

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ANDRESSA DUARTE

**COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM
DE SOJA COM DIFERENTES INCLUSÕES DE MILHO MOÍDO**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

ANDRESSA DUARTE

**COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM
DE SOJA COM DIFERENTES INCLUSÕES DE MILHO MOÍDO**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientadora: Maximiliane Alavarse Zambom

Coorientadora: Caroline Hoscheid Werle

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2023

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Duarte, Andressa
COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM
DE SOJA COM DIFERENTES INCLUSÕES DE MILHO MOÍDO / Andressa
Duarte; orientadora Maximiliane Alavarse Zambom ;
coorientador Caroline Hoscheid Werle. -- Marechal Cândido
Rondon, 2023.
81 p.

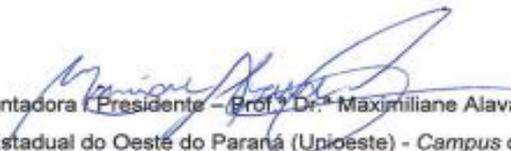
Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido
Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro
de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia,
2023.

1. Silagem de leguminosa. 2. Alimento alternativo. 3.
Conservação e e qualidade da silagem. 4. Nutrição de
ruminantes . I. Alavarse Zambom , Maximiliane , orient. II.
Hoscheid Werle, Caroline , coorient. III. Título.

ANDRESSA DUARTE

Composição bromatológica e perfil fermentativo da silagem de soja com diferentes inclusões de milho moído

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de "Mestra em Zootecnia", Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", Linha de Pesquisa "Produção e Nutrição de Ruminantes / Forragicultura", APROVADA pela seguinte Banca Examinadora:


Orientadora / Presidente – Prof.ª Dr.ª Maximiliane Alavarse Zambom

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon


Membro – Prof. Dr. Ériton Egídio Lisboa Valente

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Membro – Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

Universidade Estadual de Maringá (UEM) – *Participação remota síncrona*

Marechal Cândido Rondon, 15 de dezembro de 2023.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Campus de Marochal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marochal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel, declaro que participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Andressa Duarte**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 15/12/2023, com o trabalho intitulado **"Composição bromatológica e perfil fermentativo da silagem de soja com diferentes inclusões de milho moído"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel
Universidade Estadual de Maringá (UEM)

DEDICATÓRIA

A meus pais, Alceu e Marli, por me criarem com amor, carinho, respeito, educação e dedicação; por acreditarem em mim em todos os momentos bons, pelo ombro amigo nas horas difíceis; enfim, pela minha vida.

A minha irmã, Danieli, a meus colegas de trabalho Adrielly e Rodrigo, por se disponibilizarem a me ajudar em qualquer momento, pelas horas de desabafo, pelas piadas, pelas horas de paciência que tiveram, pelas boas energias, pelo companheirismo, amor, paciência, carinho, brigas, confiança, por acreditarem no meu potencial e sempre me apoiarem a lutar pelos sonhos.

Aos produtores e pesquisadores.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por me guiar em todos os momentos.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPZ) pela oportunidade de realização do curso.

À Profa. Dra. Maximiliane Alavarse Zambom pela orientação, pela disponibilidade e pela dedicação em todos os momentos que precisei.

À Profa. Dra. Caroline Hoscheid Werle pela coorientação, pela disponibilidade e dedicação em auxiliar nos momentos que mais precisei.

A todos os professores do PPZ pelos conhecimentos repassados durante todo o período.

Ao Sr. Paulo Morsch, secretário do PPZ, pela dedicação, atenção e disponibilidade de auxiliar em todas as questões.

Aos integrantes do Grupo de Pesquisa e Estudos em Qualidade do Leite, Alimentação e Digestibilidade em Ruminantes, Qualhada®, em especial à Ida Barboza Andrade e Maria Luiza Fischer, por todo companheirismo, compreensão, convivência, amizade e conhecimentos compartilhados.

Ao técnico de laboratório Augusto Cavalcanti pelo auxílio nas análises e por toda a paciência.

A meus colegas do Grupo Núcleo de Estudos e Atividades em Pecuária de Corte (Neap-pec) pelo auxílio e apoio durante todo o período.

A todos os amigos do PPZ, que de alguma forma contribuíram para essa conquista.

A meus pais Alceu Duarte e Marli Marchezini, por todo o amparo, paciência e motivação, amor e carinho durante toda a trajetória da minha vida. Principalmente nos dias difíceis de choro e emoções.

A meus familiares e amigos próximos, que me acompanharam, me incentivando, apoiando, com muito carinho.

A meus colegas de trabalho que acompanharam esse percurso me apoiaram, me ajudaram e incentivaram, Adrielly e Rodrigo.

A meus professores da graduação Lívia Maria Túlio e Edmilson Freitas.

E a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase da minha vida. Mesmo aqueles que porventura não foram citados entre as palavras, estejam certos de meu reconhecimento e gratidão. E a todos os envolvidos, muito obrigada!

“Nunca deixe o medo atrapalhar seu sonho, inclusive você”.

Walt Disney

COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E PERFIL FERMENTATIVO DA SILAGEM DE SOJA COM DIFERENTES INCLUSÕES DE MILHO MOÍDO

Resumo: Esta pesquisa tem como objetivo avaliar os efeitos da inclusão de milho moído sobre os parâmetros fermentativos e a composição bromatológica da silagem de soja. Foram utilizados quatro tratamentos com diferentes níveis de milho moído (0%, 6%, 12% e 18%) com base na matéria seca. As silagens foram confeccionadas em mini silos experimentais de PVC e armazenadas por noventa dias, realizando aberturas nos dias: 1º, 3º, 7º, 15º, 30º, 60º e 90º após o dia da ensilagem. Procedendo a abertura dos silos, foram coletadas amostras para análise dos parâmetros fermentativos (pH, nitrogênio amoniacal, ácidos orgânicos), composição bromatológica (matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca. Após a abertura da silagem, as contagens de *Clostridium spp*, aeróbios mesófilos, bactérias ácido lácticas, *Listeria sp*, enterobactérias, fungos filamentosos e leveduras foram determinadas em meio de cultura seletivo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em parcelas subdivididas nos tempos. A inclusão de milho moído aumentou linearmente o teor de matéria seca das silagens (de 26,95% para 29,14%). O pH e o nitrogênio amoniacal reduziram conforme o aumento dos níveis de inclusão de milho. O ácido lático e o ácido acético tiveram efeito linear crescente; a digestibilidade *in vitro* da matéria seca aumentou conforme aumentou a inclusão de milho. A presença de enterobactérias e leveduras foram baixas e as bactérias ácido-láticas e *Clostridium spp*. reduziram ao longo do tempo. A inclusão de milho moído também aumentou linearmente o teor de fibra em detergente neutro devido à inclusão de milho aumentar. Isso se explica pela substituição parcial da fração fibrosa da forragem pela fração amilácea do grão, que reduziu os teores de fibra em detergente ácido. Conclui-se que a inclusão de 18% de milho moído na silagem de soja melhorou os parâmetros fermentativos e a composição bromatológica, podendo ser uma alternativa viável para aumentar o valor nutritivo da forragem conservada.

Palavras-Chave: absorvente de umidade, características microbiológicas, silagem de leguminosa, perdas fermentativas.

BROMATOLOGICAL COMPOSITION AND FERMENTATIVE PROFILE OF SOYBEAN SILAGE WITH DIFFERENT INCLUSIONS OF GROUND CORN

Abstract: The objective of this work was to evaluate the effects of adding ground corn to soybean silage on fermentative parameters and chemical composition. Four treatments were used with different levels of ground corn (0%, 6%, 12% and 18%) based on dry matter. The silages were stored in PVC mini silos and opened after 1, 3, 7, 15, 30, 60 and 90 days of ensiling. At opening, silage samples were collected for analysis of fermentation parameters (pH, NH₃-N, organic acids), chemical composition (dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), in vitro dry matter digestibility (DIVMS)) and microbial counts (clostridia, aerobic mesophiles, lactic acid bacteria, *Listeria* spp, enterobacteria, molds and yeasts). The experimental design was completely randomized in a split-plot arrangement, with 4 replications per treatment. When there was interaction between the factors, the effects were analyzed by means of orthogonal polynomials. A significant result was considered when the p-value was less than or equal to 5%. The results showed that the inclusion of ground corn linearly increased the dry matter content of the silages. Silage pH and NH₃-N decreased as ground corn level increased. Lactic and acetic acids and in vitro dry matter digestibility increased linearly with ground corn addition. Counts of enterobacteria and yeasts were low and lactic acid bacteria and clostridia reduced over time. The inclusion of ground corn also linearly increased the crude protein and neutral detergent fiber contents of the silages but reduced the acid detergent fiber contents. In conclusion, the inclusion of ground corn improves the fermentative parameters and the chemical composition of soybean silage.

Key-words: Moisture absorbent, Microbiological characteristics, Leguminous silage, fermentation losses.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Temperatura no período do experimento de outubro 2021 a abril 2022.....	30
Figura 2 – Quantidade de chuvas no período do experimento de outubro 2021 a abril 2022 ..	31
Figura 3 – Efeito linear decrescente para o teor de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) em função dos diferentes níveis de inclusão de milho moído	40
Figura 4 – Concentração de ácido láctico na silagem de soja com diferentes níveis de inclusão de milho moído em função dos diferentes tempos de ensilagem	41
Figura 5 – Concentração ácido acético na silagem de soja com diferentes níveis de inclusão de milho moído em função dos diferentes tempos de ensilagem	41
Figura 6 – Efeito quadrático para o teor de ácido propiônico em função dos diferentes tempos de ensilagem	42
Figura 7 – Temperatura no período do experimento	30
Figura 8 – Quantidade de chuvas no período do experimento	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição bromatológica do milho moído e da soja in natura, usados na ensilagem durante o período experimental.....	35
Tabela 2 – Interação entre o tempo de ensilagem e níveis de inclusão de milho moído (NIM) sobre o pH e a temperatura da silagem de soja sem inclusão (0%), e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de armazenamento	38
Tabela 3 – Avaliação do pH, temperatura (TEMP), perdas por efluentes (PE), perda de gases (PG), recuperação da matéria seca (RMS), capacidade tampão da silagem de soja (CTAMP), com níveis de inclusão de milho moído (0%, 6%, 12% e 18%), em diferentes tempos de armazenamento	39
Tabela 4 – Nitrogênio amoniacal (N-NH ₃), ácido acético (ACET), ácido propiônico (PROP), ácido lático (LACT) da silagem de soja com diferentes níveis de inclusão de milho moído (0%, 6%, 12% e 18%), em diferentes tempos de armazenamento	40
Tabela 5 – Avaliação microbiológica da silagem de soja com diferentes níveis de inclusão de milho moído (0%, 6%, 12% e 18%) em diferentes tempos de armazenamento	43
Tabela 6 – Desdobramento das interações da microbiológica da silagem de soja, sem inclusão de milho (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de armazenamento	43
Tabela 7 – Ocorrência de fungos (log UFC g ⁻¹) em silagem de soja, sem inclusão de milho (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de armazenamento	44
Tabela 8 – Desdobramento das interações microbiológica da silagem de soja, sem inclusão de milho (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de armazenamento.....	45
Tabela 9 – Matéria seca (MS), matéria mineral (MM) matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) da silagem de soja, sem inclusão (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de armazenamento.....	66
Tabela 10 – Extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) fibra em detergente ácido (FDA), celulose (CEL), hemicelulose (HEM), lignina (LIG) e amido da silagem de soja com diferentes níveis (0%, 6%, 12% e 18%) de inclusão de milho moído e em diferentes tempos de armazenamento	67
Tabela 11 – Desdobramento das interações da Fibra em Detergente Neutro (FDN), Fibra em Detergente Ácido (FDA), Celulose (CEL), Lignina (LIG), da silagem de soja, sem	

inclusão (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de ensilagem	68
Tabela 12 – Carboidrato Solúvel expresso na matéria seca (CHOSms), Carboidratos solúveis totais (CHOStotal), Carboidratos solúveis não fibroso (CHOSnf); Fração A (A): Carboidratos solúveis; Fração B1 (B1): Amido; Fração B2 (B2): Carboidratos de quebra lenta; e Fração C (C): Carboidratos indigestíveis, da silagem de soja sem inclusão (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de ensilagem	69
Tabela 13 – Desdobramento das interações do Carboidrato Solúvel expresso na matéria seca (CHOSms), Carboidrato solúvel total (CHOStotal), Carboidratos solúveis não fibroso (CHOSnf); Fração C (FC): Carboidratos indigestíveis	70
Tabela 14 – Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (DIVms), digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (DIVmo), digestibilidade <i>in vitro</i> da proteína bruta (DIVpb) e digestibilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro (DIVfdn) da silagem de soja com diferentes níveis de inclusão (0%, 6%, 12% e 18%) de milho moído, em diferentes tempos de ensilagem	71

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	Cultura da Soja.....	17
2.2	Processo de ensilagem.....	17
2.3	Bactérias, fungos e leveduras encontradas na silagem.....	18
2.4	Aditivos na silagem.....	20
2.5	Uso da silagem de leguminosas na alimentação de ruminantes.....	20
	REFERÊNCIAS	23
1	INTRODUÇÃO	29
2	MATERIAL E MÉTODOS	30
2.1	Local e condições climáticas.....	30
2.2	Plantio, colheita e ensilagem da soja	31
2.3	Perdas por efluentes	33
2.4	Índice de Recuperação da Matéria Seca (RMS)	33
2.5	Perdas Gasosas (PG)	33
2.6	Produção de Efluentes (PE)	34
2.6.1	Análises químicas.....	34
2.6.2	Capacidade tampão e pH.....	35
2.6.3	Análises Microbiológicas.....	35
2.6.4	Nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) e Ácidos Orgânicos	37
2.6.5	Análise estatística.....	37
3	RESULTADOS	38
4	DISCUSSÃO	46
5	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52
1	INTRODUÇÃO	58
2	MATERIAIS E MÉTODOS	59
2.1	Local e condições climáticas.....	59
2.1.1	Plantio, colheita e ensilagem da soja	60
2.1.2	Análises Bromatológicas.....	61
2.1.3	Digestibilidade <i>In Vitro</i> (DIV)	62
2.1.4	Carboidratos Solúveis, Carboidratos Não Fibrosos, Carboidratos Totais, Fracionamento de Carboidratos.....	63
2.1.5	Amido	64
2.1.6	Análise estatística.....	65

3	RESULTADOS	66
4	DISCUSSÃO	72
5	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS	77
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	80

1 INTRODUÇÃO

A ensilagem e a fenação são técnicas de conservação de forragem e têm como propósito essencial aproveitar o excesso de produção no período chuvoso e armazená-los para a época de seca (Rigueira *et al.*, 2017).

O Brasil é um país de extensão continental, com uma área de aproximadamente 8,5 milhões de km². Devido a essa grande extensão territorial, o país apresenta uma variação significativa de condições edafoclimáticas, ou seja, de características do solo e do clima (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2020).

Nesse contexto, cada região possui sua unicidade edafoclimática, como é o caso do estado do Paraná que, segundo o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), possui estações definidas e chuvas distribuídas por todo o ano, entretanto, durante o inverno, acontecem geadas no Estado inteiro, o que favorecem as perdas significativas de culturas comerciais como a soja, o milho, a cana, o trigo e a aveia.

Culturas afetadas pelas condições climáticas como a soja, podem ser reaproveitadas na forma de silagem e destinadas à alimentação animal como alternativa aos períodos de escassez de forragem. É uma cultura adaptada às condições climáticas e edáficas do Estado, com alta produtividade e qualidade (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2006).

A silagem de soja pode ser feita com a planta inteira ou com as partes aéreas, aproveitando os resíduos da colheita do grão. Ela possui elevado teor de proteína bruta e energia, e pode ser utilizada na alimentação de diferentes espécies animais, como bovinos, ovinos e caprinos, sendo capaz de contribuir para a redução dos custos de produção animal, aumentando a rentabilidade e a sustentabilidade dos sistemas pecuários assim como a eficiência produtiva (Reis, 2003).

Isso ocorre porque a soja tem um alto teor de proteína e um baixo teor de açúcar solúvel, o que dificulta a produção de ácido lático pelas bactérias ácido-láticas (BAL). As BAL são responsáveis pela acidificação da silagem, preservando a forragem e inibindo o crescimento de fungos e bactérias deteriorantes (Pedroso, 2005).

Para melhorar a qualidade fermentativa da silagem de soja, algumas estratégias podem ser adotadas como adicionar aditivos à silagem, por exemplo, açúcares, enzimas ou ácidos orgânicos, que podem aumentar o substrato disponível para as BAL; acelerar a queda do pH e acidificação pelo ácido lático que inibe o crescimento de microrganismos indesejados na silagem (Reis, 2003).

Além disso, a inclusão de milho moído na silagem de soja tem se apresentado uma alternativa interessante para aumentar o teor de matéria seca (MS) e energia da silagem, além de melhorar sua qualidade nutricional (Jobim, 2007).

A inclusão de milho na silagem fornece carboidratos solúveis para os microrganismos fermentadores, o que pode afetar os parâmetros fermentativos, como o pH e a produção de ácidos orgânicos, pois os grãos de milho são ricos em amido, facilmente fermentado pelas BAL, favorecendo a conservação (Jobim, 2007).

A qualidade na conservação de gramíneas e leguminosas na forma de silagem, na maioria das vezes, está relacionada ao conteúdo de MS e à quantidade de carboidratos disponíveis fermentáveis e de capacidade tampão existente na forragem (Reis, 2003).

Para tanto, torna-se indispensável a realização de ensaios experimentais para determinar as melhores proporções de milho moído e soja para obter uma silagem de alta qualidade e baixo custo. Esse trabalho traz como hipótese que o uso de milho moído na ensilagem da planta de soja inteira, melhora o processo fermentativo, resultando em silagem de melhor qualidade, em todos os períodos de armazenamento. O presente estudo tem como objetivo avaliar o perfil fermentativo e os parâmetros microbiológicos da silagem da planta inteira de soja, com inclusões de 0%, 6%, 8% e 12% de milho moído em diferentes tempos de abertura, sendo 0 (*in natura*), 1, 3, 7, 15, 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura da Soja

A soja (*Glycine max (L.) Merrill*) é uma planta herbácea da família *Fabaceae*, gênero *Glycine*, espécie *max* com alta variabilidade genética e diversidade de ciclo, podendo ser realizada silagem de boa qualidade com elevado teor nutricional, devido a sua alta digestibilidade e valor proteico (Gobetti *et al.*, 2011). Mesmo com essas características é necessário incluir aditivo, pois seu teor de MS e carboidratos solúveis são baixos (Rosa, 2014).

No Brasil, variações recorrentes de clima, conforme a época e a região, dificultam a disponibilidade de volumoso na forma de pastejo, sendo a biodisponibilidade dessa forragem maior no verão. A irregularidade na ocorrência de chuvas inviabiliza economicamente muitas lavouras para produção de grãos, com a diminuição da produtividade e o aumento dos custos da produção (Evangelista *et al.*, 1991).

Essa leguminosa é muito importante na nutrição animal, podendo ser usada em grãos ou seus derivados como farelo de soja ou óleo de soja. Também é possível utilizar a planta inteira, na forma de silagem (Gandra *et al.*, 2020).

A silagem da planta inteira da soja possui rico valor nutricional em comparação a outras gramíneas como o milho e o sorgo que contém os maiores valores médios encontrados, de 18% de proteína bruta, 31% de MS, 32% de fibra em detergente ácido e 41% de fibra em detergente neutro (Gobetti, 2011).

A recomendação é associar a planta inteira da soja a fontes de carboidrato no processo de ensilagem, com a adição de carboidratos fermentáveis, que garantem uma fermentação adequada, evitando perdas nutricionais excessivas durante o processo de ensilagem (Keplin, 2004).

2.2 Processo de ensilagem

O processo de ensilagem é um método de conservação anaeróbico que se fundamenta na transformação de carboidratos solúveis em ácidos orgânicos por ação bacteriana e seu objetivo principal é a manutenção dos valores nutricionais da forragem após o processo (Santos *et al.*, 2013).

Essa técnica garante ao produtor o fornecimento de alimentos com fontes de nutrientes de expressiva qualidade ao longo do ano, não só nos sistemas intensivos de bovinocultura de leite como também em cadeias de produção menores como as de pequenos e médios produtores (Fernandes *et al.*, 2016; Wilkinson & Rinne, 2018).

Alguns fatores podem influenciar a qualidade do material ensilado, como: características do alimento, processo de compactação e vedação, espaço do silo conforme a fatia utilizada em cada dia e outros (Macêdo *et al.*, 2017). Características como alto teor de umidade, ponto correto do corte, baixo teor de carboidratos solúveis e um alto poder tampão podem modificar a qualidade dessa silagem (Daniel *et al.*, 2019).

A silagem da soja, por mostrar maior teor de umidade, apresenta uma elevada fermentação butírica, isso pode levar à maior perda de efluentes, levando à menor aceitação pelos animais (Vargas-Bello-Pérez *et al.* 2008; Gandra *et al.*, 2018; Zanine *et al.*, 2020).

Essas características tendem a estender a fermentação e a apresentar uma dificuldade na redução do pH, com isso existe a tendência dessa silagem passar por fermentação secundária por outros agentes patogênicos. Como exemplo, têm-se as bactérias do gênero *Clostridium ssp.* Estas fazem com que aumente a concentração de ácido butírico, o que leva à redução no consumo pelos animais (McDonald *et al.*, 1991).

O material ensilado deve, ao final do processo de ensilagem, estar com teor apropriado de MS (entre 30% e 35%), boa compactação garantindo ausência de ar na massa ensilada, fermentação adequada, garantindo a diminuição das perdas excessivas de nutrientes durante o processo de ensilagem, e pH entre 3,8 e 4,2 (Lisowsk *et al.*, 2020).

Para a ensilagem da soja é necessário usar aditivos para elevar o teor de carboidratos solúveis e aumentar as bactérias lácticas, pensando nesses quesitos, é usado a soja no estágio reprodutivo R6 (Pereira *et al.*, 2007).

2.3 Bactérias, fungos e leveduras encontradas na silagem

Podem ser encontrados na silagem microrganismos indesejáveis, quando o pH não diminui ou na presença de oxigênio. Esses microrganismos podem ser desejáveis e indesejáveis que podem diminuir a qualidade da silagem por exemplo, leveduras e bactérias produtoras de ácido butírico, quanto aqueles que podem ser perigosos para a saúde animal ou a segurança do leite como *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, outras espécies de *Enterobacteriaceae* e fungos (Driehuis *et al.*, 2018).

As principais espécies de bactérias responsáveis pela fermentação e baixa do pH são as BAL. Estas são responsáveis pela conservação do material ensilado por meio da produção de ácido láctico (Avila & Carvalho, 2009; Carvalho *et al.*, 2020).

As BAL agem no processo fermentativo para conservação do material que foi ensilado e são formadas por um grupo de microrganismos do gênero *Lactobacillus*, *Streptococcus*,

Pediococcus e *Leuconostoc*, essas são as principais bactérias produtoras de ácido lático, produzindo açúcares para fermentação (Bernardes, 2003).

Essas bactérias são classificadas em homofermentativas e são responsáveis por produzir ácido lático e redução rápida do pH (Kristensen *et al.*, 2010; Muck, 2010; Nksoi *et al.*, 2010). Já as heterofermentativas produzem diversos metabólitos consequente da fermentação da glicose como exemplo o ácido acético ou propiônico, e inibem, assim, o crescimento de leveduras e bolores deteriorantes (Filya, 2003; Kleinschmit & Kung, 2006).

Outro gênero que pode ser encontrado é o *Clostridium*, microrganismos anaeróbios indesejáveis que podem surgir da contaminação do solo, adubos malconservados e contaminados (Fenlon *et al.*, 1995). A temperatura alta no interior do silo também pode favorecer o crescimento desse microrganismo, baixo teor de MS, baixo teor de carboidratos solúveis e a alta capacidade tampão da planta e uma má vedação também podem contribuir para sua presença na silagem (Jobim & Gonçalves, 2003).

Também pode ser encontrada as enterobactérias que são bacilos gram-negativo anaeróbios facultativos que podem competir com as BAL, que disputam os açúcares disponíveis, podendo levar a uma degradação da proteína (Sá Neto *et al.*, 2009). Essas bactérias têm maior crescimento nos primeiros dias de ensilagem, mas conforme o meio vai se acidificando seu crescimento diminui. Geralmente, elas são inibidas com o pH abaixo dos 5,0 (Muck, 1996).

A *Listeria* é um microrganismo aeróbio ou anaeróbio facultativo. A espécie mais encontrada na silagem é a *Listeria monocytogenes*, que é patogênica tanto para os animais como para os seres humanos (Shlech, 1996), pH entre 3,8 e 4,2 e anaerobiose por períodos longos e sem a presença de oxigênio podem destruir o microrganismo (Donald *et al.*, 1995).

Já os *aeróbios mesófilos* são aeróbios e seu desenvolvimento é inibido durante a período de fermentação (Jobim *et al.*, 2007).

Os fungos que podem ser encontrados na silagem são *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Absidia*, *Monascus*, *Scopulariopsis* e *Trichoderma*. Esses fungos estão relacionados aos locais de armazenamento e à fase de abertura, ou seja, se teve entrada de ar (El-Shhana Wany *et al.*, 2005). Segundo Mahanna (1994), os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* podem produzir micotoxinas e causar danos à produção dos animais alimentados com essa silagem.

As leveduras são responsáveis pela deterioração da silagem quando exposta ao ar durante o descarregamento no silo e má vedação (McDonald, 1981).

2.4 Aditivos na silagem

As ordenações dos aditivos podem ser classificadas conforme a atuação na silagem, sendo capaz de inibir ou estimular a fermentação, ou de aumentar o valor nutricional, conseguindo absorver a umidade presente na silagem, com isso elevando o teor de MS com o objetivo de melhorar o processo de fermentação (McDonald; Henderson; Heron, 1991).

Os microrganismos indesejáveis que podem ser encontrados na silagem são as enterobactérias e os clostrídeos, as quais são capazes de causar a degradação anaeróbia, e são representadas por fungos filamentosos, leveduras, *Bacillus spp.* e *Listeria spp.* Esses microrganismos disputam, com os desejáveis como as BAL, o substrato, assim consumindo os carboidratos solúveis, transformando-os em ácido acético, ácido butírico e álcool, degradando proteínas (McDonald *et al.*, 1991).

Para obter uma boa qualidade na fase da fermentação láctica, bem como uma silagem de qualidade, é indicado o uso de aditivos. Cabe ressaltar que eles não corrigem erros de manejo no decorrer da fabricação, seu único objetivo é o de manter a qualidade do material inicial (Pereira, 2016).

Sobre essa recomendação, entende-se que seu uso é recomendado, principalmente, quando as características não são ideais para a ensilagem do material (Lima Júnior *et al.*, 2014). A junção dos aditivos ajuda no processo de fermentação, minimizando as perdas da MS, o crescimento de bactérias ruins e o apodrecimento depois do silo aberto. Isso faz com que o valor nutricional da silagem se mantenha (Yitbarek & Tamir, 2014; Oladosu *et al.*, 2016).

Com a finalidade de avaliar o efeito da adição do milho como absorvente de umidade, é indispensável analisar as perdas de forragem. Essa análise é realizada com pesos antes, durante e depois da ensilagem para obter os seguintes resultados: recuperação de MS, perdas gasosas e produção de efluentes (Jobim *et al.*, 2007).

2.5 Uso da silagem de leguminosas na alimentação de ruminantes

O alimento volumoso é extremamente importante para o desenvolvimento fisiológico do rúmen, além do tamanho e da musculatura; sendo a base alimentar desses animais em diferentes sistemas de produção, corresponde de 40% a 90% da dieta com o objetivo de chegar nas exigências de fibra e energia do animal (Medeiros *et al.*, 2015). Esses alimentos são ofertados na forma de pasto ou na forma conservada de feno e de silagem, favorecendo a saúde dos animais e, conseqüente, impacto na produtividade (Medeiros *et al.*, 2015).

A utilização de leguminosa na forma de planta inteira, como silagem, pode ser utilizada para nutrição de animais como os ruminantes podendo trazer benefícios por ser uma silagem com alto teor de proteína bruta, com isso podendo reduzir os custos da alimentos e utilizar como fonte de proteína na alimentação (Jahanzad *et al.*, 2016; Ni *et al.*, 2017).

A conservação de volumosos tem como principal objetivo garantir a disponibilidade de alimento para os animais durante o ano, independentemente da sazonalidade climática. Além disso, ela garante uma alimentação de qualidade e um comportamento mais sustentável da produção (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2022).

Dentre os principais volumosos ensilados no Brasil estão o milho, o sorgo, as gramíneas tropicais (capim-elefante e capins do gênero *Megathisus*) e a cana-de-açúcar (Bernardes & Rego, 2014).

Atualmente, a produção leiteira brasileira enfrenta dificuldades que afetam essa atividade no país, dentre estas estão a falta de mão de obra qualificada, a oscilação dos preços do leite no mercado, a necessidade de investimentos em tecnologia e infraestrutura, além de condições climáticas adversas e os altos custos dos insumos que compõem a dieta do rebanho, correspondendo a 62% dos custos totais de produção (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2022).

A pandemia do novo coronavírus desafiou a cadeia produtiva de lácteos que passa por movimentos bruscos. Primeiro, houve a elevação nos preços dos produtos lácteos devido aos aumentos no consumo logo após o início do isolamento social (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2022). Depois, houve queda na demanda e nos preços dos produtos lácteos.

Para manter uma atividade de grande importância na produção de alimentos deve-se levar em consideração os custos de produção. A safra 2020/2021 sofreu grande impacto causado pelas condições climáticas, chegando a 10% a menos que na safra do ano anterior, registrada no país (Companhia Nacional de Abastecimento, 2022).

O armazenamento dos alimentos na forma de silagem é de extrema importância para a bovinocultura de leite e para manter a produção do rebanho o ano todo, podendo ser armazenados diversos cultivares com boa qualidade, componentes básicos para uma dieta bovina (Bumbieris Junior *et al.*, 2009).

Foram conduzidas pesquisas sobre a silagem de soja, Nkosi *et al.* (2016) utilizaram um inoculante com cepas de bactérias heterofermentativas, associado ao *blend* enzimático, observou-se nesse estudo um aumento do pH e a redução da recuperação da MS, mesmo tendo um aumento de ácido lático e na estabilidade aeróbia.

Tobía *et al.* (2008) realizaram um estudo adicionando doses crescentes de melação em pó sendo 0g/k, 30g/k, 60g/k e 90g/kg de MS, e associou a cepas heterofermentativas. Observou-se nesse estudo uma redução linear na concentração de componentes fibrosos, de amônia e de pH não obtendo diferença entre os maiores níveis de inclusão de melação.

Silagem de soja colhido no estágio R6 e ensilada com chitosana (5g/kg de MN) e/ou inoculante de cepas homofermentativas demonstrou efeito positivo dos aditivos quando aplicados de forma isolada. O efeito foi observado apenas na redução de perdas por gases e contagem de fungos depois da abertura (Granda *et al.*, 2018).

Ghizzi (2020) ensilou a soja em diferentes estádios fenótipos e concluiu que a silagem de leguminosa tem sido uma opção utilizada na alimentação de ruminantes, elevando a quantidade de proteína e a qualidade da fibra do volumoso fornecido aos animais.

REFERÊNCIAS

- ÁVILA, C. L. D. S., PINTO, J. C., FIGUEIREDO, H. C. P., MORAIS, A. R. D., PEREIRA, O. G., SCHWAN, R. F. Estabilidade aeróbia de silagens de capim-Mombaça tratadas com *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 779-787, 2009.
- BERNARDES, T. F.; DO RÊGO, A. C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science**. 2014. v.97, p.1852-186, 2014.
- BERNARDES, TE **Características fermentativas, microbiológicas e químicas do capim Marandu *Brachiaria brizantha* (Hoschst ex. A. Rich) Stapf cv. Marandu) ensilado com polpa cítrica peletizada**. 2003. 118f. Dissertação Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- BUMBIERIS JUNIOR, V.H.; JOBIM, C.C.; CALIXTO JUNIOR, M et al. Composição química e digestibilidade em ovinos da grama estrela ensilada com diferentes aditivos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.5, p. 1408-1414, 2009.
- CONAB, (2022) Produção de grãos atinge recorde na safra 2021/22 e chega a 271,2 milhões de toneladas. **Anais eletrônicos**: [https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4744-producao-de-graos-atinge-recorde-na-safra-2021-22-e-chega-a-271-2-milhoesde%20toneladas#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20brasileira%20de%20gr%C3%A3os,Nacional%20de%20Abastecimento%20\(Conab\)](https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4744-producao-de-graos-atinge-recorde-na-safra-2021-22-e-chega-a-271-2-milhoesde%20toneladas#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20brasileira%20de%20gr%C3%A3os,Nacional%20de%20Abastecimento%20(Conab)). Acessado em 17/06/2023.
- DANIEL, J. L. P., BERNARDES, T. F., JOBIM, C. C., SCHMIDT, P., NUSSIO, L. G. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. **Grass and Forage Science**, v. 74, n. 2, p. 188-200, 2019.
- DRIEHUIS, F.; WILKINSON, J. M.; JIANG, Y. et al. Silage review: animal and human health risks from silage. **Journal of Dairy Science**, v.101, n.5, p.4093-4110, 2018.
- DONALD, A.S., FENLON, D.R., SEDDON, B. **The relationships between ecophysiology, indigenous microflora and growth of *Listeria monocytogenes* in grass silage**. *Journal of Applied Bacteriology*, v.79, n.2, p.1441-1448, 1995.
- EMBRAPA (2006) <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>.
- EMBRAPA (2020) <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/71895085/custo-de-producao-de-leite-aumenta-62-em-dois-anos-e-especialistas-explicam-as-razoes>.
- EVANGELISTA, A. R.; RESENDE, P. M.; MACIEL, G. A. **Uso da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] na forma de forragem**. Lavras: UFLA, 2003. 36p.
- EVANGELISTA, A.R.; GARCIA, R.; OBEID, J.A. et al. Consórcio milho-soja: **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.20, n.6, p.578-584, 1991
- FENLON, D.R.; HENDERSON, AR.; ROOKE JA. The fermentative preservation of grasses and forage crops. **Journal of Applied Bacteriology**, V.19, supp p.18-131, 1995.

- FILYA, I. [2003]. The Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminal Degradability of Low Dry Matter Corn and Sorghum Silages. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3575-3581. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73963-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73963-0).
- GANDRA, J. R., TAKIYA, C. S., DEL VALLE, T. A., OLIVEIRA, E.R DE GOES, R. H. T.B; GANDRA, E.R. S., BATISTA, J D. O, ARAKI H M.C. Soybean whole-plant ensiled with chitosan and lactic acid bacteria. Microorganism counts, fermentative profile, and total losses. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 9, p. 1-10, 2018.
- GANDRA, J. R., et al. Soybean silage in dairy heifers' diets: ruminal fermentation, intake and digestibility of nutrients. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, p. 1-11, 2020.
- GHIZZI L. G. **Produção de silagem de planta inteira de soja e sua utilização na alimentação de vacas leiteiras** . São Paulo. 2020.
- GOBETTI S T C, NEUMANN M, OLIVEIRA M R, OLIBON R, *Ambiência Guarapuava* (PR) v.7 n.3 p. 603-616 Set/dez. 2011 ISSN 1808 – 0251. Disponível em: **Produção e utilização da silagem de planta inteira de soja (Glicine max) para ruminantes / Production and use of the ensilage of entire soy palnt (Glicine max) for ruminants** – DOAJ. Acessado em 10/06/2023.
- GOBETTI, S. T. C. et al. Produção e utilização da silagem de planta inteira de soja (Glicine max) para ruminantes. *Revista Ambiência*, v. 7, n. 3, p. 603–616, 2011.
- JAHANZAD, E., SADEGHPOUR, A., HASHEMI, M., AFSHAR, R., HOSSEINI, M.B., BARKER, A. Silage fermentation profile, chemical composition and economic evaluation of millet and soya bean grown in monocultures and as intercrops. **Grass and forage science**. v. 71, n. 4, p. 584-594, 2016.
- JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.A. et al. **Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada**. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 36, p. 101-119, 2007.
- JOBIM. CC, GONÇALVES, GI **Microbiologia de Forragens Conservadas**. In: REIS, R.A; BERNARDES, TE, SIQUEIRA GR. MOREIRA, A.L. (Ed.). **VOLUMOSOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES VALOR ALIMENTÍCIO DE FORRAGENS**. 2003. Jaboticabal. **Anais...**, FUNESP. p.1-26. 2003.
- KEPLIN, L.A.S. Silagem de soja: uma opção para ser usada na nutrição animal. In: **SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS**, 2., 2004, Maringá. UEM, 2004. CD-ROM.
- KLEINSCHMIT, D.H.; KUNG, L. [2006]. The Effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* R1094 on the Fermentation of Corn Silage. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3999-4004. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72443-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72443-2).
- LIMA JUNIOR, D. M.; RANGEL, A. H. N.; URBANO, S. A.; OLIVEIRA, J. P. F.; MACIEL, M. V. Silagem de gramíneas tropicais não-graníferas. **Revista Agropecuária Científica** v. 10, n. 2, p. 01-11, abr - jun, 2014.

- LISOWSKI, A., et al. **Compaction of chopped material in a mini silo**. Biomass and Bioenergy, v. 139, p. 105631, 2020.
- MADISON, American Society of Agronomy. **Crop Science Society of America**, and Soil Science Society of America, 2003. cap. 11, p. 505-546.
- MAACK, R (1981). Geografia Física do Estado do Paraná. 2 a Edição. Livraria José Olímpio. Ed., Curitiba.
- MAHANNA, B. **Proper management assures high-quality feeds**. Feedstufis, v.10, p.12-56, 1994.
- McDONALD. P.; HENDERSON, A.R., HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. New York: Chalcombe Publications, 1991. 339p.
- MUCK, R. E. Silage Inoculation: inoculation of silage and its effect son silage quality. *In: CONFERENCE WITH DAIRY AND FORAGE INDUSTRIES, Anais...* 1996, Madison. Proceedings... Madison-US, 1996.p.43-51.
- NI, K., et al. Effects of lactic acid bacteria and molasses additives on the microbial community and fermentation quality of soybean silage. **Bioresource Technology**, v. 238, p. 706-715, 2017.
- NKOSI B. D.; MEESKE, R.; LANGA, T.; MOTIANG, M. D.; MOODHBA, S.; MKINZE, N. R.; GROENEWALD, 1. B. Effects of ensiling forage soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) with or without bacterial inoculants on the fermentation characteristics. aerobic stability and nutrient digestion of silage. by Damara rams. **Small Ruminant Research**, v. 134, p. 90-96,2016.
- OLADOSU, Y. et al. **Fermentation quality and additives: a case of rice straw silage**. Bio-Med Research International, p.1-14, 2016.
- PEDROSO, A. F. et al. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. *Scientia Agricola*, v. 62, n. 5, p. 427–432, 2005.
- REIS, A. R. MOREIRA, L.A. Conservação de forragem como estratégia para otimizar o manejo das pastagens. Unesp, Jaboticabal. 2003.
- RIGUEIRA, J. P. S., et al. Níveis de glicerina bruta na ensilagem de capim Tifton 85 (*Cynodon dactylon*): perfil fermentativo e valor nutricional. **Revista de Ciências Agrárias**, v.40, n.3, p.655-663, 2017.
- ROSA, L. O.; LEGUMINOSAS, S. D. E.; AMENDOIM, À. B. D. E. **Silagem De Leguminosas À Base De Amendoim Forrageiro E Soja**: Características Fermentativas e Desempenho De Bovinos De Corte Mestiços. Tese, Viçosa-MG. 2014.
- SA NETO, A. **Microrganismos indesejáveis em silagem de cana-de-açúcar**. 2009. 44f. Monografia (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- SANTOS, S.F.; GONÇALVES, M.F.; RIOS, M.P et al. Principais tipos de silos e microrganismos envolvidos no processo de ensilagem. **Veterinária Notícias**, v. 19, n. 2, 2013.

- SHLECH, W. E. Pathogenesis and Immunology of *Listeria monocytogenes*. **Pathologie Biologie**, v. 44, p. 75-782, 1996.
- TOBIA, C.; VILLALOBOS, E.; ROJAS, A.; SOTO, H.; MOORE, K. J. Nutritional value of soybean (*Glycine max* L Mer.) silage fermented with molasses and inoculated with *Lactobacillus brevis*. **Livestock Research for Rural Development**, v. 20, n. 1, p. I-H, 2008.
- VARGAS-BELLO-PÉREZ, E.; MUSTAFA, A. F.; SEGUIN, P. Effects of feeding forage soybean silage on milk production, nutrient digestion, and ruminal fermentation of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 91, n. 1, p. 229-235, 2008.
- WILKINSON, J. M.; RINNE, M. Highlights of progress in silage conservation and future perspectives. **Grass and Forage Science**, v. 73, p. 40-52, 2018.
- YITBAREK, M. B.; TAMIR, B. Silage Additives: Review. **Journal of Applied Sciences**, v. 4, p. 258-274, 2014.
- ZANINE, A. M., et al. Fermentative profile, losses and chemical composition of silage soybean genotypes amended with sugarcane levels. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2020.

PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS E PERFIL FERMENTATIVO DE SILAGEM DA PLANTA INTEIRA DE SOJA COM DIFERENTES INCLUSÕES DE MILHO MOÍDO

Resumo: Este estudo propôs-se a avaliar os efeitos da inclusão de milho moído à silagem de soja sobre os parâmetros fermentativos e composição bromatológica. Foram utilizados quatro tratamentos com diferentes níveis inclusão de milho moído (0%, 6%, 12% e 18%) com base na matéria seca (MS). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em parcelas subdivididas durante o tempo. As silagens foram confeccionadas em mini silos experimentais de PVC com altura média de 40 cm pesando, após sua confecção, em média, 3,5kg e armazenadas por 90 dias, e realizadas aberturas nos dias 1º, 3º, 7º, 15º, 30º, 60º e 90º após a ensilagem. Procedendo a abertura dos silos, foram coletadas amostras para as análises dos parâmetros fermentativos — pH, nitrogênio amoniacal (NH₃-N), ácidos orgânicos (AGVs) e composição bromatológica: MS, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS). A inclusão de milho moído aumentou linearmente o teor de MS das silagens, e reduziu o pH e nitrogênio amoniacal, conforme os níveis de inclusão aumentou. A inclusão de milho moído também aumentou linearmente os teores de PB e FDN das silagens, mas reduziu os teores de FDA. Conclui-se que a inclusão de 18% de milho moído na silagem de soja melhora os parâmetros fermentativos e a composição bromatológica, podendo ser uma alternativa viável para aumentar o valor nutritivo da forragem conservada.

Palavras-Chave: Características microbiológicas, milho moído, perdas fermentativas, silagem de leguminosa.

MICROBIOLOGICAL PARAMETERS AND FERMENTATIVE PROFILE OF SILAGE FROM THE WHOLE SOYBEAN PLANT WITH DIFFERENT INCLUSIONS OF GROUND CORN

Abstract: The objective was to evaluate the effects of including ground corn in soy silage on fermentative parameters and bromatological composition. Based on dry matter, four treatments were used with different inclusion levels of ground corn (0%, 6%, 12%, and 18%). The experimental design was completely randomized, with four replications in plots divided over time. The silages were made in mini experimental PVC silos with an average height of 40 cm, weighing an average of 3.5 kg after production, and stored for 90 days, with openings carried out on days 1, 3, 7, 15, 30, 60 and 90 after ensiling. After opening the silos, samples were collected for analysis of fermentative parameters — pH, ammonia nitrogen (NH₃-N), organic acids (AGVs) — and bromatological composition — dry matter (DM), crude protein (CP), detergent fiber neutral (NDF), acid detergent fiber (ADF), in vitro dry matter digestibility (DIVMS). Ground corn linearly increased the dry matter content of the silages, and reduced the pH and ammonia nitrogen, depending on the levels of inclusion increased. Including ground corn also linearly increased the crude protein and neutral detergent fiber contents of the silages but reduced the acid detergent fiber contents. It is concluded that including 18% of ground corn in soybean silage improves fermentative parameters and bromatological composition. It may be a viable alternative to increase the nutritional value of preserved forage.

Keywords: Microbiological characteristics, ground corn, fermentative losses, legume silage.

1 INTRODUÇÃO

A silagem de leguminosa contém alto valor proteico, com isso sua inclusão na dieta pode reduzir a quantidade de ingredientes como fonte de proteína fornecida na dieta de ruminantes (Santana *et al.*, 2019). Com isso, pode ser utilizada para acrescentar, junto ao volumoso da dieta, mesmo com suas dificuldades na ensilagem por suas características de baixo teor de matéria seca (MS) e carboidratos solúveis, aumentando as perdas durante a fermentação (Gobetti *et al.*, 2011).

A silagem da planta inteira de soja é uma alternativa para reduzir os custos da alimentação animal, principalmente na pecuária de leite. A soja é uma cultura de grande importância econômica no mundo, mas também está sujeita a variações climáticas que podem afetar sua produtividade e qualidade. Nesse contexto, a ensilagem pode ser uma forma de aproveitar inteiramente a planta de soja, com destaque para o teor de proteína bruta (PB), que pode chegar a 18% (Evangelista *et al.*, 2003).

A silagem da planta inteira de soja também apresenta alguns desafios, como o baixo teor de MS, que favorece o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, e o alto teor de extrato etéreo (EE), que pode dificultar a fermentação, que pode causar ranço e reduzir a palatabilidade. Além disso, a silagem da planta inteira de soja não substitui a silagem de milho, que deve ser mantida na dieta dos animais (Evangelista *et al.*, 2003).

Uma das formas de melhorar a qualidade da silagem da planta inteira de soja é por meio da adição de milho moído, que aumenta o teor de MS e fornece carboidratos solúveis para os microrganismos fermentadores. O milho moído também pode contribuir para o aumento do valor energético da silagem e para a redução do pH, favorecendo a conservação do alimento ensilado (Andrade & Lavezzo, 1998; Andrade *et al.*, 2012; Deminicis *et al.*, 2014; Corrêa *et al.*, 2016).

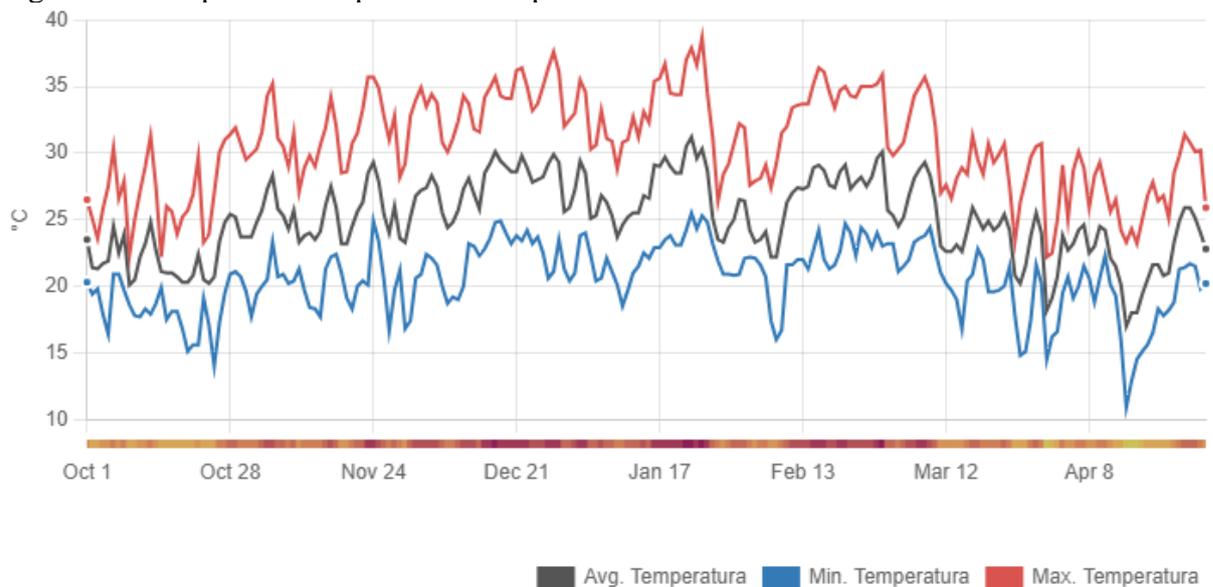
A hipótese deste trabalho é de que o uso de milho moído na ensilagem de soja inteira melhora o processo fermentativo, resultando em silagem de melhor qualidade, em todos os períodos de armazenamento. Objetivou-se no presente estudo avaliar o perfil fermentativo e os parâmetros microbiológicos da silagem da planta inteira de soja, com inclusões de 0%, 6%, 8% e 12% de milho moído em diferentes tempos de abertura, sendo 0 (*in natura*), 1, 3, 7, 15, 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e condições climáticas

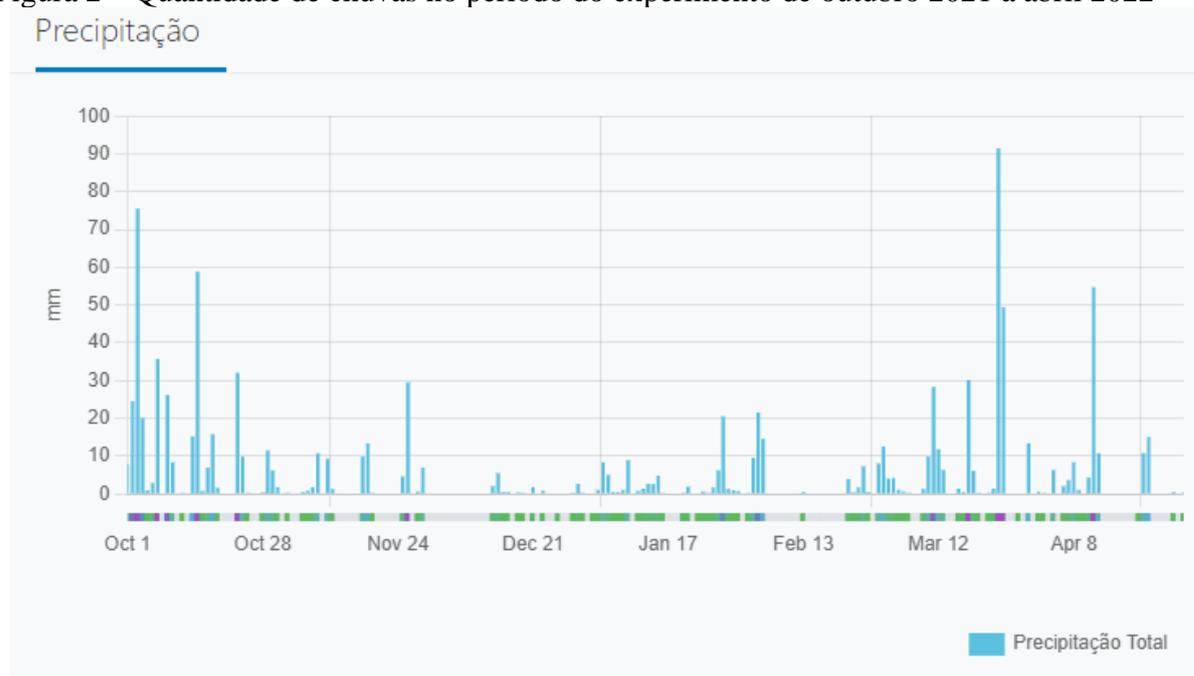
O experimento foi realizado na Estação Experimental Professor Antônio Carlos do Santos Pessoa, localizada na linha Guará, e as análises foram realizadas no Laboratório de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) e no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Marechal Cândido Rondon, no Paraná. O clima predominante é o Subtropical Úmido Mesotérmico (Cfa), com temperaturas médias entre 26 °C, no mês mais quente, e 12 °C no mais frio. Apresenta maior precipitação no mês de janeiro e período seco em julho (Maack, 1981).

Figura 1 – Temperatura no período do experimento de outubro 2021 a abril 2022



Fonte: <https://meteostat.net/pt/station/86916?t=2021-01-01/2021-01-31>.

Figura 2 – Quantidade de chuvas no período do experimento de outubro 2021 a abril 2022



Fonte: <https://meteostat.net/pt/station/86916?t=2021-01-01/2021-01-31>

2.2 Plantio, colheita e ensilagem da soja

A soja foi colhida em uma propriedade particular localizada na linha Havaí, no distrito de Iguaporã, no município de Marechal Cândido do Rondon/PR (localização geográfica — 24.547511, -54.232067). Foi plantada uma área de 4,5 ha da cultura de soja com híbrido BASF M5947 I PRO. O produtor realizou o plantio na segunda quinzena de outubro de 2021, sendo catorze sementes por metro quadrado com espaçamento de cinquenta centímetros entre linhas. O corte da planta inteira foi realizado em 30 de janeiro de 2022, com uma máquina colhedora de forragem JF-120. Após o corte, as plantas foram acondicionadas em sacos plásticos descartáveis para o transporte até o local da ensilagem.

O critério de corte foi segundo o estágio de desenvolvimento R6, que é quando o grão está verde ou vagem cheia, essa é a fase que o grão ocupa toda a cavidade da vagem, e inicia o rápido amarelamento das folhas, esse estágio apresenta uma maior produção de matéria seca por hectare quando comparada ao estágio R2 (Coffey *et al.* 1995).

Os silos foram confeccionados em cano de policloreto de vinila (PVC), com 10 cm de diâmetro e 40 cm de comprimento. Na parte superior dos silos foi adaptada uma válvula tipo Bunsen, visando à eliminação dos gases produzidos. O peso médio do material ensilado em cada silo experimental foi, em média, de 1,900kg, variando de 1,750kg a 2,050kg, com base na MS. Todos os silos foram lavados e, após a secagem, foram higienizados com álcool 70%,

identificados com uma fita de acordo com o tratamento, sua abertura e repetição, e posteriormente pesados.

Na chegada, o material foi pesado, separado por tratamentos e homogeneizado. Posteriormente, foi armazenado em silos experimentais, de acordo com os tratamentos, sendo estes (com base na MS 27,59%): silagem de soja sem inclusão de milho moído; silagem de soja mais 6% de milho moído; silagem soja mais 12% de milho moído; silagem soja mais 18% milho moído. Esse milho foi moído em triturador forrageiro com peneira de 5 mm.

As avaliações das silagens foram realizadas no momento da ensilagem *in natura* e com 1, 3, 7, 15, 30, 60 e 90 dias de ensilagem. Desse modo, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com três inclusões de milho e *in natura*, oito tempos de armazenamento e quatro repetições, totalizando 112 silos experimentais.

Na ensilagem, foi utilizada uma camada de areia de 0,300 gramas, essa areia foi autoclavada e seca em estufa (65 °C por 12 horas), então colocada na parte inferior do silo, formando uma camada de 5 cm separada. Em cima dessa areia foi usado um tecido de algodão cortado em círculo de 15 cm, este também foi autoclavado e seco em estufa, para escoamento de possíveis líquidos e para evitar contato entre a areia e a silagem.

A compactação foi realizada com o auxílio de um bastão de madeira e as tampas foram lacradas com fita adesiva. Os silos experimentais foram armazenados em temperatura ambiente sob proteção da luz solar e de chuvas até o momento da abertura.

Para auxiliar a remoção da silagem dos silos, foi utilizada uma corda fina de polipropileno de 2,5 mm com 1 metro de comprimento. Esta foi colocada na parte interna ao fundo do silo percorrendo todo o interior dele. A corda foi presa à borda do PVC com liga elástica, visando facilitar o processo de ensilagem do material e, posteriormente, as ligas elásticas foram removidas e as pontas da corda foram acondicionadas na parte interna superior do silo, sendo em seguida vedados.

Na abertura, os silos foram pesados e, em seguida, foi retirada uma camada de 5 centímetros do material ensilado e aferida a temperatura em °C, usando termômetro tipo espeto (IN-COTERM 6132). A silagem foi retirada com auxílio das cordas e de um bastão de madeira tracionando as mesmas, também foi descartada a porção final do silo. O material central foi homogeneizado e amostrado e, posteriormente, encaminhado para os laboratórios de Nutrição Animal e de Microbiologia.

2.3 Perdas por efluentes

Todos os silos foram pesados após a confecção. No dia da abertura, esses dados foram usados para calcular o índice de recuperação da matéria seca, a perda por gases e a produção de efluentes. Após a retirada da silagem, o silo, a areia e a corda foram pesadas.

Foi determinada a perda da produção de efluentes, calculada pela diferença da pesagem do silo e da areia, antes e depois da ensilagem, em relação à quantidade de matéria verde ensilada. Depois da retirada da silagem, foi feita a pesagem do silo, da tampa, da areia úmida e do tecido, calculando, assim, a diferença entre eles antes e depois da ensilagem segundo Schmidt (2006).

2.4 Índice de Recuperação da Matéria Seca (RMS)

O cálculo de recuperação da matéria seca foi realizado a partir da multiplicação da massa de forragem na abertura pelo teor da MS na abertura, sobre o valor obtido do cálculo da massa de forragem no fechamento multiplicado pelo teor da MS no fechamento dos silos. Esses cálculos foram realizados de acordo com Jobim *et al.* (2007), conforme descrito abaixo:

$$RMS = \frac{(MFa \times MSa)}{MFe \times MSe} \times 100$$

Onde:

RMS = índice de Recuperação da Matéria Seca;

MFa = Massa de Forragem na abertura (kg);

MSa = teor de Matéria Seca na abertura (%);

MFe = Massa de Forragem na ensilagem (kg); e

MSe = teor de Matéria Seca na ensilagem (%).

2.5 Perdas Gasosas (PG)

O cálculo usado para mensurar a perda de gases tem como base a diferença entre o peso bruto final e inicial, descontando o peso do conjunto silo e da areia seca dos silos em relação à quantidade matéria seca ensilada, conforme a equação de Mari (2003):

$$PG (\% MS inicial) = \left[\frac{(PSf - PSa)}{MFf \times MSf} \right] \times 100$$

Onde:

PG = Perdas de Gases durante o armazenamento (% da MS inicial);

PSf = Peso do Silo na ensilagem (kg);

PSa = Peso do Silo na abertura (kg);

MFf = Massa de Forragem na ensilagem (kg); e

MSf = teor de Matéria Seca na ensilagem (%).

2.6 Produção de Efluentes (PE)

Os cálculos referentes à liberação de efluentes foram realizados a partir da diferença de pesagens do silo, areia, corda e tecido, antes e depois da ensilagem, tendo como referência o peso da matéria verde ensilada (kg). A estimativa da produção de efluentes drenada para a parte inferior do silo experimental foi determinada pela equação de Schmidt (2006):

$$PE (kg/t MN) = \frac{(PCa - Pce)}{MVfe} \times 1000$$

Onde:

PE = Produção de efluente (kg/t de massa verde);

Pca = Peso do conjunto (mini silo + tampa + areia úmida + tecido) da abertura (kg);

Pce = Peso do conjunto (mini silo + tampa + areia úmida + tecido) na ensilagem (kg); e

MVfe = Massa verde de forragem ensilada (kg).

2.6.1 Análises químicas

Para a realização das análises de matéria seca (MS) e matéria mineral (MM) após a coleta de uma amostra homogênea, o material pesou aproximadamente 300 g e, em seguida, foi levado para estufa de ventilação de ar forçada com a temperatura de 55 °C por 72 horas. A cada 12 horas era realizada a homogeneização da amostra e, após o período de 72 horas, ela foi retirada, aguardando-se cerca de 1 hora para realizar a pesagem novamente.

Em seguida, as amostras foram moídas no moinho de facas tipo Willey (STAR FT 60, FORTINOX), com peneira de crivos de 1 mm. Para análises posteriores, as amostras foram

armazenadas em potes plásticos lavados e secos, todos identificados de acordo com o número do silo, abertura, repetição e inclusão.

As análises foram realizadas de acordo com a metodologia da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (1990). Para o teor de matéria seca (MS), foi utilizado o método 934.01 e para as cinzas, o método 938.08. A matéria orgânica (MO) foi calculada através da subtração do teor de cinzas, ou seja: $MO = 100 - \% \text{ Cinzas}$.

Tabela 1 – Composição bromatológica do milho moído e da soja in natura, usados na ensilagem durante o período experimental

	MS (%)	MM (%)	MO (%)	PB (%)
Milho moído	83,00	2,00	98,00	11,00
Soja in natura	27,59	7,96	92,04	19,49

MS: Matéria Seca; MM: Matéria Mineral; MO: Matéria Orgânica; PB: Proteína Bruta
Fonte: autoria própria (2023).

2.6.2 Capacidade tampão e pH

A análise de capacidade tampão foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Playne e McDonald (1966). Primeiro, foi feita a maceração de aproximadamente 15 g de amostra e, em seguida, acrescentado 250 ml de água destilada para obter homogeneização. Iniciou-se a titulação logo em seguida, para pH 3,0 com HCl (0,1 N) e, posteriormente, titulado com NaOH (0,1 N) para pH 6,0. A capacidade tampão foi determinada mEq de álcali necessário para mudar o pH de 4 para 6 por 100 g de matéria seca.

Na realização das análises de potencial hidrogeniônico (pH), a medição foi feita utilizando um pHmetro digital (TE C-5, TECNAL), com calibração prévia. Foi adicionado 100 ml de água destilada em 10 gramas de amostra, que permaneceu em repouso por uma hora antes da leitura, de acordo com a metodologia descrita por Cherney e Cherney (2003).

2.6.3 Análises Microbiológicas

Para as análises microbiológicas, as populações microbiológicas e suas quantificações foram determinadas a partir de técnicas de cultura de acordo com Silva *et al.* (1997). Todos os materiais utilizados para diluições foram autoclavados por 20 minutos a 120 °C. Já as placas de Petri foram esterilizadas em estufa por 2 horas a 230 °C por via seca.

A realização da diluição foi realizada em um Erlenmeyer com 225 ml de água destilada estéril com a amostra de 25 g que, em seguida, foi homogeneizada. Esse procedimento foi

realizado próximo à chama do fogo de um bico de Bunsen. Também foram utilizados luvas, jalecos, máscaras e álcool etílico hidratado (70° INPM).

Após o processo de diluição, foi pipetado 1 ml, para diluição de 10^{-1} a 10^{-6} , nos tubos de ensaios com 9 ml de água destilada estéril. Em seguida, foi realizada a semeadura nas placas, utilizando 0,1 ml de inóculo para placas semeadas em superfície e 1 ml para placas semeadas em profundidade, ambas homogeneizadas com a alça de Drigalski em vidro próximo ao fogo.

Após a incubação, de 24 a 48 horas de acordo com o crescimento, a contagem foi realizada manualmente com auxílio de um contador de colônias do tipo Quebec, sendo necessária a multiplicação da quantidade encontrada na diluição e, posteriormente, a transformação dos valores em log de UFC g^{-1} .

O meio utilizado para análise de *Clostridium spp.* foi o *Reinforced Clostridial Agar*, realizando semeadura em placas com acondicionados em incubação anaeróbia, que utiliza estufa com sistema de gás CO_2 a $35^\circ C$ por 24 horas.

Para a contagem das bactérias aeróbias mesófilas, foi utilizado o meio *Plate Count Agar* (KASVI, São José do Pinhais, PR), preparado de acordo com a recomendação do fabricante. A semeadura foi realizada em superfície e as placas inoculadas permaneceram em estufa (Eletrolab-EL202) durante 24 a 48 horas a $37^\circ C$.

Para a contagem das bactérias ácido-láticas, foi realizada a semeadura em Ágar de Man, Rogosa e Sharpe (MRS), que foi incubada por 48 horas em estufa à temperatura de $37^\circ C$.

Já para a contagem de enterobactérias, foi feita a semeadura em profundidade em placas com Violet Red Bile Agar (VRB), mantidas sob incubação a $35^\circ C$ por 24 horas.

Os meios utilizados para realização das microbiologias foram *Listeria monocytogenes* de espécimes clínicos. Assim, foi realizada a semeadura em placas com *Reinforced Clostridial Agar*, acondicionadas em incubação anaeróbia a $35^\circ C$ por 24 horas.

Para realização das análises de fungos e leveduras foram utilizadas 25g da silagem homogeneizada, sendo essa congelada em função do tempo para realização da análise, já que foi coletada logo após a abertura dos silos. Após o descongelamento e preparo das matérias para diluição autoclavada, as amostras foram diluídas e semeadas em superfície de Batata Dextrose Ágar (BDA) em pH 3,5, o material foi acidificado com ácido tartárico 10% e a ele foi adicionado pentabiótico com o objetivo de inibir o crescimento de bactérias (Brackett & Splittstoesser, 1992). Após a semeadura, as placas foram incubadas a $28^\circ C \pm 1^\circ C$ por sete dias. Os fungos foram isolados e identificados de acordo com o gênero, categorizados por aspectos como cor e textura. Em seguida, foi realizado o preparo da lâmina, corado com azul de metileno e visualizado em microscópios, identificando os fungos de acordo com suas estruturas.

2.6.4 Nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e Ácidos Orgânicos

Para análise do nitrogênio amoniacal (N-NH₃), 200g de cada amostra foram prensados em prensa hidráulica (P15 ST, BOVENAU) para coleta do extrato. Após isso, procedeu-se a coleta de 1 ml do sobrenadante para as análises, juntamente com 0,01 ml de ácido tricloracético. Para tal, foi utilizado o método (N-006/1), através de técnica calorimétrica de acordo com Chaney e Marbach (1962), substituindo-se o fenol por solução de salicilato de sódio (12%), segundo Felix e Cardoso (2004).

Os ácidos orgânicos foram determinados conforme a técnica descrita por Lázaro (2009), utilizando-se o sistema de cromatografia Shimadzu. As amostras de silagem de 200 g foram prensadas em prensa hidráulica (P15 ST, BOVENAU) para coleta do extrato; 1 ml do sobrenadante foi coletado para as análises com 0,01 ml ácido metafosfórico a 50%. Após este procedimento, a amostra foi centrifugada a 13.000 rpm por cinco minutos, então filtrada quatro vezes com o auxílio de uma seringa com filtro. A leitura foi realizada no cromatógrafo líquido (HPLC) da marca Shimadzu com detector de PDA, LC-20AT líquida de alta eficiência fluxo: 1ml/min, com pressão máxima 4500psi.

2.6.5 Análise estatística

Os dados foram analisados por meio do software *R Core Team* (2022, versão 4.2.0) através do pacote *agricolae*. Os dados com distribuição não gaussiana foram transformados através da função *boxcox* do pacote *MASS* para serem avaliados de forma correta. Foi utilizado o modelo OAV (RESPOSTA~FATOR1*FATOR2, data=dados) para observar as possíveis interações entre os fatores. Quando não houve interação entre os fatores, os efeitos foram analisados por meio de regressão linear ou quadrática de forma isolada.

Já quando houve interação entre os fatores, os efeitos foram analisados por meio de polinômios ortogonais. As equações de regressão foram determinadas através dos coeficientes apresentados pelo comando *summary*, utilizando os modelos LM (RESPOSTA~FATOR1, data=dados) e LM (RESPOSTA~FATOR2, data=dados) para os respectivos fatores. Enquanto o R² foi utilizado para determinar qual regressão, linear ou quadrática, representa melhor os resultados das respostas. Foi considerado resultado significativo quando o p-valor foi menor ou igual a 0,05.

3 RESULTADOS

O pH apresentou efeito quadrático para tempo de ensilagem (Tabela 2). Já para a inclusão de milho moído, houve efeito linear decrescente ($p=0,017$), no qual quanto maior a adição de milho, menor o pH, variando entre 5,07 e 4,72.

Tabela 2 – Interação entre o tempo de ensilagem e níveis de inclusão de milho moído (NIM) sobre o pH e a temperatura da silagem de soja sem inclusão (0%), e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de armazenamento

pH					
IMM	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	6,15	6,21	6,24	6,20	0,0557
1	5,24	5,08	5,09	4,96	0,001 ^L
3	5,21	4,76	4,48	4,48	0,0089 ^L
7	4,58	4,39	4,31	4,23	0,0276 ^Q
15	4,38	4,28	4,21	4,52	0,1460
30	4,84	4,60	4,43	4,37	<0,001 ^Q
60	5,11	4,68	4,54	4,58	0,0129 ^Q
90	5,08	4,61	4,51	4,45	0,0064 ^Q
P-valor*	0,0127 ^Q	0,0209 ^Q	0,0154 ^Q	0,0452 ^Q	
TEMPERATURA °C					
IMM	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	25,18	25,78	25,83	25,08	<0,001 ^Q
1	25,35	25,33	25,28	25,40	0,3020
3	26,03	27,00	26,08	26,65	0,4040
7	26,48	26,50	26,58	26,80	<0,001 ^L
15	31,93	31,80	31,60	31,75	0,1648
30	27,55	27,33	27,20	27,13	<0,001 ^L
60	27,15	27,60	27,35	27,40	0,0401 ^Q
90	25,20	25,28	25,25	25,20	0,2480
P-valor*	0,0003 ^Q	0,0005 ^Q	0,0005 ^Q	0,0006 ^Q	

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R^2 . Quando o L foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi linear; e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; NIM: Níveis de inclusão de milho moído.

Fonte: autoria própria (2023).

Houve interação ($p<0,001$) para o tempo de armazenamento e a inclusão de milho moído sobre o pH. Na silagem de soja sem inclusão de milho, o ponto de mínima calculado foi de 4,57 para o pH, aos 50 dias de ensilagem. Para a inclusão de 6% de milho moído, o teor de pH calculado foi de 4,20 aos 57 dias; para a inclusão de 12%, pH de 4,21 aos 47 dias; e com 18% de adição de milho à ensilagem, os valores de pH foram de 4,18 aos 54 dias de armazenamento.

A temperatura apresentou efeito quadrático para o tempo de ensilagem ($p < 0,001$), com ponto de máxima estimado em 29 °C, aos 40 dias de armazenamento. Houve interação ($p < 0,001$) para o tempo de armazenamento e a inclusão de milho moído sobre a temperatura.

Com relação às perdas por efluente (PE), houve diferença para tempo de ensilagem, com efeito quadrático ($P = 0,041$). O ponto de máxima calculado foi de 16,13% perda de efluentes aos 49 dias de ensilagem (Tabela 3).

Tabela 3 – Avaliação do pH, temperatura (TEMP), perdas por efluentes (PE), perda de gases (PG), recuperação da matéria seca (RMS), capacidade tampão da silagem de soja (CTAMP), com níveis de inclusão de milho moído (0%, 6%, 12% e 18%), em diferentes tempos de armazenamento

Parcelas	Variáveis						
	pH	TEM (°C)	PE (kg/tonelada MV ³)	PG (%)	RMS (%)	CTAMP (meq/100 MS)	
Tempo de ensilagem (ENS)							
0	6,20	25,46	-	-	-	-	
1	5,09	25,34	8,86	0,01	91,55	-	
3	4,73	26,44	9,49	0,02	90,85	-	
7	4,38	26,59	8,50	0,01	92,07	-	
15	4,34	31,77	8,45	0,02	92,05	-	
30	4,56	27,30	7,82	0,02	92,07	-	
60	4,73	27,38	8,97	0,02	91,63	-	
90	4,66	25,23	5,66	0,03	94,73	-	
Níveis de inclusão de milho moído (IMM)							
0%	5,07	26,86	8,17	0,02	92,36	22,69	
6%	4,82	27,08	7,40	0,02	93,05	23,96	
12%	4,72	26,89	8,23	0,02	92,40	24,05	
18%	4,72	26,93	9,20	0,02	90,73	26,70	
EPM	0,0542	0,1781	0,244	0,001	0,287	0,4526	
P-valor*	ENS	<0,001 ^Q	<0,001 ^Q	<0,001 ^L	<0,001 ^L	0,001 ^L	-
	IMM	0,017 ^L	0,794	0,071	0,551	0,030 ^L	<0,001 ^L
	ENS*IMM	<0,001	<0,001	0,522	0,158	0,663	-

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R^2 . Quando o L foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi linear; e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Níveis de inclusão de milho moído.

Fonte: autoria própria (2023).

Para perda de gases (PG) ocorreu efeito linear para tempo de ensilagem ($P = < 0,001^L$).

Os teores de recuperação de matéria seca (RMS) da silagem apresentaram efeito linear tanto para tempo de ensilagem ($P = 0,001^L$) e para inclusão de milho moído ($P = 0,030^L$).

A capacidade tampão (CTAMP) obteve efeito linear para inclusão de milho moído ($P < 0,001$).

O nitrogênio amoniacal (N-NH₃) (Tabela 4) apresentou efeito linear decrescente ($p < 0,001$) para os diferentes tempos de ensilagem, sendo que, quanto maior o período de armazenagem, menor o teor de NH₃. Para a inclusão de milho moído, o mesmo comportamento foi observado; no material *in natura*, o teor de NH₃ foi de 3,99% e para a máxima inclusão avaliada (18%) o teor foi mensurado em 3,18% (Figura 1).

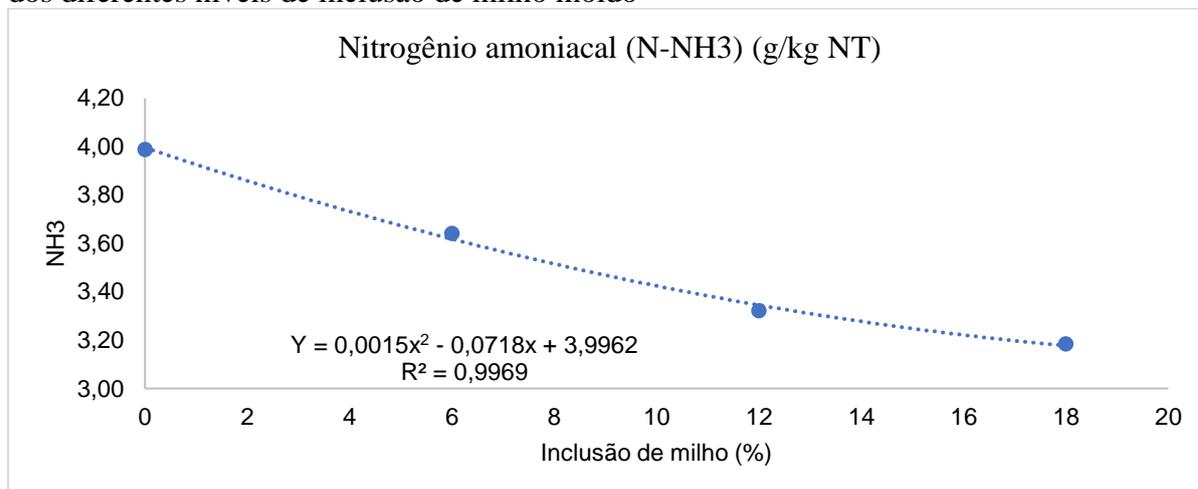
Tabela 4 – Nitrogênio amoniacal (N-NH₃), ácido acético (ACET), ácido propiônico (PROP), ácido láctico (LACT) da silagem de soja com diferentes níveis de inclusão de milho moído (0%, 6%, 12% e 18%), em diferentes tempos de armazenamento

Parcelas	Variáveis				
	N-NH (mg/l)	ACET (mM)	PROP (mM)	LACT (mM)	
Tempo de ensilagem (ENS)					
0	3,85	215,24	11,27	-	
30	3,90	117,91	68,84	128,47	
60	3,21	123,89	77,36	112,59	
90	3,17	121,25	80,81	106,07	
Níveis de inclusão de milho moído (IMM)					
0%	3,99	151,43	57,29	84,33	
6%	3,64	142,61	60,18	113,75	
12%	3,32	141,62	59,82	126,71	
18%	3,18	142,63	60,99	138,06	
EPM	0,0757	6,7173	3,5871	3,6008	
P-valor*	ENS	<0,001 ^L	<0,001 ^Q	<0,001 ^Q	0,001 ^L
	IMM	<0,001 ^L	0,6520	0,7410	0,042 ^Q
	ENS*IMM	0,1100	0,8801	0,4132	0,6340

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R². Quando o L foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi linear; e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído.

Fonte: autoria própria (2023).

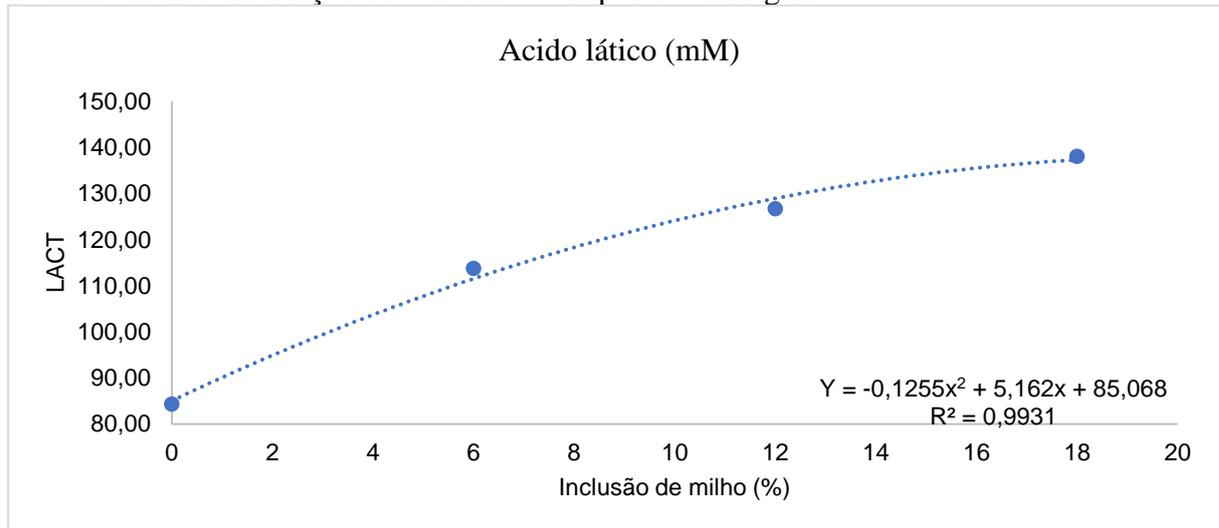
Figura 3 – Efeito linear decrescente para o teor de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) em função dos diferentes níveis de inclusão de milho moído



Fonte: autoria própria (2023).

Já o lactato apresentou comportamento linear decrescente nos diferentes tempos de ensilagem ($p < 0,001$) e efeito quadrático para os diferentes níveis de inclusão de milho ($p = 0,042$), com ponto de máxima de 138 % ao nível de 20% de inclusão (Figura 4).

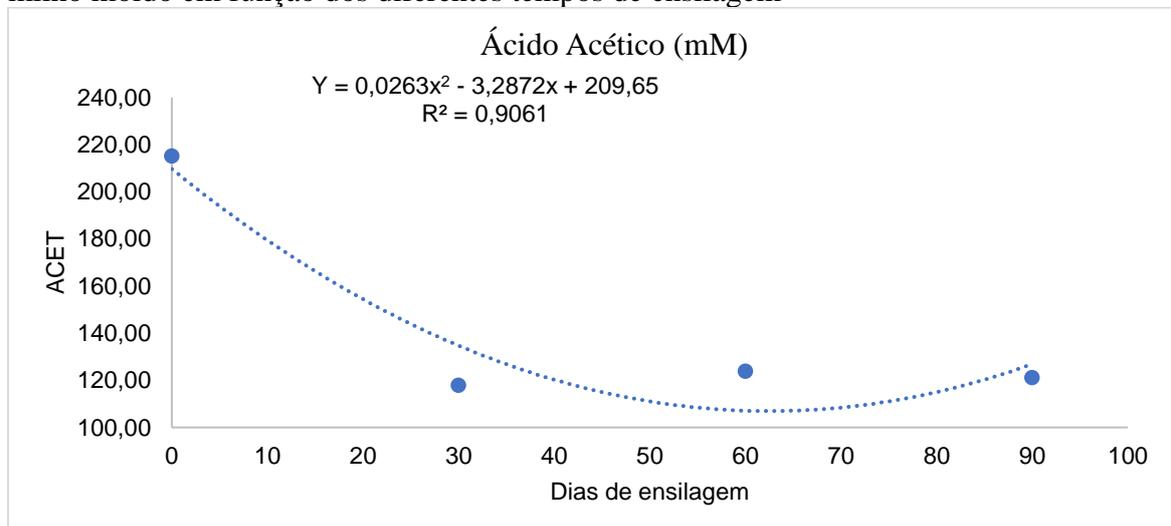
Figura 4 – Concentração de ácido láctico na silagem de soja com diferentes níveis de inclusão de milho moído em função dos diferentes tempos de ensilagem



Fonte: autoria própria (2023).

O ácido acético obteve efeito quadrático ($p < 0,001$) para tempo de ensilagem, sendo o ponto de mínima calculado em 107% aos 62 dias de armazenamento. A concentração de ácido propiônico na silagem com relação ao período de armazenamento apresentou efeito quadrático ($p < 0,001$), com ponto de máxima de 85% aos 69 dias de ensilagem (Figura 5).

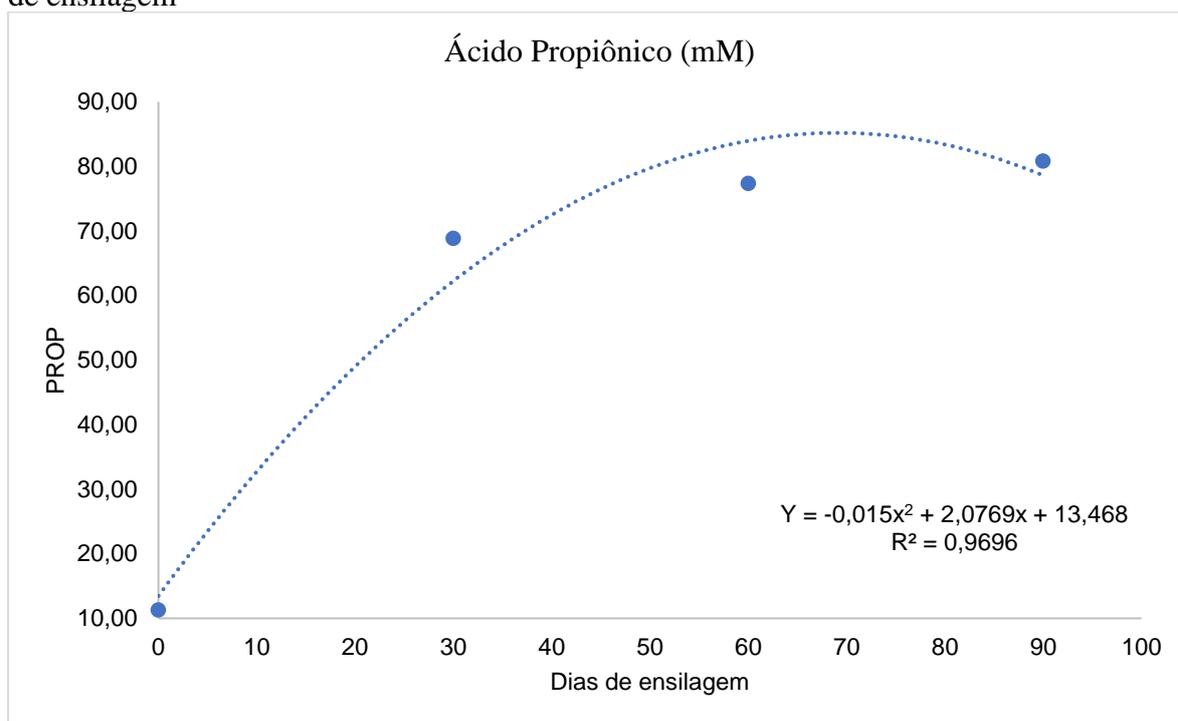
Figura 5 – Concentração ácido acético na silagem de soja com diferentes níveis de inclusão de milho moído em função dos diferentes tempos de ensilagem



Fonte: autoria própria (2023).

A concentração de ácido propiônico na silagem aumentou com o período de armazenamento, apresentou efeito quadrático ($P < 0,001$) para Ens com ponto de máxima de 85% aos 69 dias de ensilagem (Figura 6).

Figura 6 – Efeito quadrático para o teor de ácido propiônico em função dos diferentes tempos de ensilagem



Fonte: autoria própria (2023).

Os aeróbios mesófilos (AM) (Figura 5) apresentaram efeito quadrático para o tempo de ensilagem ($p < 0,001$) com menor presença nos 90 dias de ensilagem, com ponto de máxima de 8,21 UFC g^{-1} no 24º dia de ensilagem.

Com relação à população de BAL, observou-se efeito quadrático para o tempo de ensilagem ($p < 0,030$), atingindo o ponto de máxima em 7,90 UFC g^{-1} aos 34 dias de ensilagem.

Já para o gênero *Listeria sp.*, o efeito foi linear para tempo de ensilagem ($p = 0,0058$), sendo o maior ponto de crescimento no material *in natura*.

Para enterobactérias (ENT) ocorreu um efeito quadrático para ensilagem ($p = 0,001$), sendo que o crescimento foi somente nas aberturas um e três, e na silagem *in natura*, com ponto de máxima em 7,84 UFC g^{-1} no dia de confecção da ensilagem.

Tabela 5 – Avaliação microbiológica da silagem de soja com diferentes níveis de inclusão de milho moído (0%, 6%, 12% e 18%) em diferentes tempos de armazenamento

Parcelas	Variáveis				
	CLOS (log UFC g ⁻¹)	AM (log UFC g ⁻¹)	BAL (log UFC g ⁻¹)	LIST (log UFC g ⁻¹)	ENT (log UFC g ⁻¹)
Tempo de ensilagem (ENS)					
0	5,48	8,48	8,37	8,48	8,48
1	7,48	6,21	7,29	1,19	7,36
3	7,48	8,48	7,48	1,26	5,16
7	7,48	8,45	7,48	3,84	0,00
15	6,48	8,48	8,48	1,73	0,00
30	6,48	8,26	8,14	2,69	0,00
60	6,48	7,12	7,24	6,27	0,00
90	6,48	5,87	7,48	5,22	0,00
Níveis de inclusão de milho moído (IMM)					
0%	6,73	7,76	7,73	4,41	2,93
6%	6,73	7,59	7,81	3,60	2,82
12%	6,73	7,77	7,70	3,40	2,79
18%	6,73	7,55	7,74	3,92	1,95
EPM	0,059	0,1195	0,0450	0,2889	0,3242
ENS	0,004 ^L	<0,001 ^Q	0,030 ^Q	0,0058 ^L	<0,001 ^Q
IMM	NA	0,9160	0,7940	0,2530	0,5740
ENS*IMM	NA	0,9630	0,1280	0,8820	<0,001

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R². Quando o L foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi linear; e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído; CLOS: *Clostridium spp.*; AM: aeróbios mesófilos; BAL: bactérias lácticas; LIST: *Listeria sp.*; ENT: enterobactérias.

Fonte: autoria própria (2023).

A população de *Clostridium spp.* apresentou efeito linear tempo de ensilagem (Tabela 6). Para enterobactérias (ENT), verificou-se efeito linear para inclusão de milho ao longo do tempo de armazenamento.

O gênero *Aspergillus spp.* (Tabela 7) apresentou efeito significativo (p=0,013) para a interação de tempo de ensilagem e a inclusão do milho moído. Nas interações, foi possível identificar que o ponto de máxima da silagem com 12% de inclusão de milho moído foi de 2,76 UFC g⁻¹ aos 46 dias de armazenamento.

Com relação ao *Penicillium spp.*, observou-se efeito linear crescente para o tempo de ensilagem, sendo que, quanto maior o tempo de armazenamento, maior a detecção de sua presença na silagem (p=0,001). Para *Rhizopus spp.*, evidencia-se efeito quadrático (P<0,001) para os tempos de ensilagem, com ponto de mínima para a silagem *in natura* de 0 UFC g⁻¹ aos 90 dias de ensilagem. Para a inclusão de 18% de milho moído, o ponto de mínima (0,75 UFC g⁻¹)

foi após 60 dias de ensilagem. A levedura apresentou efeito linear crescente ($p = 0,033$) conforme a adição de milho moído.

Tabela 6 – Desdobramento das interações da microbiológica da silagem de soja, sem inclusão de milho (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de armazenamento

Enterobactéria					
IMM	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	8,48	8,48	8,48	8,48	-
1	7,72	7,41	7,17	7,12	0,0643
3	7,26	6,68	6,70	0,00	<0,001 ^Q
7	0,00	0,00	0,00	0,00	-
15	0,00	0,00	0,00	0,00	-
30	0,00	0,00	0,00	0,00	-
60	0,00	0,00	0,00	0,00	-
90	0,00	0,00	0,00	0,00	-
P-valor*	<0,001 ^L	<0,001 ^L	<0,001 ^L	<0,001 ^L	

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R^2 . Quando o L foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi linear; e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído.

Fonte: autoria própria (2023).

Tabela 7 – Ocorrência de fungos (log UFC g-1) em silagem de soja, sem inclusão de milho (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de armazenamento

Parcelas	Variáveis						
	ASP	CLAD	BISP	PENI	RHIZ	GEOT	LEV
Tempo de ensilagem (ENS)							
0	0,69	0,19	1,12	0,00	4,12	0,19	-
30	1,50	0,56	0,56	0,00	0,94	0,00	-
60	1,16	0,77	0,38	0,75	0,75	0,00	-
90	0,48	0,56	0,38	0,96	0,38	0,00	-
Níveis de inclusão de milho (IMM)							
0%	1,29	0,56	0,75	0,56	1,06	0,19	4,95
6%	0,93	0,19	0,38	0,38	1,52	0,00	4,27
12%	1,20	0,94	1,04	0,58	1,49	0,00	5,48
18%	0,41	0,39	0,27	0,19	2,10	0,00	5,48
EPM	0,1954	0,1440	0,1611	0,1329	0,2355	0,0469	0,0755
ENS	0,5729	0,305	0,0918	0,0017 ^L	<0,001 ^Q	0,3181	-
P-valor* IMM	0,1764	0,8515	0,5922	0,7023	0,1440	0,3181	0,033 ^L
ENS*IMM	0,0133	0,1050	0,4110	0,4228	0,0133	0,4530	-

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R^2 . Quando o L foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi linear; e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído; ASP: *Aspergillus spp.*; CLAD: *Cladosporium spp.*; BISP: *Bispora*; PENI: *Penicillium spp.*; GEOT: *Geotrichum spp.*; LEV: Leveduras.

Fonte: autoria própria (2023).

O gênero de fungos *Aspergillus spp.* apresentaram efeito significativo ($p=0,013$) para a interação de tempo de ensilagem e a inclusão do milho moído. Desse modo, ficou evidente que, com aumento nos níveis de inclusão, assim como dos tempos de ensilagem, a população de *Aspergillus spp.* diminuiu. O ponto de máxima da silagem com 12% de inclusão de milho moído foi de 2,54 UFC g⁻¹, aos 30 dias de armazenamento (Tabela 8).

Tabela 8 – Desdobramento das interações microbiológica da silagem de soja, sem inclusão de milho (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de armazenamento

<i>Aspergillus spp.</i>					
IMM	0%	6%	12%	18%	P-valor*
Tempo de ensilagem (ENS)					
0	0,00	2,78	0,00	0,00	0,0610
30	1,76	0,96	2,54	0,75	0,6070
60	1,50	0,00	2,25	0,90	0,9301
90	1,91	0,00	0,00	0,00	0,0450 ^L
P-valor*	0,1703	0,0081 ^L	0,0008 ^Q	0,1711	
<i>Rhizopus spp.</i>					
IMM	0%	6%	12%	18%	P-valor*
Tempo de ensilagem (ENS)					
0	4,26	3,08	4,47	4,66	0,0154 ^Q
30	0,00	2,25	0,00	1,50	0,5030
60	0,00	0,75	1,50	0,75	0,2790
90	0,00	0,00	0,00	1,50	0,0443 ^L
P-valor*	<0,001 ^Q	0,0003 ^L	0,0042 ^L	0,0144 ^Q	

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R². Quando o L foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi linear; e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor, a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído.

Fonte: autoria própria (2023).

4 DISCUSSÃO

A conservação da silagem ocorre quando possuímos baixa concentração de bactérias indesejáveis, sendo essas inibidas pelo teor do pH, como, por exemplo, o *Clostridium* spp., conhecido por produzir ácido butírico e decompor a silagem (Gonçalves, 2014).

No presente estudo foi possível observar a influência da adição de milho moído na redução do pH da silagem de soja durante o período de ensilagem, ocorrendo efeito linear decrescente ($p=0,017$), com rápida estabilização do pH nos primeiros dias de ensilagem, variando entre 4,72 e 5,07.

Para que ocorra rápida estabilização do pH é necessário que o material contenha quantidade de açúcares prontamente disponíveis presentes no material ensilado. Com concentração de carboidratos solúveis adequada, as condições se tornam mais favoráveis para o estabelecimento e crescimento de bactérias do gênero *Lactobacillus*, as quais produzem o ácido láctico, que é o desejado (Guim, 2002).

Houve interação ($p<0,001$) para o tempo de armazenamento e a inclusão de milho moído sobre o pH, o que indica um melhor estado de conservação da silagem após o período de 50 dias para todos os níveis de inclusão de milho moído.

Após os três primeiros dias de ensilagem, o pH variou entre 4,7 e 5,07 da silagem com inclusão de milho moído, deve-se considerar que os valores de pH observados ainda não estão adequados para conservação da silagem, dispostos na faixa de 3,8 a 4,2, citada por McDonald (1981) como a ideal para uma boa conservação, indicando que para uma faixa de pH ideal da silagem de soja os níveis de inclusão devem ser maiores que 18%.

A inclusão do milho moído demonstrou ser eficaz na redução do pH para faixa próxima do ideal, em estudo realizado por Ghizzi (2020), com silagem de soja em diferentes estádios fenológicos, obteve resultado entre 5,3 e 5,8, valores mais próximos dos encontrados nesta pesquisa com a silagem sem inclusão de milho moído foi de 6,0 a 6,2 pH em todos os níveis de inclusão.

A temperatura da silagem é a medida da quantidade de calor produzida durante o período de ensilagem. Neste estudo a temperatura apresentou efeito quadrático para o tempo de ensilagem ($p<0,001$) com ponto de máxima estimado em 29 °C, aos 40 dias de armazenamento. Houve interação ($p<0,001$) para o tempo de armazenamento e a inclusão de milho moído sobre a temperatura.

Depois do processo fermentativo estabilizar, a temperatura deverá ser próxima a do ambiente. Temperaturas acima de 42 °C a 44 °C podem resultar em desnaturação das proteínas em

compostos nitrogenados, não proteicos e solúveis; processo conhecido como reação de Maillard, com consequente perda da qualidade do material ensilado (Van Soest, 1994). Não foram observadas temperaturas acima da temperatura ambiente durante a realização do estudo, mantendo uma variação de 25 ° a 31 °C, sendo que a temperatura ambiente estava em torno de 30 °C (Instituto Nacional de Meteorologia, 2022). A temperatura ambiente influencia todos os estágios da produção de silagem, desde a produção no campo até sua utilização (Bernardes *et al.*, 2018).

As perdas por gases e efluentes passaram por uma reação quando da inclusão de diferentes níveis de milho moído, visto que as perdas por gases estão mais associadas ao tipo de fermentação ocorrida durante a ensilagem.

Quando a fermentação é realizada predominantemente por bactérias homofermentativas, verifica-se redução nas perdas de MS. As maiores produções de gases estão associadas às bactérias gram-negativas e leveduras (Driehuis *et al.*, 2000). Sendo assim, a inclusão de milho moído garantiu redução nas perdas, promovendo um ambiente adequado para a produção de ácido láctico e inibindo crescimento de microrganismos deteriorantes.

O menor valor encontrado para recuperação de MS, em relação aos diferentes níveis de inclusão, foi observado na silagem com 18% de inclusão do milho moído. A RMS é determinada pela diferença entre a quantidade de MS presente no material ensilado e a quantidade de MS perdida durante o processo de ensilagem (Ferreira *et al.*, 2017).

A RMS é um dos principais indicadores da qualidade da silagem, com teor ideal de 90% ou mais. Segundo Jobim (2007), elevados valores de RMS indicam que as perdas totais da matéria seca foram menores, o que pode ser influenciado pela densidade e pela compactação do material, levando a uma aceleração da anaerobiose. A RMS pode ser definida como a quantidade de material ensilado que continua disponível para ser utilizado após a abertura do silo (Ferreira *et al.*, 2017).

Contudo, foi possível observar, no presente estudo, que a inclusão de milho moído na silagem de soja resultou em baixos teores de recuperação de MS, possivelmente devido a sua alta concentração de açúcares solúveis e baixa concentração de ácido láctico. O açúcar solúvel é rapidamente fermentado pelas bactérias heterofermentativas, resultando em uma queda no pH e consequente redução na produção de ácido láctico, o que pode acarretar menor estabilidade da silagem e maiores perdas de MS (Driehuis *et al.*, 2000).

A capacidade tampão da silagem é influenciada pela quantidade de ácido láctico presente na silagem e pelo pH dela. O ácido láctico produzido pelas bactérias lácticas durante o processo de fermentação colabora para a manutenção do pH da silagem em um nível adequado

de conservação da forragem (3,8 a 4,2); comportamento não identificado neste trabalho, uma vez que a capacidade tampão da silagem de soja se manteve alta mesmo em níveis mais elevados de inclusão. Isso indica que até 18% de inclusão de milho moído na silagem de soja não se mostrou eficiente na redução da capacidade tampão dela. Esse elevado teor da capacidade tampão da silagem de soja, mesmo com diferentes níveis de inclusão de milho, pode ter influenciado a manutenção do pH na faixa ideal supracitada.

Segundo McDonald *et al.* (1991), elevados níveis de PB no produto ensilado elevam a chance de proteólise e desencarceramento de compostos básicos a partir da descarboxilação dos aminoácidos, colaborando para o aumento significativo da capacidade tampão da silagem de leguminosas.

A quantidade de proteína presente no material ensilado influencia o teor de N-NH₃, que também passa por influência do pH. A presença do N-NH₃ é importante para a conservação do material ensilado, auxiliando no controle das leveduras (Siqueira *et al.*, 2007).

Segundo McDonald *et al.* (1991), a recomendação do teor máximo aconselhado de N-NH₃ é de 10% do teor de nitrogênio, para que ocorra uma boa conservação da forragem. No presente estudo, foram observados teores entre 3,17% e 3,90% com redução progressiva em função dos níveis de inclusão de milho moído; valores acima desse limite podem indicar que a proteína da silagem foi degradada em excesso e que houve perdas significativas de nutrientes.

Durante o processo de ensilagem, ocorre uma sucessão de diferentes grupos de microrganismos responsáveis pela fermentação do material ensilado. Esses podem ser aeróbicos e anaeróbicos; os aeróbicos são os microrganismos desejáveis sendo as principais as BAL, grupo responsável pela conservação da forragem, formada pelos gêneros *Bacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* e *Streptococcus*, e os não desejados são *Clostridium* e *Fusobacterium* (Pahlow *et al.*, 2003).

Foi observado que a inclusão de milho na silagem de soja resultou em uma diminuição da população de *Clostridium spp.* ($p < 0,001$), devido o grão ser rico em açúcares solúveis rapidamente fermentados pelas BAL, acarretando uma diminuição do pH da silagem, capaz de reduzir a população de *Clostridium spp.*, pois seu crescimento se dá em pH maior a 4,5 e inibindo assim o crescimento de bactérias indesejáveis, como a citada acima (Driehus *et al.*, 2018).

O mesmo comportamento foi apresentado para população de aeróbios mesófilos ($p < 0,001$) com menor presença aos 90 dias de ensilagem e ponto de máxima de 8,21 UFC g⁻¹ no 24° dia. Os aeróbios mesófilos são avaliados principalmente antes do processo de ensilagem, pois requerem a presença de oxigênio. Dessa forma, o desenvolvimento é inibido durante a fermentação (Pahlow *et al.* 2003).

Inicialmente, as bactérias aeróbias são predominantes e consomem o oxigênio presente no material ensilado. Em seguida, as bactérias facultativas começam a se proliferar e produzem ácido láctico, levando a uma diminuição do pH da silagem. Comportamento observado para as BAL, com aumento significativo ao longo do período de ensilagem. Segundo McDonald *et al.* (1991), a concentração de BAL de $8,0 \log \text{ UFC g}^{-1}$ é propícia para reduzir o pH de forma rápida e proporcionar uma boa conservação da silagem.

As BAL são responsáveis pela produção de ácido láctico, essencial para a conservação da silagem. Entretanto, para que isso ocorra, elas precisam se sobressair durante a competição com a população epífita da silagem, sendo esta população dominante no ambiente (Toledo Filho, 2010).

A interação entre o tempo de ensilagem e os níveis de inclusão demonstrou que a inclusão de 18% de milho moído favoreceu mais o aporte de substrato energético da silagem de soja para os microrganismos, favorecendo o processo de fermentação da silagem, o qual, por sua vez, favoreceu a redução dos compostos fibrosos da silagem ao longo do tempo de armazenamento.

Para silagens de leguminosas com alto teor de PB, a inclusão de milho fornece açúcar solúvel prontamente disponível para as bactérias. Estas, por sua vez, realizam a metabolização de carboidratos que são rapidamente fermentáveis, resultando no processo metabólico de produção de ácido láctico, que faz com que ocorra a queda do pH (Macêdo *et al.*, 2017).

Por outro lado, os microrganismos indesejáveis, como *Clostridium spp.*, *Streptococcus spp.*, disputam com outros microrganismos por substrato e são capazes de metabolizar os carboidratos solúveis. Com isso, gera uma substância que reduz a qualidade da silagem, como, por exemplo, o ácido acético, o ácido butírico e o álcool, além de degradar proteínas (McDonald *et al.*, 1991).

Segundo Cardoso e Carvalho (2006), a *Listeria spp.* é um microrganismo patogênico que ocorre por meio da contaminação de equipamentos usados no corte da forragem, manipuladores do material ensilado, roedores ou contaminação cruzada com outro alimento. Os animais podem ser contaminados a partir da ingestão de um alimento contaminado (Fenlon, 1998). Sua presença pode causar doenças nos ruminantes, a qual pode ser observada de três formas: septicêmica que ocorrem em animais jovens; aborto; e neurológica (Mahler *et al.*, 2017). A presença de *Listeria spp.* em todos os tempos de abertura dos minisilos, realizadas durante esse trabalho, indica contaminação da silagem por esse microrganismo em particular. O maior ponto de crescimento foi no material *in natura* por ser o período que não passa por processo de fermentação.

Segundo Muck *et al.* (1991) e Ruiz e Munar (1992), a evolução de fungos e leveduras está relacionado à degradação aeróbia do material ensilado, visto que as leveduras têm capacidade de transformar o açúcar em álcool. Tais microrganismos apresentam resistência com a mudança de pH e sobrevivem em meio anaeróbio. Além disso, esses microrganismos podem competir com as BAL pela disponibilidade de açúcares solúveis no material ensilado, o que pode levar a uma diminuição na produção de ácido lático e a um aumento no pH da silagem (Ruiz & Munar, 1992).

O gênero de fungos *Aspergillus spp.* apresentou efeito significativo ($p=0,013$) para a interação de tempo de ensilagem e a inclusão do milho moído, que evidenciou que, com o aumento nos níveis de inclusão de milho e dos tempos de ensilagem, a população de *Aspergillus spp.* diminuiu.

A temperatura ideal para os fungos se proliferar está entre 22 °C e 30 °C com presença de umidade acima de 20% e presença de oxigênio (Muck & Shinnors, 2001). A relação do aparecimento dos fungos na silagem está associada a uma má compactação e má vedação, deixando presença de ar no silo. Isso pode ocorrer por tamanho de corte da partícula e valor da MS do material ensilado (Muck & Shinnors, 2001; Pereira & Reis, 2001).

Quando há presença de oxigênio na silagem, podem ser encontrados os fungos dos gêneros *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.*, acarretando a formação de toxinas que provocam danos quando fornecido aos ruminantes. Foi identificada, neste estudo, a presença de *Penicillium spp.* cujo crescimento ocorreu com 60 e 90 dias de abertura (Mahanna, 1994).

A aflatoxina é produzida pelo fungo *Aspergillus spp.* que, quando consumida pelo ruminante, é capaz de se converter no rúmen e ser transformada no fígado B1 para M1, podendo ser eliminada como forma de urina e leite (Fink-Gremmels, 2005).

Segundo McDonald *et al.* (1991), as leveduras com valor acima de 5 log UFC/g na matéria natural estão ligadas com a rápida deterioração anaeróbia. As leveduras têm função de deterioração da silagem durante o descarregamento nos silos e má vedação (McDONALD, 1981).

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a inclusão de até 18% de milho moído na silagem de soja melhora os parâmetros fermentativos, sendo uma estratégia viável para a produção de silagem de soja de alta qualidade. Entretanto, em estudos posteriores, faz-se necessário o teste com níveis de inclusão mais elevados para uma conservação ideal do material ensilado.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A.P.; QUADROS, D.G.; BEZERRA, A.R.G. et al. **Qualitative aspects of elephantgrass silage with corn meal and soybean hulls**. Semina: Ciências Agrárias, v. 33, n. 3, p. 1209-1218, 2012.
- ANDRADE, J.B.; LAVEZZO, W. **Aditivos na ensilagem do capim-elefante. I. Composição bromatológica das forragens e das respectivas silagens**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 33, n. 11, p. 1859-1872, 1998.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - **AOAC Official methods of analysis**. 16. ed., Arlington: AOAC International, 1990. 1025p.
- BERNARDES, T. F.; DANIEL, J. L. P.; ADESOGAN, A. T., et al. Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. Journal of dairy science, v. 101, n. 5, p. 4001-4019, 2018.
- BRACKETT, R.E. & SPLITTSTOESSER, D.F. Fruits and vegetables. In: VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium for the Microbiological Examination of Foods**. 3 rd ed. Washington DC: American Public Health Association, 1992. p. 919-927.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. **Modified reagents for determination of urea and ammonia**. Clinical chemistry, v.8, n.2, p.130-132, 1962.
- CHERNEY, J.H.; CHERNEY, D.J.R. **Assessing silage quality**. Silage science and technology, v. 42, p. 141-198, 2003.
- COFFEY, K. P.; GRANADE, P. G. V., MOYER, J. L. **Nutrient content of silage made from whole-plant soybeans**. The Professional Animal Scientist, v. 11, p. 74-80, 1995.
- CORRÊA, A.A.; BACKES, A.A.; FAGUNDES, J.L et al. **Caracterização da silagem da rama da batata doce emurhecida e adicionada de fubá de milho como aditivo**. Boletim de Indústria Animal, 2016.
- DEMINICIS, B.B.; ARAÚJO, R.P.; ROCHA, N.S. et al. **Efeitos de diferentes aditivos sobre a composição bromatológica e pH de silagens de capim elefante**. PUBVET, v. 8, p. 1551- 1697, 2014.
- DRIEHUIS, F.; ELFERINK, S.J. W.H.O; VAN WIKSELAAR, P.G. **Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with Lactobacillus buchneri, with or without homofermentative lactic acid bacteria**. Grass and Forage Science, v. 56, p. 330-343, 2000.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J.K. et al. **Colorimetric method for determination of sugars and related substances**. Analytical chemistry, v.28, n.3, p.350-356, 1956.
- FELIX, E.P.; CARDOSO, A.A. **Revisão: Amônia (NH₃) atmosférica: fontes, transformação, sorvedouros e métodos de análise**. Química Nova, v.27, n.1, p.123-130, 2004.

- FENLON, DR; HENDERSON, A.R ROOKE, J.A. The fermentative preservation of grasses and forage crops. **Journal of Applied Bacteriology**, v.19, supp., p.118-131, 1995.
- FERREIRA, J.P.; ANDREOTTI, M.; PASCOALOTO, I.M. et al. **Losses in production of maize silage with tropical forages**. Revista agropecuária técnica, v.38, n.3, p.133-141, 2017.
- FERREIRA, J.P.; ANDREOTTI, M.; PASCOALOTO, I.M. et al. Losses in production of maize silage with tropical forages. **Revista Agropecuária Técnica**, v.38, n.3, p.133-141, 2017.
- FINK-GREMMELS J. **Mycotoxins in forages**. In: **The Mycotoxin Blue Book**. Nottingham, UK: Nottinham University Press; p. 249–268,. 2005
- GANDRA, J. R. et al. Soybean whole-plant ensiled with chitosan and lactic acid bacteria: Microorganism counts, fermentative profile, and total losses. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 9, p. 7871–7880, 2018.
- GHIZZI L.G. **Produção de silagem de planta inteira de soja e sua utilização na alimentação de vacas leiteiras** . São Paulo. 2020.
- GOBETTI, S. T. C. et al. Produção e utilização da silagem de planta inteira de soja (Glicine max) para ruminantes. **Revista Ambiência**, v. 7, n. 3, p. 603–616, 2011.
- GONÇALVES, J.A.G.; ZAMBOM, M.A.; FERNANDES, T. et al. **Composição químicobromatológica e perfil de fermentação da silagem de resíduo úmido de fécula de mandioca**. **Bioscience Journal**, v.30, n.2, 2014.
- JOBIM, C.C.; BRANCO, A.F. GAI, V.M. et al. **Qualidade da silagem de grãos de milho com adição de soja crua e parâmetros de digestibilidade parcial e total em bovinos**. Revista Brasileira de Zootecnia, 2009.
- JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.A. et al. **Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, p. 101-119, 2007.
- LAZARO, C.Z. **Obtenção e Caracterização Filogenética de Consórcio de Bactérias Fototróficas Púrpuras Não-Sulfurosas Consumidoras de Ácidos Orgânicos Visando a Produção de Hidrogênio em Reator Anaerobio de Batelada**. Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de São Carlos, 2009.
- LIMA, J. A. de et al. *Soybean silage and sugarcane tops silage on lamb performance*. **Ciência Rural**, v. 44, p. 757, 2014.
- MACÊDO, A. J.; SANTOS, E. M.; OLIVEIRA, J. S.; PERAZZO, A. F. Microbiologia de silagens: Revisão de Literatura. REDVET. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 9, p. 1-11, 2017.
- MACEDO, J. A. **Características agronômicas de genótipos de palma e avaliação de silagem na forma de ração a base de palma forragem e capim-buffel**. Universidade Federal de Campina Grande. PB. 2018

- MAHANNA, B. *Proper management assures high-quality feeds. Feedstuffs*, v.10, p.12- 56, 1994.
- MARI, L.J. **Intervalo entre cortes em capim-marandu (*Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf cv. Marandu): produção, valor nutritivo e perdas associadas à fermentação da silagem.** 2003. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba
- MCDONALD, P. **The biochemistry of silage.** New York: John Wiley e Sons, 1981. 207p.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. *The biochemistry of silage. Chalcombe publications*, 1991.
- MELVIN, J.F. *Variations in the carbohydrate content of luzerne and the effect on ensilage.* Australian. *Journal of Agricultural Research*, v. 16, n. 6, p. 951-959, 1965.
- MUCK, R. E.; SHINNERS, K. J. *Conserved forages (silage and hay): Progress and priorities.* In: *INTERNACIONAL GRASSLAND CONGRESS, 29, 2001, São Pedro. Proceedings... Piracicaba: Brazilian Society of Animal Husbandry, 2001. p.753-762.*
- MUCK, R.E.; PITT, R. E.; LEIBENSPERGER, R. Y. *A model of aerobic fungal growth in silage. 1. Microbial characteristics.* *Grass and Forage Science*, v. 46, n. 3, p. 283-299, 1992.
- NKOSI, B. D. *et al. Effects of bacterial inoculation on the fermentation characteristics and aerobic stability of ensiled whole plant soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.).* *South African Journal of Animal Sciences*, v. 46, n. 2, p. 129–138, 2016.
- PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. *et al. Microbiology of ensiling.* *Silage Science and Technology*, v. 42, p. 31-93, 2003.
- PEREIRA, J. R. A.; REIS, R. A. **Produção de silagem pré-secada com forrageiras temperadas e tropicais.** In: *SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS*, Maringá, 2001. *Anais...* Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.64-86.
- PLAYNE, M. J.; McDONALD, P. *The buffering constituents of herbage and of silage.* *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 17, p. 264-268, 1966.
- R CORE TEAM (2022). *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- SANTANA, J. *et al.* Características fermentativas, composição química e fracionamento da proteína da silagem de gliricídia submetida a diferentes períodos de fermentação. **Boletim de Indústria Animal**, v. 76, n. 0 SE-FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 4 abr. 2019.
- SCHMIDT, P. **Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar.** 2006. 228p. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba.

- SILVA, J.M.N. **Desenvolvimento de microrganismos e valor nutritivo de silagens de capim-tifton 85**. 2002. 88f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 295p.
- SIQUEIRA, G. R.; REIS, R. A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. *et al.* Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 2000-2009, 2007.
- SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J. *et al.* A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 12, p. 3562-3577, 1992.
- TOLEDO FILHO, S. G. **Avaliação da dinâmica da população de microrganismos em plantas de cana-de-açúcar IAC (93-3046)**. 2010. 96f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- WEINBERG, Z.G.; MUCK, R.E. *New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage*. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 53-68. 1996.

AValiação Nutricional de Silagem de Soja com Níveis de Inclusão de Milho Moído em Diferentes Tempos de Ensilagem

Resumo: Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da adição de milho moído à silagem de soja na composição bromatológica da silagem e na digestibilidade *in vitro*. Foram utilizados quatro tratamentos com diferentes níveis de milho moído (0%, 6%, 12% e 18%), com base na matéria seca. As silagens foram confeccionadas em silos experimentais de PVC e armazenadas por 90 dias, sendo realizadas aberturas nos dias (0 *in natura*), 1, 3, 7, 15, 30, 60 e 90. Após a abertura dos silos, foram coletadas amostras para análise da composição química (matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, fracionamento de carboidratos), digestibilidade *in vitro* da matéria seca, da matéria orgânica, da proteína bruta e da fibra em detergente neutro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em parcelas subdivididas no tempo. Quando houve interação entre os fatores, os efeitos foram analisados por meio de polinômios ortogonais. Um resultado foi considerado significativo quando o valor de p foi menor ou igual a 0,05. Os resultados mostraram que a inclusão do milho moído aumentou linearmente o teor de matéria seca das silagens; o valor de proteína bruta apresentou um efeito linear decrescente para a inclusão do milho; o extrato etéreo apresentou efeito quadrático para o tempo de ensilagem; para a fibra em detergente neutro houve interação entre época de ensilagem e níveis de inclusão de milho moído; a digestibilidade aparente expressa em matéria seca apresentou efeito quadrático ($<0,001$) para época de ensilagem. Conclui-se que a inclusão de milho moído na silagem de soja melhora os parâmetros fermentativos e a composição bromatológica da silagem, podendo ser uma alternativa viável para aumentar o valor nutricional da forragem conservada.

Palavras-Chave: Composição bromatológica, digestibilidade, Silagem de leguminosa, qualidade do alimento.

NUTRITIONAL EVALUATION OF SOYBEAN SILAGE WITH INCLUSION LEVELS OF GROUND CORN AT DIFFERENT ENILAGE TIMES

Abstract: This study aimed to evaluate the effects of adding ground corn to soybean silage on the fermentative parameters and bromatological composition of the silage. Based on dry matter, four treatments were used with different levels of ground corn (0%, 6%, 12%, and 18%). Silages were made in mini experimental PVC silos and stored for 90 days, and openings were performed on day 1, 3, 7, 15, 30, 60 and 90. After opening the silos, samples were collected for analysis of fermentation parameters (pH, ammoniacal nitrogen, organic acids) and bromatological composition (dry matter, crude protein, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, in vitro digestibility of dry matter). The experimental design was completely randomized, with four replications, in split plots in time. When there was interaction between factors, the effects were analyzed using orthogonal polynomials. A result was considered significant when the p-value was less than or equal to 0.05. Results showed that including ground corn linearly increased the dry matter content of the silages, reduced the pH and ammoniacal nitrogen, increased the lactic acid and acetic acid contents, and improved the in vitro dry matter digestibility. Ground corn also linearly increased the crude protein and neutral detergent fiber contents of the silages but reduced the acid detergent fiber contents. It is concluded that including ground corn in soybean silage improves the fermentative parameters, and the bromatological composition of the silage. It may be a viable alternative to increase the nutritional value of preserved forage.

Keywords: Bromatological composition, digestibility, leguminous silage, food quality.

1 INTRODUÇÃO

A soja é uma leguminosa com alto teor de PB, com baixo teor de carboidratos solúveis e de MS, o que leva à maior capacidade tampão da planta, resultando em menor poder de fermentação em relação às gramíneas (Evangelista *et al.*, 1991). A cultura da soja (*Glycine max*) é capaz de reduzir os gases do efeito estufa, pois o cultivo é capaz de aumentar o sequestro de carbono e a fixação de nitrogênio no solo (Stagnari *et al.*, 2017).

A silagem da soja vem sendo pesquisada por vários autores (Granda *et al.*, 2018; Rosa *et al.*, 2018; Ghizz, 2020) e vem mostrando que o perfil fermentativo e a composição bromatológica são favoráveis para a utilização na alimentação dos ruminantes (Vargas-Belo-Pérez *et al.*, 2008).

Durante o ano podem ocorrer variações de clima no Brasil conforme a época e a região, dificultando a disponibilidade de volumoso na forma de pastejo, sendo que no verão a biodisponibilidade é maior e no inverno baixa. Pensado nisso como alternativa, pode-se realizar a suplementação por meio da ensilagem de soja, que pode ser consorciada entre linhas ou culturas, pensando em aumentar a disponibilidade (Evangelista *et al.*, 2003).

O uso dos aditivos na ensilagem é recomendado principalmente quando as características do material a ser ensilado não são ideais exemplo baixo teor de fermentação (Lima Júnior *et al.*, 2014). Usar mais de um aditivo ajuda no processo de fermentação, com o objetivo de minimizar as perdas da MS e o crescimento de bactérias indesejáveis e a decomposição depois do silo aberto, isso faz com que mantenha o valor nutricional da silagem (Yitbarek & Tamir, 2014; Oladosu *et al.*, 2016).

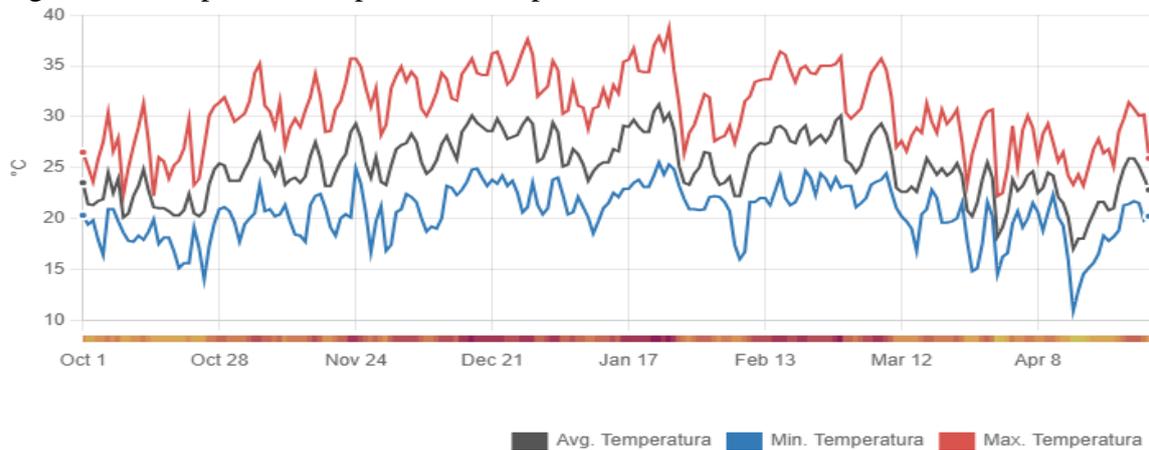
A hipótese deste trabalho é a de que o uso de milho moído na ensilagem de soja inteira melhore o processo fermentativo, resultando em silagem de melhor qualidade, em todos os períodos de armazenamento. O objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade nutricional da silagem da planta inteira de soja, com inclusões de 0%, 6%, 8% e 12% de milho moído em diferentes tempos de abertura, sendo 0 (*in natura*), 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local e condições climáticas

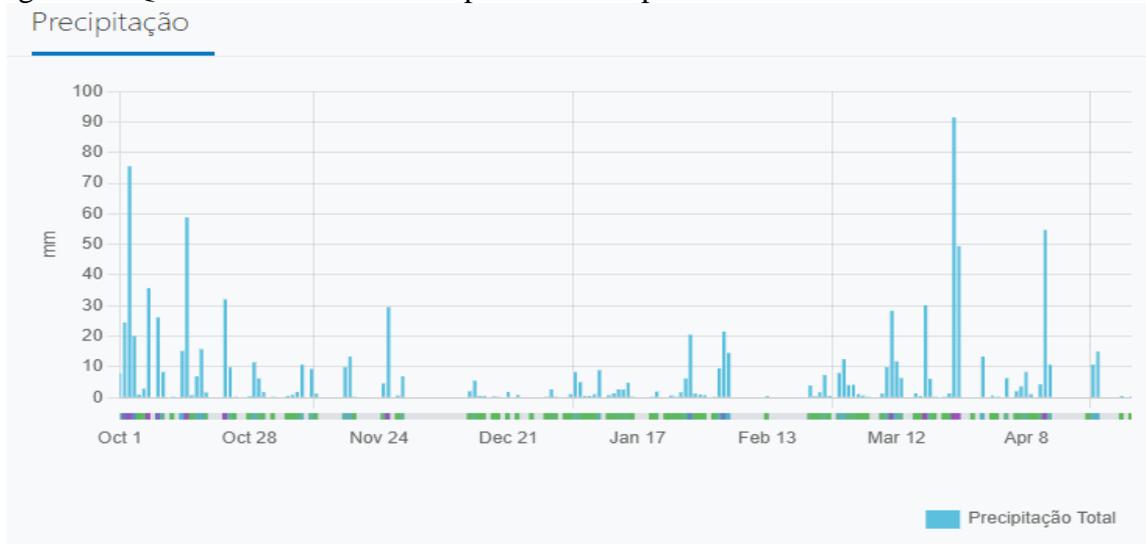
O experimento foi realizado na Estação Experimental Professor Antônio Carlos do Santos Pessoa, localizada na linha Guará, e as análises foram realizadas no Laboratório de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) e no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Marechal Cândido Rondon, no Paraná. O clima predominante é o Subtropical Úmido Mesotérmico (Cfa), com temperaturas médias entre 26 °C, no mês mais quente, e 12 °C no mais frio. Apresenta maior precipitação no mês de janeiro e período seco em julho (Maack, 1981).

Figura 7 – Temperatura no período do experimento de outubro 2021 a abril 2022



Fonte: <https://meteostat.net/pt/station/86916?t=2021-01-01/2021-01-31>.

Figura 8 – Quantidade de chuvas no período do experimento de outubro 2021 a abril 2022



Fonte: <https://meteostat.net/pt/station/86916?t=2021-01-01/2021-01-31>

2.1.1 Plantio, colheita e ensilagem da soja

A soja foi colhida em uma propriedade particular localizada na linha Havaí, no distrito de Iguaporã, no município de Marechal Cândido do Rondon/PR (localização geográfica — 24.547511, -54.232067). Foi plantada uma área de 4,5 ha da cultura de soja com híbrido BASF M5947 I PRO. O produtor realizou o plantio na segunda quinzena de outubro de 2021, sendo catorze sementes por metro quadrado com espaçamento de cinquenta centímetros entre linhas. O corte da planta inteira foi realizado em 30 de janeiro de 2022, com uma máquina colhedora de forragem JF-120. Após o corte, as plantas foram acondicionadas em sacos plásticos descartáveis para o transporte até o local da ensilagem.

O critério de corte foi segundo o estágio de desenvolvimento R6, que é quando o grão está verde ou vagem cheia, essa é a fase que o grão ocupa toda a cavidade da vagem, e inicia o rápido amarelamento das folhas, esse estágio apresenta uma maior produção de matéria seca por hectare quando comparada ao estágio R2 (Coffey *et al.* 1995).

Os silos foram confeccionados em cano de policloreto de vinila (PVC), com 10 cm de diâmetro e 40 cm de comprimento. Na parte superior dos silos foi adaptada uma válvula tipo Bunsen, visando à eliminação dos gases produzidos. O peso médio do material ensilado em cada silo experimental foi, em média, de 1,900kg, variando de 1,750kg a 2,050kg, com base na MS. Todos os silos foram lavados e, após a secagem, foram higienizados com álcool 70%, identificados com uma fita de acordo com o tratamento, sua abertura e repetição, e posteriormente pesados.

Na chegada, o material foi pesado, separado por tratamentos e homogeneizado. Posteriormente, foi armazenado em silos experimentais, de acordo com os tratamentos, sendo estes (com base na MS 27,59%): silagem de soja sem inclusão de milho moído; silagem de soja mais 6% de milho moído; silagem soja mais 12% de milho moído; silagem soja mais 18% milho moído. Esse milho foi moído em triturador forrageiro com peneira de 5 mm.

As avaliações das silagens foram realizadas no momento da ensilagem *in natura* e com 1, 3, 7, 15, 30, 60 e 90 dias de ensilagem. Desse modo, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com três inclusões de milho e *in natura*, oito tempos de armazenamento e quatro repetições, totalizando 112 silos experimentais.

Na ensilagem, foi utilizada uma camada de areia de 0,300 gramas, essa areia foi autoclavada e seca em estufa (65 °C por 12 horas), então colocada na parte inferior do silo, formando uma camada de 5 cm separada. Em cima dessa areia foi usado um tecido de algodão cortado

em círculo de 15 cm, este também foi autoclavado e seco em estufa, para escoamento de possíveis líquidos e para evitar contato entre a areia e a silagem.

A compactação foi realizada com o auxílio de um bastão de madeira e as tampas foram lacradas com fita adesiva. Os silos experimentais foram armazenados em temperatura ambiente sob proteção da luz solar e de chuvas até o momento da abertura.

Para auxiliar a remoção da silagem dos silos, foi utilizada uma corda fina de polipropileno de 2,5 mm com 1 metro de comprimento. Esta foi colocada na parte interna ao fundo do silo percorrendo todo o interior dele. A corda foi presa à borda do PVC com liga elástica, visando facilitar o processo de ensilagem do material e, posteriormente, as ligas elásticas foram removidas e as pontas da corda foram acondicionadas na parte interna superior do silo, sendo em seguida vedados.

Na abertura, os silos foram pesados e, em seguida, foi retirada uma camada de 5 centímetros do material ensilado e aferida a temperatura em °C, usando termômetro tipo espeto (IN-COTERM 6132). A silagem foi retirada com auxílio das cordas e de um bastão de madeira tracionando as mesmas, também foi descartada a porção final do silo. O material central foi homogeneizado e amostrado e, posteriormente, encaminhado para os laboratórios de Nutrição Animal e de Microbiologia.

2.1.2 Análises Bromatológicas

Para as análises bromatológicas, após a coleta de uma amostra homogênea pesou aproximadamente 300 g, em seguida foi levada para estufa de ventilação de ar forçada com a temperatura de 55 °C por 72 horas e a cada 12 horas era realizada a homogeneização dessa amostra. Após esse período, aguardou-se cerca de uma hora para realizar a pesagem novamente. Em seguida as amostras foram moídas no moinho de facas tipo Willey (STAR FT 60, FORTINOX), com peneira de crivos de 1mm para posterior análises.

As análises foram realizadas de acordo com a metodologia da *Association of Official Analytical Chemists* — AOAC (1990). Para o teor de MS (método 934.01) e cinzas (método 938.08). A MO foi calculada a partir da subtração do teor de cinzas ou seja: $MO = 100 - \% \text{ Cinzas}$; extrato etéreo (EE) (método 920.85) proteína bruta (PB) (método 981.10) foram determinados os teores pela metodologia da AOAC (1990). As análises de fibra em detergente neutro (FDN; método INCT-CA F-002/1) foram feitas utilizando α -amilase termoestável, de acordo com Mertens (2002). A hemicelulose foi realizada calculando a diferença do FDN pelo FDA.

E a celulose foi calculada a partir da diferença entre o teor de FDA e de lignina. O método da hidrólise ácida (Van Soest & Wine, 1968) foi utilizado para análise de lignina.

2.1.3 Digestibilidade *In Vitro* (DIV)

Para realizar a análise de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), foi usada a metodologia Tilley e Terry (1963), adaptada por Holden *et al.* (1999). Foi realizado o preparo dos saquinhos de TNT, pesado 0,250g de amostra seca e moída a 1 mm. Para simular o ambiente ruminal, utilizou-se incubadora *in vitro* (TE-150, TECNAL) com temperatura de 39 °C e rotação constante.

Essa avaliação foi conduzida de acordo com as normas da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Unioeste, e a canulação dos animais foi realizada de acordo com o protocolo n° 06411 (CEUA/UNIOESTE).

Para coleta de líquido ruminal foi preparada uma garrafa térmica com água quente para manter aquecida, posteriormente foram coletados dois litros de líquido ruminal de uma novilha da raça holandesa com presença de uma cânula ruminal. Esse líquido foi retirado com a ajuda que uma sonda, com uma bombinha de pressão, que era acondicionada na garrafa térmica aquecida, utilizou-se CO₂ para manter o ambiente anaeróbico. O líquido foi encaminhado para laboratório para continuar o processo. Na chegada, esse líquido foi homogeneizado em um liquidificador por trinta segundos, em seguida, e filtrado em tecido de algodão e adicionados 400 mL em cada um dos jarros. Todos os processos foram constantemente com adição de CO₂.

Foram preparadas soluções (A e B) para acrescentar ao líquido. Essas soluções foram preparadas em becker pré-aquecidos a 39 °C e depois foram adicionados 266 mL da solução B para 1600 mL da solução A (pH de 6,8). Dessa mistura adicionou-se 1600 mL junto ao líquido ruminal no jarro. Logo após, adicionou-se os filtros de TNT contendo a amostra no jarro. Foram incubados 22 filtros com amostra e dois filtros brancos por jarro, sendo mantido em ambiente anaeróbico por 48 horas a temperatura de 39 °C.

Após as 48 horas foram adicionados 8g de pepsina e 40mL de HCL₆N em cada um dos jarros, mantendo-os por mais 24 horas a 39 °C. Após esse período, foram abertos os jarros, retirados os filtros, lavados com água destilada até sair a água límpida e secos em estufa a 105 °C por 12 horas. Posteriormente, foi realizada a pesagem para determinar a MS residual e a DIVMS foi calculada pela diferença entre a quantidade incubada e o resíduo após a incubação:

$$DIVMS = \frac{(MS \text{ do alimento Inicial} - MS \text{ do alimento Residual})}{MS \text{ do alimento Inicial}} \times 100$$

Foi realizada a digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), após repetir o processo da digestibilidade da matéria seca, dado pela queima do resíduo do material que foi incubado em mufla (EDGCON 3P) e o resultado foi dado pelo cálculo da diferença entre a quantidade incubada e o resíduo após a incubação:

$$DIVMO = \frac{(MO \text{ do alimento Inicial} - MO \text{ do alimento Residual})}{MO \text{ do alimento Inicial}} \times 100$$

Foi realizada a digestibilidade *in vitro* da proteína bruta (DIVPB) e repetido o processo descrito após a 72 horas de incubação, secos em estufa a 105 °C por 12 horas. Pesaram-se os filtros e retiraram o resíduo para realizar a digestão. Realizou-se o processo de destilar e titular como descrito na proteína bruta para chegar no resultado do nitrogênio da amostra. Para chegar ao resultado da DIVPB, calculou-se a diferença entre a PB do alimento incubado e o resíduo após a determinação da PB do material incubado:

$$DIVPB = \frac{(PB \text{ do alimento Inicial} - PB \text{ do alimento Residual})}{PB \text{ do alimento Inicial}} \times 100$$

Para a determinação da digestibilidade *in vitro* da parede celular (DIVFDN), por meio da técnica de Goering e Van Soest (1975), foi realizado o processo anterior, as amostras foram incubadas por 48 horas a uma temperatura de 39 °C e não se utilizou a pepsina. Após retirar da incubação e realizar a lavagem, foi realizada a extração em detergente neutro usando a análise de FDN. Calculou-se a DIV/FND pela diferença entre o FDN do alimento antes e após a incubação.

$$DIVFDN = \frac{(FDN \text{ do alimento Inicial} - FDN \text{ do alimento Residual})}{FDN \text{ do alimento Inicial}} \times 100$$

2.1.4 Carboidratos Solúveis, Carboidratos Não Fibrosos, Carboidratos Totais, Fracionamento de Carboidratos

Para a realização dos carboidratos solúveis (CHO's) foi utilizada a metodologia de Dubois *et al.* (1956), a qual utiliza solução glicose 1% como padrão, foi realizado uma curva de absorvância 0ml; 0,02ml; 0,04ml; 0,08ml; 0,10ml, na leitura no espectrofotômetro (UV-1800,

SHIMADZU) a 490 nm. Anteriormente foram pesados 200 mg de amostra seca e moída em peneira 1 mm, colocada em um frasco Erlenmeyer de 250ml e adicionados 200ml de água destilada. Foi levemente homogeneizado e levado para incubadora com mesa de agitação orbital (MA420/E, MARCONI) à 200 rpm em temperatura ambiente durante uma hora, para a solubilização dos açúcares. Em seguida foi realizada a filtragem em papel-filtro quantitativo (640M, MACHEREY-NAGEL) de filtragem rápida, e depois guardada uma amostra de 50 mL desse líquido.

Para o procedimento de leitura das amostras, foi colocada uma alíquota de 0,5 mL da solução filtrada em tubo de ensaio, acrescentaram 0,5 ml de fenol 5% e 2,5 ml de ácido sulfúrico. Após esse procedimento, era levado para banho-maria a 30°C por 30 minutos. Em seguida, era transferido para um banho com água e gelo por 10 minutos. Já resfriado, foram realizadas a homogeneização e a leitura no espectrofotômetro. Todas as amostras foram realizadas em triplicatas com o objetivo de reduzir erros.

Foram calculados os carboidratos totais (CT) usando a fórmula segundo Sniffen *et al.* (1992):

$$\%CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$$

Para o cálculo dos carboidratos não fibrosos (CNF) foi utilizada a seguinte equação:

$$\%CNF = \%CT - \%FDN$$

Com base em Sniffen *et al.* (1992), foi usado o cálculo para realização das frações dos carboidratos frações A+B1 (rapidamente degradável), fração B2 (carboidratos fibrosos potencialmente degradáveis) e a fração C (carboidratos fibrosos não degradáveis) por meio das equações:

$$Fração C = \frac{(100 \times FDA(\%MS) \times 0,01 \times Lignina(\%FDN) \times 2,4)}{CHO'T (\%MS)}$$

2.1.5 Amido

A análise de amido foi realizada pelo método tampão acetato (modificado por Hall, 2009). Após a secagem da amostra em estufa, esta foi moída no moinho bola. Em seguida, foi feita a pesagem das amostras em frascos identificados e, para realizar a curva, foi pesado o amido e adicionados 15ml de solução tampão de acetano (0,1 M), em seguida, foram adicionados 50ul de α -amilase e misturado no vórtex. Incubou-se essa mistura por uma hora a 100°C e homogeneizou-a nos tempos 10, 30, 50 minutos. Depois, foi deixado esfriar por 30 minutos e adicionados 0,1 ml de solução amiloglicosidase, incubou-se novamente por duas horas a 100°C

e após uma hora foi homogeneizado no vórtex, transferido para microtubos, homogeneizado e realizada a leitura usando o kit comercial.

2.1.6 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o *software* R Core Team (2022, versão 4.2.0), pacote *agricolae*. Os dados com distribuição não gaussiana foram transformados por meio da função *boxcox* do pacote *MASS* para avaliação de forma correta. Foi utilizado o modelo oav (RESPOSTA~FATOR1*FATOR2, data=dados) para observar as possíveis interações entre os fatores. Quando não houve interação entre os fatores, os efeitos foram analisados por meio de regressão linear ou quadrática de forma isolada.

Quando houve interação entre os fatores, os efeitos foram analisados por meio de polinômios ortogonais. As equações de regressão foram determinadas a partir dos coeficientes apresentados pelo comando *summary* utilizando os modelos l m (RESPOSTA~FATOR1, data=dados) e l m (RESPOSTA~FATOR2, data=dados) para os respectivos fatores; e o R^2 foi utilizado para determinar qual regressão, linear ou quadrática, representa melhor os resultados das respostas. Foi considerado resultado significativo quando o p-valor foi menor ou igual a 0,05.

3 RESULTADOS

A silagem de soja apresentou efeito quadrático para a inclusão de milho moído ($P=0,024$) quanto ao teor de MS (Tabela 9). Houve interação entre o tempo de ensilagem e a inclusão de milho, apresentando maior teor de MS com a inclusão de 18% de milho, com ponto de máxima aos 52 dias (29,94 % de MS).

A porcentagem de matéria mineral (MM) apresentou efeito quadrático para o tempo de ensilagem ($P=0,030$) e efeito linear decrescente para os níveis de inclusão de $p<0,001$. Quanto maior a inclusão de milho menor foi a MM.

Para MO, o efeito foi quadrático para tempo de ensilagem ($P=0,028$) e efeito linear crescente para inclusão de milho ($P<0,001$).

Com relação à PB, verificou-se efeito linear decrescente para inclusão de milho ($P=0,001$). Quanto maior a inclusão de milho, menor o teor de PB. Houve interação entre o tempo de ensilagem e inclusão de milho moído ($p<0,001$) (Tabela 9).

Tabela 9 – Matéria seca (MS), matéria mineral (MM) matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) da silagem de soja, sem inclusão (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de armazenamento

Parcelas	Variáveis			
	MS	MM	MO	PB
Tempo de ensilagem (ENS)				
0	27,59	7,96	92,04	19,49
1	28,08	8,26	91,74	19,62
3	28,54	7,95	91,99	20,27
7	27,89	7,54	92,46	19,56
15	28,18	7,68	92,32	19,02
30	28,81	8,04	91,96	19,48
60	28,51	7,53	92,47	19,57
90	28,36	7,87	92,13	19,56
Níveis de inclusão de milho (IMM)				
0%	26,95	8,13	91,84	20,13
6%	27,96	7,95	92,05	19,65
12%	28,92	7,78	92,22	19,36
18%	29,14	7,56	92,44	19,15
EPM	0,1149	0,0402	0,0415	0,0848
P-valor*	ENS	0,0971	0,0306 ^Q	0,0288 ^Q
	IMM	0,0240 ^Q	<0,001 ^L	<0,001 ^L
	ENS*IMM	0,0135	0,0528	0,8450
				<0,001

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R², linear quando o L foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi linear e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído.

Fonte: autoria própria (2023).

O extrato etéreo (EE) apresentou efeito quadrático para tempo de ensilagem ($P=0,0288$), com ponto de mínima de 3,31% aos 41 dias de ensilagem; já para a inclusão de milho moído, o efeito foi linear decrescente ($P<0,001$) (Tabela 10).

O FDN (Tabela 10) apresentou efeito quadrático para tempo de ensilagem ($p=0,048$). Houve interação entre tempo de ensilagem e níveis de inclusão de milho moído ($p=0,002$) apresentando ponto de mínima em 47,4% aos 71 dias de ensilagem e com 6% de inclusão e ponto de mínima em 43,1% aos 69 dias de ensilagem com 12% de inclusão. Para inclusão de milho moído o efeito foi linear decrescente ($p<0,001$).

Tabela 10 – Extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) fibra em detergente ácido (FDA), celulose (CEL), hemicelulose (HEM), lignina (LIG) e amido da silagem de soja com diferentes níveis (0%, 6%, 12% e 18%) de inclusão de milho moído e em diferentes tempos de armazenamento

Parcelas	Variáveis						
	EE	FDN	FDA	CEL	HEM	LIG	AMIDO
Tempo de ensilagem (ENS)							
0	3,42	50,27	40,04	29,16	10,30	10,95	33,95
30	3,48	47,13	38,09	30,05	9,04	8,04	17,57
60	3,22	45,82	37,13	30,32	8,69	6,74	16,65
90	3,67	45,39	36,48	29,45	8,98	6,71	16,01
Níveis de inclusão de milho (IMM)							
0%	3,78	49,98	40,82	32,21	10,16	8,26	12,54
6%	3,52	48,82	39,18	30,71	9,38	8,41	19,72
12%	3,29	45,46	36,55	28,64	9,05	8,14	23,65
18%	3,20	44,36	35,17	27,42	8,41	7,62	28,27
EPM	0,0452	0,4093	0,3825	0,3157	0,1710	0,2285	1,206
ENS	0,0288 ^Q	0,0482 ^Q	<0,001 ^L	0,6820	0,0160 ^Q	<0,001	<0,001 ^L
P valor IMM	<0,001 ^L	<0,001	<0,001 ^L				
ENS*IMM	0,3040	0,0023	0,0003	0,0001	0,85556	<0,001	<0,001

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R², linear quando o L foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi linear e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído;

O FDA também apresentou interação entre o tempo de ensilagem e níveis de inclusão de milho moído ($p<0,001$). É possível observar efeito linear decrescente tanto para os tempos de abertura quanto para os níveis de inclusão (Tabela 11).

Com relação à celulose, o efeito foi linear decrescente para a inclusão de milho moído ($P<0,001$), quanto maior foi a inclusão de milho moído menor foi o teor de celulose encontrada.

Houve interação entre o tempo de ensilagem e de inclusão de milho moído ($p<0,001$). Períodos de ensilagem mais longos favoreceram a redução de conteúdo celulósico (Tabela 11).

Tabela 11 – Desdobramento das interações da Fibra em Detergente Neutro (FDN), Fibra em Detergente Ácido (FDA), Celulose (CEL), Lignina (LIG), da silagem de soja, sem inclusão (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de ensilagem

FDN					
IMM	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	51,97	50,79	49,80	48,53	<0,001 ^L
30	50,06	48,96	45,27	44,21	<0,001 ^L
60	49,58	47,32	43,16	43,22	<0,001 ^L
90	48,31	48,19	43,60	41,47	<0,001 ^L
P-valor*	<0,001 ^L	0,0311 ^Q	<0,001 ^Q	<0,001 ^L	
FDA					
IMM	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	41,18	40,03	39,88	39,07	<0,001 ^L
30	41,56	39,00	36,56	35,22	<0,001 ^L
60	40,36	38,28	35,12	34,74	<0,001 ^L
90	40,19	39,43	34,64	31,66	<0,001 ^L
P-valor*	0,0233 ^L	0,5380	<0,001 ^L	<0,001 ^L	
Celulose					
IMM	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	29,43	29,18	29,15	28,87	0,2800
30	32,98	30,70	28,82	27,69	<0,001 ^L
60	32,95	31,43	28,76	28,17	<0,001 ^L
90	33,49	31,52	27,85	24,95	<0,001 ^L
P-valor*	0,0104 ^L	0,0603	0,2450	0,0011 ^L	
Lignina					
IMM	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	11,75	10,85	10,73	10,45	<0,001 ^L
30	7,53	8,58	8,29	7,74	0,0076 ^Q
60	6,37	7,41	6,86	6,33	<0,001 ^Q
90	7,41	6,78	6,69	5,96	<0,001 ^L
P-valor*	<0,001 ^Q	<0,001 ^Q	<0,001 ^Q	<0,001 ^Q	

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R², linear quando o L foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi linear e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído;

Fonte: autoria própria (2023).

A hemicelulose apresentou efeito quadrático ($p=0,016$) para os diferentes tempos de ensilagem, com ponto de mínima de 8,54% aos 66 dias de ensilagem. Foi observado também um efeito linear para a inclusão de milho ($p<0,001$), em que quanto maior o nível de inclusão menor o teor de hemicelulose obtido.

A lignina apresentou efeito quadrático ($p<0,001$) para os tempos de ensilagem, com ponto de mínima em 6,38% aos 59 dias de ensilagem sem inclusão de milho; com a inclusão de 6%, apresentou 7,16% aos 86 dias; com a inclusão de 12%, apresentou 6,40%; aos 85 dias,

com 18%; 6,25% aos 77 dias de ensilagem. Foi observado efeito de interação entre os tempos de ensilagem e os níveis de inclusão de milho moído.

O amido apresentou efeito linear ($p < 0,001$) para ambas as variáveis (tempo de ensilagem e inclusão), e apresentou interação entre elas ($p < 0,001$).

Quanto ao carboidrato solúvel expresso na matéria seca (CHOS_{ms}) foi observado efeito quadrático ($< 0,001$) para os diferentes tempos de ensilagem (Tabela 12).

Tabela 12 – Carboidrato Solúvel expresso na matéria seca (CHOS_{ms}), Carboidratos solúveis totais ($\text{CHOS}_{\text{total}}$), Carboidratos solúveis não fibroso (CNF); Fração C (C): Carboidratos indigestíveis, da silagem de soja sem inclusão (0%) e com inclusão de 6%, 12% e 18% de milho moído, em diferentes tempos de ensilagem

Parcelas	Variáveis			
	CHOS_{ms}	$\text{CHOS}_{\text{total}}$	CNF	C
Tempo de ensilagem (ENS)				
0	15,55	69,07	6,88	19,20
30	5,15	68,53	28,63	13,30
60	6,60	68,81	23,27	10,83
90	4,39	68,46	29,20	10,71
Níveis de inclusão de milho (IMM)				
0%	9,51	67,82	24,14	14,74
6%	7,60	68,96	22,67	14,77
12%	7,75	68,66	20,04	12,79
18%	6,84	69,43	21,12	11,76
EPM	0,608	0,137	1,271	0,475
P-valor*	ENS	$< 0,001^{\text{Q}}$	$< 0,001^{\text{Q}}$	$< 0,001^{\text{L}}$
	IMM	0,497	$< 0,001^{\text{L}}$	0,056
	ENS*IMM	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R^2 , linear quando o L foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi linear e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído.

Fonte: autoria própria (2023).

O carboidrato solúvel total ($\text{CHOS}_{\text{total}}$) apresentou efeito quadrático ($< 0,001$) para os tempos de ensilagem e efeito linear crescente para inclusão de milho ($< 0,001^{\text{L}}$). Foi observado que o carboidrato não fibroso (CNF) apresentou efeito quadrático ($< 0,001$) para (inclusão de milho).

O CHOS foi dividido em fração C (FC) é constituída de carboidratos indigestíveis (Tabela 13) o efeito observado para a inclusão de milho foi quadrático ($p < 0,001$).

Tabela 13 – Desdobramento das interações do Carboidrato Solúvel expresso na matéria seca (CHOS_{ms}), Carboidrato solúvel total (CHOS_{total}), Carboidratos solúveis não fibroso (CHOS_{nf}); Fração C (FC): Carboidratos indigestíveis

CHO ms					
I.MIL	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	16,86	11,95	12,43	12,23	0,003 ^Q
30	7,25	3,65	3,50	3,32	<0,001 ^Q
60	5,48	6,10	7,33	4,07	<0,001 ^Q
90	3,35	4,65	3,50	4,28	0,442
P-valor*	<0,001 ^Q	0,003 ^Q	0,003 ^L	<0,001 ^Q	
CHO total					
I.MIL	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	66,80	69,26	69,06	71,16	<0,001 ^L
30	68,27	68,80	68,22	68,82	0,894
60	67,63	68,78	69,40	69,42	0,003 ^L
90	68,57	69,01	67,96	68,30	0,890
P-valor*	0,007 ^L	0,441	0,503	<0,001 ^L	
CNF					
I.MIL	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	13,42	5,43	4,23	4,42	<0,001 ^Q
30	21,07	33,41	30,07	29,95	<0,001 ^Q
60	27,27	22,95	17,05	25,80	0,006 ^Q
90	34,80	28,90	28,81	24,31	<0,001 ^L
P-valor*	<0,001 ^L	0,008 ^Q	0,010 ^L	<0,001 ^Q	
F.C					
I.MIL	0%	6%	12%	18%	P-valor*
ENS					
0	19,52	21,16	18,94	17,19	0,002 ^Q
30	15,11	14,16	12,33	11,62	<0,001 ^L
60	13,04	11,33	9,45	9,52	0,005 ^Q
90	11,31	12,41	10,44	8,69	<0,001 ^Q
P-valor*	0,003 ^Q	<0,001 ^Q	<0,001 ^Q	<0,001 ^Q	

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R², linear quando o L foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi linear e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído.

Fonte: autoria própria (2023).

A DIVMS apresentou efeito quadrático (<0,001) para tempo de ensilagem, com o ponto de mínima de 73,70% no dia 0 de ensilagem (Tabela 14). O efeito para os níveis de inclusão de milho moído foi linear crescente (p<0,001).

Tabela 14 – Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIV_{MS}), digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIV_{MO}), digestibilidade *in vitro* da proteína bruta (DIV_{PB}) e digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro (DIV_{FDN}) da silagem de soja com diferentes níveis de inclusão (0%, 6%, 12% e 18%) de milho moído, em diferentes tempos de ensilagem

Parcelas	Variáveis			
	DIV _{MS}	DIV _{MO}	DIV _{FDN}	DIV _{PB}
Tempo de ensilagem (ENS)				
0	78,66	80,13	64,03	89,05
30	75,47	76,21	56,59	89,08
60	75,34	76,29	57,22	86,90
90	75,95	76,55	57,86	85,76
Níveis de inclusão de milho (IMM)				
0%	74,81	75,71	57,83	89,60
6%	75,61	76,44	59,53	87,71
12%	76,58	77,87	58,55	87,13
18%	78,42	79,16	59,78	86,36
EPM	0,2802	0,3062	0,4495	0,3057
P-valor*	ENS	<0,001 ^Q	<0,001 ^Q	<0,001 ^Q
	IMM	<0,001 ^L	0,2290	<0,001 ^L
	ENS*IMM	0,0258	0,0354	0,0984

*A regressão foi escolhida de acordo com o valor de R², linear quando o L foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi linear e quando o Q foi adicionado ao lado do p-valor a regressão foi quadrática. EPM: Erro padrão da média; ENS: Tempo de ensilagem; IMM: Inclusão de milho moído.

Fonte: autoria própria (2023).

A digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica apresentou efeito quadrático ($p < 0,001$) para tempo de ensilagem e efeito linear crescente ($p < 0,001$) para os níveis de inclusão de milho moído. Já para a digestibilidade *in vitro* da FDN houve efeito apenas no tempo de ensilagem sendo este quadrático ($p < 0,001$), com ponto de mínima de 55,86% aos 59 dias de ensilagem. Para a digestibilidade *in vitro* da proteína bruta o efeito foi linear decrescente ($p < 0,001$), para ambas as variáveis (tempo de ensilagem e nível de inclusão).

4 DISCUSSÃO

A inclusão de milho moído na ensilagem de soja aumentou significativamente o teor de MS, chegando ao teor de 29,14% para silagem com inclusão de 18% de milho moído. Esse aumento ocorre porque o milho moído é um aditivo seco (83% de MS) que pode aumentar o teor de MS e de carboidratos solúveis da silagem, otimizando a fermentação láctica desejável para a obtenção de uma silagem de qualidade.

A MO foi igual e positivamente influenciada pela inclusão de milho moído. A inclusão aumentou o teor de MO da silagem de forma linear crescente, chegando ao teor de 92,44% nas silagens com 18% de inclusão.

Tal comportamento pode ser explicado pelo fato de o milho moído ser um aditivo seco, que quando incluído a silagens de leguminosas, tende a aumentar o teor de carboidratos e melhorar a digestibilidade do material ensilado, assim como a capacidade fermentativa da silagem. Resultados parecidos foram obtidos por Andrade (2021) quando analisou o efeito da inclusão de milho moído em silagens do terço superior da mandioca.

O tempo de abertura dos silos também influenciou o teor de MO da silagem. Quanto maior o tempo de ensilagem maior o teor de MO obtido. Segundo Van Soest (1994), o tempo de fermentação ocorre normalmente entre 10 e 14 dias, dependendo, principalmente do teor de carboidratos solúveis, da capacidade tampão e do conteúdo de umidade da forragem. Durante o processo de ensilagem, a fermentação anaeróbica pode converter os açúcares do material ensilado em ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico, que pode ajudar a preservar a MO da silagem.

Stella *et al.* (2016), em seu estudo, avaliaram a qualidade fermentativa e química da silagem de milho e sorgo que foi adicionado à planta inteira de soja em diferentes proporções (75%, 50% e 25%) com isso houve aumento linear dos teores proteicos das silagens e o FDA na silagem de milho, e diminuição na silagem do sorgo.

Pereira *et al.* (2007) encontraram resultados para PB de 18,87% no estágio R6. Para Dias (2007), os resultados encontrados foram de 15,4%. Neste estudo, os resultados obtidos foram maiores, variando de 19,15% a 20,13%, o que está relacionado ao período de corte da planta.

Vale ressaltar, entretanto, que a maior parte do poder tampão das plantas pode ser atribuída aos ânions, como os sais de ácidos orgânicos, ortofosfatos, sulfatos, nitratos e clorados. Esses resultados se explicam pelo aumento da proteólise e liberação dos compostos básicos

como $\text{NH}_3\text{-N}$ a partir da descarboxilação dos aminoácidos, ajudando para maior capacidade tampão nas silagens de leguminosas (McDonald *et al.*, 1991).

Dias (2007), em seu estudo, teve resultados para o teor EE em média de 0,65% nos estádios R5 e R6. Já Pereira *et al.* (2007) encontraram resultados acima de 8,11% devido à quantidade de grãos ser baixa, pois passou por um estresse hídrico por período do plantio. Rosa *et al.* (2020) encontraram resultados 3,19%. Os valores obtidos neste estudo foram bem próximos aos encontrados por Rosa *et al.*, de 3,78 a 3,20% de EE, pois a planta da soja ensilada, apesar de ter sofrido estresse hídrico, ainda possuía uma quantidade média de grãos que levaram a esse resultado.

A ocorrência de estresse hídrico que a planta passou na fase do enchimento do grão no estágio reprodutivo é capaz de diminuir o rendimento da soja devido à maior necessidade de nutrientes para seu enchimento (Neumaier *et al.*, 2000).

O teor ideal de FDN da silagem pode variar dependendo do tipo de forragem ensilada. A FDN representa a fração fibrosa da planta insolúvel em solução à base de detergente neutro e inclui celulose, hemicelulose e lignina. Ghizzi (2020) chegou a resultados de 59,4 % de FDN na silagem de soja. Já Rosa *et al.* (2020) obteve resultados de 50,16% de FDN. Os resultados do FDN obtidos no presente estudo foram de 49,98% a 44,36 %, que diminuíram em função do aumento nos níveis de milho moído. Isso se explica pela substituição parcial da fração fibrosa da forragem pela fração amilácea do grão.

O teor de FDA é um indicador da qualidade e digestibilidade da silagem de soja, pois representa a fração mais indigestível da planta. O teor de FDA obteve efeito linear negativo em função do tempo de ensilagem, o que é esperado e desejável visto que há maior degradação da parede celular pela ação microbiana. Maior tempo de ensilagem pode afetar a FDA de diferentes formas, dependendo das condições de armazenamento, do tipo de planta e do processo fermentativo. Em geral, espera-se que maior tempo de ensilagem reduza a FDA, pois há maior degradação da parede celular pela ação microbiana.

No entanto, esse efeito pode ser limitado ou até mesmo revertido se houver perdas excessivas de MS, contaminação por fungos ou oxidação da silagem. Portanto, não há uma resposta definitiva para a questão se a fibra em detergente ácido pode ser reduzida com maior tempo de ensilagem, mas sim uma análise caso a caso, considerando os fatores envolvidos na produção e conservação da silagem.

O teor de FDA obtido também passou uma redução linear ($<0,001$) em função da inclusão de níveis crescentes de milho moído. Esse comportamento pode ser explicado pelo fato de o milho moído ter maior teor de amido e menor digestibilidade da fibra do que a silagem da

soja. O menor valor obtido do teor de FDA foi da silagem de soja com inclusão de 18% de milho moído aos 90 dias de ensilagem.

A lignina é um fator importante que influencia a qualidade nutricional e a digestibilidade do alimento, podendo ser afetado por: avanço de estágio de maturação da planta, fatores ambientais, estresse hídrico e processos de ensilagem como método de corte, picagem, compactação e vedação da silagem (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2000).

Segundo Van Soest (1994), a lignina é um polímero que confere rigidez e resistência às paredes celulares das plantas, mas que também reduz a degradação da celulose e da hemicelulose pelos microrganismos ruminais.

A lignina apresentou efeito quadrático ($p < 0,001$) para os tempos de ensilagem, com visível decréscimo em função de maior tempo de abertura e ponto mínimo de 6,25% aos 77 dias de ensilagem com 18% de inclusão de milho moído, evidenciando que maiores níveis de inclusão de milho moído à silagem de soja favoreceram significativamente a redução dos teores de lignina do material ensilado, assim como maior tempo de ensilagem.

O processo de fermentação que ocorre no silo durante a ensilagem envolve a ação de microrganismos sobre os carboidratos solúveis presentes no material ensilado, resultando na produção de ácidos orgânicos, como o ácido lático, que diminuem o pH e preservam a silagem. Todavia, esse processo também altera a composição da fibra, especialmente a fração lignina, uma exposição mais prolongada à ação desses microrganismos, assim como uma fermentação mais intensa, dada a inclusão de milho, contribuiu para a redução do teor de lignina.

O amido apresentou efeito linear ($p < 0,001$) para ambas as variáveis (tempo de ensilagem e inclusão de milho moído) e interação entre elas ($p < 0,001$).

Para todos os componentes amiláceos e solúveis, houve redução no teor de amido, $CHOS_{ms}$ e $CHOS_{total}$ em relação ao tempo de exposição à ação dos microrganismos por períodos mais prolongados (90 dias de ensilagem), visto que ele serve de substrato para os microrganismos e ao longo do processo de ensilagem será consumido. Já a relação para níveis de inclusão foi diretamente proporcional, devido ao aumento na proporção dos níveis de inclusão do milho e a disponibilidade dele proporcionalmente será maior.

O fator fundamental na conservação da silagem é a fermentação dos carboidratos solúveis por bactérias anaeróbias para originar ácido lático e conseqüente redução desejável do pH (Wilkinson & Davies, 2013). Os carboidratos da parede celular da soja estão ligados aos teores de lignina, o que leva a uma menor taxa de degradabilidade da FDN (Mustafa *et al.*, 2007).

Foi observado que o CNF apresentou efeito quadrático ($< 0,001$) para ambas as variáveis (tempo de ensilagem). A silagem que apresentou maior teor de CNF foi a silagem sem inclusão

de milho moído. Os valores para CNF encontrados no presente estudo foram de 24,14 a 20,04. Em avaliações de outras silagens de leguminosas como alfafa, na silagem da planta inteira de soja ocorre resistência na fermentação, devido a uma baixa concentração de carboidratos solúveis e alta capacidade tampão; alguns fatores como a PB e carboidratos não fibrosos podem prejudicar o valor nutricional da silagem (Hargreaves *et al.*, 2009). Isso evidencia a importância da adição de milho à silagem da planta inteira da soja como alternativa para sanar a limitação inerente a planta de favorecer uma boa fermentação em silo para conservação desta e assim disponibilizar as frações mais digestíveis para a alimentação dos animais.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a inclusão de até 18% de milho moído à ensilagem de soja melhora o valor nutricional da silagem, sendo uma estratégia viável para a produção de silagem de soja de alta qualidade. Entretanto, em estudos posteriores, faz-se necessário o teste com níveis de inclusão mais altos para uma conservação ideal do material ensilado.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed., Arlington: AOAC International, 1990. 1025p
- ANDRADE, I.B. **Silagem do terço superior da mandioca com inclusão de milho moído**. Marechal Cândido Rondon, 2021 97p.
- COFFEY, K. P.; GRANADE, P. G. V., MOYER, J. L. **Nutrient content of silage made from whole-plant soybeans**. *The Professional Animal Scientist*, v. 11, p. 74-80, 1995.
- DIAS F.D. **Valor nutritivo de silagem de gramíneas de inverno com ou sem leguminosas e da planta de soja**. Universidade estadual de Maringá. 2007.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K. et al. **Colorimetric method for determination of sugars and related substances**. *Analytical chemistry*, v.28, n.3, p.350-356, 1956.
- GANDRA, J.R., TAKIYA, C.S., DEL VALLE, T.A., OLIVEIRA, E.R., DE GOES, R.H. T.B.; GANDRA, E.R. S.; BATISTA, J.D.O., ARAKI H. M.C. Soybean whole-plant ensiled with chitosan and lactic acid bacteria: Microorganism counts, fermentative profile, and total losses. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 9, p. 1-10, 2018.
- GHIZZI L. G. **Produção de silagem de planta inteira de soja e sua utilização na alimentação de vacas leiteiras**. São Paulo. 2020.
- EMBRAPA 2020. Marciana Retore Joyce Pereira Alves Marco Antonio Previdelli Orrico Junior Sanayra da Silva Mendes. **Qualidade da silagem do capim-elefante BRS Capiaçú**, Dourados, MS Dezembro, 2020. Disponível Em: [COT_261_2020_Marciana.cdr \(embrapa.br\)](http://COT_261_2020_Marciana.cdr(embrapa.br))
- EMBRAPA. NETO, RBA; CÂMARA, JAS. **Conservação de forragem: fenação e silagem**. Recomendações técnicas-Embrapa Meio-Norte, dezembro, 2000.
- EVANGELISTA, A.R.; GARCIA, R.; OBEID, J.A. et al. **Consórcio milho-soja**: *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.20, n.6, p.578-584, 1991
- EVANGELISTA, A.R.; RESENDE, P.M.; MACIEL, G. A. **Uso da soja [Glycine max (L.) Merrill na forma de forragem**. Lavras: UFLA, 2003. 36p.]
- HARGREAVES, A.; HILL, J.; LEAVER, J. **Effect of stage of growth on the chemical composition, nutritive value and ensilability of whole-crop barley**. *Animal Feed Science and Technology - ANIM FEED SCI TECH*, v. 152, p. 50–61, 1 jun. 2009
- HOLDEN, L.A. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.8, p. 1791-1794, 1999.
- MAACK, R (1981). *Geografia Física do Estado do Paraná*. 2 a Edição. Livraria José Olímpio. Ed., Curitiba.

- MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. Chalcombe publications, 1991.
- MUSTAFA, A.F. et al. Chemical composition, ensiling characteristics and ruminal degradability of forage soybean cultivars. **Canadian journal of animal science**, v. 87, n. 4, p. 623-629, 2007.
- 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.
- NEUMAIER N. et al. **Efeitos do estresse hídrico nas fases vegetativas e reprodutiva da soja sobre o rendimento de grãos**. Centro universitário Filadélfia Londrina PR. 2000.
- PEREIRA, O.G.; SANTOS, E.M.; ROSA, L.O. et al. **Perfil fermentativo e recuperação de matéria seca de silagens de soja tratadas com inoculante e melaço-em-pó**. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2007]. CD-ROM.
- R CORE TEAM (2022). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- LIMA JUNIOR, D.M.; RANGEL, A. H.N.; URBANO, S.A.; OLIVEIRA, J.P.F.; MACIEL, M. V. **Silagem de gramíneas tropicais não-graníferas**. Revista Agropecuária Científica no Semiárido, v. 10, n. 2, p. 01-11, abr - jun, 2014.
- ROSA, O, L; et al. **Composição bromatológica em silagens de soja com inoculante e melaço**. Revista de ciência animal Brasileira. Universidade Federal de Viçosa. MG. 2020
- STAGNARI, F. MAGGIO, A. GALIENI A., PISANTE, M. **Multiple benefits of legumes for agriculture sustainability: an overView**. Chemical and Biological Technologies Agriculture, v 4, n 2. p. 2-13, 2017
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- STELLA, L.A. et al. CComposição química das silagens de milho e sorgo com inclusão de planta inteira de soja. **Boletim de Indústria Animal**. v. 73.n. 1. p. 73-79. 2016.
- VAN SOEST, P.J., WINE, R.H. Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.52, p. 780-785, 1968.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p

- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.12, p.3583-3597, 1991
- VARGAS-BELLO PEREZ, MUSTAFA A.E, SEGUIN, P.P. Effects of feeding forage soybean silage on milk production, nutrient digestion, and ruminal fermentation o lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 1 p. 229-235, 2008
- WILKINSON, J.M.; DAVIES, D.R. **The aerobic stability of silage: key findings and recent developments**. Grass and Forage Science, v. 68, n. 1, p. 1–19, 2013.
- YITBAREK, M.B., TAMIR, B. Silage Additives: Review. **Journal of Applied Sciences**, v.4, p.258-274, 2014.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso da silagem de soja é uma opção de volumoso na dieta de animais ruminantes, podendo se tornar uma boa estratégia quando o alimento é produzido de forma adequada. Assim, torna-se uma alternativa viável para a alimentação dos animais, pois sua conservação é possível como se mostrou neste trabalho, sendo de ótima qualidade e de alto valor nutricional.

O uso do milho moído obteve efeito positivo para conservação devido à planta apresentar baixa concentração de carboidratos solúveis. Com isso a silagem da planta inteira de soja pode ser incluída na nutrição de ruminantes, sendo um ingrediente que necessita balancear na dieta e não é um substituto para silagem de milho, e sim uma adição de proteína.

Há a necessidade de novas pesquisas para avaliar a viabilidade de custos e a utilização na alimentação de vacas em lactação e desenvolvimento de cultivares com finalidade de fazer forragem, com isso continuar contribuindo para a disseminação de conhecimentos e tecnologias para estratégias de custos em alimentação de ruminantes.