I.M.C.; Carvalho, G.G.P.; Ribeiro, O.L.; Santos, S.A.; Silva, F.F.; Silva, R.R.; Lopes, L.S.C.; Souza, F.N.C.; Freitas Junior, J.E., 2015. Productive and metabolic parameters in lambs fed diets with castor seed meal. *Livestock Science* 181, 171 – 178.
- Oliveira, P., Kluthcouski, J., Favarin, J.L., Santos, D.C., 2011. Consórcio de milho com braquiária e guandu-anão em sistema de dessecação parcial. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 46, 1184-1192.
- Paulino, V.T., Ferrari Jr.E., Possenti, R.A., Lucenas, T.L., 2009. Forage peanut silage (*Arachis pintoi* cv. Belmonte) with different additives. *Boletim de Indústria Animal* 66, 33-43.
- Pahlow, G., Muck, R.E., Driehuis, F., Oude Elferink, S.J.W.H., Spoelstra, S.F., 2003. Microbiology of ensiling. Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Ed.) *Silage Science and Technology*, American Society of Agronomy, Madison, WI, 31-93.
- Pariz, C.M., Costa, C., Crusciol, C.A.C., Castilhos, A.M., Meirelles, P.R.L., Roça, R.O., Pinheiro, R.S.B., Kuwahara, F.A., Martello, J.M., Cavasano, F.A., Yasuoka, J.I, Sarti, J.R.W., Melo, V.F.P., Franzluebbbers, A.J., 2017. Lamb production responses to grass grazing in a companion crop system with corn silage and oversowing of yellow oat in a tropical region. *Agricultural Systems* 151, 1-11.
- SAEG, 2007. SAEG: sistema para análises estatísticas, versão 9.1. Viçosa: UFV.

- Silva, R.V.M.M., Carvalho, G.G.P., Pires, A.J.V., Pereira, M.L.A., Pereira, L., Campos, F.S., Perazzo, A.F., Araújo, M.L.G.M.L., Nascimento, C.O., Santos, S.A., Tosto, M.S.L., Rufino, L.M.A., Carvalho, B.M.A., 2016. Cottonseed cake in substitution of soybean meal in diets for finishing lambs. *Small Ruminant Research* 137, 183 – 188.
- Tilley, J.M.A., Terry, R.A., 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society* 18, 104 – 111.
- Van Soest, P.J., 1964. Symposium on nutrition and forage and pastures: new chemical procedures for evaluating forages. *Journal of Animal Science* 23, 838.
- Weinberg, Z.G., Chen, Y., 2013. Effects of storage period on the composition of whole crop wheat and corn silages. *Animal Feed Science and Technology*. 185, 196-200.

CAPITULO 4

IMPLICAÇÕES

Ensaio de microbiologia em silagens no Brasil não são comuns. Tais análises demandam uma equipe multidisciplinar para que a identificação da atuação dos micro-organismos na silagem, seja determinada e compreendida de forma exata. Tais ensaios demandam precisão e equipe treinada.

A utilização de um número maior de silos auxiliaria afirmar com maior precisão os dados obtidos, principalmente com relação a interação da temperatura e a atividade dos micro-organismos indesejáveis presentes no silo, uma vez que, pode ter aplicações em alertar os agricultores para o início de deterioração aeróbia e poderiam ser úteis como um índice para identificar a massa invisível da silagem alterada.

Ressalta-se que o custo dessas avaliações é elevado, limitando ensaios dessa natureza.