

**EVALDO PAULO FIRMINO**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS E  
POPULAÇÕES MICROBIANAS DE SILAGENS MISTAS DE  
MILHO E GUANDU**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Rogério de Paula Lana.

**VIÇOSA – MINAS GERAIS**

**2020**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

F525c  
2020  
Firmino, Evaldo Paulo, 1984-  
Composição química, características fermentativas e  
populações microbianas de silagens mistas de milho e guandu /  
Evaldo Paulo Firmino. – Viçosa, MG, 2020.  
27 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Rogerio de Paula Lana.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 25-27.

1. Guando - Silagem. 2. Milho - Silagem. I. Universidade  
Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 636.0862

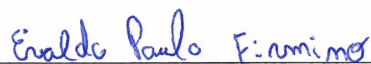
EVALDO PAULO FIRMINO

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS E  
POPULAÇÕES MICROBIANAS DE SILAGENS MISTAS DE  
MILHO E GUANDU**

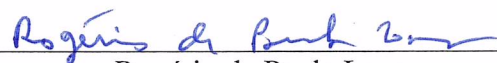
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 24 de janeiro de 2020.

Assentimento:



Evaldo Paulo Firmino  
Autor



Rogério de Paula Lana  
Orientador

*Aos meus irmãos (as), Sandra,  
Valdilene e João Eudes, por terem  
acreditado em mim.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida e pelas oportunidades a mim concedidas.

Aos meus pais, pela família que construíram, e aos meus oito irmãos mais velhos: João Eudes, Sandra, Rosa, Vanderlice, Donizete, Amarildo, Valdilene e Erivelton, que de alguma forma contribuíram para minha formação.

Aos meus sobrinhos, Géssika, Rafaela, Isac, Gustavo, João Victor, Júlia Guilherme, Miguel, Maria Clara, Pedro, Caio e Igor, pelo carinho e alegria que fazem a caminhada ser mais prazerosa.

À minha esposa Dayse e às minhas filhas Alice e Isabela, eu não tenho palavras para agradecer, vocês são o alicerce da minha vida!

Aos servidores da Fazenda Cachoeirinha da UFV, Vanor, Antonio Carlos e José Bira, pelo auxílio durante a condução do experimento, e ao João Guilherme (Departamento de Bioquímica) pelas tentativas com as análises de ácidos orgânicos. Aos professores Edenio e Odilon, por permitirem o uso dos laboratórios de Nutrição Animal e Forragicultura para realização das análises. Obrigado!

Aos colegas do Laboratório de Forragicultura, João Paulo, Tamara e Wagner, pelo apoio sempre que necessário e, em especial, ao Felipe, Alberto, Jaina e Valber, que se dispuseram inteiramente a me auxiliar com as análises laboratoriais. Gratidão eterna!

Ao professor Antônio Policarpo, pelo auxílio com as análises estatísticas. Ao Davi e às professoras Karina e Cristina, por aceitarem o convite para participação neste projeto.

Ao meu orientador, Rogério de Paula Lana, pela paciência, orientação, confiança e por estar sempre disponível para auxiliar. Deus lhe abençoe e meu muitíssimo obrigado!

## **BIOGRAFIA**

IVALDO PAULO FIRMINO, filho de Moacir Firmino e Aparecida Caetano da Silva, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 28 de setembro de 1984. Em janeiro de 2009 concluiu a graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa – UFV.

De 2009 a 2012 atuou como Gerente Técnico-administrativo na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite do Departamento de Zootecnia (UFV) e Técnico no Programa de Desenvolvimento da Pecuária de Leite da Região de Viçosa (PDPL-RV).

De 2012 a 2015 atuou como Coordenador da Captação de Leite no Laticínios Funarbe – Produtos Viçosa.

Em 2015 ingressou na carreira técnica-administrativa da Universidade Federal de Viçosa e, em agosto de 2017, iniciou o Mestrado em Zootecnia, desenvolvendo estudos na área de Nutrição de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 24 de janeiro de 2020.

## RESUMO

FIRMINO, Evaldo Paulo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2020. **Composição química, características fermentativas e populações microbianas de silagens mistas de milho e guandu.** Orientador: Rogério de Paula Lana.

Avaliou-se a composição química, perfil fermentativo e populações microbianas de silagens mistas de milho (*Zea mays*) e guandu (*Cajanus cajan*). Utilizou-se um esquema fatorial 5 x 5 (cinco tipos de silagem x cinco períodos de fermentação) em um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os tipos de silagem diferiram quanto à proporção de guandu na mistura (0, 10, 20, 30 e 100%). Os períodos de fermentação foram de 3, 7, 14, 21 e 42 dias. Houve efeito de interação entre tipos de silagem \* período de fermentação ( $P < 0,05$ ) para a população de bactérias do ácido láctico, sendo as maiores populações encontradas na silagem de guandu. Não houve efeito para mofos, leveduras e recuperação de matéria seca. Os teores de matéria seca e de carboidratos não fibrosos reduziram com a participação de guandu na mistura e o inverso ocorreu para o pH. A silagem de guandu apresentou maiores populações de enterobactérias e concentrações de lignina, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína, matéria mineral e nitrogênio amoniacal. A participação de guandu em 30% da mistura mostrou-se eficiente para aumentar a proteína da silagem de milho.

**Palavras-chave:** Avaliação agronômica. Avaliação química. Guandu. Milho. Perdas por fermentação. Silagem.

## ABSTRACT

FIRMINO, Evaldo Paulo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2020. **Chemical composition, fermentation profile and microbial populations of mixed silages of corn and pigeon pea.** Advisor: Rogério de Paula Lana.

The chemical composition, fermentative profile and microbial populations of mixed corn (*Zea mays*) and pigeon pea (*Cajanus cajan*) silages were evaluated. A factorial scheme 5 x 5 (five types of silage x five fermentation periods) was used in a completely randomized design, with three replications. The types of silage differed in the proportion of pigeon pea in the mixture (0, 10, 20, 30 and 100%). The fermentation periods were 3, 7, 14, 21 and 42 days. There was an interaction effect between types of silage \* fermentation period ( $P < 0.05$ ) for the lactic acid bacteria population, and the largest populations was found in pigeon pea silage. There was no effect for molds, yeasts and recovery of dry matter. Dry matter and non-fibrous carbohydrate contents reduced with the participation of pigeon pea in the mixture and the reverse occurred for pH. Pigeon pea silage showed higher enterobacteria populations and lignin concentrations, neutral detergent fiber corrected for ash and protein, mineral matter and ammoniacal nitrogen. Pigeon pea participation in 30% of the mixture was efficient to increase corn silage protein.

**Keywords:** Agronomic evaluation. Chemical evaluation. Guandu. Maize. Fermentation losses. Silage.

## LISTA DE TABELAS

	<b>Página</b>
Tabela 1 – Composição química (g/kg de MS), pH e população microbiana (log UFC/g) das plantas de milho e guandu antes da ensilagem.....	17
Tabela 2 – P-valor e erro padrão da média para as variáveis de composição química, perfil fermentativo e populações microbianas de silagens de milho e guandu em diferentes períodos de fermentação .....	18
Tabela 3 – População de bactérias do ácido láctico (log de UFC/g) de silagens de milho e guandu em diferentes períodos de fermentação .....	18
Tabela 4 – Matéria seca (MS), pH e populações de enterobactérias, fungos e leveduras (log UFC/g) de silagens mistas de milho e guandu .....	19
Tabela 5 – Matéria seca (MS) e populações de enterobactérias, fungos e leveduras (log UFC/g) de silagens mistas de milho e guandu em função dos períodos de fermentação .....	20
Tabela 6 – Composição química (g/kg de MS), características fermentativas, perdas e recuperação de matéria seca de silagens mistas de milho e guandu aos 42 dias de fermentação.....	20

# SUMÁRIO

	<b>Página</b>
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
2.1 Local do experimento .....	13
2.2 Delineamento experimental e tratamentos .....	13
2.3 Cultivo das plantas, ensilagem e abertura dos silos .....	13
2.4 Perdas fermentativas e recuperação de matéria seca .....	14
2.5 Análises químicas .....	15
2.5 Perfil fermentativo e população microbiana.....	15
2.6. Análise estatística .....	16
3. RESULTADOS .....	17
4. DISCUSSÃO .....	22
4. CONCLUSÕES .....	24
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25

## 1 INTRODUÇÃO

Os avanços tecnológicos têm permitido explorar diversas opções de alimentação para ruminantes, dentre elas a produção de uma grande variedade de plantas forrageiras, seja para o fornecimento direto na forma de pastejo ou sua utilização para produção de fenos e silagens.

Devido à sazonalidade climática ou características particulares de alguns sistemas produtivos, a produção de silagens tem sido utilizada com frequência para suplementação dos animais ruminantes. As silagens de gramíneas, principalmente milho e sorgo, são comuns e bastante utilizadas pelos pecuaristas, todavia, as propriedades que utilizam silagens de leguminosas ainda são pouco representativas.

As pesquisas com silagens abordam os vários aspectos agrônômicos, bioquímicos, microbiológicos, nutricionais e de gerenciamento do processo, sendo que grande parte das pesquisas são realizadas para entender os processos complexos que ocorrem durante a ensilagem, a fim de obter melhor controle e maior qualidade dos alimentos preservados (BERNARDES; CHIZZOTTI, 2012).

A silagem de milho de planta inteira é a mais utilizada em todo o mundo (FERRARETTO; SHAVER; LUCK, 2018), possuindo baixa concentração de proteínas e alguns minerais, mas alta concentração de carboidratos fermentáveis (ALONSO et al., 2013). Seu teor de proteína bruta, 7,1% (CQBAL 4.0), é insuficiente para atender a demanda dos animais, principalmente quando se deseja alta produtividade.

De forma geral, as leguminosas possuem teor de proteína mais elevado que as gramíneas, contudo, seu uso como silagem é pouco representativo. Essa baixa popularidade no uso da silagem de leguminosas explica-se pelo fato de que, quando ensiladas na forma exclusiva, apresentam baixa qualidade. Essas plantas possuem como características baixo teor de carboidratos solúveis e matéria seca, alta capacidade tamponante e baixa população autóctone de bactérias do ácido láctico (BAL), características indesejáveis para produção de silagem (SANTOS et al., 2019). Além disso, podem apresentar características como alto conteúdo de ácido butírico e nitrogênio amoniacal, fatores que podem restringir o consumo de alimentos pelos animais (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Visando o aproveitamento do alto conteúdo proteico das leguminosas e sabendo de suas limitações em relação ao processo fermentativo, algumas estratégias podem ser adotadas, dentre elas a produção de silagens mistas com gramíneas, principalmente aquelas com maior teor de

carboidratos prontamente fermentáveis, pois esses carboidratos são rapidamente convertidos em ácidos orgânicos, responsáveis pela queda do pH e estabilidade da massa ensilada.

Para obtenção de uma silagem de boa qualidade a planta a ser ensilada deve apresentar ao final de seu processo fermentativo características que resultarão diretamente no bom desempenho animal. Dentre as variáveis utilizadas como parâmetros para avaliação de silagens estão seu conteúdo de matéria seca, concentração de ácidos orgânicos, pH, teor de nitrogênio amoniacal, micotoxinas, populações microbianas e propriedades organolépticas (KUNG et al., 2018), além da sua riqueza de nutrientes, avaliados por meio de sua composição química.

O ácido láctico, geralmente, é o ácido encontrado em maior concentração nas silagens e o que mais contribui para declínio do pH durante a fermentação, porque é cerca de 10 a 12 vezes mais forte que os demais ácidos encontrados na silagem (KUNG et al., 2018). Já o conteúdo dos ácidos acético e butírico é indicador negativo da qualidade fermentativa e também indica silagens que apresentaram acentuadas perdas de matéria e energia durante a fermentação (NASCIMENTO AGARUSSI et al., 2019).

Diversos são os microrganismos presentes nas silagens, dentre os quais, as bactérias do ácido láctico, enterobactérias, clostrídeos, fungos e leveduras. As bactérias do ácido láctico são as mais abundantes e desejáveis, uma vez que o ácido láctico produzido por esses microrganismos é capaz de reduzir o pH, controlando microrganismos indesejáveis e reduzindo perdas no material ensilado (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Já a presença de enterobactérias, clostrídeos, fungos e leveduras nas silagens é indicativa da ocorrência de fermentações indesejáveis, envolvendo atividade proteolítica e perdas de matéria seca (MUCK et al., 2018).

Estudos disponíveis na literatura envolvendo a produção de silagens mistas entre gramíneas e leguminosas têm mostrado que essa tecnologia pode ser utilizada com sucesso para produção de silagens de boa qualidade (CONTRERAS-GOVEA et al., 2011; CARPICI, 2016; PEREIRA et al., 2019).

Várias são as espécies de gramíneas e leguminosas com potencialidade para produção de silagens mistas. Dentre as gramíneas mais indicadas para produção de silagens mistas destacam-se o milho e o sorgo, por possuírem boa capacidade fermentativa devido a seu conteúdo de carboidratos prontamente fermentáveis e pela sua alta aceitação por parte dos animais. Já as opções de leguminosas são várias, dentre as quais, alfafa, amendoim forrageiro, crotalária, soja e o guandu.

Segundo Carellos (2013), a utilização do guandu em pastejo, legumineira (fenação, ensilagem ou picado nos cochos) ou, ainda, consorciado com capim-elefante, cana-de-açúcar e milho para fornecimento nos períodos de estiagem pode ser boa alternativa para os produtores.

O guandu (*Cajanus cajan*) é uma leguminosa arbustiva e semiperene, sendo cultivada em várias partes do mundo. Pode ser utilizada tanto para alimentação humana quanto para alimentação animal (SINGH; DIWAKAR, 1993) e em consórcio ou rotação de culturas para reciclagem de nutrientes e melhoria nas condições do solo (ARF et al., 2018).

Existem vários trabalhos na literatura descrevendo os benefícios do guandu quando consorciado com outras culturas, todavia, são escassos os que avaliaram a qualidade da silagem dessa planta, seja na forma exclusiva ou em mistura com outras forrageiras.

Diante do exposto, objetivou-se com esse trabalho, avaliar as características de composição química, características fermentativas e populações microbianas de silagens mistas de milho e guandu.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido na Unidade de Produção de Leite a Pasto do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), distrito de Cachoeira de Santa Cruz, localizada na cidade de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. O local se encontra na região da Zona da Mata de Minas Gerais e tem como coordenadas geográficas 20°45'20" de latitude Sul, 45°52'40" de longitude Oeste e altitude média de 651 metros. O clima é do tipo Cwa, segundo a classificação proposta por KÖPPEN, com duas estações bem definidas, constituídas de verão quente e úmido e inverno frio e seco. A precipitação média anual é de 1341 mm.

### 2.2 Delineamento experimental e tratamentos

Foi utilizado esquema fatorial 5 x 5 (cinco tipos de silagens e cinco períodos de fermentação) em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. As silagens foram compostas de combinações de feijão guandu e milho, sendo: 1 - Silagem exclusiva de milho (SM), 2 - Silagem de milho com 10% de guandu (10G), 3 - Silagem de milho com 20% de guandu (20G), 4 - Silagem de milho com 30% de guandu (30G) e 5 - Silagem exclusiva de guandu (SG). Os períodos de fermentação foram de 3, 7, 14, 21 e 42 dias.

### 2.3 Cultivo das plantas, ensilagem e abertura dos silos

O milho (LG 6036) e o guandu (*Cajanus cajan* cv. Mandarin) foram semeados em outubro de 2018. O milho foi semeado utilizando-se uma plantadora mecanizada regulada para se obter 5,5 sementes por metro linear e espaçamento de 0,80 metros entre linhas. As adubações foram baseadas nas recomendações da Embrapa Milho e Sorgo (COELHO, 2008), sendo que no plantio foram utilizados 400 kg/ha da mistura NPK 08-28-16 e em cobertura 250 kg da mistura NPK 20-00-20, quando as plantas apresentavam seis folhas completamente formadas.

O guandu foi semeado de forma manual, utilizando-se cinco sementes por metro linear e espaçamento de 0,90 metros entre linhas. Para adubação, foi utilizado o esterco bovino na proporção de 10 t/ha no momento do plantio. O controle de plantas daninhas tanto para o milho quanto para o guandu foi realizado por meio de capina manual com uso de enxada.

A colheita de ambas as plantas foi realizada manualmente, 142 dias após o plantio, sendo o ponto de colheita estabelecido com base no estágio de desenvolvimento da planta de milho, quando os grãos da espiga se encontravam na fase de metade da linha do leite. No momento da colheita o guandu estava em estágio vegetativo e as plantas apresentavam 1,90 metros de altura, sendo o corte realizado a 40 cm do solo. As plantas foram picadas em ensiladora estacionária em tamanho de partícula médio de 1,5 cm. Para a produção das silagens mistas com 10%, 20% e 30% de guandu, a mistura foi realizada com base no peso na matéria natural. Os silos experimentais utilizados foram baldes plásticos de 3,6 litros, dotados de tampas plásticas, vedadas com fita adesiva e providas de válvula tipo Bunsen. Para drenagem dos efluentes, no fundo de cada silo, foi colocado um saco de areia, revestido de tecido de algodão com peso de 1,0 kg. A compactação foi realizada de forma manual de forma a se obter densidade média de 550 kg/m<sup>3</sup>.

Os baldes, os sacos de areia e as silagens foram pesados antes e após a abertura, para avaliação das perdas por efluente, perdas gasosas e recuperação de matéria seca da silagem. Amostras foram coletadas durante o enchimento e no momento da abertura dos silos para realização das análises laboratoriais.

#### **2.4 Perdas fermentativas e recuperação de matéria seca**

As perdas por gases (PG), por efluentes (PE) e a recuperação de matéria seca (RMS) foram calculadas conforme equações descritas por Jobim et al. (2007), sendo as perdas por gases calculadas pela diferença de peso do conjunto (balde + saco de areia + silagem) antes e após a abertura, e as perdas por efluentes calculadas pela diferença de peso do conjunto (balde + saco de areia) após e antes da abertura dos silos.

$$PG (\% \text{ da MS}) = [(PSf - PSa) / MVf \times MSi] \times 100$$

em que PSf = Peso do silo no fechamento (kg); PSa = Peso do silo na abertura (kg); MVf = Massa verde de forragem no fechamento (kg); MSi = Matéria seca da forragem no fechamento (%).

$$PE = [(PCab - PCf / MVfi] \times 1000$$

em que PE = Produção de efluentes (kg/t massa verde); PCab = Peso do conjunto (silo + saco de areia) após abertura (kg); PCf = Peso do conjunto (silo + saco de areia) antes do fechamento (kg); MVi = Massa verde de forragem ensilada (kg).

$$\text{RMS (\%)} = (\text{MFab} \times \text{MSab}) / (\text{MFfe} \times \text{MSfe}) \times 100$$

em que MFab = massa de forragem na abertura (kg); MSab = teor de MS da forragem na abertura (%); MFfe = massa de forragem no fechamento (kg); MSfe = teor de MS da forragem no fechamento.

## 2.5 Análises químicas

Para determinação da composição química, amostras foram obtidas antes do fechamento e após a abertura dos silos, sendo submetidas a pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C por 72 horas, moídas em moinho de facas, com peneira de 1 mm e armazenadas em potes plásticos.

As análises foram conduzidas conforme métodos propostos por Detmann et al. (2012), sendo: matéria seca - MS, método INCT-CA G-003/1; proteína bruta - PB, método INCT-CA N-001/1; extrato etéreo - EE, método INCT-CA G-004/1; fibra em detergente neutro - FDN, método INCT-CA F-001/1 com correções para proteínas e cinzas, respectivamente, métodos INCT-CA N-004/1 e INCT-CA M-002/1 e matéria mineral - MM, método INCT-CA M-001/1. A lignina foi analisada pelo método do ácido sulfúrico (VAN SOEST et al., 1994) e o teor de carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculado de acordo com Detmann e Valadares Filho (2010).

As análises referentes ao teor de MS foram realizadas para todos os períodos de fermentação. Já os teores de PB, FDN, FDNcp, MM, EE e lignina foram analisados aos 42 dias de fermentação.

## 2.5 Perfil fermentativo e população microbiana

Para avaliação do pH, nitrogênio amoniacal e população microbiana, utilizou-se 25 g de amostra, obtidas no fechamento e abertura dos silos, sendo diluída em 225 mL de solução estéril (Ring Solution®, Oxoid) e homogeneizada em liquidificador industrial por 1 minuto. O extrato

aquoso obtido foi filtrado em camada dupla de gaze estéril e, logo após, realizada a leitura do pH com uso de um potenciômetro. Do filtrado obteve-se uma alíquota, para quantificação do nitrogênio amoniacal, adotando-se o método colorimétrico, descrito por Okuda et al. (1965). Uma segunda alíquota foi submetida às diluições seriadas ( $10^{-1}$  a  $10^{-7}$ ) e plaqueadas utilizando-se meios de cultura seletivos para contagem da população microbiana, sendo meio ágar MRS (Difco™ Lactobacilli MRS Agar) para bactérias do ácido láctico (BAL), incubadas a 37 °C por 48 horas; VRB ágar (Violet Red Bile Agar) para enterobactérias, incubadas a 37 °C por 24 horas; e BDA (Batata Dextrose Ágar®) para fungos e leveduras, incubadas a 25 °C, por 120 horas e 72 horas, respectivamente. Foram consideradas, para contagem, placas contendo valores entre 30 e 300 de UFC (Unidades formadoras de colônias). A população microbiana e pH foram avaliados para todos os períodos de fermentação e o nitrogênio amoniacal aos 42 dias de fermentação.

## 2.6. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software R (R Core Team, 2017). Os dados referentes ao conteúdo de matéria seca, pH e populações microbianas foram submetidos à análise de variância para determinar os efeitos principais (tipos de silagens e períodos de fermentação), sendo as médias comparadas pelo teste SNK ao nível de 5 % de probabilidade para ocorrência do erro tipo I. O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + NG_i + P_j + (NG \times P)_{ij} + e_{ijk}$$

em que  $Y_{ijk}$  = valor observado da variável dependente;  $\mu$  = média geral;  $NG_i$  = efeito de tipo de silagem;  $P_j$  = efeito de períodos de fermentação;  $(NG \times P)_{ij}$  = interação entre os fatores;  $e_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação.

As variáveis de composição química, perdas fermentativas e recuperação de matéria seca foram avaliadas apenas aos 42 dias de fermentação, sendo as médias comparadas pelo teste SNK ao nível de 5 % de probabilidade para ocorrência do erro tipo I.

### 3. RESULTADOS

Na Tabela 1 estão apresentados os dados de composição química, pH e populações microbianas das plantas de milho e guandu antes da ensilagem.

Tabela 1 – Composição química (g/kg de MS), pH e população microbiana (log UFC/g) das plantas de milho e guandu antes da ensilagem

<b>Item</b>	<b>Milho</b>	<b>Guandu</b>
MS	28,10	24,20
PB	6,90	17,80
FDN	48,17	61,15
EE	2,26	3,31
MM	4,69	5,87
Lignina	4,43	21,05
pH	5,84	6,02
BAL	5,99	4,80
Enterobactérias	6,89	5,08
Fungos	5,87	4,81
Leveduras	5,88	4,92

MS = matéria seca (g/kg de matéria natural); PB = proteína bruta; FDN = Fibra em detergente neutro; EE = Extrato etéreo; MM = Matéria mineral; BAL = Bactérias do ácido lático.

Na Tabela 2 estão apresentados os p-valores e respectivos erros-padrão da média para matéria seca, pH e populações microbianas das silagens.

Tabela 2 – P-valor e erro padrão da média para as variáveis de composição química, perfil fermentativo e populações microbianas de silagens de milho e guandu em diferentes períodos de fermentação

Variável	P-valor			EPM <sup>1</sup>
	Silagem (Tsil) <sup>2</sup>	Período (P) <sup>3</sup>	Silagem x Período (TSil x P) <sup>4</sup>	
Matéria seca	P<0,001	0,009	0,501	0,29
pH	P<0,001	0,613	0,383	0,02
BAL <sup>5</sup>	P<0,001	P<0,001	P<0,001	0,12
Enterobactérias	P<0,001	P<0,001	0,084	0,31
Fungos	0,319	P<0,001	0,187	0,35
Leveduras	0,359	0,284	0,279	0,18

<sup>1</sup>Erro padrão da média. <sup>2</sup>Probabilidade de efeito para tipo de silagem. <sup>3</sup>Período de fermentação. <sup>4</sup>Interação (TSil x P). <sup>5</sup>Bactérias do ácido láctico.

Houve efeito de interação TSil \* P apenas para a população de BAL (P<0,05), sendo esta também afetada por tipo de silagem (TSil) e período de fermentação (P).

A população de BAL em função dos tipos de silagem e período de fermentação e as equações de regressão referentes à população de BAL em função dos períodos de fermentação estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – População de bactérias do ácido láctico (log de UFC/g) de silagens de milho e guandu em diferentes períodos de fermentação

Silagem	Período de fermentação (dias)				
	3	7	14	21	42
SM	9,1a	9,01a	8,57b	8,39b	6,43d
G10	9,29a	8,91a	8,73b	8,17b	7,50c
G20	9,24a	9,26a	8,45b	8,58b	7,50c
G30	9,25a	9,04a	8,78b	8,56b	8,20b
SG	8,4b	8,94a	9,16a	9,16a	9,23a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste SNK a 0,05 de probabilidade para o erro tipo I. Equações de regressão para BAL em função do período de fermentação: SM:  $\hat{y} = 9,5067 - 0,0692x$  ( $r^2 = 0,96$ ); G10:  $\hat{y} = 9,2993 - 0,0447x$  ( $r^2 = 0,96$ ); G20:  $\hat{y} = 9,3941 - 0,0451x$  ( $r^2 = 0,92$ ); G30:  $\hat{y} = 9,2212 - 0,0259x$  ( $r^2 = 0,94$ ); SG:  $\hat{y} = 8,7053 + 0,0158x$  ( $r^2 = 0,50$ ).

A população de BAL foi afetada pelas diferentes silagens aos 3, 14, 21 e 42 dias de fermentação, sendo a menor contagem observada para SG no período de 3 dias e as maiores contagens nos períodos de 14, 21 e 42 dias. Nesses períodos as demais silagens só apresentaram diferença na população de BAL aos 42 dias, onde a população maior foi observada para G30 e a menor para SM. Nesse período, as silagens G10 e G20 não apresentaram diferença significativa e apresentaram maior contagem em relação à SM. Em relação aos períodos de fermentação, a população de BAL apresentou efeito linear crescente para silagem de guandu e efeito linear decrescente para as demais silagens.

Não houve efeito de TSil e P sobre a população de leveduras, e também não houve efeito de TSil sobre a população de fungos (Tabela 2). Houve efeito de TSil sobre a MS, pH e enterobactérias e efeito de P sobre MS, enterobactérias e fungos (Tabela 2).

As médias para as variáveis MS, pH e populações de enterobactérias, fungos e leveduras em função dos tipos de silagens estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Matéria seca (MS), pH e populações de enterobactérias, fungos e leveduras (log UFC/g) de silagens mistas de milho e guandu

Variável	Tipo de Silagem (Tsil)				
	SM	G10	G20	G30	SG
MS (g/kg)	276a	265b	268ab	261b	230c
pH	3,66d	3,72cd	3,75c	3,83b	5,63a
Enterobactérias <sup>1</sup>	1,70b	1,32b	1,35b	1,67b	6,99a
Fungos <sup>1</sup>	2,11a	1,96a	2,41a	1,59a	1,46a
Leveduras <sup>1</sup>	5,25a	4,97a	4,73a	5,03a	4,83a

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste SNK a 0,05 de probabilidade para o erro tipo I. <sup>1</sup>log de UFC/g.

Maior teor de matéria seca foi observado para SM e menor para SG, não havendo diferença para as silagens mistas. O pH foi maior para silagem de guandu e menor para SM e G10. A população de enterobactérias apresentou maior contagem na silagem exclusiva de guandu, não sendo observada diferença significativa nas demais silagens. Não houve diferença entre os tipos de silagem para a população de fungos e leveduras.

Os valores médios de matéria seca e populações de enterobactérias, fungos e leveduras para os tipos de silagem em função do período de fermentação e suas respectivas equações de regressão estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Matéria seca (MS) e populações de enterobactérias, fungos e leveduras (log UFC/g) de silagens mistas de milho e guandu em função dos períodos de fermentação

Silagem	Período de Fermentação (dias)				
	3	7	14	21	42
MS (g/kg)*	26,84	25,36	26,27	25,62	26,05
Enterobactérias*	2,20	3,05	3,03	3,27	1,50
Fungos*	3,71	1,24	0,89	1,16	2,52
Leveduras <sup>ns</sup>	5,32	4,86	5,02	4,85	4,78

\* Significativo ao nível de 0,05 de probabilidade. <sup>ns</sup> Não significativo. Equações de regressão: MS:  $\hat{y} = 26,627 - 0,077x + 0,001x^2$  ( $r^2 = 0,24$ ); Enterobactérias:  $\hat{y} = 2,000 + 0,132x - 0,003x^2$  ( $r^2 = 0,93$ ); Fungos:  $\hat{y} = 3,773 - 0,270x + 0,005x^2$  ( $r^2 = 0,70$ ).

A composição química, as características fermentativas e a recuperação de matéria seca das silagens aos 42 dias de fermentação são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 – Composição química (g/kg de MS), características fermentativas, perdas e recuperação de matéria seca de silagens mistas de milho e guandu aos 42 dias de fermentação

Variável	Silagem					EPM <sup>1</sup>	p-valor
	SM	G10	G20	G30	SG		
PB	7,49c	7,76c	8,90bc	9,69b	13,52a	0,45	< 0,01
FDN <sub>cp</sub>	46,77b	48,62b	48,31b	50,33b	62,74a	1,76	< 0,01
EE	1,95	2,41	2,70	2,53	2,62	0,48	0,820
MM	5,00b	4,97b	4,89b	5,20b	5,70a	0,13	0,011
CNF	38,79a	36,22ab	35,18ab	32,22b	15,41c	1,48	< 0,01
Lignina	3,53c	4,69c	6,15bc	8,69b	19,96a	0,98	< 0,01
NH <sub>3</sub> (% N total)	5,98b	5,37b	5,81b	8,41b	39,41a	3,55	< 0,01
PE (kg/ton. MV)	1,50a	1,33a	1,13a	1,50a	1,20a	0,26	0,81
PG (% da MS)	3,00a	2,73a	2,56a	2,36a	3,90a	0,68	0,57
RMS (%)	98,31a	98,02a	97,18a	96,51a	90,94a	2,63	0,32

<sup>1</sup> Erro padrão da média. FDN<sub>cp</sub> = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; CNF = carboidratos não fibrosos; PE = produção de efluente; PG = produção de gases; RMS = recuperação de matéria seca. Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste SNK a 0,05 de probabilidade para o erro tipo I

Não houve efeito dos tipos de silagens sobre o EE ( $P > 0,05$ ; Tabela 6). Os conteúdos FDN<sub>cp</sub>, MM e nitrogênio amoniacal ( $\text{NH}_3$ ) foram superiores para silagem de guandu exclusiva, não havendo diferença significativa para demais silagens. Houve aumento nos teores de lignina, e redução do CNF nas silagens com maior proporção de guandu, sendo o maior teor de lignina e o menor teor de CNF observados para silagem exclusiva de guandu. O maior teor de proteína bruta foi observado para SG e entre as silagens mistas para G30, embora não tenha diferido da G20. Apesar de apresentar valores numéricos maiores, não houve diferença significativa para PB nas silagens G10 e G20 em relação à SM.

As variáveis PE, PG e RMS não foram afetadas pelos tipos de silagens e todas as silagens apresentaram alta recuperação de matéria seca.

## 4. DISCUSSÃO

A maioria das silagens é feita com teor de matéria seca entre 20 a 50% (MUCK, 2010). Em nosso estudo os valores para o milho e guandu no momento da ensilagem foram de 28,1% e 24,2%, respectivamente (Tabela 1), encontrando-se dentro da faixa citada. A redução do teor de MS observada nas silagens com maior proporção de guandu (Tabela 5) deve-se ao menor conteúdo de MS da leguminosa no momento da ensilagem (Tabela 1).

Não existe relatos na literatura de populações microbianas de plantas de guandu, todavia, as populações encontradas antes da ensilagem (Tabela 1) foram semelhantes às encontradas para silagem de alfafa (SILVA et al., 2016; NASCIMENTO AGARUSSI et al., 2019), uma leguminosa comumente utilizada na alimentação de ruminantes.

Conforme esperado, o pH foi maior com a maior participação do guandu nas silagens. Em nosso estudo, os valores encontrados para silagem de milho exclusiva e silagens mistas foram semelhantes aos descritos para silagem de milho (KUNG et al., 2018). Esses mesmos autores mencionam valores de pH para silagens de leguminosas variando de 4,3-5,0. A silagem exclusiva de guandu apresentou pH de 5,63. Valor semelhante foi encontrado em silagem exclusiva de soja (CARPICI, 2016). O maior valor de pH encontrado para silagem de guandu pode ser explicado por sua maior proporção de nitrogênio amoniacal, que pode levar a uma fermentação prolongada e dificultar a acidificação da massa (KUNG; SHAVER, 2004) e também ao menor conteúdo de carboidratos solúveis.

O maior teor de PB encontrado para silagem exclusiva de guandu (Tabela 4) deve-se ao maior conteúdo desse nutriente na planta (Tabela 1). Valor semelhante foi encontrado por Pereira et al. (2019) avaliando silagem mista de cana-de-açúcar e guandu. Entre as silagens mistas, a G30 foi a que apresentou maior conteúdo de PB, não havendo diferença entre SM, G10 e G20. Avaliando silagens mistas de milho e soja, Carpici (2016) encontrou diferenças para os níveis de 10% e 20% de soja na silagem de milho, todavia a silagem de soja exclusiva em seu estudo apresentou o valor de 17,43% de PB, superior ao valor encontrado para silagem de guandu, de 13,52%.

O teor de matéria mineral foi maior para a silagem exclusiva de guandu, sendo que esses valores estão de acordo com relatos da literatura, pois as leguminosas possuem maior conteúdo de minerais (WARD, 2011). A mistura do guandu ao milho até 30% não mostrou-se eficiente em aumentar o níveis de matéria mineral da mistura final.

A concentração de lignina encontrada para silagem de guandu (19,96%, Tabela 6) foi semelhante a encontrada por Pereira et al. (2019), em sua pesquisa com silagem mista de cana-

de-açúcar e guandu. O maior teor de lignina na silagem de guandu deve-se ao fato das leguminosas apresentarem maior conteúdo de lignina na parede celular (VAN SOEST, 1994).

O maior conteúdo de FDNcp (Tabela 6) encontrado na silagem guandu deve-se principalmente à sua maior concentração de lignina. Não foram observadas diferenças significativas das silagens mistas em relação à silagem de milho.

A silagem de guandu apresentou alto valor de nitrogênio amoniacal, deduzindo-se ter ocorrido grande atividade proteolítica, provavelmente por sua maior umidade e atividades de clostrídeos (KUNG et al., 2018). Não houve diferença do teor de nitrogênio amoniacal das silagens mistas em relação à silagem de milho, concluindo-se que silagens mistas tiveram um bom processo fermentativo.

A população de bactérias do ácido láctico varia em uma ampla faixa (PAHLOW et al., 2003). As bactérias do ácido láctico geralmente estão associadas a fermentações que levam ao maior declínio do pH; todavia, a maior presença desses microrganismos na silagem de guandu aos 14, 21 e 42 dias de fermentação (Tabela 3) não foi suficiente para promover redução expressiva do pH, provavelmente pela maior presença de nitrogênio amoniacal.

As enterobactérias são os principais concorrentes das bactérias do ácido láctico pelos carboidratos da planta. Seu principal produto de fermentação é o ácido acético, não láctico. Assim, sua fermentação é menos desejável do que a das bactérias do ácido láctico (MUCK, 2010). Uma pequena quantidade de enterobactérias foi observada na silagem de milho e nas silagens mistas (Tabela 4), não havendo diferença entre elas. Já a silagem de guandu apresentou valor de 6,99 UFC/g (Tabela 4), valor indesejável para uma silagem de boa qualidade. Isso se explica porque as enterobactérias são sensíveis ao pH abaixo de 4,5 (PAHLOW et al., 2003), como foi observado para as silagens de milho e mistas (Tabela 4).

Todas as silagens apresentaram fungos e leveduras, não havendo diferenças entre elas. A presença desses fungos e leveduras indica que a concentração de ácidos, especialmente o acético, não foi suficiente para controlar esses microrganismos e por que alguns gêneros podem crescer em pH mais baixo (PAHLOW et al., 2003).

Não foram observadas diferenças quanto às perdas por gases, perdas por efluentes e conseqüentemente recuperação de matéria seca entre as silagens. Isso se explica possivelmente porque mesmo havendo diferenças quanto aos parâmetros fermentativos, esses não provocaram grandes perdas nas silagens.

#### **4. CONCLUSÕES**

A mistura do guandu ao milho ao nível de 30% aumenta o teor de proteína da silagem, não alterando seus parâmetros fermentativos. A produção da silagem exclusiva de guandu não é indicada devido às suas fermentações indesejáveis.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, V. A.; PEREYRA, C. M.; KELLER, L. A.; DALCERO, A. M.; ROSA, C. A.; CHIACCHIERA, S. M.; CAVAGLIERI, L. R. Fungi and mycotoxins in silage: an overview. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, n. 3, p. 637-643, set. 2013.

ARF, O.; PORTUGAL, J. R.; BUZETTI, S.; RODRIGUES, R. A. F.; SÁ, M. E. Crop rotation, green manure and nitrogen fertilizers in upland rice under no-tillage. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 48, n. 2, p. 153-162, 1 abr. 2018.

BERNARDES, T. F.; CHIZZOTTI, F. H. M. Technological innovations in silage production and utilization. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 629-641, 2012.

CARELLOS, D. C. **Avaliação de cultivares de feijão-guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) para produção de forragem no período seco, em São João Evangelista-MG**. 2013. 114 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

CARPICI, E. B. Nutritive values of soybean silages ensiled with maize at different rates. **Legume Research - An International Journal**, v. 39, n. OF, p. 810-813, 2016.

CONTRERAS-GOVEA, F.; MARSALIS, M.; ANGADI, S.; SMITH, G.; LAURIAULT, L. M.; VANLEEUWEN, D. Fermentability and nutritive value of corn and forage sorghum silage when in mixture with lablab bean. **Crop Science**, v. 51, n. 3, p. 1307-1313, 2011.

COELHO, A. M. Nutrição e adubação do milho. In: CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHÃES, P. C. (ed. tec.). **A Cultura do Milho**, Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 2008. p. 517

CQBAL 4.0. **Tabela de composição química e bromatológicas de alimentos**. 2017-2018. Disponível em: < <http://www.cqbal.com.br>>. Acesso em: 11/11/2019

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 4, p. 980-984, 2010.

DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; QUEIROZ, A. C.; BERCHIELLI, T. T.; SALIBA, E. O. S.; CABRAL, L. S.; PINA, D. S.; LADEIRA, M. M.; AZEVÊDO, J. A. G. (Ed.) **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D.; LUCK, B. D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3937-3951, 2018.

JOBIM, C. C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 101-119, 2007

KUNG, L.; SHAVER, R. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. **Focus on Forage**, v. 3, n. 13, p. 1-5, 2004.

KUNG, L.; SHAVER, R. D.; GRANT, R. J.; SCHIMIDT, R. J. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4020-4033, 2018.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, n. 4, p. 347-358, 1996

McDONALD, P.; HENDERSON, N.; HERON, S. **The biochemistry of silage**. [s.l.] Chalcombe, 1991.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.

MUCK, R. E. Microbiologia da silagem e seu controle com aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. Supl. 1, p. 183-191, jul. 2010.

MUCK, R. E.; NADEAU, E. M. G.; MCALLISTER, T. A.; CONTRERAS-GOVEA, M. C.; KUNG, L. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3980-4000, maio 2018.

NASCIMENTO AGARUSSI, M. C.; PEREIRA, O. G.; PAULA, R. A.; SILVA, V. P.; ROSEIRA, J. P. S.; SILVA, F. F. Novel lactic acid bacteria strains as inoculants on alfalfa silage fermentation. **Scientific Reports**, v. 9, n. 8007, 1 dez. 2019.

OKUDA, H.; FUGI, S.; KAWASHIMA, Y. A direct colorimetric method for blood ammonia. **Journal of Experimental Medicine**, v.12, n.1, p.11-23,1965.

PAHLOW, G.; MUCK, R. E.; DRIEHUIS, F.; ELFERINK, S. J. W. H. O.; SPOELSTRA, S. F. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R. E.; HARRISON, J. H. (Eds) **Silage science and technology**. Edition: Agronomy 42. American Society of Agronomy, p. 31-93, 2003.

PEREIRA, D. S.; LANA, R. P.; CARMO, D. L.; COSTA, Y. K. S. Chemical composition and fermentative losses of mixed sugarcane and pigeon pea silage. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 41, n. 1, p. 1-5, 2019.

R Core Team (2017). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

SANTOS, L. E.; OLIVEIRA, M. N. V.; RUFINO, L. D.; RIBEIRO, K. G.; PEREIRA, O. G. Microbial characterization of *Arachis pintoi* and its silages at different fermentation periods. **Molecular Biology Reports**, v. 46, n. 5, p. 5019-5024, 1 out. 2019.

SILVA, V. P.; PEREIRA, O. G.; LEANDRO, E. S.; SILVA, T. C.; RIBEIRO, K. G.; MANTOVANI, H. C.; SANTOS, S. A. Effects of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential on the fermentation profile and chemical composition of alfalfa silage in tropical conditions. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 3, p. 1895-1902, 2016.

SINGH, F.; DIWAKAR, B. **Nutritive value and uses of pigeon pea and groundnut**. Skill development, series no. 14. Patancheru, Andhra Pradesh, India: ICRISAT Human Resource Development Program, 1993. 44 p.

WARD, R. Analyzing silage crops for quality: What is most important? In: **Proc. Western Alfalfa and Forage Conference**. Univ. California, Davis, Cooperative Extension, Plant Sciences Department, University of California, Davis, 2011. p. 46-65.

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