

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL FERMENTATIVO E NUTRICIONAL,  
EMURCHECIMENTO E ADITIVOS QUÍMICOS EM SILAGENS DE  
CAPINS TROPICAIS

Autor (a): Janaina Macieiro Bragatto  
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Julho – 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL FERMENTATIVO E NUTRICIONAL,  
EMURCHECIMENTO E ADITIVOS QUÍMICOS EM SILAGENS DE  
CAPINS TROPICAIS

Autor (a): Janaina Macieiro Bragatto  
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração Produção Animal/Forragens Conservada

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Julho – 2024

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

B813c      Bragatto, Janaina Macieiro  
Caracterização do perfil fermentativo e nutricional, emurchecimento e aditivos químicos em silagens de capins tropicais / Janaina Macieiro Bragatto. -- Maringá, PR, 2024.  
155 f. : figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2024.

1. Gramínea tropical - Silagem - Aditivo químico. 2. Urocloa. 3. Gramínea tropical - Silagem - Fermentação. 4. Megathyrsus. I. Daniel, João Luiz Pratti, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 23.ed. 633.2

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL FERMENTATIVO E  
NUTRICIONAL, EMURCHECIMENTO E ADITIVOS  
QUÍMICOS EM SILAGENS DE CAPINS TROPICAIS

Autora: Janaina Macieiro Bragatto  
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Area de Concentração Produção  
Animal

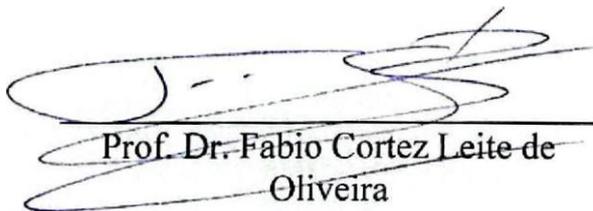
APROVADA em 29 de julho de 2024.



Prof. Dr. Luiz Gustavo Nussio



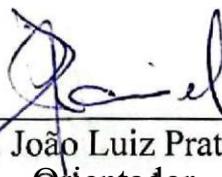
Prof. Dr. Thiago Carvalho da  
Silva



Prof. Dr. Fabio Cortez Leite de  
Oliveira



Prof. Dr. Ferenc Istvan Bankuti



Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel  
Orientador

*“A persistência é o caminho mais curto para o êxito”*

*Charles Chaplin*

A Deus, à minha família e aos amigos queridos e verdadeiros, que foram fundamentais em meu crescimento.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

À Universidade Estadual de Maringá e o Programa de Pós-Graduação, por viabilizar a realização deste projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor e orientador Dr. João Luiz Pratti Daniel, seu carinho, paciência, dedicação e comprometimento com minha formação acadêmica foram inspiradores, e sou imensamente grata por todas as oportunidades de aprendizado proporcionadas.

Ao professor Dr. Clóves Cabreira Jobim e todos os amigos do Grupo de Estudos em Silagem e Feno (GESF/ UEM-Maringá), por todo carinho, amizade e ajuda prestada, vocês foram essenciais nessa caminhada, muito obrigada.

Aos meus colegas de pós-graduação pelo auxílio durante as atividades realizadas, muito obrigada.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UEM.

Aos meus pais Sandra Regina Macieiro Bragatto e José Wanderley Bragatto, por todo amor, carinho, apoio e por sempre acreditar e fazer o melhor para mim.

Aos meus queridos irmãos Mariana e Pedro Francisco, e minhas sobrinhas Valentina, Helena e Cecília, pelo incentivo, amizade e confiança em mim depositada e por serem minha fonte infinita de alegria e amor.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), em especial ao sr. Antônio (Toninho), Célio, Valdecir (Du), Valter, Valdir, Ailton, Wilmar (Alemão) e Wilson, por todo carinho comigo e ajuda prestada na realização deste trabalho a nível de campo.

Aos funcionários e amigos do Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), Augusto, Osvaldo e Ulisses, pela ajuda e apoio na condução das análises químicas, e pela querida amizade.

Às equipes das 51 fazendas, que gentilmente apoiaram as coletas das amostras de silagens de capins.

E, aos que não foram citados, mas, que contribuíram de forma direta ou indireta para a conclusão desta etapa e estão no meu coração.

Meus sinceros agradecimentos!

## BIOGRAFIA DO AUTOR

JANAINA MACIEIRO BRAGATTO, filha de Sandra Regina Macieiro Bragatto e José Wanderley Bragatto, nasceu na cidade de Colorado, Paraná, no dia 02 de março de 1994. Em fevereiro de 2014, iniciou no curso de graduação em Zootecnia, pela Universidade Estadual de Maringá. Em fevereiro de 2019, obteve o título de Zootecnista pela mesma instituição. Em março de 2019 iniciou no curso de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, realizando estudos sobre Nutrição de ruminantes. Em fevereiro de 2021, obteve o título de Mestre pela mesma instituição. Em março de 2021 iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de nutrição de ruminantes e forragens conservadas. Em julho de 2024, obteve o título de Doutora pela mesma instituição.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	xi
RESUMO .....	xiii
ABSTRACT .....	xv
I INTRODUÇÃO .....	1
II REVISÃO DE LITERATURA .....	4
FERMENTABILIDADE DE CAPINS TROPICAIS .....	4
ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR O TEOR DE MATÉRIA SECA DE CAPINS TROPICAIS .....	6
<i>Efeito do emurchecimento na conservação de silagens de capins tropicais .....</i>	<i>6</i>
<i>Efeito da adição de absorvente de umidade na fermentação de silagens .....</i>	<i>13</i>
USO DE ADITIVOS EM SILAGENS DE CAPINS TROPICAIS .....	15
<i>Efeito de inoculantes na conservação de silagens de capins tropicais .....</i>	<i>15</i>
<i>Efeito de aditivos químicos na conservação de silagens de capins tropicais .....</i>	<i>18</i>
<i>Nitrito de sódio .....</i>	<i>20</i>
<i>Hexametenotetramina (hexamina) .....</i>	<i>22</i>
<i>Efeito de dose de aditivo químico inibidor de fermentação butírica frente ao teor de MS da cultura ensilada .....</i>	<i>25</i>
<i>Efeito da substituição da hexamina por outros produtos químicos .....</i>	<i>27</i>
POTENCIAIS BENEFÍCIOS DE ADITIVOS QUÍMICOS INIBIDORES DE FERMENTAÇÃO BUTÍRICA EM SILAGENS NO DESEMPENHO ANIMAL .....	30
REFERÊNCIAS .....	34
III OBJETIVO GERAL .....	46

OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	46
IV Avaliação da composição nutricional e do perfil fermentativo de silagens de capins tropicais em fazendas brasileiras de gado de corte .....	47
RESUMO .....	47
ABSTRACT .....	49
1. INTRODUÇÃO .....	51
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	52
2.1 Coleta de dados e pesquisa .....	52
2.2 Análises laboratoriais .....	52
2.3 Análise estatística dos dados .....	54
3. RESULTADOS .....	55
3.1 Descrição das variáveis com distribuição contínua .....	55
3.2 Descrição das variáveis com distribuição discreta .....	56
3.3 Comparação entre grupos de silagens (G1 e G2) para DIVMS .....	57
3.4 Relações entre características das silagens e DIVMS .....	58
3.5 Comparação entre grupos de silagens (G1 e G2) para concentração de ácido butírico .....	58
3.6 Relações entre características fermentativas das silagens .....	59
4. DISCUSSÃO .....	59
4.1 Valor nutritivo das silagens .....	59
4.2 Perfil de fermentação das silagens .....	61
5. CONCLUSÃO .....	63
6. REFERÊNCIAS .....	63
ANEXO .....	94
V Efeito de emurchecimento e doses de aditivos químicos na fermentação da silagem de <i>Braquiária ruziziensis</i> .....	96
RESUMO .....	96
ABSTRACT .....	98
1. INTRODUÇÃO .....	100
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	101
2.1 Local e período experimental .....	101
2.2 Desenho experimental, tratamentos e ensilagem .....	102
2.3. Análises laboratoriais .....	103
2.3.1 Análise microbiológica .....	103

2.3.2 <i>Análises químicas</i> .....	104
2.3.3 <i>Análise de produtos de fermentação</i> .....	105
2.4 <i>Análise estatística</i> .....	106
3. RESULTADOS .....	106
3.1 <i>Composição da forragem</i> .....	106
3.2 <i>Características da silagem de capim-Braquiária ruziziensis</i> .....	107
3.3 <i>Composição química e digestibilidade de silagens</i> .....	110
4. DISCUSSÃO .....	112
4.1 <i>Composição da forragem</i> .....	112
4.2 <i>Características da fermentação da silagem</i> .....	114
4.3 <i>Composição química e digestibilidade de silagens</i> .....	116
5. CONCLUSÃO .....	117
6. REFERÊNCIAS .....	117
VI Efeitos da substituição da hexamina por benzoato de sódio em aditivos à base de nitrito de sódio na conservação do capim-Áries II .....	130
RESUMO .....	130
ABSTRACT .....	131
1. INTRODUÇÃO .....	132
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	133
2.1 <i>Ensilagem e tratamento</i> .....	133
2.2 <i>Teste de estabilidade aeróbica</i> .....	135
2.3 <i>Análise Microbiologia</i> .....	135
2.4 <i>Análises laboratoriais</i> .....	136
2.5 <i>Produtos de fermentação</i> .....	137
2.6 <i>Análise estatística</i> .....	137
3. RESULTADOS .....	137
3.1 <i>Características fermentativas das silagens</i> .....	138
3.2 <i>Composição química e digestibilidade das silagens</i> .....	139
4. DISCUSSÃO .....	141
4.1 <i>Características fermentativas das silagens</i> .....	141
4.2 <i>Composição química e digestibilidade das silagens</i> .....	143
5. CONCLUSÃO .....	144
6. REFERÊNCIAS .....	145
VII CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	155

## LISTA DE TABELAS

### II REVISÃO DE LITERATURA

- Tabela 1.** Teor de ácido butírico em silagens em relação ao teor de matéria seca e aplicação da mistura de NH em alfafa (CS/CT: 0,6) (Reuter e Weissbach, 1989) ..... 26
- Tabela 2.** Efeito combinado de diferentes taxas de aplicação de NH e grau de emurchecimento no teor de ácido butírico em alfafa (n = 3 por tratamento) – ensaio 1 (CS/CT: 0,6) (Weissbach, 2010) ..... 26

### VI AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E DO PERFIL FERMENTATIVO DE SILAGENS DE CAPINS TROPICAIS EM FAZENDAS BRASILEIRAS DE GADO DE CORTE

- Tabela 1.** Descrição do banco de dados para as variáveis com distribuição contínua .. 70
- Tabela 2.** Descrição do banco de dados para as variáveis de distribuição discreta ..... 75
- Tabela 3.** Comparação entre grupos de silagens (G1 e G2) para DIVMS, variáveis com distribuição contínua ..... 76
- Tabela 4.** Comparação entre grupos de silagens (G1e G2) para DIVMS, variáveis com distribuição discreta ..... 79
- Tabela 5.** Comparação entre grupos de silagens (G1 e G2) para fermentação butírica, com variáveis com distribuição contínua ..... 81
- Tabela 6.** Comparação entre grupos (G1 e G2) de silagens quanto a fermentação butírica, variáveis com distribuição discretas ..... 84

## V EFEITO DE EMURCHECIMENTO E DOSES DE ADITIVOS QUÍMICOS NA FERMENTAÇÃO DA SILAGEM DE BRAQUIÁRIA RUZIZIENSIS

**Tabela 1.** Contagens microbianas, composição química e digestibilidade do capim-Braquiária ruziziensis fresco ou emurchecido antes da ensilagem ..... 122

**Tabela 2.** Contagens microbianas, perfil fermentativo e perdas fermentativas da silagem de capim-Braquiária ruziziensis com doses crescentes de aditivo químico ..... 123

**Tabela 3.** Composição química, digestibilidade e recuperação de nutrientes digestíveis na silagem de capim-Braquiária ruziziensis com doses crescentes de aditivo químico ..... 127

## VI EFEITOS DA SUBSTITUIÇÃO DA HEXAMINA POR BENZOATO DE SÓDIO EM ADITIVOS A BASE DE NITRITO DE SÓDIO NA CONSERVAÇÃO DO CAPIM-ÁRIES II

**Tabela 1.** Contagens microbianas e composição química do capim-Áries II fresco antes da ensilagem ..... 150

**Tabela 2.** Contagens microbianas, perfil fermentativo e perda de matéria seca das silagens de capim-Áries II ..... 151

**Tabela 3.** Composição química e digestibilidade *in vitro* das silagens de capim-Áries II ..... 153

## LISTA DE FIGURAS

## REVISÃO DE LITERATURA

**Figura 1.** Reações de redução de nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ) ..... 21

**Figura 2.** Decomposição da molécula de hexametenotetramina ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_4$ ) em formaldeído e amônia ..... 22

VI AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E DO PERFIL FERMENTATIVO DE SILAGENS DE CAPINS TROPICAIS EM FAZENDAS BRASILEIRAS DE GADO DE CORTE

**Figura 1.** Correlação entre teor de ácido butírico e digestibilidade *in vitro* da matéria seca em amostras de silagens de capins tropicais ( $P = 0,368$ ) ..... 86

**Figura 2.** Dendrograma com agrupamento de silagens de capins tropicais com base na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS). G1:DIVMS alta e G2: DIVMS baixa ..... 87

**Figura 3.** Relação entre teor de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) em amostras de silagens de capins tropicais.  $\text{DIVMS (g/kg MS)} = 839 - 10,6 \times \text{FDNi (g/kg MS)}$ ;  $\text{RMSE} = 43,5$ ;  $\text{R}^2 = 0,766$ ;  $\text{P} < 0,001$  ..... 88

**Figura 4.** Relação entre teor de proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) em amostras de silagens de capins tropicais.  $\text{DIVMS (g/kg MS)} = 356 + 22,5 \times \text{PB (g/kg MS)}$ ;  $\text{RMSE} = 71,6$ ;  $\text{R}^2 = 0,366$ ;  $\text{P} < 0,001$  ..... 88

- Figura 5.** Relação entre teor de ácido propiônico e ácido butírico em amostras de silagens de capins tropicais.  $\text{AcButirico (g/kg MS)} = 1,20 + 41,9 \times \text{AcPropiônico (g/kg MS)}$ ;  $\text{RMSE} = 4,49$ ;  $\text{R}^2 = 0,693$ ;  $\text{P} < 0,001$  ..... 90
- Figura 6.** Relação entre teor de N-NH<sub>3</sub> e ácido butírico em amostras de silagens de capins tropicais.  $\text{AcButirico (g/kg MS)} = 2,50 + 0,28 \times \text{Amônia (g/kg N)}$ ;  $\text{RMSE} = 5,60$ ;  $\text{R}^2 = 0,523$ ;  $\text{P} < 0,001$  ..... 91
- Figura 7.** Relação entre teor de ácido láctico e ácido butírico em amostras de silagens de capins tropicais. Regressão segmentada (linha sólida). Se  $\text{AcLat} < 7,51 \text{ g/kg MS}$ ,  $\text{AcBut} = 4,69 + 18,1 \times (7,51 - \text{AcLat})$ ; Se  $\text{AcLat} \geq 7,51$ , então  $\text{AcBut} = 4,69 \text{ g/kg MS}$ .  $\text{RMSE} = 4,04$ ;  $\text{R}^2 = 0,456$ ;  $\text{P} < 0,001$  ..... 92
- Figura 8.** Relação entre teor de matéria seca e ácido butírico em amostras de silagens de capins tropicais ..... 93

## RESUMO

Três experimentos foram conduzidos para caracterizar o perfil fermentativo e nutricional, e avaliar os efeitos de emurhecimento e aditivos químicos em silagens de capins tropicais. O objeto do primeiro experimento foi avaliar a composição nutricional e o perfil fermentativo de silagens de capins tropicais em fazendas de gado de corte. As mostras de silagem de capim foram coletadas em 51 operações de gado de corte, localizadas nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Paraná. Além da coleta das amostras, foi aplicado questionário composto por questões sobre as características relacionadas à produção e utilização das silagens. As amostras foram analisadas quanto à composição bromatológica, digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN), produtos de fermentação e distribuição de partículas no Separador de Partículas da Penn State. A ausência de correlação entre a concentração de ácido butírico e a DIVMS ( $P = 0,368$ ) indicou a independência entre o perfil de fermentação e o valor nutricional das silagens. Com base na DIVMS, a análise de agrupamento identificou dois grupos de silagens (alta e baixa). Uma segunda análise de agrupamento foi feita com base na concentração de ácido butírico (definido *a priori*:  $\leq 3$  g/kg MS grupo negativo;  $> 3$  g/kg MS grupo positivo). A DIVMS foi negativamente correlacionada com o teor de FDNi das silagens ( $r = -0,875$ ;  $P < 0,001$ ). A maioria das amostras (86%) apresentou concentração de ácido butírico  $> 3$  g/kg MS da matéria seca, e o banco de dados revelou que silagens com teor de MS inferior a 370 g/kg MN apresentam alto risco de fermentação butírica. O objeto do segundo experimento foi verificar se as doses de aditivo à base de nitrito de sódio e hexamina interagem com diferentes teores de matéria seca do capim-Braquiária *ruziziensis* para alterar a fermentação e o valor nutricional da silagem. Os tratamentos foram combinação fatorial de duas umidades na ensilagem - corte direto ( $206 \pm 24$  g/kg MS) e emurhecido durante

4 h ( $426 \pm 92$  g/kg MS) e quatro tratamentos com aditivos químicos com quatro repetições em delineamento inteiramente ao acaso. Os tratamentos foram: controle (sem aditivo) (CON); nitrito de sódio (0,3 g/kg MN) + hexamina (0,2 g/kg MN) (NHB); nitrito de sódio (0,6 g/kg MN) + hexamina (0,4 g/kg MN) (NHM); nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + hexamina (0,6 g/kg MN) (NHR). A quantidade dos produtos de fermentação relacionados ao metabolismo de clostrídio, como ácido butírico, ácido propiônico, ácido iso-butírico, ácido iso-valérico, ácido valérico, amônia e 2,3-butanodiol, reduziram de forma linear ( $P < 0,001$ ) conforme aumento da dose de aplicação do aditivo. O teor de carboidratos solúveis, proteína bruta, PNDR e DIVMS aumentaram linearmente com a dose do aditivo em cada condição de umidade (corte direto e emurhecida), indicando que as silagens tratadas foram mais bem conservadas. O objeto do terceiro experimento foi verificar se a hexamina pode ser substituída por benzoato de sódio em aditivos à base de nitrito de sódio. O capim-Áries II foi colhido após 60 d de rebrota, com aproximadamente  $185 \pm 6,8$  g/kg MS. Foram testados seis tratamentos: controle (sem aditivo) (CON), nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + hexamina (0,6 g/kg MN) (NH), nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + benzoato de sódio (0,6 g/kg MN) (NB6), nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + benzoato de sódio (0,9 g/kg MN) (NB9), nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + benzoato de sódio (1,2 g/kg MN) (NB12) e nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + benzoato de sódio (1,5 g/kg MN) (NB15). O aditivo contendo hexamina (i.e., nitrito de sódio (0,9 g/kg) e hexamina (0,6 g/kg) na dose regular, foi capaz de restringir o desenvolvimento de clostrídios, reduzir as concentrações de N-NH<sub>3</sub>, ácido n-butírico, ácido iso-butírico, ácido iso-valérico e ácido valérico e diminuir a perda de MS durante o processo de fermentação. Entretanto, os tratamentos com benzoato de sódio não foram capazes de restringir eficientemente a ocorrência de fermentação indesejável. Coletivamente, nestes experimentos verificaram que foi possível produzir silagens de capins tropicais com maior qualidade quando: 1) o capim foi colhido precocemente, resultando em menor teor de FDNi e maior digestibilidade de FDN e MS; 2) a cultura foi nutrida com maiores doses de fertilizantes; 3) a forragem foi bem processada, resultando em silagens com menores proporções de partículas com >19 mm; e 4) o teor de MS da silagem foi superior a 370 g/kg, por exemplo, pela adoção de emurhecimento; ou aditivos químicos, à base de nitrito de sódio, foram aplicados em dose adequada; ou a prática do emurhecimento e a aplicação de aditivos químicos foram associadas.

**Palavras-chave:** aditivo químico, fermentação, *Megathyrus*, *Urocloua*

## ABSTRACT

Three experiments were carried out to characterize the nutritional and fermentative profiles, and to evaluate the effects of wilting and chemical additives on tropical grass silages conservation. The first experiment was set up to characterize the nutritional composition and fermentative profile of tropical grass silages on beef farms. Grass silage samples were collected from 51 beef cattle operations located in the states of Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Sao Paulo, and Parana. In addition to sample collection, a questionnaire consisting of questions regarding silage production and utilization traits was filled. Silage samples were analyzed for chemical composition, *in vitro* digestibility of dry matter (IVDMD) and neutral detergent fiber (IVNDFD), fermentation end-products, and particle size distribution using the Penn State Particle Separator. The lack of correlation between the concentration of butyric acid and IVDMD ( $P = 0.368$ ) indicated that fermentation profile and nutritional value were independent in tropical grass silage. Based on IVDMD, the cluster analysis identified two groups of silages (high and low IVDMD). A second cluster analysis was performed based on butyric acid concentration (defined *a priori*:  $\leq 3$  g/kg dry matter (DM) negative group;  $> 3$  g/kg DM positive group). The IVDMD was negatively correlated with the content of indigestible neutral detergent fiber (iNDF) in silages ( $r = -0.875$ ;  $P < 0.001$ ). Most samples (86%) had butyric acid concentration  $> 3$  g/kg DM, and the database revealed that silages with DM content lower than 370 g/kg had a high risk of butyric fermentation. The second experiment was set up to verify whether the DM, manipulated by wilting, interacts with the dose of chemical additive based on sodium nitrite (300 g/L) and hexamine (200 g/L) to change the fermentation and nutritional value of ruzi grass silage. Treatments were a factorial combination of two forage DM levels (direct cut and wilted up to 426 g/kg DM for 4 h) and four doses of additive (0, 1, 2 and 3 L/t), with four replicates per treatment. The

fermentation end-products concentration related to *Clostridium* metabolism, such as butyric acid, propionic acid, iso-butyric acid, iso-valeric acid, valeric acid, ammonia and 2,3-butanediol, reduced linearly ( $P < 0,001$ ) as the additive application rate increased. The content of soluble carbohydrates, crude protein, rumen undegraded protein, and IVDMD increased linearly with the additive dose in each DM condition (direct cut and wilted), indicating that treated silages were better preserved. The third experiment was set up to examine if hexamine can be replaced by sodium benzoate in sodium nitrite-based additives. Aries II grass was harvested after 60 d of regrowth, with approximately  $185 \pm 6.8$  g/kg DM. Six treatments were tested: control (without additive), sodium nitrite (0.9 g/kg FM) + hexamine (0.6 g/kg FM), sodium nitrite (0.9 g/kg FM) + sodium benzoate (0.6 g/kg FM), sodium nitrite (0.9 g/kg FM) + sodium benzoate (0.9 g/kg FM), sodium nitrite (0.9 g/kg FM) + sodium benzoate (1.2 g/kg FM), and sodium nitrite (0.9 g/kg FM) + sodium benzoate (1.5 g/kg FM). The treatment containing hexamine was able to restrict the development of clostridia, as it reduced concentrations of  $\text{NH}_3\text{-N}$ , n-butyric acid, iso-butyric acid, iso-valeric acid and valeric acid, and decreased the DM loss during fermentation. However, treatments containing sodium benzoate were not able to efficiently restrict the occurrence of undesirable fermentation. Collectively, in these experiments it was verified that it is possible to produce tropical grass silages with good quality when: 1) opting for early harvest, resulting in silages with lower iNDF and higher NDF and DM digestibility; 2) the crop received higher doses of fertilizers; 3) the forage was well processed, resulting in silages with lower proportions of particles  $>19$  mm; and 4) the DM content of the silage was higher than 370 g/kg, for example, due to the adoption of wilting; or chemical additives based on sodium nitrite were applied in an adequate dose; or the practice of wilting and the application of chemical additives were associated.

**Keywords:** chemical additive, fermentation, *Megathyrsus*, *Urocloa*

## I. INTRODUÇÃO

No Brasil, cerca de 24% das fazendas leiteiras e 9% dos confinamentos de corte (Bernardes e Do Rêgo, 2014; Pinto e Millen, 2016), utilizam silagem de gramíneas tropicais, com predominância dos gêneros *Megathyrsus* e *Urochloa* (Daniel *et al.*, 2019). Gramíneas tropicais são culturas semiperenes que apresentam potencial de elevada produção de matéria seca por hectare, alto vigor de rebrota e alta adaptabilidade a diferentes condições climáticas e de solo, resultando em menor risco agrônômico comparativamente às culturas anuais (e.g. milho) (Jank *et al.*, 2010).

Nos últimos anos, entretanto, o reinteresse na utilização de silagem de gramíneas tropicais tem aumentado nos sistemas de produção de carne bovina, principalmente pela integração de sistemas de lavoura e pecuária, à intensificação das fases de cria e recria e o menor risco agrônômico frente às culturas como o milho. Nas rações para vacas de cria e para bovinos em crescimento, o uso de silagem de capim tropical permite aos nutricionistas formularem dietas que equilibram a ingestão de energia, evitando ganho de peso excessivamente rápido. Ganho de peso excessivo em vacas de corte confinadas tem sido associado a problemas de parto. Na fase de recria, ganho de peso diário excessivo pode ter impacto negativo no peso da carcaça, à medida que os animais atingem o tamanho adulto (Owens *et al.*, 1995; Taylor *et al.*, 2015). A silagem de capim também é utilizada para suplementação de animais a pasto durante o período da seca.

Adicionalmente, silagens de capins tropicais são utilizadas como segunda fonte de forragem para vacas em lactação, devido ao alto teor de FDN fisicamente efetiva e à baixa concentração de amido. Já em dietas para vacas secas e novilhas leiteiras, a silagem de capim permite controlar a ingestão de energia, evitando deposição excessiva de gordura e os efeitos negativos no desempenho das futuras lactações (Drackley, 2008).

Tais possibilidades no planejamento agrônômico e nutricional associadas às oscilações em produtividade de culturas anuais (e.g., milho), devido às condições climáticas adversas, especialmente em zonas agrícolas com menor fertilidade de solo e maior risco de veranicos, e ocorrência de pragas e doenças, têm renovado o interesse de muitos fazendeiros e técnicos à produção de silagem de capins tropicais, como forragem conservada nos sistemas de produção de carne e leite. Apesar das pesquisas sobre a produção de silagens de gramíneas tropicais não serem recentes (Condé, 1970), obter silagem de gramíneas tropicais de alta qualidade ainda é um desafio (Daniel *et al.*, 2019). Problemas comuns no campo incluem altas perdas durante o armazenamento e baixo valor alimentício, na maioria das vezes causados por colheita tardia e fermentação indesejável. Enquanto isso, as estratégias utilizadas em nível de fazenda para melhorar o processo de fermentação em silagens de capins tropicais não têm levado a resultados consistentes. Incorporar níveis moderados de absorventes de umidade como única estratégia de manejo reduz a liberação de efluentes, porém, nem sempre garante fermentação adequada e aumenta a complexidade do manejo da ensilagem em grandes operações. A inoculação com bactérias ácido lácticas (BAL) tem demonstrado melhorar a fermentação de gramíneas em algumas pesquisas (Santos *et al.*, 2014), mas os benefícios não são consistentes, especialmente quando a cultura apresenta elevado teor de umidade (Tomaz *et al.*, 2018; Gouvea *et al.*, 2020). Ao mesmo tempo, a adoção da prática do emurchecimento nas regiões tropicais caminha a passos lentos, especialmente pela escassez de equipamentos especializados para corte, enleiramento e recolhimento, e a falta de conhecimento técnico e a tradição no uso desta técnica.

Em países do continente Europeu, que possuem histórico longo em conservação de alimentos para animais, os aditivos químicos são amplamente empregado na produção de silagens de gramíneas temperadas, como estratégia isolada ou em combinação com o emurchecimento da forragem. Durante muito tempo, desde meados do século XX a utilização de ácido fórmico foi predominante na Europa na produção de silagens, porém, a corrosividade ao maquinário reduziu a popularidade (Auerbach e Nadeau, 2019). Como alternativa, aditivos à base de sais foram introduzidos no mercado europeu. Dentre esses aditivos, as misturas contendo nitrito de sódio demonstraram capacidade de inibir a fermentação butírica sem as preocupações associadas ao ácido fórmico (Weissbach e Auerbach, 2012). Recentemente, Gomes *et al.* (2021) e Moraes *et al.* (2023) demonstraram que um aditivo à base de nitrito de sódio e hexamina (NH) foi altamente

eficiente para inibir o desenvolvimento de clostrídios, reduzir perdas fermentativas e melhorar composição nutricional de silagens de capim-Mombaça.

Em silagens produzidas a partir de forrageiras de clima temperado, a taxa de aplicação de aditivos químicos pode ser ajustada de acordo com o teor de umidade, sendo menor a dose com o aumento do teor de MS (Weissbach, 2012), frequentemente manipulada por emurchecimento. No entanto, não existem informações disponíveis sobre os efeitos de dose de aditivos químicos em silagens de gramíneas tropicais com diferentes teores de MS induzidas por emurchecimento.

Enquanto isso, misturas de aditivos que contêm hexamina tem enfrentado desafios em relação a regulamentação e questões de mercado relacionados a oferta de hexamina. A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA, 2020) emitiu críticas ao uso de hexamina como aditivo de silagem devido aos potenciais riscos à saúde, associados à aplicação. A hexamina, ao decompor-se, pode liberar formaldeído, uma substância reconhecidamente irritante para a pele, olhos e membranas mucosas, além de ser um sensibilizante cutâneo e respiratório. Segundo a EFSA, durante a abertura do silo, agricultores poderiam ser expostos ao formaldeído (EFSA, 2014; 2015). Devido a esses perigos, a EFSA recomenda medidas rigorosas de proteção para trabalhadores expostos durante o manuseio da silagem tratada com hexamina. Como alternativa, a EFSA sugere a substituição da hexamina por outros produtos menos nocivos, que ofereçam segurança equivalente na preservação do material ensilado, sem os mesmos riscos à saúde humana.

Com isto, Auerbach *et al.* (2016) avaliaram os efeitos de uma mistura composta por nitrito de sódio, formato de sódio e benzoato de sódio ou nitrito de sódio, formato de sódio e sorbato de potássio em diferentes espécies forrageiras temperadas. Os autores observaram melhorias na qualidade fermentativa das silagens avaliadas, evidenciadas pela redução no desenvolvimento de clostrídios e na formação de aminas biogênicas, resultando em silagens bem fermentadas. Em uma meta-análise mais recente, Auerbach *et al.* (2023) demonstraram que o uso de misturas à base de nitrito de sódio + concentrações variadas de formato de sódio sozinho ou formato + benzoato ou formato + sorbato, foram eficientes em substituir a mistura de nitrito de sódio e hexamina e evitar fermentações indesejáveis (e.g. clostrídios), indicado pela baixa concentração de ácido butírico, N-NH<sub>3</sub> e redução de perdas de MS, resultado em silagens com perfil de fermentação adequado. Contudo, não existe informação na literatura se a hexamina pode ser substituída por outros compostos em misturas com nitrito de sódio quando aplicadas como aditivo para silagens de capins tropicais.

## II. REVISÃO DE LITERATURA

### *FERMENTABILIDADE DE CAPINS TROPICAIS*

Produzir forragem de alta qualidade é uma das condições importantes para uma produção animal rentável e ecologicamente sustentável. A fermentabilidade de capins tropicais é essencial para a produção de silagem de alta qualidade em regiões tropicais e subtropicais. Uma cultura é considerada facilmente fermentável se as características analíticas indicarem ser provável obter uma silagem sem ácido butírico. Em contraste, forragens de difícil fermentação têm maior probabilidade de resultar em silagens com ácido butírico (Weissbach e Honing, 1996).

Considerando o processo fermentativo indesejável causado principalmente por bactérias do gênero *Clostridium* em forragens, Weissbach *et al.* (1974) desenvolveram um modelo matemático baseado na composição química do material a ser ensilado para prever o curso de fermentação, estimando o coeficiente de fermentabilidade (CF). A partir do teor de matéria seca (MS) e da razão entre carboidratos solúveis (CS) e capacidade tampão (CT) da cultura, o coeficiente de fermentabilidade (CF) é calculado como:  $CF = MS + 80 \times CS/CT$ . Neste modelo, o conteúdo de CS representa a disponibilidade de substrato para conversão em ácido lático, enquanto a CT indica a capacidade de resistência à redução do pH. A razão CS/CT serve como indicador do potencial de acidificação da forragem. O teor de MS, por sua vez, reflete a necessidade de acidificação para obter silagens estáveis em condições anaeróbicas. Assim, a combinação entre teor de MS e razão CS/CT da forragem verde sugere o grau de acidez correspondente ao valor crítico de pH seja alcançado na silagem, a fim de restringir a atividade indesejável dos clostrídios e prevenir a fermentação ácido butírico (Kaiser *et al.*, 2002).

Com este modelo, os autores observaram que, para obter silagens livres de ácido butírico, é necessário alcançar valores de CF acima de 450. Na sequência, foi possível reorganizar a equação para viabilizar sua aplicação prática no campo, possibilitando a previsão do teor mínimo de MS necessário para evitar a fermentação butírica, como:  $MS_{\min} \text{ (g/kg)} = 450 - 80 \times CS/CT$  (Weissbach *et al.*, 1974).

Além dos fatores que constam no modelo, o conteúdo de nitrato e a população microbiana epifítica da forragem também podem influenciar no padrão de fermentação (Weissbach e Honing, 1996). O risco de incidência de ácido butírico nas silagens é aumentado quando o teor de nitrato na forragem é baixo. Wieringa (1966) demonstrou

que as silagens eram isentas de ácido butírico, desde que o teor de nitrato na forragem estivesse entre 0,9 e 1,8 g NO<sub>3</sub>/kg MS. Kaiser (1981) verificou em experimentos com forragens temperadas quando o teor de nitrato estivesse abaixo de 1 g NO<sub>3</sub>/kg MS, seria necessário maior teor de MS (MS<sub>min</sub>) para produzir silagens livres de ácido butírico com os mesmos valores da razão CS/CT. A partir dessas observações e considerando que a equação de Weissbach *et al.* (1974) é válida para forragens com 4,4 a 13,3 g NO<sub>3</sub>/kg MS, Kaiser *et al.* (2002) desenvolveram duas equações para antever o curso da fermentação em regiões de clima temperado para forragens com baixo teor de nitrato. Uma equação (A) foi destinada a forragens com baixa contaminação por esporos de clostrídios, enquanto a outra (B) foi destinada a forragens com alta contaminação por clostrídios. Com isso, os autores demonstraram que a contagem de esporos de clostrídios na forragem também pode alterar o curso da fermentação e que o teor de MS<sub>min</sub> necessário para garantir boa fermentação aumenta em forragens com maior contaminação por clostrídios.

$$\text{Equação A: MS}_{\min} \text{ (g/kg)} = 620 - 71 \times \text{CS/CT};$$

$$\text{Equação B: MS}_{\min} \text{ (g/kg)} = 890 - 130 \times \text{CS/CT}.$$

Portanto, em forragens com baixa razão CS/CT e baixos teores de nitrato, aumenta o risco de fermentação butírica, mesmo com o uso de técnicas capazes de aumentar o teor de MS (por exemplo, emurchecimento). Isso é especialmente relevante para forragens contaminadas com solo, ou seja, com maior presença de esporos de clostrídios (Kaiser *et al.*, 2002). Enquanto isso, por razões tecnológicas, o limite superior do teor de MS deve ser considerado. Por exemplo, em silos trincheira, o teor de MS da forragem não deveria ultrapassar 450 g/kg para permitir boa compactação e reduzir o risco de deterioração aeróbia.

F. Weissbach e seus colaboradores demonstraram que ambos, a contagem de BAL e o teor de nitrato alteram o risco de fermentação butírica em silagens. Weissbach *et al.* (1993) reportaram que a aplicação de bactérias homoláticas com CF >350 apresentaram menor frequência de fermentação butírica, quando comparada a forragem não inoculada (15% vs. 85%). Mais tarde, Weissbach e Honing (1996) avaliaram os efeitos de BAL e a concentração de nitrato em forragem com CF >350 na incidência de fermentação butírica. Os autores constataram que a incidência de silagens com ácido butírico aumentaram, à medida que o teor de nitrato diminuiu (< 1 g/kg MS), assim como, nas forragens com contagens de BAL < 10<sup>5</sup> UFC/g MN. Mesmo em forragens com teor de nitrato consideravelmente elevado, 26% das silagens ainda continham ácido butírico. Nesta pesquisa, ficou evidenciado a importância da interação entre CF, teor de nitrato (> 1 g/kg

MS) e contagem de BAL ( $> 10^5$  UFC/g FM) na forragem verde, mostrando que esses fatores são pré-requisitos para uma fermentação bem-sucedida. Em suma, os autores concluíram que ao ensilar uma cultura com CF  $> 350$ , espera-se boa fermentação da silagem, desde que o teor de nitrato e a contagem de BAL estejam acima dos limites mínimos recomendado (Weissbach e Honig, 1996).

Quanto pior for as condições de fermentação, com base no teor de MS e na razão CS/CT, e maior a contaminação por esporos de clostrídios, maior será a necessidade de nitrato para suprimir a atividade desses microrganismos. Se o teor de nitrato na forragem verde for muito baixo em comparação com o teor de MS e a razão CS/CT, a fermentação predominantemente láctica não pode ser garantida apenas pelo emurchecimento. Portanto, na prática, é essencial considerar o uso estratégico de aditivos para silagem. Na Europa, por exemplo, forragens temperadas com teor de MS inferior a 300 g/kg são frequentemente ensiladas com aditivos químicos, enquanto para forragens com maior teor de MS, são recomendados aditivos biológicos (Kaiser *et al.*, 2002).

Recentemente, Carvalho *et al.* (2024) verificou que o modelo de CF proposto por Weissbach *et al.* (1974) também é aplicável à capins tropicais dos gêneros *Megathyrsus* e *Urochloa*. Os autores relataram que assim como proposto para gramíneas temperadas, valores de CF  $> 350$  diminuem o risco de fermentação butírica, enquanto valores de CF  $> 400$  suprimem completamente a fermentação butírica em gramíneas tropicais, desde que apresentem níveis moderados de nitrato. Neste estudo, também ficou demonstrado que o valor mínimo de CF necessário para inibir o desenvolvimento de clostrídios diminui de forma linear com a concentração de nitrato.

## *ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR O TEOR DE MATÉRIA SECA DE CAPINS TROPICAIS*

### *Efeito do emurchecimento na conservação de silagens de capins tropicais*

Nos últimos anos, houve aumento significativo no interesse pelo uso de gramíneas semiperenes na produção de silagem. As plantas forrageiras tropicais, comumente utilizadas para pastagem, frequentemente apresentam desafios durante a ensilagem pelo baixo teor de MS. Isso justifica a aplicação de técnicas para reduzir a umidade no momento da ensilagem (Coan *et al.*, 2005).

O emurchecimento é uma estratégia, tradicionalmente utilizada em zonas temperadas e subtropicais, capaz de aumentar o teor de MS de capins, reduzindo a

probabilidade de fermentação butírica devido ao excesso de umidade. Pesquisas anteriores (Liu *et al.*, 2011; Nishino *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2018) demonstraram que o processo de emurchecimento também pode inibir a propagação de microrganismos indesejáveis e melhorar a qualidade de silagens de capins tropicais.

Durante o processo de emurchecimento diversos fatores da forragem podem influenciar a taxa de desidratação, como a espécie forrageira, o estágio de maturidade e a razão folha/colmo (Moser, 1995). A secagem da forragem a campo pode ser dividida em três fases (Macdonald e Clark, 1987). Na primeira fase, a perda de água é rápida, ocorrendo quando a forragem ainda possui alto teor de umidade, com os estômatos abertos e grande déficit de pressão de vapor entre a forragem e o ar. Nessa fase, a água evapora rapidamente das lâminas foliares de gramíneas e leguminosas, arrastando consigo parte da água do colmo. Harris e Tullberg (1980) relataram que folhas ceifadas secam 1,5 vezes mais rápido do que folhas em plantas intactas. Quando a pressão osmótica das células-guarda diminui, os estômatos fecham-se e a perda de água restante ocorre através da epiderme e da cutícula. Até 700 a 800 g/kg da água em uma cultura forrageira pode permanecer após o fechamento dos estômatos. A segunda fase de secagem é mais demorada e envolve a evaporação da água através da cutícula. A duração dessa fase é influenciada pela estrutura da folha, pelas características da cutícula e pela configuração da planta. A segunda fase pode se estender, caso a forragem seja densa, a umidade relativa seja alta ou se houver pouca circulação de ar. Depois que a umidade cai abaixo de 450 g/kg (MS), a remoção da água restante torna-se progressivamente mais difícil. Na fase final de secagem, a água é retida de forma mais firme no material vegetal. A terceira fase pode ser prolongada pela alta umidade relativa ao redor da forragem. Embora o metabolismo da planta diminua significativamente nessa fase, a forragem torna-se mais suscetível a danos causados por fatores ambientais externos, como quebra e reumedecimento (Moser, 1995).

O ambiente natural, incluindo o clima e o solo, desempenha papel essencial na secagem da forragem no campo. As variáveis climáticas têm o maior impacto, mas as características do solo também afetam o processo de secagem. As principais variáveis climáticas incluem radiação solar, temperatura do ar, umidade do ar e velocidade do vento. A radiação solar e a temperatura do ar aumentam desde o amanhecer até atingir o pico ao meio-dia, diminuindo novamente ao entardecer. A variação diurna da temperatura do ar geralmente ocorre algumas horas após o pico solar e gradualmente diminui à noite. A umidade relativa do ar é alta durante a noite e diminui ao longo do dia à medida que a

temperatura aumenta. A velocidade do vento é relativamente independente, mas é influenciada pelos níveis de radiação solar e temperatura (Rotz e Chen, 1985).

Entre todos os fatores que influenciam o processo de secagem, a radiação solar exerce o maior impacto. A taxa de secagem apresenta correlação mais forte e consistente com os níveis de radiação solar do que qualquer outro fator cultural ou ambiental. A desidratação da forragem no campo é significativamente retardada e possivelmente inviável na ausência do sol (Rotz, 1995). Dados de longo prazo sobre secagem em climas úmidos indicam que a taxa de secagem aumenta até 10 vezes entre os níveis mínimos e máximos de radiação solar, mantendo todas as outras variáveis constantes. Além do efeito direto da baixa radiação solar, a ausência de luz solar também resulta em temperaturas mais baixas e umidade relativa mais alta, contribuindo para diminuir ainda mais a velocidade de secagem (Rotz e Chen, 1985). A umidade relativa exerce influência limitada no processo de secagem sob condições ideais. Em dias ensolarados e quentes, quando a umidade relativa é inferior a 60%, o déficit de pressão de vapor é suficientemente alto para facilitar uma secagem eficiente. Umidade ainda mais baixa pode favorecer uma secagem ainda melhor, no entanto, frequentemente são as características das plantas e das leiras que impõem mais limitações à velocidade de secagem do que a umidade do ar (Moser, 1995).

Em condições de secagem desfavoráveis, como baixa radiação solar e temperatura, a umidade relativa do ar pode exercer restrição significativa no processo. Com pouca energia solar, as temperaturas da cultura e do ar ambiente tendem a ser próximas. Em dias nublados e úmidos, quando há pouca diferença de temperatura e alta umidade relativa, o déficit de pressão de vapor diminui consideravelmente, tornando-se o principal obstáculo para a secagem eficiente no campo. Nessas condições, o processo de secagem pode ser muito lento. O vento pode ter papel na secagem, porém, em muitas situações, seu efeito é limitado. A forragem seca em uma camada fina próxima à superfície do solo não mostra correlação significativa entre a taxa de secagem e a velocidade do vento (Rotz e Chen, 1985). A velocidade do vento diminui à medida que se aproxima da superfície do campo, havendo pouco movimento de ar próximo ao solo. A forragem recém-cortada forma uma camada densa a menos de 15 cm do solo. Mesmo em dias com a presença de ventos, o fluxo médio de ar através dessa camada raramente ultrapassa 0,2 m/s (Jones e Harris, 1980). A camada limite ao redor das plantas e o ar úmido e estagnado retido na camada são pouco afetados pelo vento. Há mais benefícios

quando o vento varre a forragem da superfície do campo para uma leira mais solta. O ar pode então passar pela leira, transportando a umidade para o ambiente circundante.

O solo também desempenha papel importante na secagem da forragem. A umidade e a temperatura do solo influenciam a pressão de vapor sob a forragem. Em solos úmidos, a pressão de vapor próximo ao solo pode ser maior do que na camada de forragem, resultando na migração de umidade do solo para a forragem. O ar úmido dentro da camada de forragem dificulta a secagem e, em casos extremos, pode até aumentar a umidade da forragem. Os efeitos da umidade do solo na secagem podem ser mitigados. Colocar uma barreira de umidade entre a camada de forragem e o solo pode significativamente aumentar tanto a velocidade quanto a eficiência da secagem (Pedersen e Buchele, 1960).

Alguns aspectos naturais das plantas também desempenham papel na perda de umidade. A superfície das plantas é protegida por uma camada chamada epiderme, com uma cutícula externa cerosa que é relativamente impermeável. Essa cobertura tem várias funções, incluindo a proteção contra danos físicos e a redução das perdas de componentes da planta pela lixiviação e perda excessiva de umidade. Os estômatos são pequenas aberturas na epiderme, ocupando de 10 a 30 g/kg da superfície da planta, mas são responsáveis por 800 a 900 g/kg da perda de água da planta (Rotz, 1995).

Diversos aspectos da estrutura da planta afetam a velocidade de secagem, como o teor inicial de umidade, a espécie da forragem e as características físicas. A taxa de secagem está relacionada às características morfológicas, especialmente à proporção de peso das folhas e à razão folha:colmo (Macdonald e Clark, 1973). Vários fatores estruturais das plantas influenciam a perda de água, como a proporção de peso das folhas, a relação folha/ colmo, a espessura e o comprimento do colmo, a espessura da cutícula e a densidade de estômatos. No caso da proporção de colmo, é importante considerar que a transferência de água do colmo para as folhas tem impacto significativo na velocidade de secagem, especialmente em leguminosas e gramíneas colhidas durante a fase de florescimento. A aplicação de tratamentos mecânicos nos colmos, como o condicionamento, resulta em taxas mais rápidas de secagem, sendo vantajoso mesmo quando há redução na perda de água do colmo através das folhas (Rotz e Muck, 1994).

Após o corte da planta, a respiração é o processo metabólico mais significativo (Moser, 1995). Durante o período de exposição ao campo, os CS são a principal fonte de energia utilizada pelas plantas (Parkes e Greig, 1974). A concentração de sacarose pode diminuir durante o processo de desidratação, mas pode aumentar ao longo do tempo devido à síntese de glicose e frutose pela quebra de polissacarídeos na planta (Moser,

1995). Embora a respiração e a perda de CS na forma de CO<sub>2</sub> sejam inevitáveis, é possível minimizar a respiração com manejo e condições climáticas adequadas durante o emurchecimento (Moser, 1995).

Guim *et al.* (2002) submeteram o capim-Elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) aos 96 d de rebrota, a um período de emurchecimento de aproximadamente 5 horas e observaram aumento no teor de MS de 262,4 para 327,9 g/kg MS. A concentração de CS e a CT diminuíram de 55,3 para 27,6 g/kg MS e de 156,8 para 122,3 g/kg MS, respectivamente. Paziani *et al.* (2006), ao examinarem os efeitos do emurchecimento nas características químicas do capim-Tanzânia aos 60 d de rebrota, notaram aumento no teor de MS de 197 para 284 g/kg MS após 6 horas de desidratação da forragem, além da redução nos teores de CS de 58 para 26 g/kg MS, na CT de 21,7 para 19,6 meq/100 g MS, uma diminuição significativa na quantidade de efluentes produzidos durante a ensilagem da forragem de 52,9 para 4,1 kg/t MV.

Ezequiel *et al.* (2022) avaliaram a qualidade da silagem de capim-Braquiária Marandu submetida ao emurchecimento em três faixas de teor de MS: 300-400 g/kg MS, 400-500 g/kg MS e 500-600 g/kg MS. O tratamento com maior grau de emurchecimento apresentou os maiores teores de MS e CS, sendo 563,8% e 42,0 g/kg MS, respectivamente. Além disso, foi observada menor concentração de N-NH<sub>3</sub> nas silagens com 400-500 e 500-600 g/kg MS. Além dessas variáveis, os autores relataram que não houve diferença entre as três faixas de MS para a população de bactérias lácticas, mas as forragens com 500-600 g/kg MS apresentaram maior contagem de enterobactérias.

Ao avaliar as características da silagem de capim-Mombaça emurchecida no campo por um período de 6 horas, Nishino *et al.* (2011) observaram variações no teor de MS da forragem, que inicialmente era de 145 e aumentou para 229 g/kg MS após o período de emurchecimento. A concentração de CS não foi significativamente alterada pelo emurchecimento (57,7 vs. 54,4 g/kg MS). Após um período de armazenamento de 56 d, a silagem emurchecida apresentou maior teor de ácido láctico, maior contagem de BAL e menores concentrações de amônia, ácido butírico e etanol, menor contagem de leveduras e enterobactérias em comparação com a silagem sem emurchecer. Embora o tempo de exposição no campo não tenha demonstrado grande impacto no teor de MS (< 250 g/kg MS), esse leve emurchecimento aumentou substancialmente a produção de ácido láctico e reduziu a produção de ácido butírico, influenciando positivamente o processo fermentativo.

As BAL têm função fundamental na fermentação das silagens, uma vez que são os principais microrganismos presentes naturalmente, responsáveis pela produção de ácido láctico como produto primário da fermentação dos CS (Pahlow *et al.*, 2003). Contagens de BAL acima de 5 log UFC/g foi sugerido por Weissbach e Honig (1996), para garantir boa fermentação de silagem. Em estudo conduzido por Parvin e Nishino (2009), para avaliar a população microbiana do capim-Mombaça com diferentes graus de emurchecimento, sendo: corte direto (sem emurcheçar), 286 e 443 g/kg de MS com tempos de emurchecimento a campo de 24 e 48 h, respectivamente. Não houve alteração na concentração de CS (26,5, 28,6 e 29,6 g/kg MS), mas as contagens de BAL foram influenciadas pelo processo de emurchecimento e pelo teor de umidade da cultura, atingindo 4,01, 4,86 e 4,02 log UFC/g. Já as contagens de fungos (3,07 vs. 2,00 log UFC/g), leveduras (5,20 vs. 2,60 log UFC/g) e enterobactérias (4,60 vs. 4,27 log UFC/g) foram reduzidas na silagem com 440 g/kg MS, comparadas a silagem sem emurcheçar. Em outro estudo realizado por Parvin *et al.* (2010), em que o capim-Mombaça e o capim-Rhodes foram emurchecidos por aproximadamente 8 horas para alcançar teores de MS de 476 e 503 g/kg MS, respectivamente, não foram observadas diferenças significativas na concentração de CS entre as forragens (43,7 e 45,4 g/kg MS, respectivamente). No entanto, foram registradas populações de BAL de 7,84 e 7,36 logs UFC/g nas respectivas forragens.

As enterobactérias normalmente constituem o segundo grupo bacteriano mais prevalente na microflora ativa presente no silo, desempenhando papel importante na competição com BAL, especialmente na produção de ácido acético. Além disso, elas desempenham papel significativo na redução de NO<sub>3</sub>, e leva à formação de nitritos e gases de óxido de nitrogênio (Pahlow, 2003). O processo de emurchecimento da cultura antes da ensilagem também está associado à diminuição do número de enterobactérias, como relatado por alguns estudos. Nishino *et al.* (2011) observaram redução na contagem de enterobactérias (6,94 para 5,85 log UFC/g), correspondendo aos teores de MS de 145 e 229 g/kg MS, respectivamente. Em outra pesquisa, Parvin e Nishino (2009) notaram uma contagem de enterobactérias de 4,27 log UFC/g para o capim-Mombaça emurchecido (443 g/kg MS), em comparação com a forragem não emurchecida (4,60 log UFC/g), com teor de MS de 187 g/kg.

Ao analisar a população microbiana e a composição dos produtos de fermentação do capim-Mombaça emurchecido, Li e Nishino (2013) registraram teor de MS de 367 g/kg após 4 horas de emurchecimento. A concentração de CS foi de 34,9 g/kg. As

contagens microbianas observadas foram de 5,62 log UFC/g para BAL, 7,32 log UFC/g para leveduras e 6,52 log UFC/g para enterobactérias para a forragem fresca. Ao analisar o capim-bermuda Tifton-85 (*Cynodon dactylon*) emurchecido pelo período de 4 horas, Diepersloot *et al.* (2022) encontraram aumento no teor de MS (de 276 para 447,8 g/kg MS), na concentração de CS (de 12,1 para 15,6 g/kg MS), e redução nas concentrações de ácido láctico (27,3 para 15,7 g/kg MS), ácido butírico (10,0 g/kg para 6 g/kg MS) e N-NH<sub>3</sub> (125 para 43 g/kg MS) na silagem emurchecida em comparação com a silagem não emurchecida. Entretanto, Carvalho *et al.* (2008) emurcheceram o capim-Elefante (*Pennisetum purpureum Schum*) a campo durante oito horas, e encontraram aumento do teor de MS (200 vs. 278 g/kg MS). Aumento na concentração de CS (100 vs. 17,8 g/kg MS), ácido láctico (22,3 vs. 24,9 g/kg MS) e redução na concentração de N-NH<sub>3</sub> (29,0 vs. 25,9 g/kg MS). O emurchecimento do capim-Elefante possibilitou a produção de silagem com boas características fermentativas

Com o intuito de avaliar o período de emurchecimento nas características das gramíneas estrela-africana-branca (*Cynodon plectostachyus*) e Tifton-85 (*Cynodon sp.*) Quaresma *et al.* (2010) emurchecerem essas duas forragens a campo por 1, 2, 3 e 4 horas. Para o capim-Estrela obtiveram teor de MS de 324,1; 338,3, 415,7 e 441,8 g/kg MS enquanto para o Tifton-85 encontraram 375,2; 389,5; 397,1 e 405,4 g/kg MS para os respectivos tempos de emurchecimento. Já a concentração de amônia para o capim-estrela variou de 111,0; 89,3; 70,7 e 57,0 g/kg MS enquanto para o tifton-85 variou de 68,3; 54,7; 79,7 e 70,0 g/kg MS. Lira Júnior *et al.* (2018) investigaram as características do capim-Elefante submetido a diferentes períodos de emurchecimento, que foram quatro, seis e oito horas. Os teores de MS encontrados foram de 248,4, 227,0 e 226,2 g/kg MS, respectivamente. Não foram observadas variações significativas nos teores de proteína bruta, que foram de 74,9, 78,7 e 77,7 g/kg MS. Quanto aos valores de N-NH<sub>3</sub>, foram registrados 84,9; 86,3 e 93,3 g/kg MS respectivamente.

Coletivamente, estes estudos sugerem ser tecnicamente plausível a adoção da técnica do emurchecimento em gramíneas tropicais destinadas à ensilagem. A disponibilidade de maquinários e a adequação das nuances do processo devem contribuir para adoção desta prática de forma mais ampla.

### *Efeito da adição de absorvente de umidade na fermentação de silagens*

O uso de aditivos absorventes de umidade representa uma das estratégias capazes de aumentar o teor de MS durante a produção de silagens de gramíneas tropicais, como alternativa ao emurchecimento, visando minimizar a perda de MS e geração de efluentes. Incorporar ingredientes ricos em açúcares solúveis (e.g., melaço) em forragens tropicais com baixo teor de MS e açúcar limitado, é uma maneira de aprimorar a fermentação da silagem (Nishino *et al.*, 2011; Bernardes *et al.*, 2013). Alimentos de qualidade, como grãos e seus derivados, como farelo de milho ou sorgo, farelo de arroz, farinha de mandioca, polpa cítrica e outros similares, podem ser empregados como aditivos na produção de silagem, pois além de incrementar o teor de MS, oferecem substratos para os microrganismos durante a fermentação (Kung *et al.*, 2003).

De acordo com Woolford (1984), o volume de efluente gerado durante o processo de ensilagem apresenta relação inversa com o teor de MS do material a ser ensilado. No entanto, o grau de compactação e a condição da forragem também são fatores significativos que influenciam a produção de efluente. Aguiar *et al.* (2000) realizaram um estudo com o objetivo de analisar a produção de efluente e as perdas por gases em silagens de capim-Tanzânia com três diferentes tamanhos de partícula e em três níveis de adição de polpa cítrica como aditivo (50, 100 e 150 g/kg). Eles observaram que a inclusão deste aditivo resultou em redução tanto das perdas por efluente quanto das perdas totais de MS. De maneira semelhante, Igarasi (2002) investigou a produção de efluente em silagens de capim-Tanzânia, utilizando dois diferentes tamanhos de partícula, e adicionando polpa cítrica peletizada, pré-secada e inoculada, em duas épocas do ano (verão e inverno). O autor observou que a presença de polpa cítrica peletizada contribuiu para elevar os teores de MS e resultou na diminuição das perdas de líquido lixiviado.

Ribeiro *et al.* (2009) realizaram um estudo adicionando casca de soja ou polpa cítrica peletizada à ensilagem de capim-Marandu com o objetivo de avaliar o valor nutritivo, o perfil fermentativo e as perdas de silagem. A inclusão de 100 g/kg de polpa cítrica ou casca de soja peletizada resultou em aumento do teor de MS (294 e 289 g/kg MS, respectivamente), o que contribuiu para a redução da produção de efluente (5,0 kg/t MN e 4,9 kg/t MV, respectivamente), perdas por gases (24 e 79 g/kg MS) e aumentou a concentração de ácido lático (57,8 e 15,5 g/kg MS), a recuperação de MS (971 e 916 g/kg MS) e a digestibilidade *in vitro* (591 e 584 g/kg MS) respectivamente.

Ávila *et al.*, (2022) avaliaram a adição de casca de soja e resíduos do processamento de milho (100 g/kg MS) na silagem de Tifton-85 sobre a qualidade nutricional e a

população microbiana. Como esperado, a inclusão de subprodutos elevou os teores de MS (294 e 310 g/kg MS) e resultou em menores valores de pH (5,54 e 3,56), N-NH<sub>3</sub> (79,0 e 22,1 g/kg N), contagens de enterobactérias (4,17 e 0,50 UFC/g MN) e clostrídios (7,17 e 5,94 UFC/g MN), e maior contagem no número de bactérias do ácido lático (7,19 e 5,84 UFC/g MN). Entretanto, a recuperação de MS não foi influenciada pela adição dos subprodutos (956 e 988 g/kg MS) respectivamente.

Dantas *et al.* (2014) investigaram os efeitos da adição de casca de soja ao capim-Braquiária decumbens em diferentes níveis (100, 200, 300 e 400 g/kg) sobre as perdas de nutrientes por gases e efluentes, a recuperação de nutrientes, os parâmetros fermentativos e químicos das silagens. Os resultados mostraram aumento nos teores de MS, proteína bruta, fibra insolúvel em detergente ácido e nutrientes digestíveis totais com a inclusão da casca de soja. Além disso, foi observado menor teor de N-NH<sub>3</sub> e maior recuperação de MS em comparação com a silagem controle, refletindo em menor perdas de gases e efluentes.

Embora substâncias ricas em fibras, como palha e feno, sejam altamente absorventes, sua adição à silagem pode reduzir significativamente a qualidade nutricional. Por outro lado, a adição de grãos moídos pode melhorar tanto a qualidade nutricional quanto a fermentativa da silagem, embora a eficácia na redução de efluentes possa variar (Jones e Jones, 1995). Estudos mostraram que materiais como jornais, bentonita e polímeros de amido não são eficazes na redução de efluentes (Fransen e Strubi, 1998). Já em relação aos grãos quebrados, pode ser necessário aumentar a taxa de adição para reduzir a produção de efluentes, e pode resultar em custos mais altos. Portanto, é essencial selecionar absorventes eficientes que não apenas melhorem a qualidade da fermentação, mas, reduzam efetivamente a produção de efluentes (Yin *et al.*, 2021).

Por fim, a capacidade dos absorventes de umidade em minimizar as perdas durante a fermentação é dependente da dose, e a dose necessária é linearmente aumentada com o teor de umidade do capim. A adoção de subdoses de absorventes de umidade não resulta em fermentação adequada, apesar de reduzir a quantidade de efluente. Embora completamente indesejável, a perda de MS via efluente tem sido super enfatizada no processo de produção de silagens de capins tropicais.

Em muitos casos, a quantidade de absorvente de umidade necessária é elevada, o que pode tornar a dieta inadequada em termos de oferta de nutrientes (com base na MS) e de custo, a depender da categoria animal a ser suplementada. Outro desafio é garantir distribuição uniforme na forragem picada, especialmente em grandes operações. A falta

de uniformidade resultará em silagens heterogêneas, especialmente em relação ao perfil fermentativo e à qualidade higiênico sanitária.

### *USO DE ADITIVOS EM SILAGENS DE CAPINS TROPICAIS*

Assegurar a qualidade máxima da silagem, desde sua produção até a alimentação dos animais, é um dos desafios mais significativos enfrentados por produtores de leite e carne bovina no mundo. Isso demanda um gerenciamento meticuloso para minimizar as perdas de MS, desde a colheita até o momento da alimentação (Auerbach e Nadeau, 2019). Além dos princípios convencionais de produção de silagem, o emprego de aditivos emergiu como ferramenta estratégica essencial na gestão eficiente da produção de silagem (Kung Jr. *et al.*, 2003).

Os aditivos para silagem podem ser empregados para aprimorar a fermentação em silagens com baixo teor de MS (i.e., inibir fermentação butírica) ou com altos teores de carboidratos (i.e., inibir fermentação etanólica), e/ou melhorar a preservação dos nutrientes no pós-abertura (i.e., reduzir a deterioração aeróbia) (Kung Jr. *et al.*, 2003). No caso das silagens de capins tropicais com alta umidade, melhorar a fermentação via inibição de microrganismos indesejáveis é prioridade na escolha de aditivos.

#### *Efeito de inoculantes na conservação de silagens de capins tropicais*

Os principais objetivos de utilizar inoculantes em silagens de gramíneas são minimizar o desenvolvimento de bactérias do gênero *Clostridium* e melhorar o valor alimentício e higiênico da silagem (Driehuis *et al.*, 2001). Inoculantes microbianos à base de BAL são os mais utilizados, e tais produtos são classificados em bactérias homofermentativas e heterofermentativas, ou a combinação de ambos (combo). As BAL homofermentativas mais utilizadas nas silagens estão *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* e *Pediococcus spp.*, e são adicionadas às silagens para aprimorar o processo de fermentação. Quando as BAL conseguem competir com as demais espécies, elas são eficientes na utilização de CS presentes nas gramíneas, promovem rápida queda do pH no início da fermentação pela maior produção de ácido láctico, reduzem a proteólise e a produção de ácido acético, ácido butírico e etanol, resultando em maior recuperação de energia e MS (Kung Jr. *et al.*, 2003). Já as BAL heterofermentativas utilizam ácido

lático e CS como substratos para produção de ácido acético e ácido propiônico, que são eficazes no controle de fungos em condições de baixo pH (Muck *et al.*, 2018).

Alguns trabalhos foram realizados para avaliar os efeitos de inoculantes microbianos em silagens de capins tropicais, e os resultados foram variados. Ribeiro *et al.* (2009) investigaram a adição de um aditivo contendo *Lactobacillus plantarum* ( $1,0 \times 10^5$  UFC/g de forragem fresca) e *Pediococcus acidilactici* ( $3,0 \times 10^4$  UFC/g de forragem fresca) na silagem de capim-Braquiária cv. Marandu. Eles relataram aumento no teor de MS e ácido lático, bem como redução no pH das silagens. A combinação dessas cepas resultou em silagens com menor teor de amônia e menores perdas por gases (85 para 24 g/kg MS), aumentando a recuperação de MS (905 para 963 g/kg MS) e resultando em maior digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (561 para 583 g/kg MO).

Zopollatto *et al.* (2009) compilaram dados de 15 estudos envolvendo silagem de capins tropicais inoculados com aditivos microbianos. Desses estudos, 12 avaliaram inoculantes exclusivamente à base de bactérias homofermentativas, dois trabalhos contendo tanto bactérias heterofermentativas como a associação de hetero mais homofermentativas, e um outro artigo avaliou tratamentos contendo bactérias homofermentativas isoladas ou a combinação de hetero mais homofermentativas. As doses utilizadas dos inoculantes à base de bactérias homofermentativas variaram entre  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^{11}$  UFC/g de forragem, no caso das heterofermentativas foi de  $5 \times 10^4$  UFC/g de forragem, e para a presença de ambas foi de  $1,5 \times 10^5$  UFC/g de forragem. As silagens tratadas com bactérias homofermentativas mostraram aumento de +6,4% na recuperação de MS em relação a silagem não tratadas. O pH das silagens foi reduzido em média em -3,8%. Já nas silagens de capins tratadas com bactérias heterofermentativas apresentaram redução de -1,0% na recuperação de MS. Nas silagens tratadas com a combinação de bactérias hetero e homofermentativas, os valores médios de pH aumentaram em +1,7% e a recuperação de MS foi incrementada em +1,6%. Os autores reportaram que a principal limitação para conservar gramíneas tropicais é decorrente dos baixos teores de CS, que nos trabalhos avaliados foi em média de 16 g/kg MS, e que poderiam limitar a ação de bactérias, independentemente da população epifítica da forragem. Outro fator que merece destaque é a menor capacidade de competição das BAL em forragens com alta umidade (Popednov *et al.*, 1997; Pahlow e Weissbach, 1999).

Santos *et al.*, 2014 investigaram como o intervalo de rebrota (35, 45, 55 e 65 d) e a adição de inoculante microbiano (*Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici* e *Lactobacillus plantarum*, com taxa de aplicação de 100.000 UFC/g de forragem fresca)

em capim-Mombaça. O teor de MS da forragem variou de acordo com a idade de rebrota (197; 199,1; 205 e 251 g/kg MS), assim como a concentração de CS (37,5; 46,8; 51,2 e 58,5 g/kg MS). Neste estudo o uso do inoculante reduziu os valores de pH em todos os intervalos de rebrota e apresentou comportamento semelhante para o teor de N-NH<sub>3</sub>, exceto na silagem de forragem colhida aos 65 d. Ainda, a inoculação resultou em aumento na produção de ácido láctico nas silagens colhidas com 35, 45 e 55 d, e redução na concentração de ácido butírico em todas as silagens, exceto na silagem de forragem colhida aos 65 d. Os níveis mais altos de ácido láctico e os valores mais baixos de pH e N-NH<sub>3</sub> em silagens de plantas colhidas, em intervalos de rebrota mais longos com adição de inoculante microbiano, indicam fermentação melhor em comparação com silagens de plantas mais jovens. Este efeito ainda pode ser atribuído aos níveis mais altos de MS e CS observados neste estudo. Além dessas variáveis, as perdas por produção de gás diminuíram com o aumento do intervalo de rebrota, e níveis mais baixos de produção de gás foram observados nas silagens inoculadas em todos os intervalos de rebrota. A recuperação de MS aumentou com o prolongamento do intervalo de rebrota; o aumento estimado foi de 0,1714 e 0,1558 unidades por dia de rebrota em silagens inoculadas e não inoculadas, respectivamente. Em todos os intervalos de rebrota, as silagens tratadas com inoculante apresentaram os maiores níveis de recuperação de MS.

Outras pesquisas também encontraram níveis mais baixos de pH e N-NH<sub>3</sub> em silagens de capim-Pangola (*Digitaria eriantha*) tratadas com inoculantes microbianos em comparação com controles não inoculados. Patrizi *et al.* (2004) avaliaram os efeitos de três tipos de inoculantes em silagens de capim-Elefante (*Pennisetum purpureum Schum*) e observaram que o pH foi reduzido apenas com inoculantes contendo *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*. No entanto, pesquisas conduzidas por Paziani *et al.* (2006) em silagem de capim-Tanzânia (*Panicum maximum cv. Tanzânia*) não mostraram impacto da adição de inoculantes microbianos no pH ou nos níveis de nitrogênio amoniacal. Diversos fatores podem explicar a ausência de efeito dos inoculantes microbianos no perfil fermentativo das silagens, como a população nativa de bactérias ácido-láticas e os níveis de CS e MS da forragem.

Em um compilado de dados, Oliveira *et al.* (2017) analisaram os impactos da inoculação com BAL homofermentativas na qualidade das silagens. A inoculação com BAL ( $\geq 10^5$  UFC/g) resultou em melhoria significativa na recuperação de MS nas silagens inoculadas. Em silagens de gramíneas tropicais, a inoculação com BAL homofermentativas resultou em redução de pH, crescimento de clostrídios e fungos,

produção de ácido butírico e N-NH<sub>3</sub>, enquanto aumentou a concentração e recuperação de MS (+28,9 g/kg MS comparado ao controle). Taxas de inoculação de 10<sup>5</sup> ou 10<sup>6</sup> UFC/g promoveram maior recuperação de MS enquanto taxas ≤10<sup>4</sup> UFC/g resultaram em menor recuperação de MS. As doses de 10<sup>5</sup> ou 10<sup>6</sup> UFC/g também reduziram a concentração de N-NH<sub>3</sub>. Por outro lado, a inoculação com ≤10<sup>4</sup> UFC/g elevou a concentração de N-NH<sub>3</sub> e diminuiu a concentração de acetato, embora com menor intensidade em comparação às doses de 10<sup>5</sup> ou 10<sup>6</sup> UFC/g. Com isso, os autores concluíram que a inoculação da silagem com BAL homofermentativas (com taxa de aplicação ≥ 10<sup>5</sup> UFC/g) melhorou significativamente a fermentação da silagem e aumentou a recuperação de MS em gramíneas tropicais.

Recentemente, uma meta-análise conduzido por Arriola *et al.* (2021) revelou que a aplicação de *L. buchneri*, isoladamente ou em combinação com bactérias homoláticas ou heteroláticas obrigatórias, em silagens de capins tropicais resultou em diminuição do pH das silagens, aumento da concentração de ácido láctico e a melhoria na recuperação de MS (+68,7 g/kg MS em relação a silagem controle). No entanto, a aplicação de *L. buchneri* não teve impacto significativo na população microbiana de leveduras, nem na estabilidade aeróbica das silagens. A ausência de uma resposta consistente na estabilidade aeróbica das silagens de gramíneas tropicais pode ser atribuída ao número limitado de observações (apenas seis), a alta variação nas respostas e, principalmente, aos baixos níveis de substrato disponível para que o *L. buchneri* converta em acetato.

#### *Efeito de aditivos químicos na conservação de silagens de capins tropicais*

Os aditivos químicos são compostos por ácidos e/ou sais. Entre os ácidos presentes estão o ácido fórmico, sórbico, benzoico, propiônico e acético. O ácido fórmico, dependendo da taxa de aplicação, pode promover acidificação direta e suprimir o crescimento de bactérias indesejadas, melhorando a preservação da silagem. Entretanto, nas composições de aditivos à base de ácido fórmico tamponado, sua ação é devida ao íon formato (i.e., ação molecular específica). Já os ácidos sórbico, benzoico, propiônico e acético contribuem para a estabilidade aeróbica da silagem durante a alimentação, inibindo diretamente o crescimento de leveduras e bolores (Auerbach *et al.*, 2012). Além do ácido sórbico, outros compostos como ácido láctico, ácido benzóico, nitrito de sódio, hexamina também possuem efeitos inibitórios sobre algumas bactérias, como os clostrídios (Woolford, 1975).

Os sais, como formato de cálcio, formato de sódio, formato de amônio, nitrito de sódio e hexametenotetramina (hexamina), auxiliam na fermentação da silagem, suprimindo o crescimento de bactérias indesejáveis, como os clostrídios. Já os sais benzoato de sódio, sorbato de potássio, propionato de amônio, propionato de cálcio, propionato de sódio e acetato de sódio atuam na inibição de leveduras e bolores, liberando seus respectivos ácidos na silagem e melhorando sua estabilidade aeróbica (Auerbach *et al.*, 2012).

Em silagens de culturas com alta concentração de proteína e CT, especialmente se ensiladas com baixos níveis de MS, o risco de fermentação por clostrídios é mais pronunciado. A atividade destes microrganismos indesejáveis resulta em perdas significativas de MS, proteólise evidenciada por altas concentrações de N-NH<sub>3</sub> e a formação de aminas biogênicas (Auerbach e Nadeau, 2019).

Historicamente, o ácido fórmico tem sido o aditivo químico mais significativo para aprimorar a fermentação, com numerosos estudos destacando os efeitos positivos na fermentação de silagens e conseqüentemente no desempenho animal (Haigh e Parker, 1985; Steen, 1990; Nadeau *et al.*, 2000a; Nadeau *et al.*, 2000b; Broderick *et al.*, 2007). Apesar de ainda ser amplamente utilizado no norte da Europa, o ácido fórmico enfrenta desafios por causa da natureza corrosiva em metais e na pele/olhos. Como alternativa, o tamponamento parcial com amônia ou sódio ganhou popularidade, muitas vezes combinado com outros produtos químicos, como ácidos propiônico e benzoico. No entanto, essa melhoria nas propriedades de manuseio vem com custo: a eficácia é comprometida, exigindo taxas de aplicação mais altas em comparação com o ácido fórmico puro (Randby, 2000). Pensando nas limitações associados ao uso de produtos à base de ácido fórmico, uma solução combinada de nitrito de sódio e hexametenotetramina foi introduzida no mercado da Alemanha Oriental na década de 1980 (Auerbach e Nadeau, 2019).

Tanto os aditivos à base de ácido fórmico/ácido propiônico quanto os aditivos à base de sais que incluem nitrito em diversas misturas com hexamina, benzoato, sorbato e propionato têm demonstrado eficácia na diminuição do número de esporos de clostrídios e diminuição das concentrações de ácido butírico e N-NH<sub>3</sub> em variedade de forragens que diferem na capacidade de fermentação (Auerbach *et al.*, 2016; König *et al.*, 2018, Gomes *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2023). Além do perfil fermentativo, tanto o benzoato de sódio quanto o sorbato de potássio são aditivos alimentares amplamente utilizados que

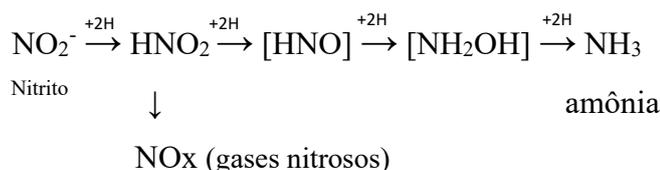
demonstraram eficácia na inibição do crescimento de leveduras e bolores (Wolford, 1975) e na promoção da estabilidade aeróbica em silagens (Lingvall e Lattemae, 1999).

### *Nitrito de sódio*

O nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ) é uma substância com propriedades bacteriostáticas e bactericidas, sendo sua função principal a inibição de bactérias indesejáveis, especialmente em ambientes com baixo pH (Wolford, 1975). Sua ação antimicrobiana é atribuída à geração de óxido nítrico (NO), peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) e ácido peroxinitroso ( $\text{ONOOH}$ ), substâncias oxidantes fortes *in vivo* (Majou e Christieans, 2018). Esses compostos oxidam zinco, tióis proteicos, lipídios de membrana, cisteína e arginina, além de interferir na síntese de proteínas ferro-enxofre e nas bases de DNA, resultando em danos ao DNA e consumo de  $\text{NAD}^+$  e ATP. Nos clostrídios, o sistema fosforoclástico é fundamental para a produção de ATP e depende das enzimas ferro-enxofre, como ferredoxina e piruvateferredoxina oxidoredutase. O óxido nítrico inibe essas enzimas, comprometendo a atividade dos clostrídios (Carpenter *et al.*, 1987; Majou e Christieans, 2018).

Como aditivo de silagem, o nitrito é frequentemente utilizado em combinação com pelo menos um ingrediente ativo adicional (e.g. formato, hexamina ou benzoato). Nessas misturas, o nitrito de sódio atua inibindo seletivamente os microrganismos indesejáveis nas fases iniciais da fermentação, enquanto os demais componentes exercem ação nas fases posteriores, impedindo a formação de ácido butírico durante o período de armazenamento (Lück, 1985; Auberbach e Nadeau, 2019).

Em condições de acidez fraca, o ácido nítrico é liberado por hidrólise do nitrito, o qual é convertido para formar óxidos nítricos (NO e  $\text{NO}_2$ ). Em seguida, esses compostos penetram nos espaços vazios da massa de silagem, principalmente o NO, prevenindo o desenvolvimento de clostrídios (Lück, 1985). Dessa forma, os esporos de clostrídios presentes na massa ensilada são destruídos (mortos) e, conseqüentemente, a formação de ácido butírico é suprimida (Reuther e Weissbach, 1989).



**Figura 1.** Reações de redução de nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ).

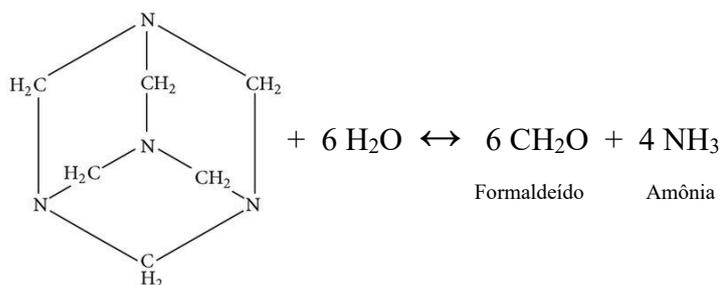
De acordo com Weissbach (2010), durante o processo de fermentação, essas substâncias ativas são degradadas. Dependendo das condições estabelecidas no silo, como porosidade, intensidade de fermentação e vedação, parte dos óxidos nítricos formados pode escapar para o ambiente. Tanto a produção como a liberação de óxido nítrico são normais e típicas da degradação microbiana do nitrito nas silagens, que ocorre se a forragem fresca contiver nitrato em sua composição. Assim, a quantidade de óxidos nítricos provenientes do nitrito de sódio adicionado e que escapam do silo é baixa, quando comparada com a produção desses gases em forragens ensiladas ricas em nitrato. Como um dos modos de ação do nitrito de sódio é servir como acceptor de hidrogênio e elétrons para as bactérias, ele é reduzido a amônia.

Portanto, silagens com adição de nitrito poderiam apresentar níveis ligeiramente aumentados de amônia, que não derivam da degradação de proteínas, mas sim da redução de nitrito. Alguns estudos têm demonstrado que a decomposição do nitrito adicionado à amônia é rápida e pode ocorrer principalmente nos primeiros dias da fermentação, podendo ser concluída até duas semanas após o início da mesma (Weissbach *et al.*, 1977, Zwierz e Weissbach, 1989a e b). Como a atividade de microrganismos proteolíticos é diminuída por este aditivo, as silagens tratadas frequentemente apresentam menor teor de N-NH<sub>3</sub>.

O curso da fermentação é positivamente afetado pela ação do nitrito, visto que na presença de óxidos nítricos, as enterobactérias produzem ácido acético em vez de etanol, assim como as bactérias ácido lácticas heterofermentativas, que, além do ácido láctico, produzem ácido acético em detrimento do etanol (Weissbach, 1996).

#### *Hexametenotetramina (hexamina)*

A hexamina (hexametenotetramina) é uma molécula bacteriostática, e em condições ácidas decompõe-se gradualmente em dois compostos químicos simples (formaldeído e amônia). O formaldeído interage com as proteínas e prejudica as enzimas dos microrganismos, reduzindo a degradabilidade das proteínas ao formar ligações cruzadas entre as cadeias proteicas. Além disso, possui propriedades antimicrobianas, inativando certas macromoléculas, como proteínas e ácidos nucleicos. Esse efeito do formaldeído não é específico entre os microrganismos (Woolford, 1975; König *et al.*, 2018).



**Figura 2.** Decomposição da molécula de hexametenotetramina ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_4$ ) em formaldeído e amônia.

Segundo Reuter *et al.*, (1989) em condições ácidas a amônia é neutralizada por ácidos e o equilíbrio da reação é mantido pela decomposição adicional da hexamina. Já no ambiente de silagem, esse processo será desencadeado com o início da produção de ácido láctico. Assim, a ação antimicrobiana da hexamina é causada pela liberação de quantidades mínimas de formaldeído na fase líquida da silagem, pois representa uma fonte duradoura com liberação lenta, mesmo durante longos períodos de armazenamento. Portanto, é possível prevenir a formação de ácido butírico em situações em que o pH está ligeiramente acima do nível crítico (Weissbach, 1989).

O formaldeído que é liberado durante o processo de decomposição da hexamina, reage imediatamente com as proteínas e liga-se a elas. A modificação química que resulta da proteína é o princípio da ação antimicrobiana do formaldeído. Certas enzimas são inativadas, e faz com que os microrganismos sejam incapazes de sobreviver (Auerbah e Nadeau 2012).

A hexamina presente na silagem, quando ingerida pelo animal, é absorvida pelo intestino e mais tarde eliminada através da urina. Se a hexamina for decomposta no estômago pela ação do ácido clorídrico, o produto resultante, formaldeído, é prontamente absorvido pelo intestino e imediatamente liga-se aos glóbulos vermelhos, e é enzimaticamente oxidado a ácido fórmico (Lück, 1985). Efeitos adversos na qualidade do leite ou mesmo a ocorrência de formaldeído no leite não são esperados do ponto de vista bioquímico. Esta suposição foi apoiada e substanciada por estudos realizados em animais e o risco de transferência de formaldeído para o leite pode ser descartado (Zwierz e Weissbach, 1989a e b). A quantidade de hexamina residual na silagem é sempre muito baixa (geralmente inferior a 10 ppm), quando comparada com a concentração adicionada (Weissbach, 2010).

Zwierz e Weissbach, (1989a e b) conduziram experimentos na década de 1980 para avaliar o risco de transferência de formaldeído da silagem para o leite. Um grupo de animais foi alimentado com silagem não tratada (sem adição dos aditivos químicos), enquanto o segundo grupo recebeu silagem com adição de nitrito de sódio e hexamina, de modo que a ingestão diária de formaldeído fosse equivalente a 330 mg/vaca/dia. Durante o período de 30 d, não foram observadas diferenças entre os grupos (controle e tratado) no teor de formaldeído no leite. Surpreendentemente, os animais que receberam a silagem controle, também apresentaram valores positivos de formaldeído (0,3 ppm).

Em outro experimento conduzido pela mesma equipe, utilizando vacas fistuladas, os aditivos (nitrito de sódio e hexamina) foram infundidos diretamente no rúmen durante 5 horas por dia, em doses de 2, 6, 10 e 20 g/vaca/dia, por 5 d consecutivos. Em seguida, amostras de leite foram coletadas de duas ordenhas (manhã e tarde) e analisadas quanto aos teores de formaldeído e N-nitrosamina. Não foi observado aumento na concentração de formaldeído no leite, mesmo quando foi infundida a dose de 20 g/vaca/dia de formaldeído. Todas as amostras apresentaram apenas traços de formaldeído (0,4 ppm). Também, não foi detectada a transferência de N-nitrosamina para o leite, mesmo quando foi infundida a dose de 300 g/vaca/dia de N-nitrosodimetilamina.

O objetivo da associação de nitrito e hexamina é proteger todas as etapas do processo de fermentação. Enquanto o nitrito atua nas fases iniciais do processo fermentativo, o formaldeído, derivado da hexamina, possui propriedades antimicrobianas após a redução do pH (Hellberg, 1967, Auerbach e Nadeau, 2019). A combinação de nitrito de sódio e hexamina visa aprimorar a qualidade da silagem em comparação com o uso isolado do nitrito de sódio, e alguns estudos indicaram efeito sinérgico entre hexamina e nitrito de sódio na qualidade da fermentação, nas perdas de MS e na contaminação por clostrídios, bem como na presença de resíduos de ingredientes ativos na silagem e a transferência para o leite (Hellberg, 1967; Weissbach, 2010; Auerbach e Nadeau, 2019).

Vale ressaltar que essa combinação de aditivos tem sido amplamente utilizada em gramíneas temperadas (Knicky e Lingvall, 2004; Knicky e Sporndly 2009; Auerbach *et al.* 2016; Auerbach e Nadeau, 2018a, b). Somente recentemente, pesquisadores do Brasil avaliaram a eficácia da combinação de nitrito de sódio e hexamina em gramíneas tropicais. Gomes *et al.* (2021) examinaram a aplicação de nitrito de sódio (1 g/kg) e hexamina (0,65 g/kg) (3 L/t) no capim-Mombaça (*Megathyrsus maximus* cv. Mombaça) colhido aos 45 d de rebrota. A forragem apresentou teor de MS de 247 g/kg, concentração de CS igual a 44 g/kg MS, CT de 43,9 g/kg de MS, concentração de nitrato de 0,173 g/kg de MS e CF

igual a 340. As silagens foram armazenadas pelo período de 101 d. A adição do aditivo NH foi eficaz em limitar o crescimento de clostrídios (4,43 vs. 2,51 UFC/g), resultando em menores concentrações de N-NH<sub>3</sub> (251 vs. 70,6 g/kg N), ácido butírico (16,9 vs. 2,0 g/kg MS), redução nas perdas de MS (119 vs. 48,1 g/kg MS) e perdas por gases (90,9 vs. 46,0 g/kg MS) em comparação com a silagem controle. Além disso, a qualidade da proteína (64,2 vs. 78,2 g/kg MS) e a qualidade higiênica, refletida por menores contagens de *Clostridium*, foram melhoradas. A digestibilidade *in vitro* da MS aumentou com a adição de NH (562 vs. 608 g/kg MS).

Moraes *et al.* (2023) estudaram o impacto de duas maturidades do capim-Mombaça (5 e 10 semanas de rebrota) e duas doses de aditivo químico: dose baixa de nitrito de sódio (0,5 g/kg) + hexamina (0,325 g/kg) (NHB) e dose alta (1 g/kg de nitrito de sódio + 0,65 g/kg de hexamina) (NHA). A forragem colhida com 5 semanas apresentou teor de MS de 232 g/kg, concentração de CS igual a 17,5 g/kg MS, CT de 43,1 g/kg de MS, concentração de nitrato de 2,53 g/kg de MS e CF igual a 264 g/kg. Já a forragem colhida com 10 semanas apresentou teor de MS de 281 g/kg, concentração de CS de 19,0 g/kg de MS, CT de 44,0 g/kg de MS, concentração de nitrato de 1,69 g/kg de MS e CF igual a 315 g/kg. O capim-Mombaça, colhido após 10 semanas, mostrou menor teor de proteína bruta (71,9 vs. 128 g/kg MS) e maior teor de componentes da parede celular, resultando em massa mais lignificada (83,6 vs. 51,6 g/kg MS) e menos digestível (519 vs. 655 g/kg MS) do que a colhida de 5 semanas. Após 90 d de armazenamento, as silagens foram analisadas. Em ambos os estágios de maturidade, o pH da silagem e os produtos da fermentação associados ao metabolismo dos clostrídios (ácido butírico, ácido propiônico, ácido iso-butírico, ácido iso-valérico, ácido valérico, amônia e 2,3-butanodiol) diminuíram com a aplicação do aditivo, apresentando melhora significativa nas silagens de 5 semanas do que as de 10 semanas. A aplicação do aditivo reduziu a perda de MS da silagem de 5 semanas (95,2; 46,7 e 20,6 g/kg de MS) e de 10 semanas (66,5; 31,7 e 13,6 g/kg de MS). No entanto, somente as silagens tratadas com NHA apresentaram concentração de ácido butírico < 3 g/kg de MS. A adição do aditivo aumentou a concentração de CS nas silagens de 5 semanas (35,1; 33,9; 39,5 g/kg de MS) e 10 semanas (34,9; 32,5; 53,2 g/kg de MS) e a digestibilidade *in vitro* da MS nas silagens de 5 semanas (601; 647; 659 g/kg de MS) e 10 semanas (460; 480; 494 g/kg de MS). Os autores concluíram que a aplicação de nitrito de sódio e hexamina em dose regular (NHA) foi eficaz em restringir o desenvolvimento de *Clostridium* e as perdas de MS durante a fermentação da silagem de capim-Mombaça em ambos os estágios de maturação. No

entanto, a colheita de gramíneas mais maduras comprometeu significativamente a composição química e digestibilidade, inviabilizando a estratégia para reduzir pela metade a dose do aditivo.

*Efeito de dose de aditivo químico inibidor de fermentação butírica frente ao teor de MS da cultura ensilada*

O efeito combinado da mistura à base de nitrito de sódio e hexamina é conhecido há algum tempo, em gramíneas temperadas. Essa mistura foi extremamente eficaz e recomendada na taxa de aplicação de 3L/t de forragem verde (900 g/t de nitrito de sódio + 600 g/t de hexamina). Essa mistura no que diz respeito ao conteúdo de esporos de clostrídio mostrou ser tão eficaz quanto o ácido fórmico na taxa de aplicação de 4 L/t, quando avaliado em material com alto teor de umidade (< 200 g/kg) (Weissbach *et al.*, 1989; Reuter e Weissbach, 1991). Uma série de ensaios foram conduzidos na década de 1980 para avaliar os efeitos dessa mistura (Weissbach *et al.* 1987, 1989, 1990; Reuter e Weissbach 1991), e a maioria das forragens ensiladas eram de corte direto e difíceis de ensilar com base no teor de MS e na razão CS/CT.

Reuter e Weissbach (1989) avaliaram a aplicação de uma mistura contendo nitrito de sódio e hexamina (NH) em diferentes teores de MS na alfafa. A alfafa ensilada sem aditivo resultou em silagens sem ácido butírico apenas na faixa de 400 g de MS por kg, conforme esperado. No entanto, com a adição de NH, esse resultado foi alcançado já com 300 g de MS por kg. Portanto, o grau de emurchecimento necessário pode ser reduzido em pelo menos 100 g de MS por kg ao utilizar este aditivo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Teor de ácido butírico em silagens em relação ao teor de matéria seca e aplicação da mistura de NH em alfafa (CS/CT: 0,6) (Reuter e Weissbach, 1989).

Taxa de aplicação L/t	Teor de matéria seca, g/kg						
	263	289	316	343	370	395	422
	Concentração de ácido butírico, g/kg						
0,0	14,5	16,1	8,9	7,6	2,4	0,8	0,0
2,5	10,9	3,8	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0
3,0	16,0	3,5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
3,5	21,0	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Considerando que a dose de aditivo pode ser manipulada de acordo com as condições da cultura, especialmente o teor de MS, a adoção pode tornar o processo mais

eficiente economicamente e menos dependente das condições climáticas (Weissbach, 1986). Isso permite que a data ideal de colheita da forragem seja mais facilmente respeitada, evitando a perda da qualidade causada pelo longo período de emurchecimento no campo, o qual pode ocasionar perda por respiração, perda de nutrientes, perda de MS e perda física. Tal observação foi confirmada por um estudo subsequente da equipe alemã (Tabela 2).

**Tabela 2.** Efeito combinado de diferentes taxas de aplicação de NH e grau de emurchecimento no teor de ácido butírico em alfafa (n = 3 por tratamento) – ensaio 1 (CS/CT: 0,6) (Weissbach, 2010).

Taxa de aplicação L/t	Teor de matéria seca g/kg						
	244	270	299	327	355	383	410
	Concentração de ácido butírico, g/kg MN						
0,0	6,8	5,1	7,3	2,5	0,1	0,0	0,0
1,5	6,3	1,2	1,1	0,2	0,0	0,0	0,0
2,0	4,1	1,2	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
2,5	3,9	0,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
3,0	2,7	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3,5	0,7	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Os resultados apresentados nas tabelas acima indicam um efeito sinérgico entre o emurchecimento e o uso deste aditivo para silagem. Combinando um leve emurchecimento com a aplicação de aditivos, é possível ensilar até mesmo materiais difíceis, como a alfafa, sem precisar alcançar alto grau de emurchecimento. Um alto grau de emurchecimento geralmente resulta em maiores perdas no campo devido ao tempo prolongado de emurchecimento e à necessidade de espalhamento (Weissbach, 2010). A posteriori, Auerbach e Nadeau (2019) relataram que taxas de aplicação mais baixas (2 L/t; como 600 g/t de nitrito de sódio e 400 g/t de hexamina) já melhoraram a fermentação da silagem. No entanto, o uso de uma taxa mais alta resultou consistentemente em maior redução na concentração de ácido butírico e em maior frequência de silagens sem ácido butírico em 21 ensaios.

Em capins tropicais, Gomes *et al.* (2021) utilizaram a mistura de NH na taxa de 3 L/t em silagem de capim-Mombaça com teor de MS de 247 g/kg e CF de 340 g/kg e observaram concentrações de ácido butírico inferiores a 3 g/kg MS (1,95 g/kg). Por outro lado, Moraes *et al.* (2023) aplicaram a mesma combinação de aditivos na taxa de 2 L/t e 3 L/t em capim-Mombaça colhido após 5 semanas (232 g/kg MS) e após 10 semanas (282 g/kg MS). Em comparação com as silagens controle (sem aditivo), a dose mais baixa foi

eficiente em reduzir a concentração de ácido butírico na silagem de 5 semanas (10,6; 4,64 e 1,94 g/kg MS) e 10 semanas (6,95; 3,57 e 1,19 g/kg MS) comparada a silagem controle. Tanto a taxa de aplicação baixa quanto a alta, resultou em menor contagens de clostrídio (5,55; 5,09 e 3,50 UFC/g – 5 semanas rebrota) e (5,20; 4,93 e 3,22 UFC/g – 10 semanas rebrota), teor de N-NH<sub>3</sub> (403; 144 e 48,3 g/kg MS – 5 semanas rebrota) e (363; 101 e 19,1 g/kg MS – 10 semanas rebrota) e consequentemente maior recuperação de MS (827; 941 e 985 g/kg MS – 5 semanas de rebrota) e (824; 895 e 937 g/kg MS). No entanto a aplicação de 3L/t sobre a forragens apresentou efeito mais marcantes sobre as variáveis analisadas.

### *Efeito da substituição da hexamina por outros produtos químicos*

Na Europa, o nitrito de sódio tem sido amplamente utilizado como aditivo para silagem pela forte capacidade de inibir clostrídios. No entanto, como o nitrito de sódio é rapidamente convertido em óxidos nítricos e amônia durante a fase inicial de fermentação, ele é aplicado em combinação com outros produtos químicos que impedem o crescimento de clostrídios nas etapas posteriores do processo fermentativo e apresentem efeito estimulante sobre as bactérias do ácido láctico para garantir a qualidade higiênica da silagem (Auerbach *et al.*, 2016). Esses produtos químicos podem incluir hexametilenotetramina, benzoato de sódio, sorbato de potássio, propionato de sódio, ácido propiônico e formato de sódio (Bader, 1997).

A hexamina, utilizada como aditivo em silagens, tem sido alvo de diversas críticas e preocupações. A EFSA publicou avaliações detalhadas sobre os riscos associados ao uso de hexamina em alimentos para animais. De acordo com um relatório da EFSA de 2014, uma das principais preocupações é que a hexamina pode decompor-se em formaldeído e amônia, substâncias potencialmente tóxicas. O formaldeído, em particular, é conhecido como agente cancerígeno, e levanta questões significativas sobre a segurança do uso de hexamina em alimentos destinados ao consumo animal e humano.

De acordo com os resultados de um estudo em que a hexamina foi medido diretamente na silagem, a concentração de hexamina caiu para um valor abaixo do limite de quantificação de 6 mg hexamina por kg de silagem, equivalente a aproximadamente 10 g/kg do nível de inclusão de hexamina no material de ensilagem fresco. Contudo, o formaldeído não foi mensurado nas silagens (EFSA, 2020). Portanto, a utilização máxima proposta de hexamina como aditivo para silagem (600 mg/kg MN) não aumentaria significativamente a exposição do consumidor ao composto original, ao seu principal

metabólito, o formaldeído, ou à N-nitrosodimetilamina, a nível que representasse risco considerável à saúde do consumidor.

Outra crítica relevante diz respeito aos impactos ambientais do uso de hexamina. Em seu parecer de 2020 a EFSA enfatizou que a decomposição da hexamina em formaldeído pode levar à contaminação do solo e das águas subterrâneas, apresentando riscos ecológicos consideráveis. Porém, espera-se que o uso de hexamina nas concentrações máxima proposta (600 mg/kg MN) como aditivo de silagem não apresente riscos significativos. Além disso, a hexamina pode causar irritação na pele, olhos e membranas mucosas, além de ser um sensibilizante para a pele e sistema respiratório. Durante a abertura do silo, agricultores podem ser expostos a amônia e formaldeído, sendo este último um potente irritante, sensibilizante para a pele e sistema respiratório quando inalado. A combinação de hexamina e nitrito de sódio, conforme utilizada em estudos de eficácia, demonstrou potencial para melhorar a ensilagem da forragem, reduzindo a produção de ácido butírico, a proteólise, o pH e as perdas de MS. Contudo, devido à escassez de dados disponíveis, o painel da EFSA não pôde concluir sobre a eficácia do hexamina quando utilizado isoladamente. Essas preocupações reforçaram a necessidade de explorar alternativas mais seguras para a conservação da silagem e para a proteção daqueles que manuseiam esse aditivo.

Auerbach *et al.* (2016) avaliou os efeitos de diferentes aditivos contendo nitrito de sódio nas perdas de MS e perfil fermentativo de gramíneas temperadas. As forragens *Medicago sativa L.* e *Dactylis glomerata L.* foram emurchecidas durante o período de 24 horas e na sequência os aditivos foram aplicados sobre as forragens. Além da combinação típica de nitrito de sódio e hexamina, outras misturas à base de nitrito de sódio e formato/sorbato ou formato/benzoato foram aplicadas na dose de 3 L/t. Os aditivos reduziram as perdas fermentativas em ambas as espécies forrageiras, sem diferenças significativas entre os tipos de aditivos. As silagens não tratadas apresentaram característica típicas do desenvolvimento de clostrídios, evidenciadas pelas altas concentrações de ácido butírico (93,0 g/kg MS) além dos níveis elevados de amônia (360 g/kg N). Neste estudo, a atividade dos clostrídios foi amplamente limitada pelos aditivos, mantendo as concentrações de ácido butírico abaixo de 3 g/kg de MS, valor considerado limite para a boa qualidade de silagem. A descarboxilação de aminoácidos em aminas biogênicas por clostrídios também foi significativamente reduzida com o uso de aditivos, com valores inferiores às concentrações típicas de menos de 5 g/kg de MS, indicando silagens bem fermentadas. Os autores concluíram que o uso de aditivos contendo nitrito

de sódio, independentemente das substâncias na mistura, proporcionou excelente qualidade de fermentação e reduziu a formação de aminas biogênicas a níveis normais, sugerindo ser viável substituir a hexamina por combinações de formato/sorbato ou formato/benzoato em aditivos para silagem sem comprometer a eficácia na inibição do crescimento de clostrídios.

Mais recentemente uma meta-análise sobre os efeitos dos aditivos contendo nitrito de sódio na qualidade de silagens de forragens temperadas, foi apresentada por Auberbach *et al.* (2023) ao examinarem 12 ensaios com as seguintes gramíneas: *Medicago sativa*, *Dactylis glomerata*, pastagens permanentes e cereal de corte precoce (*Secale cereale*) cultivado como cultura secundária de inverno ou verão e colhido antes do surgimento da inflorescência. As forragens foram ensiladas sem aditivo (controle) ou tratadas com nitrito de sódio e hexamina ou nitrito de sódio e formato de sódio sozinho ou formato e benzoato de sódio ou formato e sorbato de potássio, todos a taxa de aplicação de 2 ou 3 L/t. A combinação desses aditivos melhorou acentuadamente a fermentação da silagem, dado pelas reduções nas concentrações de ácido butírico e N-NH<sub>3</sub> e redução das perdas de MS, sugerindo que foram eficientes em inibir o desenvolvimento de Clostrídios. Além disso, a adição dos aditivos resultou em maiores concentrações de ácido láctico nas silagens, sugerindo a prevenção da degradação anaeróbica do lactato pelos clostrídios, em vez de aumento na atividade das bactérias lácticas. Nesta meta-análise foi observada grande resposta positiva ao uso de aditivos comparado as silagens controle, no entanto não houve variação entre os aditivos. Dessa forma, os autores sugerem que é possível fazer a substituição da hexamina por outros compostos sem comprometer a qualidade da silagem de gramíneas temperadas. Até o momento não há registro na literatura sobre os efeitos da substituição da hexamina por outro aditivo em gramíneas tropicais.

#### *POTENCIAIS BENEFÍCIOS DE ADITIVOS QUÍMICOS INIBIDORES DE FERMENTAÇÃO BUTÍRICA EM SILAGENS NO DESEMPENHO ANIMAL*

Considerando a magnitude de benefício dos aditivos químicos durante o processo de fermentação, existe expectativa que também haja resposta em desempenho animal. Entretanto, comparativamente aos estudos sobre o processo de conservação das silagens, os experimentos envolvendo animais para o teste de aditivos de silagens são escassos. Nagel e Broderick (1992) ensilaram alfafa de terceiro corte com 370 g/kg de MS, sem tratamento ou tratada com 2,8 g de ácido fórmico/100 g de MS (8,2L/t) ou 0,31 g de

formaldeído/100 g de MS (6,3L/t), e a forneceram para 22 vacas holandesa, sendo 4 portadoras de cânula ruminal. As vacas receberam dieta padrão (481 g/kg silagem de alfafa + 519 g/kg ração concentrada) durante 18 d após o parto e, em seguida, foram alimentadas por 6 semanas com uma das três dietas contendo 984 g/kg de MS de silagem de alfafa. A silagem tratada com ácido fórmico apresentou os menores valores de pH (5,98 vs. 4,27), N-NH<sub>3</sub> (4,1 vs. 2,2 g/kg N) e ácido butírico (1,3 vs. 0,6 g/kg MS). O consumo de MS e o a mudança de peso corporal dos animais não foram afetados pela adição dos ácidos na silagem. A produção de leite (29,2 vs. 32,6 e 32,5 kg/d) e o teor de gordura do leite (37,1 vs. 40,6 e 40,3 g/kg) foram maiores nos animais que receberam as silagens tratadas comparativamente a silagem controle. O teor de proteína do leite foi aumentado com adição do ácido fórmico (27,4 vs. 29,0 g/kg). A concentração de amônia ruminal foi menor nas silagens com aditivos em relação a silagem controle (17,4 vs. 10,8 e 13,2 mM). As concentrações plasmáticas de ureia e glicose não afetas pela adição dos ácidos nas dietas.

Winters *et al.* (2001) suplementou Novilhos Charolês × Holandês de 400 kg de PV pelo período de 69 d com silagem de Azevém perene (*Lolium multiflorum* cv. RVP) e Azevém híbrido (*L. perene* × *L. multiflorum* cv. Augusta) ensilados após corte direto sem aditivo ou tratados com 3,3 L/t de ácido fórmico. Os autores observaram aumento no CMS (7,4 para 8,4 kg/MS) e ganho de peso vivo (0,670 para 0,940 kg/d), resultando em melhor eficiência alimentar (+26%) nos animais recebendo a silagem tratada com ácido fórmico. Os autores atribuíram essa melhoria no desempenho animal a melhor conservação do material ensilado e pelo ácido fórmico limitar a fermentação e a degradação de proteínas, como evidenciado pelos menores valores de pH e amônia.

Ao avaliar o desempenho de bezerros com idade entre 14 e 91 d, Baranowski e Bidwell-Porębska (1994) suplementaram os animais com feno ou silagem de capim tratada com ácido fórmico (2 L/t). Antes do desmame (14 a 42 d), a ingestão média diária de MS e energia bruta por kg<sup>0,75</sup> foi maior para os animais alimentados com feno (45,0 g e 1,1 MJ, contra 41,1 g e 1,0 MJ, respectivamente). No entanto, as diferenças de ganho de peso diário (0,623 kg/d para o feno e 0,583 kg/d para a silagem tratada) e eficiência alimentar não foram significativas. Após o desmame (43 a 91 d de idade), o consumo diário de nutrientes foi semelhante entre os tratamentos, e os animais obtiveram ganho de peso de 0,478 kg/d para o feno e 0,502 kg/d para a silagem tratada.

Haigh e Davies (1998) relataram melhorias no perfil fermentativo da silagem de Azevém perene quando esta foi tratada com mistura de ácido fórmico e formalina (4 L/t).

Quando as silagens foram fornecidas às vacas leiteiras, houve aumento significativo no consumo de MS, bem como nos teores de gordura e proteína do leite. De forma semelhante, Broderick *et al.* (2007) observaram que, em comparação com a silagem de alfafa não tratada, a silagem de alfafa tratada com tetraformato de amônio (7 L/t) reduziu a proteólise, resultando em menores teores de N não proteico solúvel, N-NH<sub>3</sub> e N de aminoácidos livres. Quando as silagens foram fornecidas para vacas leiteiras, o consumo de MS aumentou em 1,0 kg/d e a produção de leite corrigido para 35 g/kg de gordura aumentou em 2,1 kg/d. Houve também aumento no conteúdo e na produção de proteína verdadeira do leite e na eficiência do uso de nitrogênio para produção de leite.

Em experimento conduzido por Agnew e Carson (2000), novilhos de corte foram alimentados com silagem de capim (corte direto), sendo esta ensilada sem aditivo ou tratada com uma mistura de hexametanoato de amônio, hexapropionato de amônio e ácido octanoico (6 L/t). O aditivo aumentou o consumo de silagem, resultando em maior ganho de carcaça. Além disso, a conformação da carcaça e o teor de gordura foram superiores nos novilhos alimentados com a silagem tratada. Parker e Crawshaw (1982) observaram melhora na digestibilidade da silagem (+0,34 g/kg), aumento no consumo de MS (+16 %) e maior ganho de peso (+0,280 kg/d) em novilhos de corte (244 kg PV) alimentados com silagem de Azevém perene (*Lotium perenne*) tratada com ácido fórmico (3 L/t).

Mayne (1993) investigou os impactos da adição de ácido fórmico e ácido sulfúrico na fermentação da silagem de Azevém perene, bem como no consumo e na produção de vacas leiteiras. A aplicação de ácido fórmico (2,53 L/t) e ácido sulfúrico (3,09 L/t) resultou em silagens mais bem preservadas em comparação com a silagem não tratada. Posteriormente, essas silagens foram oferecidas a vacas leiteiras da raça holandesa. O uso de ácido fórmico aumentou o consumo de MS (9,53 vs. 10,66 kg/MS d), enquanto o ácido sulfúrico não resultou em diferenças significativas em relação ao tratamento controle (9,83 vs. 8,98 kg/d). A produção de leite não foi afetada pela adição dos ácidos fórmico e sulfúrico (21,4; 21,1 e 20,8 kg/d) comparada à silagem controle. O tratamento com ácido fórmico proporcionou aumentos modestos nas concentrações de gordura (38,7 vs. 40,7 g/kg) e proteína (27,5 vs. 28,6 g/kg), enquanto os efeitos do ácido sulfúrico foram menos consistentes no desempenho dos animais.

Nadeau e Arnesson (2016) alimentaram 21 ovelhas da raça Swedish Finewool × Dorset (95,6 kg PV) acasaladas com um carneiro Dorset com silagens de capim (750 g/kg *phleum pratense* L. e *Lolium multiflorum* L. e *Festuca pratensis* L. e 250 g/kg *Trifolium pratenses*) que receberam os seguintes tratamentos: 1) nitrito de sódio, hexamina,

benzoato de sódio, sorbato de potássio e propionato de sódio (2 L/t) ou 2) ácido propiônico, ácido fórmico e ácido benzoico (3 L/t) durante o período gestação e lactação. As silagens foram fornecidas à vontade e ração concentrada foi fornecida 0,5 kg/d por animal. Os cordeiros foram alimentados com silagem e concentrado *ad libitum* até 56 d de vida e, posteriormente receberam 0,8 kg de concentrado e silagem *ad libitum* até atingirem peso de abate (44 - 45kg). O PV dos cordeiros ao nascimento foi 0,6 kg maior e o ganho de peso do nascimento ao desmame foi 30 g maior para os cordeiros nascidos de ovelhas alimentadas com silagens tratadas com aditivo em comparação com cordeiros nascidos de ovelhas alimentadas com silagem sem aditivo. O consumo de MS após o desmame foi maior para os cordeiros alimentados com silagem tratada com aditivo do que para os cordeiros alimentados com silagem não tratada (1,26 vs. 1,39 kg/d).

Em outra pesquisa conduzida por Nadeau *et al.* (2016), a adição de uma mistura de aditivos químico à base de nitrito de sódio, hexamina, benzoato de sódio, sorbato de potássio e propionato de sódio (2 L/t) foi avaliada na silagem de capins temperados (750 g/kg *phleum pratense L.* e *Lolium multiflorum L.* e *Festuca pratensis L.* e 250 g/kg *Trifolium pratenses*) sobre o desempenho de 48 vacas leiteiras da raça holandesa (105 d em lactação). O consumo de MS não foi afetado com a adição dos aditivos na silagem, mas a produção de leite foi maior (28,9 vs. 26,0 kg/leite) nos animais alimentados com a silagem com aditivo comparada a silagem controle. A gordura e a proteína do leite não diferiram entre os tratamentos de silagem, entretanto o aditivo reduziu o teor de ureia no leite (240 vs. 230 mg/L) e tendeu a aumentar a excreção de derivados de purinas na urina (0,115 vs. 0,95 kg/dia), sugerindo maior fluxo de proteína microbiana para o duodeno. Além disso, as vacas que receberam a silagem tratada apresentaram menor contagem de células somáticas no leite (92.000 vs. 52.000 por mL). A melhoria no desempenho das vacas os autores atribuem à redução da proteólise e ao aumento do teor de açúcar residual na silagem tratada, em comparação com a silagem não tratada (Nadeau e Auerbach, 2014).

Recentemente, na Noruega, Groseth *et al.* (2024) investigaram o efeito de uma mistura de aditivos químicos na silagem de capins temperados sobre o consumo de MS e a produção de leite em vacas da raça Norueguês vermelho. Uma combinação de capins (capim-rabo-de-gato, azevém perene e festuca) foi emurhecida até atingir 250 g/kg de MS e, em seguida, uma mistura comercial contendo ácido fórmico, ácido propiônico, formato de sódio, ácido benzoico e glicerol foi aplicada (6 L/t). O uso do aditivo resultou em menores teores de nitrogênio amoniacal e maiores teores de carboidratos solúveis em

comparação à silagem controle. Os resultados *in situ* mostraram menor degradabilidade ruminal da PB na silagem tratada. Apesar do aumento no consumo da silagem com aditivo, não houve alteração na produção de leite.

Ribeiro *et al.* (2009) avaliaram os efeitos da aplicação de ácido fórmico e formato de amônio em silagens de gramíneas tropicais no desempenho animal. O capim-Marandu e o capim-Tanzânia foram colhidos com 82 d de rebrota com 256 g/kg MS e 238 g/kg MS respectivamente, e foram tratados (4 L/t) ou não com o aditivo químico (4 L/t), resultando em 4 tratamentos: 1) capim-Marandu sem aditivo; 2) capim-Tanzânia sem aditivo; 3) capim-Marandu com aditivo e 4) capim-Tanzânia com aditivo. Na sequência, as silagens foram fornecidas a 80 fêmeas, sendo 40 da raça Canchim (287 kg PV) e 40 da raça Nelore (249 kg PV), durante 84 d. As silagens que receberam os aditivos químicos apresentaram menor concentração de N-NH<sub>3</sub> (90 e 118 g/kg N total) e ácido butírico (1 e 4 g/kg MS) e maior teor de MS (256 e 262 g/kg MS), PB (87 e 79 g/kg MS), CS (30 e 14 g/kg MS) e ácido láctico (17 e 8 g/kg MS). Os animais que receberam as silagens tratadas apresentaram aumento de 0,11 kg/d no consumo de MS em relação aos animais que receberam as silagens controle. Entretanto, a adição dos aditivos químicos nas silagens não resultou em alteração do desempenho dos animais.

Em silagens de capins tropicais o uso de aditivos químicos no desempenho animais ainda não está bem estabelecido, no entanto mostra-se uma estratégia promissora para reduzir a perda de nutrientes e otimizar o desempenho animal. Ao melhorar a qualidade da silagem por meio da inibição de processos fermentativos indesejáveis, esses aditivos preservam o valor nutricional do alimento, podendo resultar em melhor digestibilidade, maior ingestão voluntária e, conseqüentemente, um incremento na produção de carne e leite. Além disso, a utilização de aditivos químicos tem potencial para minimizar o risco de contaminação da dieta com microrganismos indesejáveis, contribuindo para a saúde geral do rebanho e para a eficiência econômica das propriedades.

## REFERÊNCIAS

Agnew, R. E., Carson, M. T., 2000. The effect of a silage additive and level of concentrate supplementation on silage intake, animal performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. *Grass Forage Sci.* 55, 114–124. [https://doi: 10.1046/j.1365-2494.2000.00205.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2494.2000.00205.x).

- Aguiar, R. N. S., Crestana, R. F., Balsalobre, M. A. A., 2000. Avaliação das perdas de matéria seca em silagem de capim-Tanzânia. In: Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa, Minas Gerais, pp. 37.
- Arriola, K. G., Oliveira, A. S., Jiang, Y., Kim, D., Silva, H. M., Kim, S. C., Amaro, F. X., Ogunade, I. M., Sultana, H., Pech, Cervantes. A. A., Ferraretto, L. F., Vyas. D., Adesogan, A. T., 2021. Meta-analysis of effects of inoculation with *Lactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability, and performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 104, 7653–7670. [https://doi:10.3168/jds.2020-19647](https://doi.org/10.3168/jds.2020-19647).
- Auerbach, H., Weiss, K., Nadeau, E., 2012. Benefits of using silage additives. In Proceedings 1st International Silage Summit, Leipzig, Saxony, Germany, pp. 75–144.
- Auerbach, H., Nadeau, E., Weiss, K., Theobald, P. 2016. Effects of sodium nitrite-containing additives on dry matter losses, fermentation pattern and biogenic amine formation in lucerne and cocksfoot silage. In Proceedings 17th International Conference Forage Conservation, Horny Smokovec, Slovak Republic, pp.117-118.
- Auerbach, H., Nadeau, E., 2018a. Biological and chemical additives maintain nutritive value of grass silage during air exposure. In Proceedings XVIIIth International Silage Conference, Bonn, Germany, pp. 220–221.
- Auerbach, H., Nadeau, E., 2018b. Effects of storage conditions and additive type on fermentation quality, aerobic stability and nutritional value of grass-clover silage. In Proceedings XVIIIth International Silage Conference. Bonn, Germany, pp. 250–251
- Auerbach, H., Nadeau, E., 2019. Chemical additives for silages: when to use it and what are the options? In: Nussio, L.G., da Silva, E. B, da Silva, Oliveira, K., Gritti, V. C., Ribeiro Salvo, P. A., de Souza Salvati, G. G., Oliveira da Sousa, D. (Eds.), Proceedings of the VI International Symposium on Forage Quality and Conservation, Piracicaba, Brazil, pp. 49–88.
- Auerbach, H., Weiss, K., Nadeau, E., Daniel, J. L. P., 2023. A meta-analysis on the effects of nitrite – containing aditives on the quality of silages from temperate forages. In Proceedings of the XIX International Silage Conference. Beijing, China, pp. 476–477.
- Avila, A. S., Zambom, M. A., Faccenda, A., Neres, M. A., Muxfeldt, L., Schneider, C. R., Stum, M. M., Dri, R., Schneider, P. R., 2022. Effects of adding agro-industrial by-products and bacterial inoculant at ensiling on nutritional quality and bacterial

- colonization of Tifton 85 *Cynodon dactylon* (L.) Pers. silages. Trop. Grassl. Forrajes Trop. 10, 204–213. [https://doi.org/10.17138/tgft\(10\)204-213](https://doi.org/10.17138/tgft(10)204-213).
- Baranowski, A., Bidwell-Porebska, K., 1994. The use of meadow-grass silage with formic acid in the nutrition of young calves. J. Anim. Feed Sci. 3, 279–286. <https://doi.org/10.22358/jafs/69841/1994>
- Bader, S., 1997. Möglichkeiten zur Steuerung des Gärungsverlaufes bei der Grünfuttersilierung durch kombinierte Anwendung biologischer und chemischer Zusätze [Possibilities to control the course of fermentation of forages by the combined use of biological and Chemical additives]. Landbauforsch. Völkenrode Sonderheft. 176, 1–110.
- Bernardes, T. F., Do Rêgo, A. C., 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. J. Dairy Sci. 97, 1852–1861. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7181>
- Broderick, G. A., Brito, A. F., Colmenero, J. J. O., 2007. Effects of feeding formate-treated alfalfa silage or red clover silage on the production of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 90, 1378–1391.
- Carpenter, C. E., Reddy, D. S., Cornforth, D. P., 1987. Inactivation of clostridial ferredoxin and pyruvate-ferredoxin oxidoreductase by sodium nitrite. Appl. Environ. Microbiol. 53, 154–159.
- Carvalho, G. G. P., Garcia, R., Pires, A. J. V., Pereira, O. G., Fernandes, F. E. P., Carvalho, B. M. A., 2008. Características fermentativas de silagens de capim-elefante emurcheado ou com adição de farelo de cacau. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 60, 234–242.
- Carvalho, M. G. M., Bragatto, J. M., Buttow, S. C., Silva, A. F., Sales, L. S., Silva, N. G., Auerbach, H. U., Nussio, L. G., Daniel, J. L. P., 2024. Applying the fermentability coefficient concept in tropical grass silages. Anim. Feed Sci. Technol.
- Coan, R. M., Vieira, P. F., Silveira, R. N., Reis, R. A., Malheiros, E. B., Pedreira, M. S., 2005. Inoculante Enzimático-Bacteriano, Composição Química e Parâmetros Fermentativos das Silagens dos Capins Tanzânia e Mombaça. Rev. Brasil. Zootec., 34, 416–424.
- Condé, A. R., 1970. Effect of adding ground corn on the quality of elephant grass silage harvested with different maturities. Master Thesis, Federal University of Viçosa, Viçosa, Brazil.

- Daniel, J. L. P., Bernardes, T. F., Jobim, C. C., Schmidt, P., Nussio, L. G., 2019. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. *Grass Forage Sci.* 74, 188–200.
- Dantas, C. C. O., Zanine, A. de M., Souza, A. L. de., Cabral, L. da S., Negrão, F. de M., Santos, E. M., Ferreira, D. de J., 2014. Losses through gases and effluent and nutritional value of *Brachiaria decumbens* with addition of soybean hulls. *Rev. Brasil. Zootec.* 43, 225–231.
- Diepersloot, E. C., Pupoa, M. R., Ghizzib, L. G., Heinzen Jr., C., Ferrarettoa, L. F. 2022. Effect of wilting and microbial inoculation on the fermentation profile, nutrient composition, and aerobic stability of Bermuda grass silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 290, 115376.
- Drackley, J. K., 2008. Calf nutrition from birth to breeding. *Veterinary Clinics of North America: Food Anim. Pract.* 24, 55–86.
- Driehuis, F., Oude Elferink, S. W. H., Van Wikselaar, P. G., 2001. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass Forage Sci.* 56:330–343. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2494.2001.00282.x>.
- European Food Safety Authority - EFSA, 2014. Scientific Opinion on the re-evaluation of hexamethylene tetramine (E 239) as a food additive. 12, 3696–39. <http://doi:10.2903/j.efsa.2014.3696>.
- European Food Safety Authority - EFSA, 2015. Scientific Opinion on the safety and efficacy of hexamethylene tetramine as a silage additive for pigs, poultry, bovines, sheep, goats, rabbits and horses. 13, 4014–25. <https://doi:10.2903/j.efsa.2015.4014>.
- European Food Safety Authority - EFSA, 2020. Scientific Opinion on the safety of hexamethylene tetramine for pigs, poultry, bovines, sheep, goats, rabbits and horses. 18, 6012–7. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6012>.
- Ezequiel, F. L. dos S., Edvan, R. L., Azevedo, F. L., Farias, P. C. B., Nascimento, R. R., Barros, D. M. A., Araújo, M. J., Miranda, R. S., Bezerra, L. R., Santos, E. M., 2022. Quality of haylage of *Brachiaria brizantha* with different contents of dry matter in the storage. *J. Agric. Sci.* 160, 45–54.
- Fransen, S. C., Strubi, F. J., 1998. Relationships Among Absorbents on the Reduction of Grass Silage Effluent and Silage Quality. *J. Dairy Sci.* 81, 2633–2644.

- Gomes, A. L. M., Auerbach, H. U., Lazzari, G., Moraes, A., Nussio, L. G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P., 2021. Sodium nitrite-based additives improve the conservation and the nutritive value of guinea grass silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 279, 115033.
- Gouvea, V. N., Vendramini, J. M. B., Sollenberger, L. E., Oliveira, F. C. L., Dubeux, J. C. B., Moriel, P., Cecato, U., Soares Filho, C. V., Sanchez, J. M. D., Yarborough, J. K., Kuhawara, F., 2020. Inoculant effects on fermentation characteristics, nutritive value, and mycotoxin concentrations of bermudagrass silage. *Crop, Forage Turfgr. Managem.* 6, e20054.
- Guim, A., Andrade, P. de., Iturrino-Schocken, R. P., Franco, G. L., Ruggieri, A. C., Malheiros, E. B., 2002. Estabilidade aeróbica de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) emurcheado e tratado com inoculante microbiano. *Rev. Brasil. Zootec.* 31, 2176–2185.
- Groseth, M., Karlsson, L., Steinshamn, H., Johansen, M., Kidane, A., Prestlokken, E., 2024. Effects of grass silage, preserved using formic acid or lactic acid bacteria, on milk production of dairy cows, supplemented with concentrates high or low in metabolizable protein. *Livest. Sci.* 279, 105375. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105375>.
- Haigh, P. M., Parker, J. W. G., 1985. Effect of silage additives and wilting on silage fermentation, digestibility and intake, and on live weight change in young cattle. *Grass Forage Sci.* 40, 429–436.
- Haigh, P. M., Davies, O. D., 1998. Effect of Formic Acid with Formalin or Barley Incorporation into Grass Silage on Silage Fermentation and the Performance of Dairy Cows. *J. Agric. Engin. Res.* 69, 261–265.
- Harris, C. E., Tullberg, J. N., 1980. Pathways of water loss from legumes and grasses cut for conservation. *Grass Forage Sci.* 35, 1–11.
- He, Z. X., Qiao, J. Y., Yan, Q. X., Tan, Z. L., & Wang, M., 2019. Quantitative evaluation of ruminal methane and carbon dioxide formation from formate through C-13 stable isotope analysis in a batch culture system. *Animal*, 1–8. <https://doi:10.1017/s1751731118000691>
- Hellberg, A., 1967. A combination of nitrite and hexamine as an additive in the ensiling of herbage. Agricultural College of Sweden, Uppsala, Sweden, 289–297.
- Igarasi, M. S., 2002. Controle de perdas na ensilagem de capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. Cv. Tanzânia) sob os efeitos do teor de matéria seca, do tamanho de partícula, da estação do ano e da presença do inoculante bacteriano. Dissertação de

- Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo-SP.
- Jank, L., Martuscello, J. A., Euclides, V. B. P., Do Valle, C. B., Resende, R. M. S., 2010. *Panicum maximun*. In: Da Fonseca, D. M., Martuscello, J. A. (Eds.), Plantas Forrageiras. UFV, Viçosa, 166–196.
- Jones, D. I. H., Jones, R., 1995. The effect of crop characteristics and ensiling methodology on grass silage effluent production. *J. Agric. Engin. Res.* 60, 73–81.
- Jones, L., Harris, C. E., 1980. Plant and swath limits to drying. In: Thomas C. (ed) Forage conservation in the 80s. Occasional Symposium 11, British Grassland Society. 53–60.
- Kaiser, E., 1981. Zum Einflub von Nitratgehalt, Zuckerart und Lagerungstemperatur auf die Vorhersage des Gärungsverlaufes bei der Gränfuttersilierung. Habilitationsschrift, Humboldt-Universität zu Berlin.
- Kaiser, E., Weiss, K., Polip, I., 2002. A new concept for the estimation of the ensiling potential of forages. in: Gechie, L. M., Thomas C. (Eds.), Proceedings of the XIII International Silage Conference, Auchincruive, Scotland, pp. 344–358.
- Kara, K., Özkaya, S., Erbaş, S., Baytok, E., 2018. Effect of dietary formic acid on the in vitro ruminal fermentation parameters of barleybased concentrated mix feed of beef cattle. *J. Appl. Anim. Res.* 46, 178–183. <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1284073>.
- Knicky, M., Lingvall. P., 2004. Ensiling of high wilted grass-clover mixture by use of different additives to improve quality. *Acta Agric. Scand.* 54, 197–205.
- Knicky, M., Spordly. R., 2009. Sodium benzoate, potassium sorbate and sodium nitrite as silage additives. *J. Sci. Food Agric.* 89, 2659–2667.
- König, W., König, E., Weiss, K., Tuomivirta, T. T., Fritze, H., Elo, K., Vanhatalo, A., Jaakkola, S., 2018. Impact of hexamine addition to a nitrite-based additive on fermentation quality, Clostridia and *Saccharomyces cerevisiae* in a white lupin-wheat silage. *J. Sci. Food Agric.* 99, 1492–1500.
- Kung Jr., L., Stokes, M. R., Lin, C. J., 2003. Silage additives. D.R. Buxton, R.E. Muck, R.E. Harrison (Eds.), *Silage Science and Technology*, Amer. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Amer., Soil Sci. Soc. Amer., Madison, WI. pp. 305–360.
- Li, Y., Nishino, N., 2013. Effects of Ensiling Fermentation and Aerobic Deterioration on the Bacterial Community in Italian Ryegrass, Guinea Grass, and Whole-crop Maize

- Silages Stored at High Moisture Content. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 26, 1304–1312.
- Lingvall, P., Lättemäe, P., 1999. Influence of hexamine and sodium nitrite in combination with sodium benzoate and sodium propionate on fermentation and hygienic quality of wilted and long cut grass silage. *J. Sci. Food Agric.* 79, 257–264.
- Liu, Q., Zhang, J., Shi, S., Sun, Q., 2011. The effects of wilting and storage temperatures on the fermentation quality and aerobic stability of stylo silage. *J. Animal Sci.* 82, 549–553.
- Lira Júnior, W. B., Bezerra, S. B. L., Paula, T. A., Beelen, R. N., Amorim, P. L., Beelen, P. M. G., 2018. Características de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) e casca de maracujá in natura. *Arq. Brasil. Med. Vet. Zootec.* 70, 905–912.
- Lück, E., 1985. *Chemische Lebensmittelkonservierung*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg NewYork Tokyo. 2nd edition, 123–133.
- Mayne, C. S., 1993. The effect of formic acid, sulphuric acid and a bacterial inoculant on silage fermentation and the food intake and milk production of lactating dairy cows. *Animal Produc.* 56, 29–42. <http://doi:10.1017/S0003356100006139>
- Macdonald, A. D., Clark, E. A., 1987. Water and quality loss during field drying of hay. *Adv. Agron.* 41, 407–437.
- Majou, D., Christieans, S., 2018. Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats. *Meat Sci.* 145, 273–284.
- Moraes, A., Auerbach, H. U., Bragatto, J. M., Piran Filho, F. A., Silva, S. M. S., Nussio, L. G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P., 2023. Effect of Application Rate of Sodium Nitrite and Hexamine on the Fermentation and the Chemical Composition of Guinea Grass Silage Harvested at Different Stages of Maturity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 302, 115667.
- Moser, L. E., 1995. Post-harvest physiological changes in forage plants. In: *Post-harvest physiology and preservation of forages*. Moore, K. J., Peterson, M. A., Kral, D. M., Viney, M. K. CSSA and ASA, Madison, WI. 1–19.
- Muck, R. E., Nadeau, E. M. G., McAllister, T. A., Contreras-Govea, F. E., Santos, M. C., Kung, L., 2018. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *J. Dairy Sci.* 101, 3980–4000.

- Nadeau, E. M. G., Buxton, D. R., Russell, J. R., Allison, M. J., Young, J. W., 2000a. Enzyme, bacterial inoculant, and formic acid effects on silage composition of orchardgrass and alfalfa. *J. Dairy Sci.* 83, 1487–1502.
- Nadeau, E. M. G., Russell, J. R., Buxton, D. R., 2000b. Intake, digestibility, and composition of orchardgrass and alfalfa silages treated with cellulase, inoculant, and formic acid fed to lambs. *J. Dairy Sci.* 78, 2980–2989.
- Nadeau, E., Auerbach, H., 2014. Effects of particle size and chemical additives on fermentation and aerobic stability of grass-clover silage. In *Proceedings 5th Nordic Feed Science*. Department of Animal Nutrition and Management, Swedish University of Agricultural Sciences, pp. 19–24
- Nadeau, E., Arnesson, A., 2016. Intake and performance of ewes and lambs fed grass-clover silage treated with chemical additives. *Grassl. Sci. Europe.* 21, 479–481.
- Nadeau, E., Hallin, O., Richardt, W., Jansson, J., 2016. Protein quality of lucerne – a comparison to red clover and effects of wilting and ensiling. *Grassl. Sci. Europe.* 21, 372–375.
- Nagel, S. A., Broderick, G. A., 1992. Effect of formic acid or formaldehyde treatment of alfalfa silage on nutrient utilization by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75, 140–154.
- Nishino, N., Li, Y., Wang, C., Parvin, S., 2011. Effects of wilting and molasses addition on fermentation and bacterial community in guinea grass silage. *Lett. Appl. Microbiol.* 54, 175–181. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03191.x>.
- Oliveira, A. S., Weinberg, Z. G., Ogunade, I. M., Cervantes, A. A. P., Arriola, K. G., Jiang, Y., Kim, D., Li, X., Gonçalves, M. C. M., Vyas, D., Adesogan, A. T., 2017. Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100, 4587–4603. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11815>.
- Owens, F. N., Gill, D. R., Secrist, D. S., Coleman, S. W., 1995. Review of some aspects of growth and development of feedlot cattle. *J. Animal Sci.* 73, 3152–3172.
- Pahlow, G., Weissbach, F., 1999. New aspects of evaluation and application of silage additives. *Laudbauforschung Volkenrode*, 141–158.
- Pahlow, G., Muck, R. E., Driehuis, F., Oude Elferink, S. J. W. H., Spoelstra, S. F., 2003. Microbiology of ensiling. In: *Silage Science and Technology*. Madison: ASCSSA-SSSA, Agronomy. 42, 31–93.

- Parkes, M. E., Greig, D. J., 1974. The rate of respiration of wilted ryegrass. *J. Agric. Engin. Res.* 19, 259–263.
- Parker, J. W. G., Crawshaw, R., 1982. Effects of formic acid on silage fermentation, digestibility, intake and performance of young Cattle. *Grass Forage Sci.* 37, 53–58.
- Parvin, S., Nishino, N., 2009. Bacterial community associated with ensilage process of wilted guinea grass. *J. Appl. Microbiol.* 107, 2029–2036.
- Parvin, S., Wang, C., Li, Y., Nishino, N., 2010. Effects of inoculation with lactic acid bacteria on the bacterial communities of Italian ryegrass, whole crop maize, guinea grass and rhodes grass silages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 160, 160–166.
- Paziani, S. F., Nussio, L. G., Loures, D. R. S., Igarasi, M. S., Pedroso, A. F., Mari, L. J., 2006. Influência do teor de matéria seca e do inoculante bacteriano nas características físicas e químicas da silagem de capim Tanzânia. *Acta Scient. Anim. Sci.* 28, 265–271.
- Patrizi, W. L., Madruga Júnior, C. R. F., Minetto, T. P., Nogueira, E. Morais, M. G., 2004. Efeito de aditivos biológicos comerciais na silagem de capim Elefante (*Pennisetum purpureum Schum*). *Arq. Brasil. Med. Vet. Zootec.* 56, 392–397.
- Pedersen, T. T., Buchele, W. F., 1960. Drying rate of alfalfa hay. *Agric. Eng.* 41, 86–89.
- Pinto, A. C. J., Millen, D. D., 2016. Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In: Sebastião de Campos Valadares Filho et al. (Org.). *Simpósio de Produção de Gado de Corte (X Simcorte)*. 1ed. Viçosa/MG: UFV. 1, 103–120.
- Popednov, J., Weißbach, F., Pahlow, G., 1997. Über den Effekt von Milchsäurepräparaten auf die Säuerungsgeschwindigkeit und die Gärqualität von Welksilage. *Landbauforschung Völkenrode, Heft 3*, 97–102.
- Quaresma, J. P. S., Abreu, J. G. de., Almeida, R. G. de., Cabral, L. da S., Oliveira, M. A. de., Rodrigues, R. C., 2010. Recuperação de matéria seca e composição química de silagens de gramíneas do gênero *Cynodon* submetidas a períodos de pré-emurchecimento. *Ciênc. Agrotec.* 34, 1232–1237.
- Randby, A. T., 2000. The effect of some acid-based additives applied to wet grass crops under various ensiling conditions. *Grass Forage Sci.* 55, 289–299.
- Reuter, B., Weissbach, F., Schmidt, L., Zwierz, P. M., 1989. Investigations on the Efficiency of the silage additive Cekafusil. In *Proceeding of the International Symposium on Production, Evaluation and Feeding of Silage*. Rostock, pp. 69–78.

- Reuter, B., Weissbach, F., 1991. Results of testing chemical preservatives. In: proceedings of a conference on Forage Conservation towards. Landbaudorschung Volkenrode, pp. 338–341.
- Ribeiro, J. L., Nussio, L. G., Mourão, G. B., Mari, L. J., Zopollatto, M., Paziani, S. F., 2008. Valor nutritivo de silagens de capim-marandu submetidas aos efeitos de umidade, inoculação bacteriana e estação do ano. *Rev. Brasil. Zootec.* 37, 1176–1184.
- Ribeiro, J. L., Nussio, L. G., Mourão, G. B., Queiroz, O. C. M., Santos, M. C., Schmidt, P., 2009. Efeitos de absorventes de umidade e de aditivos químicos e microbianos sobre o valor nutritivo, o perfil fermentativo e as perdas em silagens de capim-marandu. *Rev. Brasil. Zootec.* 38, 230–239.
- Ribeiro, J. L., 2009. Silagens de capins Marandu e Tanzânia avaliadas quanto às perdas de conservação, perfil fermentativo, valor nutritivo e desempenho de animais, na presença de aditivos químicos, microbianos e fontes absorventes de umidade. Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, p.262 (Tese de doutorado).
- Rotz, C. A., Chen, Y., 1985. Alfalfa drying model for the field environment. *Transactions of the ASAE. Am. Soc. Agric. Eng.* 28, 1687–1672.
- Rotz, C. A., 1995. Field Curing of forages. In: In: MOORE, K. J.; KRAL, D. M.; VINEY, M. K. (ed.). *Post-harvest physiology and preservation of forages*. Madison, Wisconsin: Am. Soc. Agron. 39–66.
- Santos, E. M., Pereira, O. G., Garcia, R., Ferreira, C. L. L. F., Oliveira, J. S., Silva, T. C., 2014. Effect of regrowth interval and a microbial inoculant on the fermentation profile and dry matter recovery of guinea grass silages. *J. Dairy Sci.* 97, 4423–4432.
- Steen, R. W. J., 1990. Recent advances in the use of silage additives for dairy cattle. In *Management issues for the grassland farmer in the 1990's - Occasional Symp.* Mayne, ed. British Grassland Society, United Kingdom, pp. 87–101.
- Taylor, A. R., Pritchard, R. H., Bruns, K. W., 2015. Effects of backgrounding rate of gain on carcass characteristics. *J. Anim. Sci.* 93, 90–91.
- Tran, T. M. T., Nguyen, M. T., Nguyen, H. V., Nishino, N., 2017. Effects of wilting and lactic acid bacteria inoculation on fermentation and microbial community of elephant grass silage produced in Vietnam. *Grassl. Sci.* 64, 151–155.

- Tomaz, P. K., Araújo, L. C., Sanches, L. A., Santos-Araujo, S. N., Lima, T. O., Lino, A. A., Ferreira, E. M., 2018. Effect of sward height on the fermentability coefficient and chemical composition of Guinea grass silage. *Grass Forage Sci.* 73, 588–598.
- Wang, Y., Wang, C., Zhou, W., Yang, F. Y., Chen, X. Y., and Zhang, Q., 2018. Effects of wilting and *Lactobacillus plantarum* addition on the fermentation quality and microbial community of *Moringa oleifera* leaf silage. *Front. Microbiol.* 9, 1817.
- Weiby, K.V., Krizsan, S. J., Dønnem, I., Ostrem, L., Eknaes, M., Steinshamn, H., 2023. Effect of grassland cutting frequency, species mixture, wilting and fermentation pattern of grass silages on in vitro methane yield. *Sci. Rep.* 13, 4806. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31964-3>
- Weissbach, F., Schmidt, L., Hein, E., 1974. Method of anticipation of the run of fermentation in silage making based on the chemical composition of the green fodder. Proceedings of the XII International Grassland Congress, Moscow, Russia. 663–673.
- Weissbach, F., Kaiser, E., Schmidt, L., Ohff, R., 1977. Prüfung neuer chemischer Konservierungsmittel für die Silierung von eiweißreichen Grünfütterpflanzen. Forschungsbericht, Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock, Oskar-Kellner-Institut für Tierernährung.
- Weissbach, F., Schmidt, L., Reuter, B., Block, H.-J., Haacker, K., 1985. Verbesserung der Silagequalität und Einschränkung des Eiweißabbaus bei der Grünfüttersilierung durch Siliermittel. Forschungsbericht, Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock, Oskar-Kellner-Institut für Tierernährung.
- Weissbach, F., Reuter, B., Zwierz, P.-M., Schmidt, L., Derno, M., Köller, S., Block, H.-J., Haacker, K., Cöster, H., 1987. Verbesserung der Qualität von Silagen aus eiweißreichem Grünfütter durch Anwendung von Siliermitteln. Forschungsbericht, Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock, Oskar-Kellner-Institut für Tierernährung.
- Weissbach, F., Reuter, B., Zwierz, P.-M., Block, H.-J., Schmidt, L., Köller, S., Wolthusen, E., Prym, R., Haacker, K., Cöster, H., 1990. Steuerung des Gärungsverlaufes bei der Grünfüttersilierung durch Siliermittel. Forschungsbericht, Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock, Oskar-Kellner-Institut für Tierernährung.
- Weissbach, F., Honig, H., Kaiser, E., 1993. The effect of nitrate on the silage fermentation. in: O' Kiely, P., O' Connel, M., Murphy, J. (Eds.). In Proceedings of the 10th International Conference of Silage Research. Dublin, Ireland, pp. 6–8.

- Weissbach, F., 2010. Report on the development of silage aditives containing nitrite and hexamine. Elmenhorst, Rostock, Germany, pp. 18.
- Weissbach, F., Auerbach, H., 2012. The future of forage conservation. In II International Symposium on Forage Quality and Conservation. University of Sao Paulo, Brazil, pp. 319–363.
- Weissbach, F., Honig, E., 1996. Über die Vorhersage und Steuerung des Gärungsverlaufs bei der Silierung von Grünfütter aus extensivem Anbau [Predicting and controlling the course of fermentation of extensively grown grasses]. *Landbauforschung Völkenrode*. 46, 10–17.
- Weissbach, F., Auerbach, H., 2012. The future of forage conservation. in: Auerbach, H., Lückstädt, C., Weissbach, F. (Eds.), *Proceedings of the I International Silage Summit*, Leipzig, Germany, pp. 5–42.
- Wieringa, G. W., 1966. The influence of nitrate on silage fermentation. *Netherlands J. Agric. Sci.* 6, 204–210.
- Winters, A. L., Fychan, R., Jones, R., 2001. Effect of formic acid and a bacterial inoculant on the amino acid composition of grass silage and on animal performance. *Grass Forage Sci.* 56, 181–192. <http://doi:10.1046/j.1365-2494.2001.00265.x>.
- Woolford, M. K., 1975. Microbiological Screening of Food Preservatives, Cold Sterilants and Specific Antimicrobial Agents as Potential Silage Additives. *J. Sci. Food Agric.* 26, 229–237.
- Woolford, M. K., 1984. *The silage fermentation*. Microbiol. Marcel Dekker, New York, pp. 350.
- Yin, X., Wu, J., Tian, J., Wang, X., Zhang, J., 2021. Dried soybean curd residue: A promising absorbent for cleaner production of high-quality silage. *J. Cleaner Produc.* 324, 129300.
- Zopollatto, M., Daniel, J. L. P., Nussio, L. G., 2009. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. *Ver. Brasil. Zootec.* 38, 170–189.
- Zwierz, P. M., Weissbach, F., 1989a. Investigations into preservative residues in silage and milk. *Proceedings International Symposium. Production, evaluation and feeding of silage*. Rostock, Germany, pp. 185–195
- Zwierz, P. M., Weissbach, F., 1989b. Untersuchungen zur Frage der Konservierungsmittelrückstände in Silagen, die mit dem Siliermittel “Cekafusil”

bereitet wurden. In IV International Symposium Forage Conservation. Brno, República Checa, pp. 171–175.

### III. OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil fermentativo e nutricional, emurchecimento e aditivos químicos na conservação de silagens de capins tropicais;

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar a composição química e o perfil fermentativo de capins tropicais em fazendas brasileiras de gado de corte;

Investigar a eficiência de estratégias de manejo na composição bromatológica e na digestibilidade de nutrientes de silagens de capins tropicais;

Examinar se o teor de matéria seca (MS), manipulado por emurchecimento, interage com a dose de aditivo químico;

Identificar possíveis alterações no perfil fermentativo da silagem de capim-Braquiária nos diferentes teores de MS com ou sem adição de aditivos químico à base de nitrito de sódio e hexamina;

Avaliar o valor nutricional da silagem de capim-Braquiária de corte direto ou emurchecido com ou sem adição de aditivos químico;

Verificar se a hexamina pode ser substituída por benzoato de sódio em aditivos à base de nitrito de sódio;

Identificar mudanças no perfil fermentativo da silagem de capim-Áries II com ou sem adição de aditivos químico à base de nitrito de sódio e benzoato de sódio.

#### **IV Avaliação da composição nutricional e do perfil fermentativo de silagens de capins tropicais em fazendas brasileiras de gado de corte**

(Estilo e forma do manuscrito consistentes com as Instruções para Autores da revista *Animal Feed Science and Technology*)

**RESUMO:** Produzir silagem de capim tropical com alto valor nutricional continua sendo um desafio, principalmente por problemas enfrentados no campo, como altas perdas durante o armazenamento e baixo valor alimentício, geralmente causado por colheita tardia e fermentação indesejável. Neste estudo, o objetivo foi avaliar a composição nutricional e o perfil fermentativo de silagens de capins tropicais em fazendas de gado de corte. As mostras de silagem de capim foram coletadas em 51 operações de gado de corte localizadas nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Paraná. Além da coleta das amostras, foi aplicado questionário composto por questões sobre as características relacionadas à produção e utilização das silagens. As amostras de silagens foram coletadas e congeladas por pelo menos 24 horas antes de serem transportadas ao laboratório em caixa térmica com gelo. No laboratório, as amostras foram descongeladas e submetidas às análises de composição bromatológica, digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN), produtos de fermentação e distribuição de partículas no Separador de Partículas da Penn State. A ausência de correlação entre a concentração de ácido butírico e a DIVMS ( $P = 0,368$ ) indicou a independência entre o perfil de fermentação e o valor nutricional das silagens. Com base na DIVMS, a análise de agrupamento identificou dois grupos de silagens (alta e baixa DIVMS). As variáveis de distribuição contínua foram comparadas pelo PROC MIXED do SAS utilizando modelo que incluiu o efeito fixo de grupo, com método Kenward-Roger para cálculo dos graus de liberdade do denominador para o Teste F. As variáveis de distribuição discreta foram comparadas pelo Teste Exato de Fisher e as médias dos grupos comparadas pelo teste de Chi-quadrado ( $\chi^2$ ) ajustado para Bonferroni, utilizando o PROC FREQ do SAS. Uma segunda análise de agrupamento foi realizada com base na concentração de ácido butírico (definido *a priori*:  $\leq 3$  g/kg MS negativo;  $> 3$  g/kg MS positivo). Adicionalmente, foram estabelecidas regressões com o objetivo de explorar as relações entre características associadas à DIVMS e a concentração de ácido butírico. Do total de amostras, 22% e 29% foram classificadas nos grupos alta e baixa DIVMS, respectivamente. A DIVMS foi negativamente correlacionada com o teor de FDNi das silagens ( $r = -0,875$ ;  $P < 0,001$ ). A maioria das amostras (86%) apresentou concentração

de ácido butírico > 3 g/kg da MS, e o banco de dados revelou que silagens com teor de MS inferior a 370 g/kg apresentam alto risco de fermentação butírica. Não houve correlação entre a maturidade do capim no momento da colheita reportada no questionário e o teor de matéria seca ou o teor de ácido butírico das silagens, demonstrando que a colheita tardia deprimiu o valor nutricional e levou a problemas de fermentação. Os níveis relatados de inclusão de silagem de capim em dietas de terminação foram típicos para dietas com alta proporção de concentrado. Entretanto, quando a silagem de capim foi utilizada para alimentação de vacas de cria e para animais em crescimento, a proporção dietética média relatada foi relativamente baixa, provavelmente pela baixa qualidade média das silagens. Os resultados desta pesquisa sugerem a necessidade de desenvolvimento, transferência e aplicação de técnicas que contribuam para melhorar a qualidade de silagens de capins em fazendas brasileiras de gado de corte, especialmente se a intenção foi otimizar a inclusão desta forragem em dietas para animais em crescimento ou vacas de cria.

**Palavras-chave:** *Clostridium*, digestibilidade *in vitro* da MS, levantamento de dados, *Megathyrus*, *Urochloa*

#### **IV Assessment of the nutritional composition and fermentative profile of tropical grass silages in Brazilian beef farms**

**ABSTRACT:** Producing tropical grass silage with high nutritional value remains a challenge, mainly due to problems faced in the field, such as high losses during storage and low feeding value, usually caused by late harvest and undesirable fermentation. In this study, the objective was to evaluate the nutritional composition and fermentation profile of tropical grass silages on beef farms. Grass silage samples were collected from 51 beef cattle operations located in the states of Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Sao Paulo, and Parana. In addition to sample collection, a questionnaire was applied consisting of questions about silage production and utilization traits. Silage samples were collected and frozen for at least 24 h before being transported to the laboratory in a cooler box with ice. In the laboratory, the samples were thawed and analyzed for chemical composition, *in vitro* digestibility of dry matter (IVDMD) and neutral detergent fiber (IVNDFD), fermentation end-products, and particle size distribution using the Penn State Particle Separator. The lack of correlation between the concentration of butyric acid and IVDMD ( $P = 0.368$ ) indicated that fermentation profile and nutritional value were independent in tropical grass silage. Based on IVDMD, the cluster analysis identified two groups of silages (high and low IVDMD). Continuous variables were compared by the MIXED procedure of SAS using a model that included the fixed effect of group, with the Kenward-Roger method to calculate the denominator degrees of freedom for F tests. Discrete variables were compared by Fisher's exact test and means compared by the Chi-square test ( $\chi^2$ ) with Bonferroni adjustment, using the FREQ procedure of SAS. A second cluster analysis was performed based on the butyric acid concentration (defined *a priori*:  $\leq 3$  g/kg dry matter (DM) as negative;  $> 3$  g/kg DM as positive). Additionally, regressions were established to explore the relationships between traits associated with IVDMD and butyric acid concentration. Of the total, 22% and 29% of samples were classified as high and low IVDMD groups, respectively. The IVDMD was negatively correlated with the content of indigestible neutral detergent fiber in silages ( $r = -0.875$ ;  $P < 0.001$ ). Most samples (86%) had butyric acid concentration  $> 3$  g/kg DM, and the database revealed that silages with DM content lower than 370 g/kg had a high risk of butyric fermentation. There was no correlation between the grass maturity at harvest reported in the questionnaire and the DM or butyric acid contents in silages, suggesting that late harvest depressed the nutritional value whereas did not avoid fermentation problems. Grass silage

inclusion in finishing diets were typical for fattening diets with a high proportion of concentrates. However, when grass silage was fed to breeding cows and growing cattle, the average dietary proportion reported was relatively low, probably due to the low feeding value of those silages. The results suggest the need to develop, transfer and apply techniques that contribute to improve tropical grass silages quality on Brazilian beef farms, especially if the intention is to optimize the forage inclusion in diets for growing cattle or breeding cows.

**Keywords:** *Clostridium*, *in vitro* DM digestibility, *Megathyrsus*, *Urochloa*, survey

## 1. INTRODUÇÃO

Gramíneas tropicais são culturas perenes ou semiperenes que apresentam elevado potencial de produção de matéria seca (MS) por hectare, demonstram vigor significativo de rebrota e têm alta adaptabilidade a diversas condições climáticas e de solo. Isso resulta em menor risco agrônômico em comparação com culturas anuais como o milho (Jank *et al.*, 2010). No entanto, as gramíneas forrageiras tropicais frequentemente apresentam baixos níveis de matéria seca (< 300 g/kg) e carboidratos solúveis (< 40 g/kg MS), além de alta capacidade de tamponamento (> 40 g de ácido láctico/kg de MS) no momento da colheita (Nussio *et al.*, 2002).

Frequentemente existem queixas no campo sobre altas perdas durante o armazenamento e baixo valor nutritivo de silagens de capins tropicais. Nestes casos, é provável que as estratégias adotadas para produção das silagens de capins tropicais não tenham sido adequadas, ou ao menos, ineficazes para garantir um alimento com bom perfil fermentativo e bom valor nutricional. Enquanto isso, nos últimos anos, houve reinteresse pela utilização de silagem de capins tropicais, especialmente em fazendas de gado de corte. Este aumento deve-se à integração de sistemas de lavoura e pecuária, e à intensificação das fases de cria e recria. Em dietas para vacas de cria e bovinos em crescimento, a silagem de capim tropical permite aos nutricionistas criar formulações que equilibram a ingestão de energia, prevenindo um ganho de peso excessivamente rápido. Escore de condição corporal excessivo da vaca ao parto tem sido frequentemente associado com problemas de distocia. Durante a fase de recria, um ganho de peso diário excessivo pode impactar negativamente o peso da carcaça quando os animais atingem a idade adulta (Owens *et al.*, 1995; Taylor *et al.*, 2015). Além disso, a silagem de capim tem sido utilizada para suplementar a alimentação de animais a pasto durante a seca.

Entretanto, não há na literatura descrição detalhada sobre o perfil fermentativo e a composição nutricional de silagens de capins tropicais produzidas em fazendas comerciais. A caracterização das silagens pode demonstrar janelas de oportunidades para melhoria da qualidade e direcionar novas pesquisas. Logo, o objetivo foi avaliar o perfil fermentativo e a composição nutricional e associar tais características às práticas de produção de silagens de capins em fazendas de gado de corte nos estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná e São Paulo. A hipótese é que maior qualidade nutricional e melhor perfil fermentativo estejam associados à adoção de estratégias adequadas de manejo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta de dados e pesquisa

A pesquisa foi realizada nos estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Paraná no período de setembro a novembro de 2023. Amostras de silagens de capins tropicais de 51 propriedades foram coletadas para avaliar a composição química e o perfil fermentativo. As fazendas foram identificadas por produzirem e utilizarem silagens de capins tropicais, por meio de apoio técnico de empresas que prestam serviço de consultoria.

Durante visita às fazendas para coleta das amostras, foi aplicado um questionário sobre as práticas associadas à produção e utilização das silagens de capins ([Anexo I](#)). Foi garantida a confidencialidade de todos os participantes. O questionário foi composto por questões sobre as características de produção, conservação e utilização da silagem, tais como: Estado; Acompanhamento técnico para a produção da silagem de capim; Gênero do capim utilizado para produção de silagem; Adubação na área de produção do capim; Característica da área em que o capim foi produzido (área específica de plantio de capim, área de integração com lavoura ou Pastagem excedente); Idade de talhão do capim; Número de cortes por ano; Maturidade (dias ou meses) de crescimento/rebrota do capim colhido para produção de silagem; Características da colhedora de forragem utilizada para produção de silagem; Emurchecimento; Uso de aditivos; Tipo de silo; Categoria animal alimentada com a silagem de capim; Inclusão de silagem de capim na dieta.

As amostras de silagens foram coletadas em 12 pontos distribuídos em quatro colunas e três linhas no painel do silo, desprezando 50 cm iniciais do topo, da base e das laterais. As 12 amostras foram homogeneizadas, perfazendo uma amostra composta de aproximadamente 1 kg. Na sequência as amostras foram identificadas e congeladas por pelo menos 24 horas antes de serem transportadas ao laboratório em caixa térmica com gelo. No laboratório, as amostras foram descongeladas e submetidas às análises de composição bromatológica, digestibilidade *in vitro*, perfil fermentativo e distribuição de partículas no Separador de Partículas da Penn State – PSPS.

### 2.2 Análises laboratoriais

Imediatamente após o descongelamento, uma subamostra foi utilizada para preparação de um extrato aquoso, obtido pela mistura de 25 g de silagem e 225 mL de água destilada em liquidificador por 1 min. O extrato foi filtrado em funil com duas camadas de gaze e o pH foi registrado com pHmetro digital (Tec5, Tecnal®, Piracicaba,

Brasil). Uma porção do extrato aquoso foi centrifugado a  $12.000 \times g$  por 20 min e o sobrenadante utilizado para análise dos produtos da fermentação. As concentrações de ácido láctico (Pryce, 1969) e amônia (Chaney e Marbach, 1962) foram determinadas por métodos colorimétricos. Outros produtos de fermentação, incluindo ácidos graxos voláteis (AGV), álcoois e ésteres foram analisados por cromatografia gasosa (Nexis GC-2030 com auto injetor AOC-20i Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão), utilizando coluna capilar (Stabilwax 60 m, 0,25 mm Ø, 0,25 µm; Restek, Bellefonte, PA). A identificação dos compostos foi baseada no tempo de retenção e quantificada com padrões externos. A concentração total de ácidos graxos voláteis não dissociados foi calculada pela soma das concentrações das formas não dissociados dos ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico. A proporção da forma não dissociados de cada AGV foi calculada como  $1/(1 + 10^{(pH - pKa)})$  (equação de Henderson-Hasselbalch). A soma dos ácidos butírico, iso-butírico, iso-valérico e valérico também foi calculada (soma BV).

Outra subamostra de silagem foi desidratada por 72 horas em estufa de ventilação forçada a 60°C para determinação da concentração de MS. A concentração de MS da silagem foi corrigida pela perda de voláteis durante a secagem em estufa (Weissbach e Strubelt, 2008). Na sequência, as amostras foram moídas em moído tipo Willey (Marconi MA340, Piracicaba, Brasil) com peneira de crivo de 1 mm para determinação dos teores de MS absoluta a 105°C, (método 930.15; AOAC, 1990), cinzas (método 942.05; AOAC, 1990) e proteína bruta (PB; método 984.13; AOAC, 1990). A concentração de matéria orgânica (MO) foi calculada como 100 - cinzas. A concentração de fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada utilizando sacos filtrantes (F57, Ankom) e solução de detergente neutro incluindo amilase termoestável e sulfito de sódio (Mertens, 2002; método 2002.04). As concentrações de fibra em detergente ácido (FDA) e a lignina em detergente ácido foram analisadas de acordo com Van Soest (1973; método 973.18). A concentração de solúveis em detergente neutro (SDN) foi calculado como MO – FDN. A digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) e da FDN (DIVFDN) foram determinadas utilizando incubadora Daisy II (Ankon Technology, Macedon, EUA), durante 48 horas com soluções preparadas conforme descrito em Holden (1999). O líquido ruminal foi obtido de duas vacas holandesas canuladas pastando capim-estrela africana, 1 hora após a suplementação com 2 kg/dia de concentrado à base de grão de milho moído, farelo de soja e mistura mineral-vitamínico. As vacas doadoras de fluido ruminal foram manuseadas de acordo com o guia para Cuidado e Uso de Animais em Pesquisa e Ensino (FASS, 2020). O teor de FDN indigestível (FDNi) das silagens foi determinado por

incubação *in situ* por 288 horas nas mesmas vacas canuladas no rúmen (Huhtanen *et al.*, 1994).

A distribuição de partículas das silagens foi determinada utilizando o Separador de Partículas da Penn State (PSPS; modelo com a peneira de 4 mm), adaptado pela adição de uma peneira de 40 mm no topo do conjunto. Esta peneira adicional continha 33 furos de 40 mm numa chapa plástica com espessura de 20 mm, com a área perfurada representando 32,1% da superfície da peneira.

### 2.3 Análise estatística dos dados

Inicialmente, foi utilizada estatística descritiva para caracterização do banco de dados. Foram calculados média, mediana, mínimo, máximo, amplitude, desvio padrão, coeficiente de variação, curtose e assimetria. A independência entre o perfil de fermentação e o valor nutricional das silagens foi confirmada por teste de correlação entre a concentração de ácido butírico e a DIVMS ( $P = 0,368$ ; Figura 1), usando o PROC CORR do SAS.

A seguir, foi realizada análise de agrupamento, por meio do PROC CLUSTER do SAS, com base na DIVMS das amostras. O dendrograma indicou a separação das silagens em dois grupos distintos - G1: DIVMS alta, G2: DIVMS baixa (Figura 2). Para verificação da autêntica formação de grupos distintos, utilizou-se o teste de Lambda Wilks ( $\alpha = 0,01$ ), por meio do PROC GLM do SAS. Na sequência, as médias dos grupos foram comparadas. As variáveis de distribuição contínua foram comparadas pelo PROC MIXED do SAS utilizando modelo que incluiu o efeito fixo de grupo, com método Kenward-Roger para cálculo dos graus de liberdade do denominador para o Teste F. As variáveis de distribuição discreta foram comparadas pelo Teste Exato de Fisher e as médias dos grupos comparadas pelo teste de Chi-quadrado ( $\chi^2$ ) ajustado para Bonferroni, utilizando o PROC FREQ do SAS.

Um segundo agrupamento foi estabelecido *a priori* considerando a concentração de ácido butírico nas amostras de silagens (Kaiser e Weiss, 2002) - G1:  $\leq 3$  g/kg MS (negativo) e G2:  $> 3$  g/kg MS (positivo). As variáveis de distribuição contínua foram comparadas pelo PROC MIXED, enquanto as variáveis de distribuição discreta foram comparadas pelo PROC FREQ, conforme descrito acima.

Análises de regressão foram realizadas utilizando o PROC REG do SAS, com o objetivo de explorar relações entre características associadas a DIVMS e à ocorrência de fermentação butírica. Quando foi observada tendência quadrática (isto é, não linear), a

resposta foi modelada com regressão segmentada utilizando o PROC NLMIXED do SAS. Como as regressões segmentadas apresentaram o melhor ajuste (ou seja, menor erro quadrático médio e maior  $R^2$  ajustado), elas foram adotadas como modelo final. A raiz do quadrado médio do erro (RQME) e  $R^2$  ajustado foram reportados como indicadores de ajuste dos modelos.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Descrição das variáveis com distribuição contínua

Os valores de média, mediana, moda, mínimo, máximo, amplitude, desvio padrão, curtose e assimetria das variáveis de distribuição contínua estão apresentados na Tabela 1. Em relação à produção da forragem, a adubação adotada pelos produtores em média foi de  $156 \pm 104$  kg/ha de N,  $38,1 \pm 25,1$  kg/ha de  $P_2O_5$  e  $64,6 \pm 24,7$  kg/ha de  $K_2O_5$ . Sobre o manejo do talhão de capim, a idade média do talhão foi de  $2,83 \pm 1,65$  anos, o número médio de cortes realizados por ano foi de  $2,16 \pm 0,928$  e a idade do capim no momento da colheita foi em média  $98,9 \pm 46,9$  d, com variação de 50 a 365 d. Já a produtividade reportada de MS por corte em média foi de  $7,06 \pm 3,59$  t/ha enquanto a produtividade anual de MS foi de  $15,8 \pm 7,19$  t/ha.

O tamanho teórico de corte reportado, no momento do processamento da forragem, foi em média  $13,1 \pm 2,40$  mm. Os produtores que utilizam absorvente de umidade, aplicaram dose média equivalente a  $151 \pm 112$  g/kg MN da massa verde de forragem. Foi observado que a inclusão dietética de silagem de capim foi em média de  $553 \pm 129$  g/kg MS para vacas de cria,  $530 \pm 190$  g/kg MS para animais de recria e  $162 \pm 69,1$  g/kg MS em rações destinadas para animais de engorda.

Quanto a composição bromatológica das silagens o teor de MS variou de 166 a 466 g/kg da MV, o teor de PB variou de 29,4 a 141 g/kg MS, a FDN variou de 563 a 851 g/kg MS, a FDA variou de 295 a 561 g/kg MS, a lignina variou de 38,2 a 119 g/kg MS, e a FDNi variou de 150 a 460 g/kg MS. A razão FDNi:lignina foi  $4,96 \pm 1,56$  em média. Já a digestibilidade *in vitro* da MS 48 horas foi em média  $501 \pm 89,0$  g/kg MS, enquanto a digestibilidade *in vitro* de FDN 48 horas e FDNpd 48 horas foram  $435 \pm 111$  g/kg FDN e  $768 \pm 126$  g/kg FDNpd, respectivamente.

O perfil de fermentação das silagens revelou valores de pH em média de  $4,93 \pm 0,625$ , N-NH<sub>3</sub> de  $299 \pm 211$  g/kg N, ácido láctico de  $9,90 \pm 12,2$  g/kg MS e ácido acético de  $20,1 \pm 9,28$  g/kg MS. A concentração de ácido butírico variou de 0,57 a 30,5 g/kg, com média de  $10,7 \pm 8,03$  g/kg MS. A concentração de ácido propiônico em média foi  $2,27 \pm$

1,59 g/kg MS, ácido iso-valérico  $1,39 \pm 1,09$  g/kg MS, ácido valérico  $1,25 \pm 0,91$  g/kg MS e ácido iso-butírico  $1,04 \pm 0,72$  g/kg MS. A concentração média de etanol foi  $3,39 \pm 5,61$  g/kg MS e o 2,3-butanodiol de  $0,52 \pm 1,13$  g/kg MS. Os demais produtos de fermentação foram encontrados em concentrações médias abaixo de 600 mg/kg MS, mas com amplitudes entre 22,7 e 6995 mg/kg MS.

A distribuição de partículas das silagens de capins mostrou variação de 3,26 a 290 g/kg MN na peneira de 40 mm, 92,4 a 668 g/kg MN na peneira de 19 mm, 28,3 a 699 g/kg MN na peneira de 8 mm, 8,50 a 161 g/kg MN na peneira de 4 mm e na caixa do fundo de 0 a 120 g/kg MN.

### 3.2 Descrição das variáveis com distribuição discreta

As frequências das variáveis de distribuição discreta estão apresentadas na Tabela 2. A maior parte, das amostras de silagem de capim obtidas nessa pesquisa, foi proveniente do estado do MT (69%), seguido pelos estados do PR (18%), MS (10%) e SP (4%). Majoritariamente, os produtores relataram apoio de acompanhamento técnico (67%) para a produção de capim e realizaram adubação das áreas de produção de capim (67%). A espécie forrageira mais utilizada foi do gênero *Megathyrsus* (71%), seguida pelo gênero *Urochloa* (25%) e pequena proporção de amostras foi proveniente da mistura de gêneros *Megathyrsus*+*Urochloa* (4%). A forragem utilizada para produção de silagem na maioria foi advinda de áreas específicas semiperenes para produção de capim (71%), seguida de sistemas de integração lavoura-pecuária (24%) e pequena parcela foi produzida a partir do excedente de pastagens (6%).

A maioria dos produtores (63%) utilizou serviços terceirizados para a colheita do capim com colhedora automotriz (76%). Apenas, 2% das amostras de silagens foram produzidas após emurchecimento da forragem. Em 82% das fazendas, foi relatado a utilização de inoculante microbiano na confecção das silagens, sendo 81% composto pela combinação de bactérias homo e heteroláticas. A menor parte dos produtores entrevistados (27%) faz uso de absorventes umidade, e 46% utilizam casca de soja, 38% usam resíduo da soja e 15% utilizam DDG como absorvente de umidade. Ainda, foi relatado que 49% dos produtores armazenam silagens em silos do tipo trincheira, 45% em silos superfície e apenas pequena parte armazena em silos bola (4%) e bag (2%). Quanto a utilização das silagens de capim na dieta, foi encontrado que pequena parte dos produtores destinam esse alimento para vacas de cria (12%), enquanto 52% utilizam em sistemas de recria e a maior parte (86%) utiliza a silagem de capim em dietas de engorda.

Quando as silagens foram agrupadas quanto a ocorrência de fermentação butírica (silagem com  $> 3$  g/kg MS de ácido butírico), foi observado que 86% das amostras foram classificadas como positivas, e apenas 14% das silagens foram consideradas 'livres' de ácido butírico ( $\leq 3$  g/kg MS de ácido butírico).

### 3.3 Comparação entre grupos de silagens (G1 e G2) para DIVMS

Do total de amostras, 43,1 e 56,9% foram classificadas nos grupos alta e baixa DIVMS, respectivamente. Os valores médios de DIVMS foram 584 (508 a 709) e 438 (314 a 499) g/kg MS para os grupos G1 e G2, respectivamente. Na Tabela 3 encontram-se as comparações entre os grupos de silagens com DIVMS alta (G1) e baixa (G2) para as variáveis com distribuição contínua. A dose de nitrogênio foi maior no G1 comparada ao G2 (224 e 106 kg/ha;  $P = 0,010$ ). O maior número de cortes/ano foi observado no G1, comparativamente ao G2 (3,00 e 1,85 corte/ano;  $P < 0,001$ ). A maturidade na colheita foi maior no G2 comparada ao G1 (112 e 83,8 d;  $P = 0,050$ ). O G1 apresentou maiores produtividades de MV por ha/ano (84,3, e 54,2;  $P = 0,009$ ) e MS por ha/ano (20,7 e 13,9;  $P = 0,009$ ).

O G1 apresentou maior teor de PB (74,0 g/kg PB;  $P < 0,009$ ), comparado ao G2 (56,8 g/kg). O G2 apresentou maiores teores de FDN, FDA, lignina, celulose e FDNi (751, 472, 77,8, 394 e 365 g/kg MS, respectivamente) do que o G1 (696, 419, 56,5, 363 e 256 g/kg MS, respectivamente). O maior teor de FDNpd foi observado no G1 (439 g/kg MS;  $P = 0,003$ ) frente ao G2 (385 g/kg MS). A concentração de solúveis em detergente neutro foi maior para o G1 do que o G2 (219 e 169 g/kg MS), assim, como os carboidratos não fibrosos (126 e 93,4 g/kg MS, respectivamente). O G1 apresentou maiores ( $P < 0,001$ ) valores de digestibilidade *in vitro* de MS (584 e 438 g/kg MS), FDN (532 e 362 g/kg FDN) e FDNpd (846 e 709 g/kg FDNpd, respectivamente) comparativamente ao G2.

Em relação aos produtos de fermentação, a concentração de ácido acético foi maior ( $P = 0,006$ ) no G1 (24,1 g/kg MS) do que no G2 (17,0 g/kg MS). A maior concentração de lactato de etila foi observada no G1 (35,3 g/kg MS) do que no G2 ( $< 1$  g/kg MS;  $P = 0,019$ ). A soma AGVAlc foi maior ( $P = 0,017$ ) no G1 (49,9 g/kg MS) comparativamente ao G2 (36,2 g/kg MS), a SomaPF (63,3 e 43,5 g/kg MS, respectivamente).

A comparação de variáveis de distribuição discreta para os grupos com base em DIVMS encontra-se na Tabela 4. O gênero *Megathyrus* ocorreu em 86% das amostras do G2 e 50% do G1 ( $P = 0,006$ ). O gênero *Urochloa* ocorreu em 46% das amostras do G1

e 10% no G2. A mistura desses gêneros (*Megathyrsus+Urochloa*) apresentou ocorrência de 4% em ambos os grupos.

Quanto à realização de adubação, foi observada maior ( $P = 0,007$ ) ocorrência dentre as amostras do G2 (83%) comparativamente às amostras do G1 (46%). O uso de área específica de produção de capim ocorreu em 90% dos casos do G2, mas em 45% do G1. A produção de capim em sistemas de integração lavoura-pecuária ocorreu em 50% dos casos do G1 e 3% dos casos do G2. Pequena parte das fazendas registrou a utilização do excedente de pastagens para produção de silagem (7% dos casos no G2 e 5% no G1).

### 3.4 Relações entre características das silagens e DIVMS

Confirmando as diferenças entre os grupos, as variáveis FDNi e PB apresentaram correlações moderadas com a DIVMS. Houve correlação linear e negativa entre o teor de FDNi e a DIVMS ( $P < 0,001$ ;  $R^2 = 0,766$ ; Figura 3). Ao contrário, o teor de PB apresentou correlação positiva e linear com a DIVMS ( $P < 0,001$ ;  $R^2 = 0,366$ ; Figura 4).

### 3.5 Comparação entre grupos de silagens (G1 e G2) para concentração de ácido butírico

Os grupos foram organizados de acordo com a concentração de ácido butírico, referindo-se aos valores: G1 = negativo (ácido butírico  $< 3$  g/kg MS) e G2 = positivo (ácido butírico  $> 3$  g/kg MS). O grupo G1 apresentou maiores valores de maturidade de colheita ( $P < 0,001$ ), teor de MS ( $P < 0,001$ ), solúveis em detergente neutro ( $P = 0,023$ ), CNF ( $P = 0,023$ ), partículas retinas na peneira de 4 mm ( $P < 0,001$ ), partículas retidas no fundo da PSPS ( $P < 0,001$ ) e menores valores de produtividade/ha/ano ( $P < 0,001$ ), teor de FDN ( $P = 0,035$ ), teor de celulose ( $P = 0,039$ ), N-NH<sub>3</sub> ( $P < 0,001$ ), ácido acético ( $P = 0,012$ ), ácido n-butírico ( $P < 0,001$ ), ácido propiônico ( $P = 0,020$ ), ácido iso-valérico ( $P < 0,001$ ), ácido valérico ( $P < 0,001$ ), ácido iso-butírico, 2-butanol ( $P = 0,024$ ), soma BV ( $P < 0,001$ ), soma AGVA1c ( $P < 0,001$ ), soma PF ( $P = 0,023$ ), partículas retidas na peneira de 19 mm ( $P = 0,013$ ), partículas  $> 8$  mm ( $P < 0,001$ ) e partículas  $> 4$ mm ( $P < 0,001$ ) em comparação com o grupo G2. As demais variáveis não apresentaram diferenças entre os grupos (Tabela 5).

O teste de Chi-quadrado ( $\chi^2$ ) aplicado nas variáveis com distribuição discreta (Tabela 6), comparando os dois grupos de com diferentes concentrações de ácido butírico revelou que foi utilizada colhedora terceirizada em 100% dos casos no grupo G1. Para as demais variáveis discretas não foi constatado diferença significativa entre G1 e G2.

### 3.6 Relações entre características fermentativas das silagens

Houve correlação linear e positiva entre as concentrações de ácido butírico e ácido propiônico ( $P < 0,001$ ;  $R^2 = 0,693$ ; Figura 5). A concentração de ácido butírico apresentou correlação linear e positiva ( $P < 0,001$ ;  $R^2 = 0,523$ ) com teor de amônia (Figura 6). A concentração de ácido lático foi negativamente correlacionada ( $P < 0,001$ ;  $R^2 = 0,456$ ) com o teor de ácido butírico. A modelagem com regressão *broken-line* indicou segmento linear negativo, seguido por um platô, após ponto de quebra (Figura 7). Silagens com teor de MS inferior a 370 g/kg apresentam alto risco de fermentação butírica (Figura 8).

## 4. DISCUSSÃO

Nesta pesquisa foram visitadas fazendas com diferentes sistemas de produção de gado de corte, mas, todas utilizando silagem de capim como fonte de volumoso na alimentação animal. A grande amplitude na produção de MS por hectare por corte (0,8 a 24 t/MS/ha/corte) evidencia a vasta diversidade nas condições de produção das operações amostradas neste estudo. As características das silagens de capins tropicais nesta pesquisa apresentaram grande variação, indicando que o conjunto de dados foi abrangente. Por exemplo, os teores de MS variaram de valores extremamente baixos (168 g/kg) até altos (466 g/kg), assim como a DIVMS (314 a 709 g/kg MS) e a concentração de ácido butírico (0,6 a 31 g/kg MS), mostrando que os materiais foram manejados sob diversas condições agrônomicas e de ensilagem. A ausência de correlação entre a concentração de ácido butírico e a DIVMS indicou a independência entre o perfil de fermentação e o valor nutricional das silagens.

### 4.1 Valor nutritivo das silagens

Neste estudo as silagens de maior digestibilidade foram oriundas de sistemas de produção que adotaram maiores doses de adubação nitrogenada, maior frequência de corte e menor idade de rebrote à colheita, que conjuntamente devem ter refletido em maior produtividade de MS por ha/ano. Cortes mais frequentes normalmente permitem a colheita da forragem com melhor valor nutricional, aproveitando ao máximo o potencial produtivo das plantas. Esse manejo intensivo, quando há oferta de nutrientes no solo, promove crescimento mais rápido e recuperação eficiente das plantas, maximizando a biomassa produzida. Além disso, a prática ajuda a manter as plantas na fase vegetativa, e a produção de MS é mais alta e a qualidade nutricional da forragem tende a ser melhor (Mari, 2003). Por outro lado, a aplicação com grandes quantidades de N permite

crescimento mais rápido das plantas (Bailey, 1973), assim como a razão folha:colmo pode ser alterada pela fertilização com nitrogênio (Pinto *et al.*, 1994; Oliveira *et al.*, 2020).

À medida que a planta amadurece, a produção de componentes de alta digestibilidade, como os CNF e as proteínas, tendem a diminuir. Por outro lado, as proporções de frações fibrosas aumentam, especialmente a fração lignina, resultando em menor digestibilidade (Moser, 1995; Jung e Allen, 1995). Tal fato foi evidenciado no presente trabalho pelas menos concentrações de CNF e maiores concentrações de frações fibrosas no grupo de menor DIVMS, e pela correlação negativa e alta entre o teor de FDNi e a DIVMS das silagens. Logo, ficou evidenciado que forragem colhidas com maturidade avançada resultaram em maior teor de FDNi e conseqüentemente menor DIVMS das silagens. Em capins dos gêneros *Urochloa* e *Megathyrsus*, a DIVMS normalmente diminui com a maturidade, mas, com efeito negativo mais pronunciado a partir de 60 d de rebrota (Mari, 2003; Tomaz *et al.*, 2018). Com o avanço da maturidade da planta, a lignina dificulta o ataque dos microrganismos do rúmen e, conseqüentemente diminuindo a digestibilidade da fibra (Van Soest, 1994). O efeito negativo da lignina na digestibilidade da fibra é mais acentuado em gramíneas tropicais do que em silagem de milho e gramíneas temperadas (Daniel *et al.*, 2017; Raffrenato *et al.*, 2019; Moraes *et al.*, 2023), como corroborado neste estudo pela alta razão FDNi:lignina (média de 4,96).

A relação positiva, mas modesta, entre PB e DIVMS sugere que as silagens com maior potencial de digestão foram, provavelmente, produzidas a partir de plantas com maior proporção de folhas verdes, que frequentemente contêm tecidos com maior proporção de conteúdo celular e parede celular mais delgada e menos lignificada (Van Soest, 1994). À medida que as plantas amadurecem, frequentemente observa-se diminuição da proporção de folhas e aumento da proporção de colmo (Jung e Vogel, 1992; Jung e Allen, 1995). É interessante notar que a concentração de vários produtos de fermentação, considerados individualmente ou a soma da concentração total de produtos de fermentação, foram maiores para o grupo de maior DIVMS, indicando maior extensão de fermentação, que deve ter ocorrido pela maior quantidade de substratos disponíveis para os microrganismos nas plantas colhidas mais jovens. Apesar da diferença de maturidade, o teor de MS foi semelhante entre os grupos de silagens. Estudos anteriores têm demonstrado que o avanço da maturidade não é fator exclusivo determinante do teor de umidade de capins tropicais (Wilkinson, 1983; Santos *et al.*, 2014; Tomaz *et al.*, 2018, Moraes *et al.*, 2023).

#### 4.2 Perfil de fermentação das silagens

Neste estudo, a maior parte das amostras (86%) de silagens de capins tropicais foi considerada mal fermentada, com concentrações de ácido butírico  $> 3$  g/kg MS. A partir da relação entre os teores de MS e ácido butírico puderam observar que quando as amostras continham menos de 370 g/kg MS houve grande risco de fermentação butírica, ou seja, as amostras que apresentaram mais de 370 g/kg MS foram classificadas como livres de ácido butírico. Recentemente, Carvalho *et al.* (2024) confirmaram que o modelo de CF proposto por Weissbach *et al.* (1974) é aplicável a capins tropicais dos gêneros *Megathyrus* e *Urochloa*. Os autores ressaltaram que o teor mínimo de MS necessário para reduzir o risco de fermentação butírica foi de aproximadamente 350 g/kg MS, que é similar ao valor encontrado no presente estudo. Assim, pode-se concluir que o valor mínimo de 250 g/kg MS citado por McDonald *et al.* (1991) parece não ser suficiente para restringir a fermentação butírica e minimizar perdas de nutrientes nas silagens em gramíneas tropicais, especialmente dos gêneros *Megathyrus* e *Urochloa*.

Além do ácido butírico, diversos produtos de fermentação são associados ao desenvolvimento de clostrídios em silagens, tais como ácidos iso-valérico, valérico, iso-butírico, 2,3-propanodiol, isopropanol, 2-butanol, etanol, ácido acético, amônia, aminas biogênicas (McDonald *et al.*, 1991; Rooke e Hatfield, 2003), e vários destes estão associados às perdas de MS e redução do valor alimentício. Neste estudo, o teor de ácido butírico foi correlacionado positivamente com as concentrações de ácido propiônico e  $\text{N-H}_3$ . Além disso, as silagens classificadas positivas para fermentação butírica apresentaram maiores concentrações de  $\text{N-H}_3$ , ácido acético, ácido propiônico, ácido iso-butírico, ácido valérico, iso-valérico e 2-butanol.

Concentrações elevadas de  $\text{N-NH}_3$ , ácido iso-butírico, iso-valérico e ácido valérico normalmente indicam ocorrência de proteólise, pela quebra de aminoácidos especialmente desencadeada por microrganismos proteolíticos (McDonald *et al.*, 1991). Enquanto o ácido propiônico não contribui significativamente para a redução do pH, sua presença em concentrações elevadas em silagens úmidas normalmente indica fermentações indesejáveis, possivelmente pela presença de *Clostridium propionicum* (Kung *et al.*, 2018). Adicionalmente, a correlação entre as concentrações de ácido láctico e ácido butírico foi inversa. Quando quantidades suficientes de ácido láctico são produzidas no processo de fermentação, a atividade microbiana é reduzida, principalmente pelo efeito do ambiente ácido, permitindo que a silagem seja armazenada aerobicamente (McDonald *et al.*, 1991; Pahlow *et al.*, 2003; Rooke e Hatfield, 2003). Por

outro lado, o ácido láctico produzido no início da fermentação pode ter sido degradado pela atividade de microrganismos indesejáveis, sobretudo por bactérias do gênero *Clostridium* nas silagens classificadas como mal fermentadas (McDonald *et al.*, 1991; Pahlow *et al.*, 2003; Rooke e Hatfield, 2003). Ambos os mecanismos podem ter ocorrido e a real causa da baixa concentração de ácido láctico nas silagens com alta concentração de ácido butírico não pode ser estabelecida neste estudo.

O desenvolvimento de microrganismos indesejáveis em silagens de capins tropicais, geralmente resulta na degradação de nutrientes solúveis e de maior digestibilidade (Gomes *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2023). De fato, no presente estudo, as silagens mal fermentadas apresentaram menores teores de solúveis em detergente neutro e maiores teores de FDN, enquanto a variação de digestibilidade da MS foi apenas numérica entre os grupos.

Além da composição da planta, o manejo da ensilagem também pode influenciar no processo de conservação. No conjunto de amostras avaliadas, o grupo de silagens bem conservadas apresentou melhor processamento físico da forragem, indicado pela menor proporção de partículas retidas nas peneiras de 19 e 40 mm. A picagem mais efetiva da forragem geralmente possibilita maior liberação do conteúdo celular, que contém nutrientes para o processo de fermentação, destacando-se os carboidratos solúveis necessários ao crescimento das bactérias lácticas (McDonald *et al.*, 1991; Pahlow *et al.*, 2003). Embora a densidade da massa de silagem não tenha sido determinada no presente experimento, a melhor picagem da forragem também deve ter contribuído para redução da porosidade e melhora do processo de conservação (Muck e Holmes, 2000).

O uso de aditivos absorventes de umidade representa uma das estratégias capazes de aumentar o teor de MS durante a ensilagem, como alternativa ao emurchecimento, visando diminuir a geração de efluentes e a perda de MS. No presente estudo, puderam constatar que a menor proporção de produtores aderiu ao uso de absorventes de umidade (27%), destacando o uso de casca de soja, resíduo da soja e em menor frequência os coprodutos de produção de etanol de milho. Embora alguns trabalhos demonstrem efeito positivo sobre o perfil fermentativo e valor nutritivo de silagens de capins (Igarasi, 2002; Ribeiro *et al.*, 2009; Ávila *et al.*, 2022), a adição de níveis moderados de absorventes de umidade como única estratégia de manejo não necessariamente assegura fermentação adequada e pode aumentar a complexidade do processo de ensilagem em grandes operações (Thomaz *et al.*, 2018; Gouvea *et al.*, 2020). No conjunto de fazendas

amostradas, a adição de absorventes de umidade não foi capaz de assegurar boa fermentação das silagens de capim.

Nessa pesquisa, mais de 80% dos produtores utilizaram inoculante microbiano na ensilagem de capim, destacando-se a utilização da combinação de bactérias homo e heteroláticas (81%). Em condições favoráveis de crescimento, as bactérias homolática podem acelerar a queda de pH no início da fermentação, inibindo microrganismos indesejáveis como enterobactérias e clostrídios (Pahlow *et al.*, 2003). Neste levantamento de campo, entretanto, a utilização de inoculantes não foi uma estratégia efetiva para reduzir a ocorrência de fermentação butírica nas fazendas amostradas. Na literatura, os efeitos dos inoculantes bacterianos em silagens de gramíneas tropicais com alto teor de umidade têm se mostrado inconsistentes (Mühlbach, 2000; Coan, 2001; Tomaz *et al.*, 2018).

## 5. CONCLUSÃO

Os dados desta pesquisa confirmaram a independência entre o perfil de fermentação e o valor nutricional das silagens. Aproximadamente 57% das amostras apresentaram DIVMS inferior a 50%, enquanto 86% das amostras apresentaram inadequado perfil fermentativo. Estes resultados sugerem a necessidade de desenvolvimento, transferência e aplicação de técnicas que contribuam para melhorar a qualidade de silagens de capins em fazendas brasileiras de gado de corte, especialmente se a intenção foi otimizar a inclusão desta forragem em dietas para animais em crescimento ou vacas de cria.

## 6. REFERÊNCIAS

- Adesogan, A. T., Queiroz, O. C. M., 2009. Silage pathogenicity and implications for the ruminant production chain. In Proceedings of the International Symposium on Forage Quality and Conservation. Piracicaba, SP.
- Association of Official Analytical Chemists—AOAC, 1990. Official methods of analysis, 15th ed. Arlington, VA, USA.
- Arriola, K. G., Oliveira, A. S., Jiang, Y., Kim, D., Silva, H. M., Kim, S. C., Amaro, F. X., Ogunade, I. M., Sultana, H., Pech, Cervantes. A. A., Ferraretto, L. F., Vyas. D., Adesogan, A. T., 2021. Meta-analysis of effects of inoculation with *Lactobacillus buchneri*, with or without other bacteria, on silage fermentation, aerobic stability,

- and performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 104, 7653-7670. [https://doi:10.3168/jds.2020-19647](https://doi.org/10.3168/jds.2020-19647).
- Auerbach, H., Weiss, K., Nadeau, E., 2012. Benefits of using silage additives. In *Proceedings 1st International Silage Summit, Leipzig, Saxony, Germany*, pp. 75–144.
- Avila, A. S., Zambom, M. A., Faccenda, A., Neres, M. A., Muxfeldt, L., Schneider, C. R., Stum, M. M., Dri, R., Schneider, P. R., 2022. Effects of adding agro-industrial by-products and bacterial inoculant at ensiling on nutritional quality and bacterial colonization of Tifton 85 *Cynodon dactylon* (L.) Pers. silages. *Trop. Grassl. Forrajes Trop.* 10, 204–213. [https://doi.org/10.17138/tgft\(10\)204-213](https://doi.org/10.17138/tgft(10)204-213).
- Bailey, R. W., 1973. Water in herbage. In: Butler, G.W.; Bailey, R.W. (Eds.) *Chemistry and biochemistry of herbage*. London: Academic Press. p.13-24.
- Chaney, A. L., Marbach, E. P., 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8, 130–132. <https://doi.org/10.1093/clinchem/8.2.130>.
- Coan, R. M., Vieira, P. F., Silveira, R. N., Reis, R. A., Malheiros, E. B., Pedreira, M. S., 2005. Inoculante Enzimático-Bacteriano, Composição Química e Parâmetros Fermentativos das Silagens dos Capins Tanzânia e Mombaça. *R. Bras. Zootec.* 34, 416–424.
- Daniel, J. L. P., Jacovaci, F. A., Junges, D., Santos, M., Lima, J. R., Anjos, I. A., Landell, M. G. A., Huhtanen, P., Nussio, L. G., 2017. Fibre digestibility and its relationships with chemical and morphological traits in thirty-two sugarcane varieties. *Grass Forage Sci.* 72, 545–555. <https://doi.org/10.1111/gfs.12254>.
- Daniel, J. L. P., Bernardes, T. F., Jobim, C. C., Schmidt, P., Nussio, L. G., 2019. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. *Grass Forage Sci.* 74, 188–200.
- Da Silva, S. C., Nascimento Jr., 2007. Avanços na pesquisa com plantas forrageiras tropicais em pastagens: características morfofisiológicas e manejo do pastejo. *R. Bras. Zootec.* pp.121–138.
- Da silva, T. C., Santos, R. I. R., Santos, E. M., Rodrigues, J. P. P., Santos., E. M., Rego, A., C., 2019. Challenges and perspectives of tropical grasses silages. In *VI International Symposium on Forage Quality and Conservation*.
- Driehuis, F., Van Wixselaar, P. G., Van Vuuren, A. M., Spoelstra, S. F., 1997. Effect of a bacterial inoculant on rate of fermentation and chemical composition of high dry matter grass silages. *J. Agric. Sci.* 128, 323–329.

- Euclides, V. P. B., Macedo, M. C. M., Valle, L. C. S., 1995. Avaliação de acessos de *Panicum maximum* sob pastejo. Campo Grande: Embrapa, CNPGC, 7.
- Federation of Animal Science Societies–FASS. 2020. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching. fourth ed. Champaign, IL, USA.
- Gomes, A. L. M., Auerbach, H. U., Lazzari, G., Moraes, A., Nussio, L. G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P., 2021. Sodium nitrite-based additives improve the conservation and the nutritive value of guinea grass silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 279, 115033 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115033>.
- Gouvea, V. N., Vendramini, J. M. B., Sollenberger, L. E., Oliveira, F. C. L., Dubeux, J. C. B., Moriel, P., Cecato, U., Soares Filho, C. V., Sanchez, J. M. D., Yarborough, J. K., Kuhawara, F., 2020. Inoculant effects on fermentation characteristics, nutritive value, and mycotoxin concentrations of bermudagrass silage. *Crop, Forage Turfgr. Manag.* 6:e20054.
- Holden, L. A., 1999. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *J. Dairy Sci.* 82, 1791–1794. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75409-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75409-3).
- Huhtanen, P., Kaustell, K., Jaakkola, S., 1994. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 211–227. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90173-2](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90173-2)
- Igarasi, M. S. 2002. Controle de perdas na ensilagem de capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. Cv. Tanzânia) sob os efeitos do teor de matéria seca, do tamanho de partícula, da estação do ano e da presença do inoculante bacteriano. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo-SP.
- Jank, L., Martuscello, J. A., Euclides, V. B. P., Do Valle, C. B., Resende, R. M. S., 2010. *Panicum maximum*. In: Da Fonseca, D. M., Martuscello, J.A. (Eds.), Plantas forrageiras. Viçosa, Minas Gerais, pp. 166-196.
- Johnson, R. A., Wichern, D. W., 2002. Applied multivariate statistical analysis. 5 ed. New Jersey: Prentice Hall, p. 767.
- Jung, H. G., Allen, M. S., 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73, 2774–2790. <https://doi.org/10.2527/1995.7392774x>.
- Jung, H. G., Vogel, K. P., 1992. Lignification of switchgrass (*Panicum virgatum*) and big bluestem (*Andropogon gerardii*) plant parts during maturation and its effect on fibre

- degradability. *J. Sci. Food Agric.* 59, 169–176. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740590206>.
- Krizsan, S. J., Randby, Å. T., 2007. The effect of fermentation quality on the voluntary intake of grass silage by growing cattle fed silage as the sole feed. *J. Anim. Sci.* 85, 984–996. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-587>.
- Kung Jr, L., Grieve, D. B., Thomas, J. W., Huber, J. T., 1984. Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *J. Dairy Sci.* 67, 299–306.
- Kung, Jr., L., Shaver, R. D., Grant, R. J., Schmidt, R. J., 2018. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *J. Dairy Sci.* 101, 4020–4033.
- Mari, L. J. 2003. 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. (Master's dissertation). Universidade de São Paulo, ESALQ, Piracicaba. 138p.
- McDonald, P. J., Henderson, A. R., Heron, S. J. E., 1991. The biochemistry of silage, 2.ed., Chalcombe Publications, Mallow, pp. 340.
- Mertens, D. R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J. AOAC Int.* 85, 1217–1240.
- Moraes, A., Auerbach, H. U., Bragatto, J. M., Piran Filho, F. A., Silva, S. M. S., Nussio, L. G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P., 2023. Effect of application rate of sodium nitrite and hexamine on the fermentation and the chemical composition of guinea grass silage harvested at different stages of maturity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 302, 115667. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115667>.
- Moser, L. E., 1995. Post-harvest physiological changes in forage plants. p. 1-19. In: Post-harvest physiology and preservation of forages. Moore, K. J., Peterson, M. A., Kral, D. M., Viney, M. K. CSSA and ASA, Madison, WI.
- Muck, R. E., Holmes, B. J., 2000. Factors affecting bunker silo densities. *App. Eng. Agric.*, 16, 613–619. <https://doi:10.13031/2013.5374>
- Mühlbach, P. R. F., 2000. Additives to improve the silage making process of tropical forages. In Proceedings of the FAO Electronic Conference on Tropical Silage, Rome, Italy, p. 1-30.

- Nussio, L. G., Manzano, R. P., Pedreira, C. G. S., 1998. Valor alimentício em plantas do gênero *Cynodon*. In: simpósio sobre manejo de pastagens. Manejo de tifton, coastcross e estrela. Piracicaba, São Paulo, pp. 242-245.
- Nussio, L. G., Paziani, S. F., Nussio, C. M. B., 2002. Ensilagem de capins tropicais [Ensilage tropical grasses]. In: Proceedings of the 39th Annual Meeting Brazilian Society of Animal Science, Recife, Brazil, pp. 60-99 (in Portuguese).
- Oliveira, J. K. S., Corrêa, D. C. C., Cunha, A. M. Q., Rêgo, A. C., Faturi, C., Silva, W. L., Domingues, F. N., 2020. Effect of Nitrogen Fertilization on Production, Chemical Composition and Morphogenesis of Guinea Grass in the Humid Tropics. *Agronomy*, 10, 1840. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111840>.
- Pahlow, G., Muck, R. E., Driehuis, F., Oude Elferink, S. J. W. H., Spoelstra, S. F., 2003. Microbiology of ensiling. In: *Silage Science and Technology*. Madison: ASCSSA-SSSA, *Agronomy*, 42, 31–93.
- Pinto, J. C., Gomide, J. A., Maestri, M., 1994. Dry matter and leaf:stem ratio of tropical forage grasses grown in pots under two rates of applied nitrogen. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 23, 313-326.
- Pimentel-Gomes, F. Curso de estatística experimental. 14 ed. Piracicaba: FEALQ, 2000. p. 477.
- Pryce, J. D., 1969. A modification of Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. *Analyst*. 94, 1151–1152. <https://doi.org/10.1039/an9699401151>.
- Raffrenato, E., Nicholson, C. F., Van Amburgh, M. E., 2019. Development of a mathematical model to predict pool sizes and rates of digestion of 2 pools of digestible neutral detergent fiber and an undigested neutral detergent fiber fraction within various forages. *J. Dairy Sci.* 102, 351–364. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15102>.
- Reis, R. A., Moreira, A. L., 2001. Conservação de forragem como estratégia para otimizar o manejo das pastagens. In: Mariano, B.B.; Carvalho, I.D.; Leitão, R.A.; Oliveira, M.C.; Correa, M.P.C.; Castanheiras, M. (Org.). *Anais do Congresso Brasileiro de Zootecnia*. Goiânia, Goiás, pp. 194–213.
- Reis, R. A., Bernardes, T. F., Siqueira, G. R., 2013. Forragicultura: Ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros. *Forage: Science, Technology and Management of Forage Resources*. Jaboticabal, São Paulo.

- Rêgo, A. C., Oliveira, M. D. S., Signoretti, R. D., 2015. Importância do tamanho de partícula e do uso de inoculante bacteriano em silagens. *R. Colomb. Ciênc. Anim.* 7, 88–99.
- Restle, J., Neumann, M., Brondani, I. L., Gonçalves, J. M., Pellegrini, L. G., 2003. Evaluation of Alexander grass silage (*Brachiaria plantaginea*) through feedlot performance of beef calves. *Cienc. Rural.* 33, 749–756.
- Ribeiro, J. L. 2009. Silagens de capins Marandu e Tanzânia avaliadas quanto às perdas de conservação, perfil fermentativo, valor nutritivo e desempenho de animais, na presença de aditivos químicos, microbianos e fontes absorventes de umidade. Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, p.262 (Tese de doutorado).
- Rooke, J. A., Hatfield, R. D., 2003. Biochemistry of ensiling. In: Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Eds.), *Silage Science and Technology*. American Society of Agronomy; Crop Science Society of America. Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 251–304.
- Santos, E. M., Zanine, A. M., 2006. Silagem de gramíneas tropicais. *Colloq. Agrariae.* 2, 32–45.
- Santos, E. M., Pereira, O. G., Garcia, R., Ferreira, C. L. L. F., Oliveira, J. S., Silva, T. C., Rosa, L. O., 2011. Microbial populations, fermentative profile and chemical composition of signalgrass silages at different regrowth ages. *R. Brasil. Zootec.* 40, 747–755. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000400007>.
- Santos, E. M., Pereira, O. G., Garcia, R., Ferreira, C. L. L. F., Oliveira, J. S., Silva, T. C., 2014. Effect of regrowth interval and a microbial inoculant on the fermentation profile and dry matter recovery of guinea grass silages. *J. Dairy Sci.* 97, 4423–4432. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7634>.
- Santos, E. M., Ramos, J. P. F., Oliveira, J. S., Pereira, O. G., Pinho, R. M. A., 2016. Performance of beef cattle fed guinea grass silages treated with microbial inoculant. *Rev. Electron. Vet.* 17, 1–14.
- Taylor, A. R., Pritchard, R. H., Bruns, K. W., 2015. Effects of backgrounding rate of gain on carcass characteristics. *J. Anim. Sci.* 93, 90–91.
- Tilley, J. M. A., Terry, D. R., 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass Forage Sci.* 18, 104–111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x>.

- Tomaz, P. K., Araujo, L. C., Sanches, L. A., Santos-Araujo, S. N., Lima, T. O., Lino, A. A., Ferreira, E. M., 2018. Effect of sward height on the fermentability coefficient and chemical composition of guinea grass silage. *Grass Forage Sci.* 73, 588–598. <https://doi.org/10.1111/gfs.12349>.
- Van Soest, P. J., 1973. Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 56, 781–784.
- Van Soest, P. J., 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- Weissbach, F., Strubelt, C., 2008. Correcting the dry matter content of grass silages as a substrate for biogas production. *Landtechnik.* 63, 210–211.
- Wilkinson, J. M., 1983. Silages made from tropical and temperate crops. 2. techniques for improving the nutritive value of silage. *World Ani. Rev.* 45, 35–40.
- Woolford, M. K., 1984. *The silage fermentation*. New York: Marcel Dekker. 350.

## TABELAS

**Tabela 1.** Descrição do banco de dados com as variáveis com distribuição contínua.

Variável	n <sup>1</sup>	Média	Med <sup>2</sup>	Moda	Mín <sup>3</sup>	Máx <sup>4</sup>	Ampl <sup>5</sup>	DP <sup>6</sup>	Curtose	Ass <sup>7</sup>
<i>Adubação</i>										
Dose de N, kg/ha	19	156	109	280	30,0	280	250	104	-1,81	0,254
Dose de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , kg/ha	14	38,1	30,0	30,0	10,0	104	94,0	25,1	3,13	1,81
Dose de K <sub>2</sub> O, kg/ha	17	64,6	63,2	63,2	30,0	126	96,3	24,7	2,11	1,21
<i>Manejo do talhão</i>										
Idade do talhão, ano	35	2,83	2,00	5,00	1,00	5,00	4,00	1,65	-1,58	0,331
Número de cortes, /ano	37	2,16	2,00	2,00	1,00	4,00	3,00	0,928	-0,014	0,761
Maturidade na colheita, d	44	98,9	90,0	90,0	50,0	365	315	46,9	24,7	4,40
<i>Produtividade reportada</i>										
Produtividade MV, t MV/ha/corte	47	26,4	27,0	35,0	4,00	85,1	81,1	12,9	8,32	1,83
Produtividade MS, t MS/ha/corte	47	7,06	6,47	5,00	0,831	24,0	23,2	3,59	9,84	2,12
Produtividade MV, t MV/ha/ano	35	62,8	70,0	70,0	4,00	112	108	31,8	-0,866	-0,028
Produtividade MS, t MS/ha/ano	35	15,8	15,5	10,0	0,831	28,1	27,2	7,19	-0,728	-0,036
<i>Processamento</i>										
Tamanho teórico de corte reportado, mm	31	13,1	12,0	12,0	10,0	18,0	8,00	2,40	-0,712	0,730
<i>Dose de absorvente de umidade na ensilagem</i>										

Dose, g/kg	12	151	100	300	39,0	300	261	112	-1,66	0,676
<i>Inclusão de silagem de capim nas dietas</i>										
Dieta para cria, g/kg MS	3	553	500	.	460	700	240	129	.	1,55
Dieta para recria, g/kg MS	23	530	500	750	250	750	500	190	-1,65	-0,041
Dieta para engorda, g/kg MS	35	162	140	160	80,0	460	380	69,1	10,0	2,83
<i>Composição bromatológica das silagens de capim</i>										
MS <sup>8</sup> , g/kg MV	51	287	276	.	168	466	298	78,1	0,169	0,725
Cinzas, g/kg MS	51	82,8	83,1	.	54,3	125	70,4	17,8	-0,759	0,330
Matéria orgânica, g/kg MS	51	917	917	.	875	946	70,4	17,8	-0,759	-0,330
Proteína bruta, g/kg MS	51	64,3	59,5	.	29,4	141	111	23,9	1,44	1,18
Fibra em detergente neutro, g/kg MS	51	727	733	734	563	851	288	54,8	1,61	-0,756
Fibra em detergente ácido, g/kg MS	51	449	452	415	295	561	266	537	0,210	-0,348
Lignina, g/kg MS	51	68,6	68,5	.	38,2	119	80,5	22,3	-0,173	0,683
Hemicelulose, g/kg MS	51	278	283	320	213	324	111	23,8	0,666	-0,669
Celulose, g/kg MS	51	380	374	.	239	483	244	49,8	0,451	-0,215
FDNi <sup>9</sup> , g/kg MS	51	318	324	.	150	460	310	73,4	-0,474	-0,319
FDNpd <sup>10</sup> , g/kg MS	51	409	420	.	216	596	380	66,2	1,09	-0,284
FDA, g/kg FDN	51	616	621	.	516	709	193	38,4	0,450	-0,233
Hemicelulose, g/kg FDN	51	384	379	.	291	484	193	38,4	0,450	0,233
Celulose, g/kg FDN	51	522	518	.	418	630	212	40,1	0,790	0,310

FDNi, g/kg FDN	51	436	425	.	228	663	436	92,0	0,066	-0,003
FDNpd, g/kg FDN	51	564	575	.	337	772	436	92,0	0,066	0,003
Lignina, g/kg FDN	51	94,4	92,4	.	56,5	169	113	30,2	0,162	0,818
Razão FDNi:Lignina	51	4,96	4,75	.	2,59	9,25	6,66	1,56	0,600	0,929
Solúveis em detergente neutro, g/kg MS	51	190	182	.	92,5	373	280	55,8	1,64	0,97
Carboidratos não fibrosos, g/kg MS	51	107	103	.	9,04	288	279	48,8	2,67	1,02
Razão CNF:SDN	51	54,6	57,9	.	9,78	77,3	67,5	13,5	1,54	-1,14
Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS 48 h, g/kg MS	51	501	483	.	314	709	396	89,0	-0,107	0,357
Digestibilidade <i>in vitro</i> da FDN 48 h, g/kg FDN	51	435	417	.	214	672	458	111	-0,297	0,212
Digestibilidade <i>in vitro</i> da FDNpd 48 h, g/kg FDNpd	51	768	792	.	462	1083	621	126	0,568	-0,105
<i>Perfil de fermentação das silagens de capim</i>										
pH	51	4,93	4,87	.	4,17	8,05	3,88	0,625	12,1	2,85
N-NH <sub>3</sub> , g/kg N	51	299	260	.	23,5	762	738	211	-0,745	0,651
Ácido lático, g/kg MS	51	9,9	4,15	1,40	<0,001	46,1	46,1	12,2	1,34	1,47
Ácido acético, g/kg MS	51	20,1	19,4	.	2,24	55,1	52,9	9,28	2,90	0,95
Ácido butírico, g/kg MS	51	10,7	8,83	.	0,57	30,5	29,9	8,03	-0,229	0,870
Etanol, g/kg MS	51	3,39	1,50	.	0,02	26,6	26,6	5,61	8,81	3,01
Ácido propiônico, g/kg MS	51	2,27	1,93	0,00	<0,001	6,27	6,27	1,59	-0,425	0,671
Ácido iso-valérico, g/kg MS	51	1,39	0,97	.	0,10	4,36	4,27	1,09	-0,396	0,799
Ácido valérico, g/kg MS	51	1,25	1,06	.	0,11	3,53	3,43	0,91	-0,390	0,635

Ácido iso-butírico, g/kg MS	51	1,04	0,85	.	0,09	2,83	2,75	0,72	0,010	0,868
2,3-Butanodiol, g/kg MS	51	0,52	0,11	0,00	<0,001	5,53	5,53	1,13	9,44	3,06
1-Propanol, mg/kg MS	51	594	226	0,00	<1	3753	3753	838	3,88	2,00
1,2-Propanodiol, mg/kg MS	51	550	89,1	0,00	<1	6995	6995	1228	15,9	3,72
Metanol, mg/kg MS	51	208	106	.	6,02	1665	1659	345	8,50	3,00
Isopropanol, mg/kg MS	51	84,3	31,6	0,00	<1	702	702	154	9,52	3,12
2-Butanol, mg/kg MS	51	45,5	31,0	0,00	<1	181	181	45,3	1,36	1,40
Acetona, mg/kg MS	51	26,8	<1	0,00	<1	301	301	64,6	10,9	3,35
Acetato de propila, mg/kg MS	51	2,09	<1	0,00	<1	37,9	37,9	6,56	18,7	4,08
Lactato de etila, mg/kg MS	51	1,52	<1	0,00	<1	22,7	22,7	5,38	10,5	3,42
Acetato de etila, mg/kg MS	51	1,49	<1	0,00	<1	24,5	24,5	4,72	13,6	3,63
Soma BV <sup>11</sup> , g/kg MS	51	14,4	11,7	.	0,94	36,7	35,8	10,2	-0,831	0,629
Soma AGVAIc <sup>12</sup> , g/kg MS	51	42,1	37,6	.	5,43	102	97,0	20,7	0,123	0,635
Soma PF <sup>13</sup> , g/kg MS	51	52,0	50,6	.	10,1	124	114	22,4	1,32	0,762
<i>Distribuição de partículas</i>										
40 mm, g/kg MV	51	90,6	63,1	.	3,26	290	286	73,6	2,26	1,74
19-40 mm, g/kg MV	51	369	334	.	92,4	668	576	177	-1,09	0,191
8-19 mm, g/kg MV	51	443	475	.	28,3	699	670	182	0,029	-0,751
4-8 mm, g/kg MV	51	62,5	58,8	.	8,50	161	152	40,5	-0,250	0,657
Fundo, g/kg MV	51	34,7	16,0	.	0,000	120	120	35,4	-0,311	1,05

> 8 mm, g/kg MV	51	903	927	.	723	986	263	71,3	-0,232	-0,851
> 4 mm, g/kg MV	51	965	984	.	880	1000	120	35,4	-0,311	-1,05

<sup>1</sup> n: número de observações;

<sup>2</sup> Med: mediana;

<sup>3</sup> Mín: mínimo;

<sup>4</sup> Máx: máximo;

<sup>5</sup> Ampl: amplitude;

<sup>6</sup> DP: desvio padrão;

<sup>7</sup> Ass: assimetria;

<sup>8</sup> MS: matéria seca corrigida para compostos voláteis;

<sup>9</sup> FDNi: fibra em detergente neutro indigestível;

<sup>10</sup> FDNpd: fibra em detergente neutro potencialmente digestível;

<sup>11</sup> SomaBV: soma dos ácidos iso-butírico, butírico, iso-valérico e valérico;

<sup>12</sup> SomaAGVAlc: soma de ácidos graxos voláteis e álcoois (metanol, isopropanol, etanol, 2-butanol, 1-propanol, ácido acético, ácido propiônico, 2,3-butanodiol, 1,2-propanodiol, ácido iso-butírico, ácido n-butírico, ácido iso-valérico, ácido n-valérico).

<sup>13</sup> SomaPF: soma de todos os produtos de fermentação não nitrogenados.

**Tabela 2.** Descrição do banco de dados com as variáveis com distribuição discreta.

Variável	Descrição e frequência
<i>Origem da amostra</i>	
Estado	MT (69%), MS (10%), SP (4%) e PR (18%)
<i>Implantação da produção de capim</i>	
Acompanhamento técnico	Sim (67%) e Não (33%)
Gênero do capim	<i>Megathyrus</i> (71%), <i>Urochloa</i> (25%) e Uro+Meg <sup>1</sup> (4%)
Adubação	Sim (67%) e Não (33%)
Área de produção de capim	Área específica – Semiperene (71%), Integração lavoura-pecuária (24%) e Pastagem excedente (6%)
Colhedora	Própria (37%) e Terceirizada (63%)
Tipo de colhedora	Tracionada (24%) e Automotriz (76%)
Emurchecimento da forragem	Sim (2%) e Não (98%)
<i>Aditivos na produção da silagem de capim</i>	
Inoculante microbiano	Sim (82%) e Não (18%)
Tipo de inoculante	Bactérias homoláticas (19%) e Combinação de bactérias homo e heteroláticas (81%)
Absorvente de umidade	Sim (27%) e Não (73%)
Tipo de absorvente de umidade	Resíduo de soja (38%), Casca de soja (46%) e DDG (15%)
<i>Estrutura de armazenamento da silagem</i>	
Tipo de silo	Trincheira (49%), Superfície (45%), Bag (2%) e Bola (4%)
<i>Uso da silagem de capim</i>	
Dieta para cria	Sim (12%) e Não (88%)
Dieta para recria	Sim (52%) e Não (48%)
Dieta para engorda	Sim (86%) e Não (14%)
<i>Classificação do curso da fermentação</i>	
Fermentação butírica <sup>2</sup>	Negativo (14%) e Positivo (86%)

<sup>1</sup> Uro+Meg: Talhão com mistura de *Urochloa* e *Megathyrus*.

<sup>2</sup> Silagens com >.3 g/kg MS de ácido butírico.

**Tabela 3.** Comparação entre grupos de silagens (G1 e G2) para DIVMS, variáveis com distribuição contínua.

Variável	G1 <sup>1</sup>	G2 <sup>2</sup>	EPM <sup>3</sup>	P-valor
n <sup>4</sup>	22	29	-	-
<i>Adubação</i>				
Dose de N, kg/ha	224	106	28,7	0,010
Dose de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , kg/ha	26,3	40,4	9,41	0,306
Dose de K <sub>2</sub> O, kg/ha	59,1	69,5	8,57	0,404
<i>Manejo do talhão</i>				
Idade do talhão, ano	2,30	3,04	0,424	0,237
Número de cortes, /ano	3,00	1,85	0,199	<0,001
Maturidade na colheita, d	83,8	112	9,69	0,050
<i>Produtividade reportada</i>				
Produtividade t MV/ha/corte	23,2	28,8	2,65	0,146
Produtividade t MS/ha/corte	6,15	7,73	0,738	0,138
Produtividade t MV/ha/ano	84,3	54,2	7,51	0,009
Produtividade t MS/ha/ano	20,7	13,9	1,69	0,009
<i>Processamento</i>				
Tamanho teórico de corte reportado, mm	12,5	13,6	0,61	0,252
<i>Dose de absorvente de umidade na ensilagem</i>				
Dose, g/kg MN	126	169	42,7	0,540
<i>Inclusão de silagem de capim nas dietas</i>				
Dieta para cria, g/kg MS	460	600	121	0,567
Dieta para recria, g/kg MS	585	479	55,1	0,187
Dieta para engorda, g/kg MS	169	155	16,7	0,569
MScorr <sup>5</sup> , g/kg MV	285	288	15,7	0,915
Cinzas, g/kg MS	85,8	80,5	0,36	0,294
Matéria orgânica, g/kg MS	914	920	3,5	0,294
Proteína bruta, g/kg MS	74,0	56,8	4,49	0,009
Fibra em detergente neutro, g/kg MS	696	751	9,5	<0,001
Fibra em detergente ácido, g/kg MS	419	472	9,4	<0,001
Lignina, g/kg MS	56,5	77,8	3,65	<0,001
Hemicelulose, g/kg MS	276	279	4,78	0,677

Celulose, g/kg MS	363	394	9,5	0,026
FDNi <sup>6</sup> , g/kg MS	256	365	9,9	<0,001
FDNpd <sup>7</sup> , g/kg MS	439	385	12,2	0,003
FDA, g/kg FDN	601	627	7,35	0,015
Hemicelulose, g/kg FDN	399	373	7,3	0,015
Celulose, g/kg FDN	520	523	8,07	0,736
FDNi, g/kg FDN	368	488	14,0	<0,001
FDNpd, g/kg FDN	632	512	14,0	<0,001
Lignina, g/kg FDN	81,8	104	5,7	0,008
Razão FDNi:Lignina	4,87	5,02	0,314	0,731
Solúveis em detergente neutro, g/kg MS	219	169	10,1	0,001
Carboidratos não fibrosos, g/kg MS	126	93,4	9,27	0,017
Razão CNF:SDN	56,5	53,2	2,69	0,393
Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS 48 h, g/kg MS	584	438	10,2	<0,001
Digestibilidade <i>in vitro</i> da FDN 48 h, g/kg FDN	532	362	14,3	<0,001
Digestibilidade <i>in vitro</i> da FDNpd 48 h, g/kg FDNpd	846	709	2,1	<0,001
<i>Perfil de fermentação das silagens de capim</i>				
pH	4,75	5,07	0,1218	0,071
N-NH <sub>3</sub> , g/kg N	285	310	4,2	0,678
Ácido láctico, g/kg MS	13,3	7,3	2,39	0,083
Ácido acético, g/kg MS	24,1	17,0	1,73	0,006
Ácido butírico, g/kg MS	12,2	9,55	1,60	0,240
Etanol, g/kg MS	4,61	2,46	1,109	0,176
Ácido propiônico, g/kg MS	2,65	1,97	0,314	0,135
Ácido iso-valérico, g/kg MS	1,54	1,27	0,219	0,395
Ácido n-valérico, g/kg MS	1,06	1,40	0,180	0,196
Ácido iso-butírico, g/kg MS	0,963	1,09	0,145	0,528
2,3-Butanodiol, g/kg MS	0,711	0,371	0,541	0,292
1-Propanol, mg/kg MS	709	507	167,7	0,401
1,2-Propanodiol, mg/kg MS	894	289	239,8	0,082
Metanol, mg/kg MS	262	167	68,9	0,337
Isopropanol, mg/kg MS	130	49,9	29,99	0,066

2-Butanol, mg/kg MS	56,8	36,9	8,89	0,121
Acetona, mg/kg MS	30,5	24,1	12,99	0,731
Acetato de propila, mg/kg MS	1,52	2,53	1,318	0,593
Lactato de etila, mg/kg MS	3,53	<1	1,0234	0,019
Acetato de etila, mg/kg MS	2,08	1,03	0,943	0,437
SomaBV <sup>8</sup> , g/kg MS	15,8	13,3	2,05	0,395
SomaAGVAlc <sup>9</sup> , g/kg MS	49,9	36,2	3,93	0,017
Soma PF <sup>10</sup> , g/kg MS	63,3	43,5	4,04	0,001
<i>Distribuição de partículas</i>				
40 mm, g/kg MV	111	75,3	14,39	0,088
19-40 mm, g/kg MV	384	357	35,5	0,602
8-19 mm, g/kg MV	403	474	36,1	0,174
4-8 mm, g/kg MV	67,1	59,0	8,12	0,486
Fundo, g/kg MV	35,0	34,5	7,14	0,966
> 8 mm, g/kg MV	898	906	14,3	0,677
> 4 mm, g/kg MV	965	965	7,1	0,966

<sup>1</sup> G1: DIVMS alta;

<sup>2</sup> G2: DIVMS baixa;

<sup>3</sup> EPM: erro padrão da média;

<sup>4</sup> n: número de observações;

<sup>5</sup> MS: matéria seca corrigida para compostos voláteis;

<sup>6</sup> FDNi: fibra em detergente neutro indigestível;

<sup>7</sup> FDNpd: fibra em detergente neutro potencialmente digestível;

<sup>8</sup> Soma BV: soma dos ácidos iso-butírico, butírico, iso-valérico e valérico;

<sup>9</sup> Soma AGVAlc: soma de ácidos graxos voláteis e álcoois (metanol, isopropanol, etanol, 2-butanol, 1-propanol, ácido acético, ácido propiônico, 2,3-butanodiol, 1,2-propanodiol, ácido iso-butírico, ácido n-butírico, ácido iso-valérico, ácido n-valérico);

<sup>10</sup> Soma PF: soma de todos os produtos de fermentação não nitrogenados.

**Tabela 4.** Comparação entre grupos de silagens (G1 e G2) para DIVMS, variáveis com distribuição discreta.

Variável	Classe	G1 <sup>1</sup>	G2 <sup>2</sup>	Fisher <sup>3</sup>
Acompanhamento técnico	Sim	59%	72%	0,377
	Não	41%	28%	
Gênero do capim	<i>Megathyrsus</i>	50% <sup>b</sup>	86% <sup>a</sup>	0,006
	<i>Urochloa</i>	46% <sup>a</sup>	10% <sup>b</sup>	
	Uro_Meg	4% <sup>a</sup>	4% <sup>a</sup>	
Adubação	Sim	46% <sup>b</sup>	83% <sup>a</sup>	0,007
	Não	54% <sup>a</sup>	17% <sup>b</sup>	
Área de produção de capim <sup>4</sup>	AE	45% <sup>b</sup>	90% <sup>a</sup>	<0,001
	ILP	50% <sup>a</sup>	3% <sup>b</sup>	
	PE	5% <sup>a</sup>	7% <sup>a</sup>	
Colhedora	Própria	36%	38%	0,999
	Terceirizada	64%	62%	
Tipo de colhedora	Tracionada	32%	17%	0,320
	Automotriz	68%	83%	
Inoculante	Sim	73%	90%	0,150
	Não	27%	10%	
Tipo de Inoculante <sup>5</sup>	Homo	19%	19%	0,999
	Combo	81%	81%	
Absorvente de umidade	Sim	27%	28%	0,999
	Não	73%	72%	
Tipo de absorvente de umidade <sup>6</sup>	RS	20%	50%	0,246
	CS	80%	25%	
	DDG	0%	25%	
Tipo de silo	Trincheira	50%	48%	0,999
	Superfície	45%	45%	
	Bag	0%	3%	
	Bola	5%	3%	
Dieta para cria	Sim	6%	16%	0,632
	Não	94%	84%	

Dieta para recria	Sim	50%	54%	0,999
	Não	50%	46%	
Dieta para engorda	Sim	100%	77%	0,067
	Não	0%	23%	

---

<sup>1</sup> G1: DIVMS alta;

<sup>2</sup> G2: DIVMS baixa;

<sup>3</sup> Fisher: teste exato de Fisher;

<sup>4</sup> Área de prod. de capim: AE: área específica (Semiperene); ILP: integração lavoura-pecuária e EP: excedente de pastagem;

<sup>5</sup> Tipo de Inoculante: BAL homo: Bactérias homolática; Combo: Combinação de bactérias homo e heteroláticas;

<sup>6</sup> Tipo de absorvente de umidade: RS: resíduo de soja; CS: casca de soja e DDG: Dried Distillers Grains - Grãos secos de destilaria.

**Tabela 5.** Comparação entre grupos de silagens (G1 e G2) para fermentação butírica, variáveis com distribuição contínua.

Variável	G1 <sup>1</sup>	G2 <sup>2</sup>	EPM <sup>3</sup>	P-valor
n <sup>4</sup>	7	44	-	-
<i>Adubação</i>				
Dose de N, kg/ha	30,0	163	63,14	0,224
Dose de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , kg/ha	30,0	33,5	17,39	0,903
Dose de K <sub>2</sub> O, kg/ha	30,0	66,7	14,90	0,156
<i>Manejo do talhão</i>				
Idade do talhão, /ano	1,33	2,97	0,607	0,102
Número de cortes, /ano	1,25	2,27	0,298	0,036
Maturidade na colheita, d	152	90,5	12,07	<0,001
<i>Produtividade reportada</i>				
Produtividade t MV/ha/corte	18,5	27,8	3,38	0,078
Produtividade t MS/ha/corte	7,10	7,05	0,98	0,971
Produtividade t MV/ha/ano	22,4	68,0	9,72	<0,001
Produtividade t MS/ha/ano	9,13	16,7	2,33	0,046
<i>Processamento</i>				
Tamanho teórico de corte reportado, mm	12,8	13,2	0,79	0,745
<i>Dose de absorvente de umidade na ensilagem</i>				
Dose, g/kg	59,0	159	74,1	4,19
<i>Inclusão de silagem de capim nas dietas</i>				
Dieta de cria, g/kg MS	700	480	24,1	0,099
Dieta de recria, g/kg MS	440	539	89,1	0,497
Dieta de engorda, g/kg MS	186	157	20,6	0,355
<i>Composição bromatológica das silagens de capim<sup>5</sup></i>				
MS <sup>5</sup> , g/kg MV	410	267	16,1	<0,001
Cinzas, g/kg MS	79,1	83,4	4,80	0,557
Matéria orgânica, g/kg MS	921	917	4,80	0,557
Proteína bruta, g/kg MS	71,9	63,0	36,04	0,365
Fibra em detergente neutro, g/kg MS	687	733	14,0	0,035
Fibra em detergente ácido, g/kg MS	420	454	14,0	0,118
Lignina, g/kg MS	74,9	67,6	5,90	0,425

Hemicelulose, g/kg MS	267	280	6,2	0,206
Celulose, g/kg MS	345	386	12,7	0,039
FDNi <sup>6</sup> , g/kg MS	274	325	19,0	0,084
FDNpd <sup>7</sup> , g/kg MS	413	408	17,7	0,854
FDA, g/kg FDN	610	617	10,2	0,644
Hemicelulose, g/kg FDN	390	383	10,2	0,644
Celulose, g/kg FDN	501	525	10,5	0,146
FDNi, g/kg FDN	399	442	24,2	0,254
FDNpd, g/kg FDN	601	558	24,2	0,254
Lignina, g/kg FDN	109	921	7,9	0,181
Razão FDNi:Lignina	3,94	5,12	0,40	0,061
Solúveis em detergente neutro, g/kg MS	234	183	14,1	0,023
Carboidratos não fibrosos, g/kg MS	144	102	12,4	0,033
Razão CNF:SDN	59,6	53,8	3,56	0,297
Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS 48 h, g/kg MS	531	496	23,5	0,341
Digestibilidade <i>in vitro</i> da FDN 48 h, g/kg FDN	442	434	29,7	0,863
Digestibilidade <i>in vitro</i> da FDNpd 48 h, g/kg FDNpd	731	774	33,4	0,417
<i>Perfil de fermentação das silagens de capim</i>				
pH	5,06	4,91	0,166	0,565
N-NH <sub>3</sub> , g/kg N	89,4	332	51,7	<0,001
Ácido láctico, g/kg MS	15,3	9,03	3,22	0,212
Ácido acético, g/kg MS	12,1	21,3	2,32	0,012
Ácido butírico, g/kg MS	1,79	12,1	1,92	<0,001
Etanol, g/kg MS	1,00	3,67	1,470	0,229
Ácido propiônico, g/kg MS	0,98	2,47	0,402	0,020
Ácido iso-valérico, g/kg MS	0,250	1,57	0,270	<0,001
Ácido n-valérico, g/kg MS	0,254	1,41	0,220	<0,001
Ácido iso-butírico, g/kg MS	0,022	0,117	0,0172	<0,001
2,3-Butanodiol, g/kg MS	0,70	0,49	0,301	0,646
1-Propanol, mg/kg MS	510	608	224	0,777
1,2-Propanodiol, mg/kg MS	1131	458	321,9	0,180
Metanol, mg/kg MS	68,2	231	90,99	0,252
Isopropanol, mg/kg MS	114	79,6	40,98	0,588

2-Butanol, mg/kg MS	10,1	51,1	11,47	0,024
Acetona, mg/kg MS	2,34	30,7	17,04	0,284
Acetato de propila, mg/kg MS	1,16	2,24	1,749	0,688
Lactato de etila, mg/kg MS	1,90	1,46	1,436	0,844
Acetato de etila, mg/kg MS	0,00	1,72	1,248	0,374
SomaBV <sup>8</sup> , g/kg MS	2,52	16,3	2,42	<0,001
SomaAGVAlc <sup>9</sup> , g/kg MS	19,1	45,8	4,94	<0,001
Soma PF <sup>10</sup> , g/kg MS	34,4	54,8	5,66	0,023
<i>Distribuição de partículas</i>				
40 mm, g/kg MV	78,5	92,5	19,61	0,646
19-40 mm, g/kg MV	221	392	44,5	0,016
8-19 mm, g/kg MV	522	431	48,0	0,222
4-8 mm, g/kg MV	104	559	9,85	<0,001
Fundo, g/kg MV	74,2	28,4	8,46	<0,001
> 8 mm, g/kg MV	822	916	16,9	<0,001
> 4 mm, g/kg MV	926	972	8,5	<0,001

<sup>1</sup> G1: Negativo (< 3 g/kg MS ácido butírico);

<sup>2</sup> G2: Positivo (> 3 g/kg MS ácido butírico);

<sup>3</sup> EPM: erro padrão da média;

<sup>4</sup> n: número de observações;

<sup>5</sup> MS: matéria seca corrigida para compostos voláteis;

<sup>6</sup> FDNi: fibra em detergente neutro indigestível;

<sup>7</sup> FDNpd: fibra em detergente neutro potencialmente digestível;

<sup>8</sup> SomaBV: soma dos ácidos iso-butírico, butírico, iso-valérico e valérico;

<sup>9</sup> SomaAGVAlc: soma de ácidos graxos voláteis e álcoois soma de ácidos graxos voláteis e álcoois (metanol, isopropanol, etanol, 2-butanol, 1-propanol, ácido acético, ácido propiônico, 2,3-butanodiol, 1,2-propanodiol, ácido iso-butírico, ácido n-butírico, ácido iso-valérico, ácido n-valérico);

<sup>10</sup> SomaPF: soma de todos os produtos de fermentação não nitrogenados.

**Tabela 6.** Comparação entre grupos (G1 e G2) de silagens quanto a fermentação butírica, variáveis com distribuição discreta.

Variável	Classe	G1 <sup>1</sup>	G2 <sup>2</sup>	Fisher <sup>3</sup>
Acompanhamento técnico	Sim	85,7%	63,6%	0,401
	Não	14,3%	36,4%	
Gênero do capim	<i>Megathyrus</i>	57,1%	72,7%	0,527
	<i>Urochloa</i>	42,9%	22,7%	
	Uro_Meg	0%	4,54%	
Adubação	Sim	57,1%	68,2%	0,673
	Não	42,9%	31,8%	
Área de produção de capim <sup>4</sup>	AE	57,1%	72,7%	0,354
	ILP	28,6%	22,7%	
	PE	14,3%	4,54%	
Colhedora	Própria	0% <sup>b</sup>	43,2% <sup>a</sup>	0,037
	Terceirizada	100% <sup>a</sup>	56,8% <sup>b</sup>	
Tipo de colhedora	Tracionada	0%	27,3%	0,177
	Automotriz	100%	72,7%	
Inoculante	Sim	100%	80%	0,328
	Não	0%	20%	
Tipo de Inoculante	BAL homo	14,3%	20,0%	1,000
	Combo	85,7%	80,0%	
Absorvente de umidade	Sim	14,3%	29,5%	0,657
	Não	85,7%	70,5%	
Tipo de absorvente de umidade <sup>5</sup>	Resíduo de soja	100%	33,3%	0,539
	Casca de soja	0%	50,0%	
	DDG	0%	17%	
Tipo de Silo	Trincheira	28,6%	52,3%	0,515
	Superfície	71,4%	40,9%	
	Bag	0%	2,27%	
	Bola	0%	4,54%	
Dieta para cria	Sim	14,3%	11,8%	1,000
	Não	85,7%	88,2%	
Dieta para recria	Sim	28,6%	56,1%	0,237

	Não	71,4%	43,9%	
Dieta para engorda	Sim	85,7%	85,7%	1,000
	Não	14,3%	14,3%	

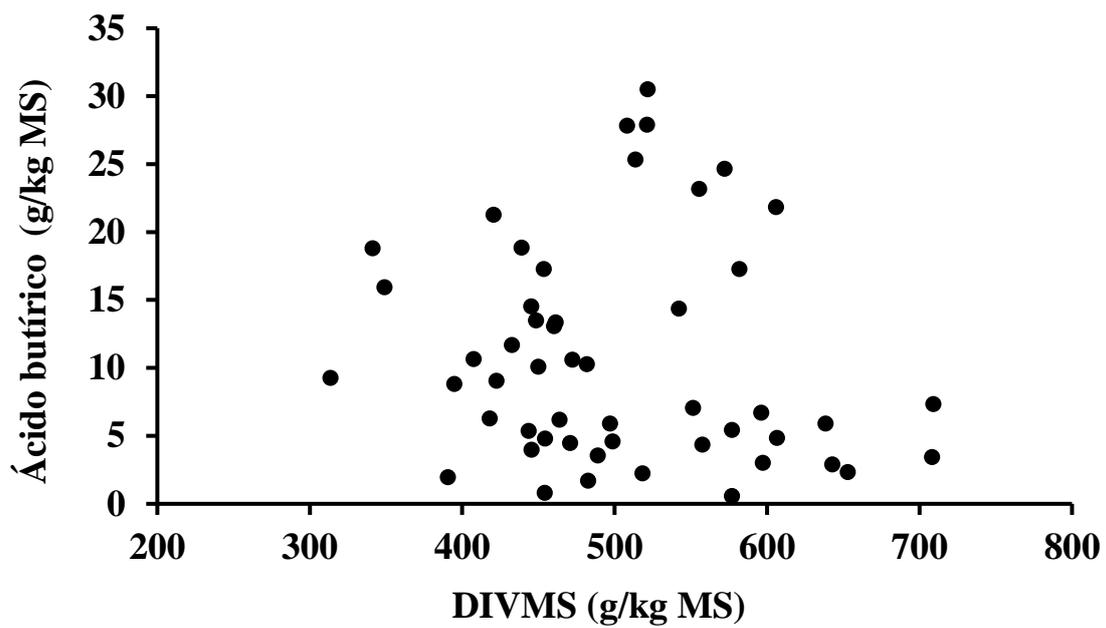
<sup>1</sup> G1: Negativo (< 3 g/kg MS ácido butírico);

<sup>2</sup> G2: Positivo (> 3 g/kg MS ácido butírico);

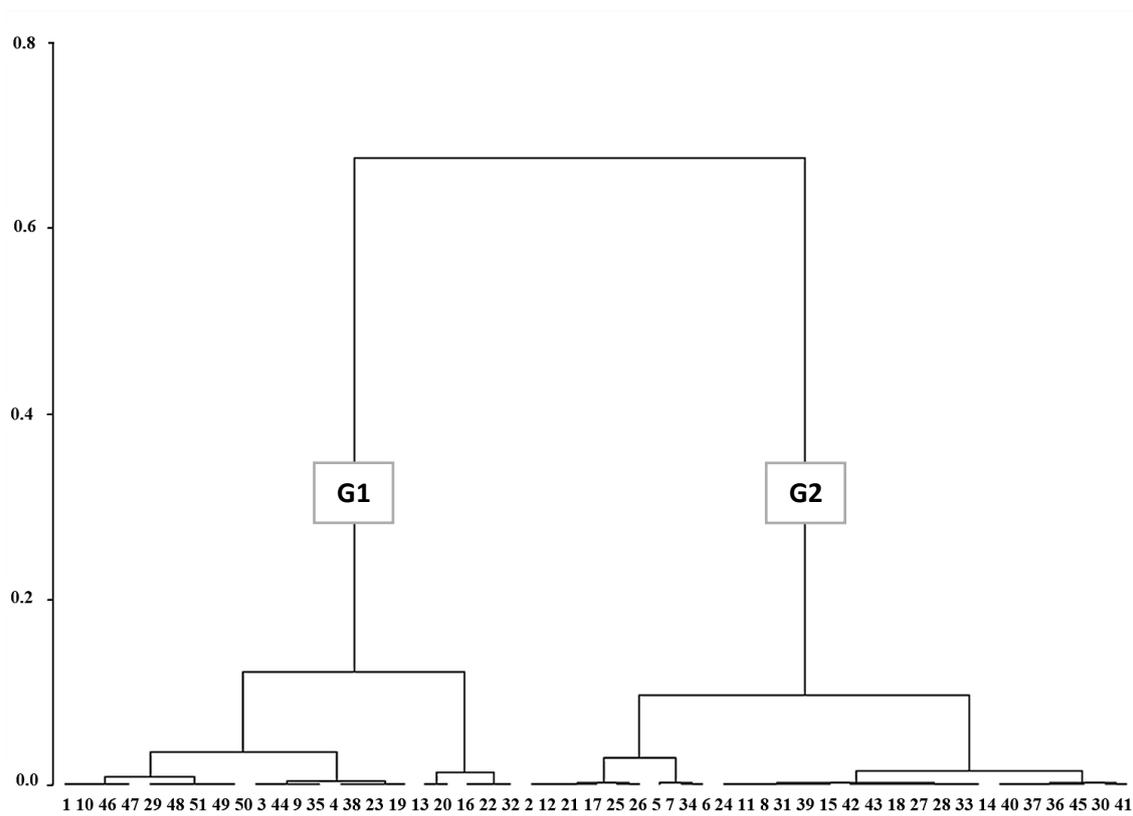
<sup>3</sup> Fisher: Teste exato de Fisher;

<sup>4</sup> Área de produção de capim: AE: área específica (semiperene), ILP: integração lavoura pecuária e PE: pastagem excedente;

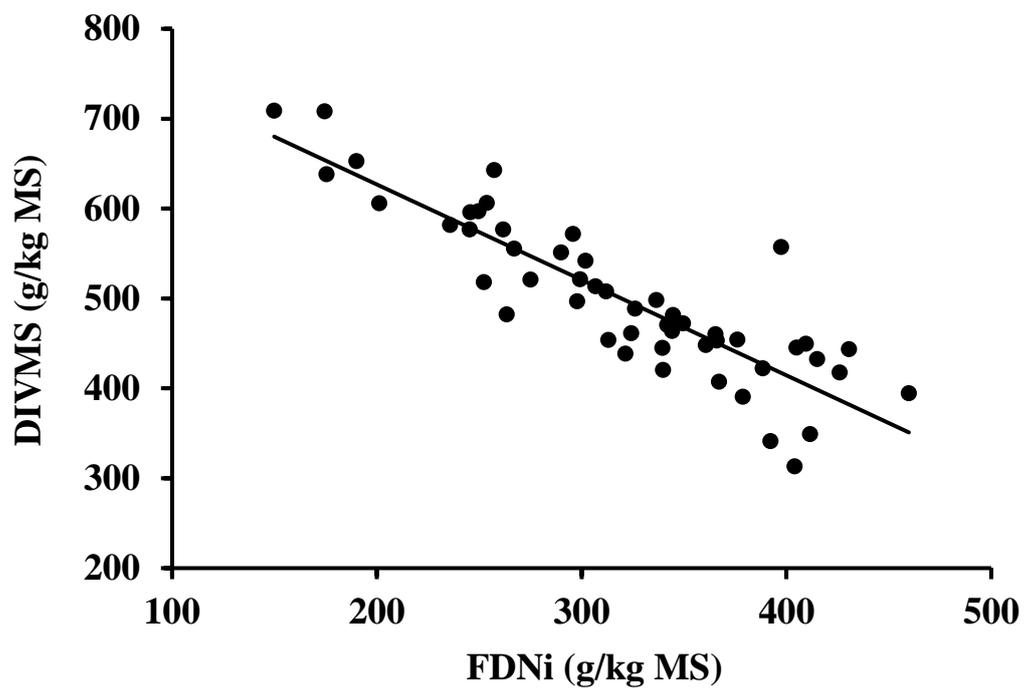
<sup>5</sup> Tipo de absorvente de umidade: DDG: Dried Distillers Grains - Grãos secos de destilaria.



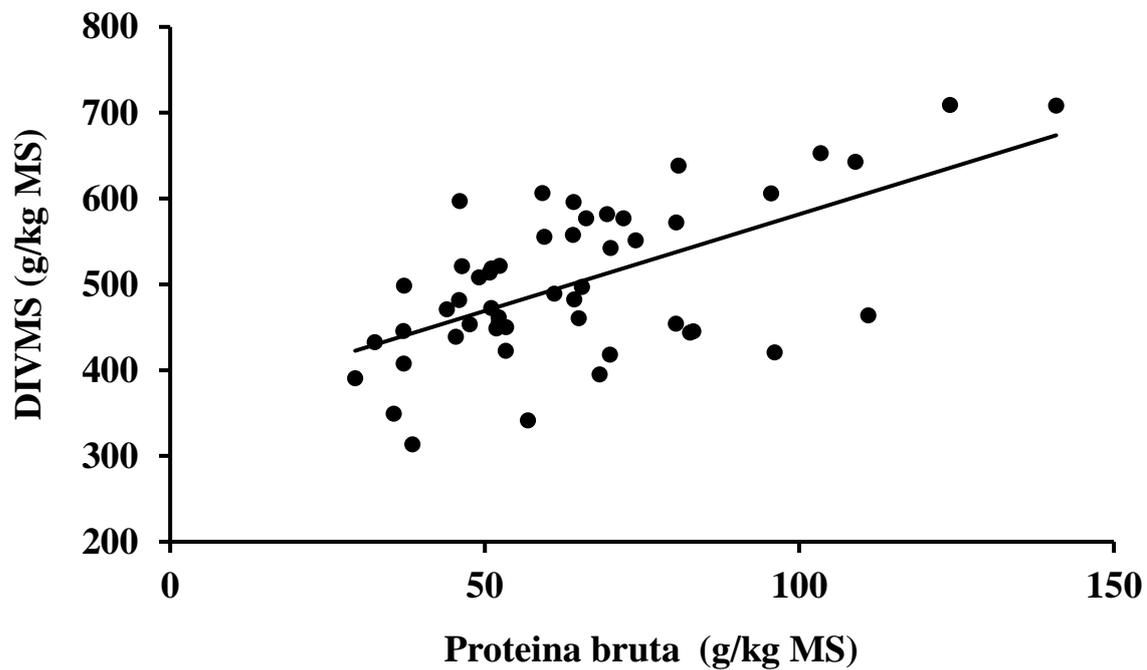
**Figura 1.** Correlação entre teor de ácido butírico e digestibilidade *in vitro* da matéria seca em amostras de silagens de capins tropicais ( $P = 0,368$ ).



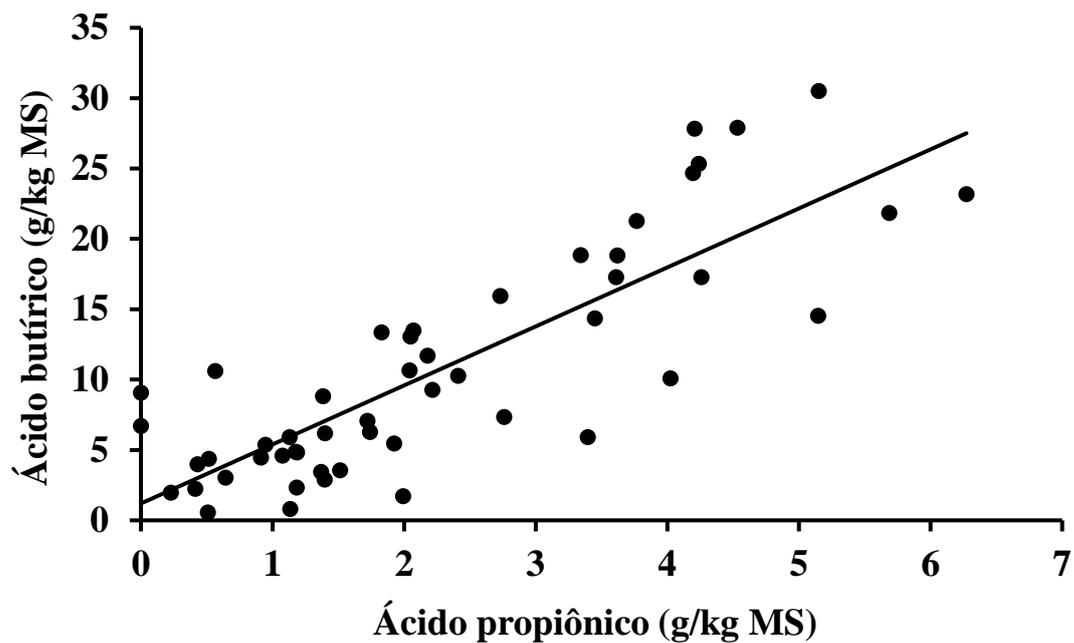
**Figura 2.** Dendrograma com agrupamento de silagens de capins tropicais com base na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS). G1:DIVMS alta e G2: DIVMS baixa.



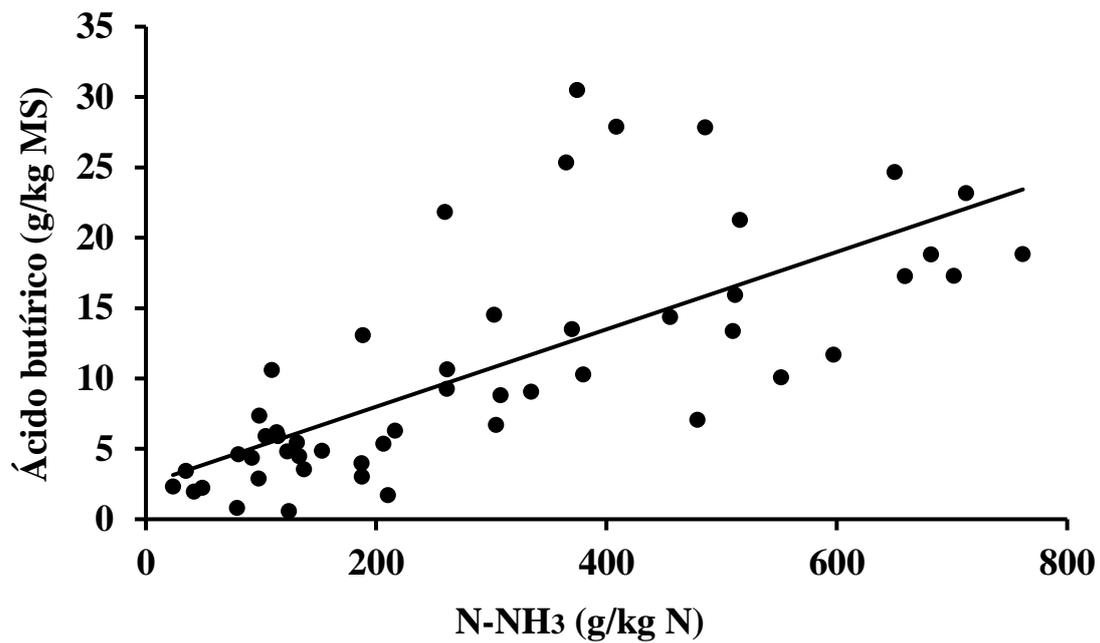
**Figura 3.** Relação entre teor de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) em amostras de silagens de capins tropicais.  $DIVMS (g/kg MS) = 839 - 10,6 \times FDNi (g/kg MS)$ ; RQME = 43,5;  $R^2 = 0,766$ ;  $P < 0,001$ .



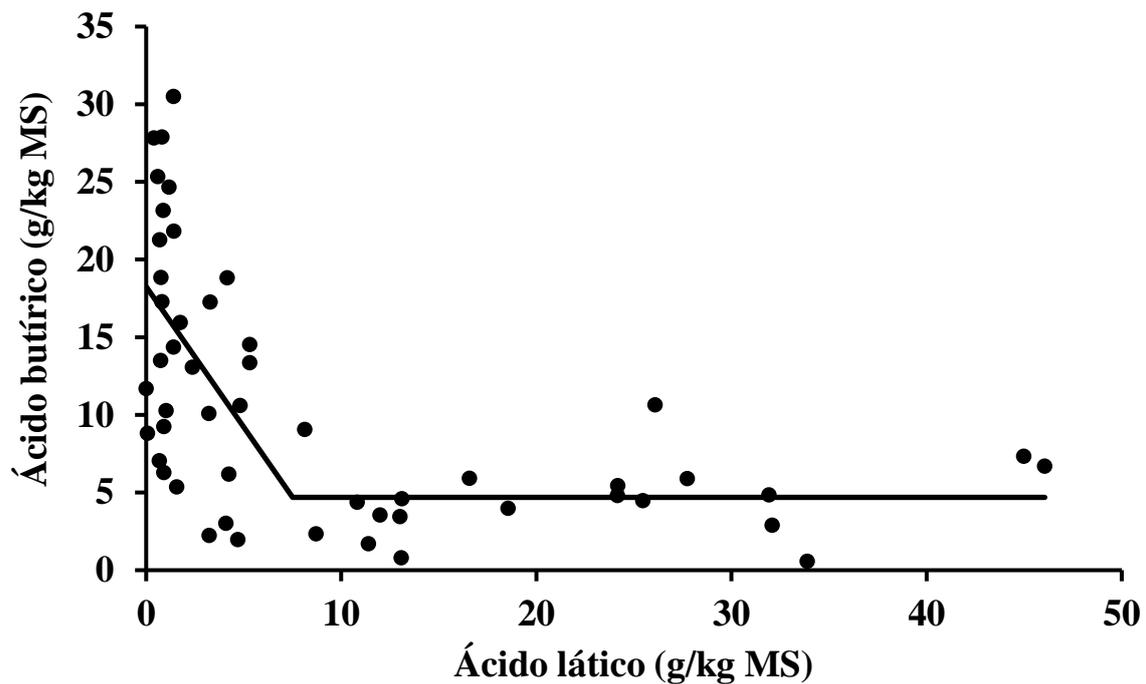
**Figura 4.** Relação entre teor de proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) em amostras de silagens de capins tropicais.  $DIVMS (g/kg MS) = 356 + 22,5 \times PB (g/kg MS)$ ; RQME = 71,6;  $R^2 = 0,366$ ;  $P < 0,001$ .



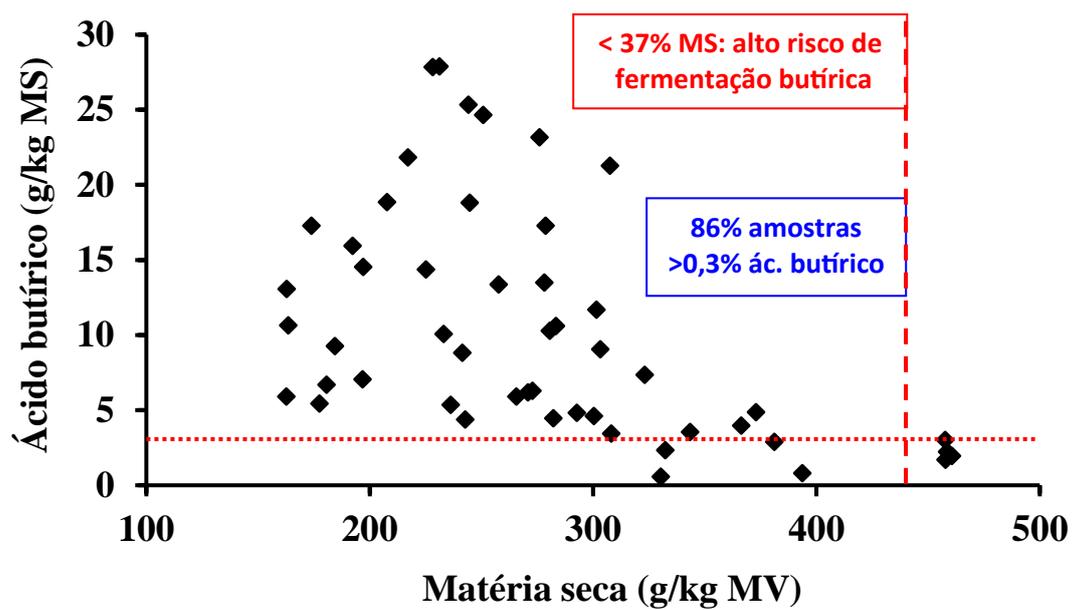
**Figura 5.** Relação entre teor de ácido propiônico e ácido butírico em amostras de silagens de capins tropicais.  $\text{AcButírico (g/kg MS)} = 1,20 + 41,9 \times \text{AcPropiônico (g/kg MS)}$ ; RQME = 4,49;  $R^2 = 0,693$ ;  $P < 0,001$ .



**Figura 6.** Relação entre teor de N-NH<sub>3</sub> e ácido butírico em amostras de silagens de capins tropicais.  $AcButírico (g/kg MS) = 2,50 + 0,28 \times Amônia (g/kg N)$ ; RQME = 5,60;  $R^2 = 0,523$ ;  $P < 0,001$ .



**Figura 7.** Relação entre teor de ácido láctico e ácido butírico em amostras de silagens de capins tropicais. Regressão segmentada (linha sólida). Se  $AcLat < 7,51$  g/kg MS,  $AcBut = 4,69 + 18,1 \times (7,51 - AcLat)$ ; Se  $AcLat \geq 7,51$ , então  $AcBut = 4,69\%$  MS. RQME = 4,04;  $R^2 = 0,456$ ;  $P < 0,001$ .



**Figura 8.** Relação entre teor de matéria seca e ácido butírico em amostras de silagens de capins tropicais.

**ANEXO****“Questionário de campo”****PRODUÇÃO DE SILAGEM DE CAPIM**

Nome da Identificação da amostra: \_\_\_\_\_

Nome da propriedade: \_\_\_\_\_

Local da propriedade: \_\_\_\_\_

Pessoa responsável pela coleta da amostra: \_\_\_\_\_

Data da coleta: \_\_\_\_\_

Houve acompanhamento técnico para a produção da silagem de capim? ( ) Sim ( ) Não

Qual o tipo de capim (genótipo/variedade) foi utilizado para a produção da silagem?\_\_

Foi feita ADUBAÇÃO na área de produção do capim? ( ) Sim ( ) Não

Se sim, qual o adubo/fertilizante e qual a quantidade/dose utilizada? \_\_\_\_\_

Sobre a ÁREA onde o capim foi produzido:

( ) Área específica de plantio de capim (semiperene / mais de um corte)

( ) Área de integração com lavoura

( ) Pastagem excedente

Em caso de área específica para produção de capim (semiperene), qual a IDADE do talhão /capineira?

( ) 1º ano ( ) 2º ano ( ) 3º ano ( ) 4º ano ( ) Mais de 4 anos

Em caso de área específica para produção de capim (semiperene), QUANTOS CORTES são feitos por ano?

( ) 1 corte por ano ( ) 2 cortes por ano ( ) 3 cortes por ano ( ) 4 cortes por ano ( ) Mais de 4 cortes por ano

Qual o TEMPO (dias ou meses) de CRESCIMENTO/REBROTA do capim colhido para a produção da silagem de capim? \_\_\_\_\_

Qual a PRODUTIVIDADE estimada do capim? \_\_\_\_\_

Em relação a máquina COLHEDORA utilizada para produção de silagem:

( ) Própria da fazenda ( ) Terceirizada (prestador de serviço)

Em relação ao tipo de máquina COLHEDORA utilizada para produção de silagem:

Automotriz (autopropelida)  Tracionada por trator  Automotriz adaptada

Faz EMURCHECIMENTO da forragem?

Sim  Não

Qual o TAMANHO TEÓRICO DE CORTE? \_\_\_\_\_

Faz uso de INOCULANTE?

Não  Inoculante com bactérias homolática  Inoculante com combinação de bactérias homo e hetero

Qual a MARCA ou o nome do inoculante/aditivo e a DOSE utilizada? \_\_\_\_\_

Para a produção de silagem de capim, foi utilizado ABSORVENTE DE UMIDADE?

Sim  Não

Se sim, qual o TIPO e qual a QUANTIDADE/DOSE de ABSORVENTE DE UMIDADE por tonelada de capim? \_\_\_\_\_

Qual tipo de SILO foi utilizado para a ensilagem do capim?

Silo superfície  Silo trincheira  Silo bag  Silo bola  Outro: \_\_\_\_\_

Para alimentar qual lote ou CATEGORIA animal a silagem de capim é utilizada? \_\_\_\_\_

Qual a inclusão de silagem de capim na DIETA? Se a utilização for para categorias diferentes, por favor, especificar para cada tipo de dieta. \_\_\_\_\_

## V Efeito de emurchecimento e doses de aditivos químicos na fermentação da silagem de braquiária ruziziensis

(Estilo e forma do manuscrito consistentes com as Instruções para Autores da revista *Animal Feed Science and Technology*)

**RESUMO:** Com a técnica de emurchecimento em capins destinados à ensilagem, é comum observar aumento nos teores de matéria seca e carboidratos solúveis (como proporção da matéria original) na forragem. Estas alterações normalmente aumentam a capacidade fermentativa da forragem, o que poderia possibilitar redução da dose necessária de aditivo para controlar o crescimento de microrganismos indesejáveis durante a fermentação. O objetivo deste estudo foi verificar se o teor de matéria seca (MS), manipulado por emurchecimento, interagem com a dose de aditivo químico à base de nitrito de sódio (300 g/L) e hexamina (200 g/L) para alterar a fermentação e o valor nutricional da silagem de braquiária ruziziensis. Os tratamentos foram combinação fatorial de duas umidades da forragem na ensilagem (corte direto e emurchecida durante período de 4 h até obter 426 g/kg de MS) e quatro doses de aditivo (0, 1, 2 e 3 L/t), com quatro repetições. Um campo de braquiária ruziziensis (0,2 ha), após 60 d de rebrota, foi cortado com ceifadora de disco rotativo montado lateralmente a 10 cm do solo. A forragem disponível em metade da área ceifada foi imediatamente recolhida manualmente com  $206 \pm 2,4$  g/kg de MS, picada em forrageira estacionária, dividida em 16 pilha (2 kg MN por pilha) para receber as doses dos aditivos e ensilada em sacos de náilon-polietileno (1 kg por silo) e selados a vácuo. A forragem da outra metade da área ceifada foi emurchecida durante 4 h até atingir  $426 \pm 9,2$  g/kg de MS antes do recolhimento. A picagem, a aplicação das doses de aditivo e o procedimento de ensilagem foram os mesmos descritos para a forragem obtida por corte direto. Após 60 d de armazenamento, os silos foram abertos e as silagens amostradas para determinar: perda de MS, contagem microbiana, produtos de fermentação, composição química e digestibilidade *in vitro* da MS. Houve interação entre dose de aditivo e teor de MS para várias características da silagem ( $P < 0,001$ ). Dentro de cada umidade, os produtos de fermentação associados ao metabolismo de clostrídio (e.g. ácido butírico, ácido propiônico, ácido iso-butírico, ácido iso-valérico, ácido valérico, amônia e 2,3-butanodiol) reduziram linearmente, conforme aumento da dose de aplicação do aditivo. A perda de MS da silagem de corte direto (134, 117, 106, 85 g/kg) e emurchecida (77, 68 50, 46 g/kg) foi reduzida linearmente com a aplicação do aditivo. O teor de carboidratos solúveis, proteína bruta, PNDR e DIVMS

aumentaram linearmente com a dose do aditivo em cada condição de umidade (corte direto e emurhecida), indicando que as silagens tratadas foram bem conservadas. Em conclusão, ambas as técnicas, i.e., aditivo à base de nitrito de sódio e hexamina e emurhecimento, foram capazes de restringir o desenvolvimento de clostrídios e as perdas de nutrientes durante a fermentação da silagem de braquiária ruzizensis. Assumindo linearidade de resposta, neste estudo, cada 1 L/t do aditivo foi capaz de compensar aproximadamente 60 g/kg de MS da forragem no momento da ensilagem como estratégia para reduzir perda de MS.

**Palavras-chave:** *Clostridium*, hexamina, nitrito de sódio, umidade, *Urochloa ruzizensis*

## V Effect of dose of sodium nitrite and hexamine on fermentation and chemical composition of ruzi grass silage with different dry matter contents

**ABSTRACT:** Wilting often increases dry matter (DM) and soluble carbohydrates (as a proportion of fresh matter) in forage crops at ensiling. These changes normally increase forage fermentative capacity, which turn possible to reduce the required dose of additive to restrict the growth of undesirable microorganisms during fermentation. The objective of this study was to verify whether the DM, manipulated by wilting, interacts with the dose of chemical additive based on sodium nitrite (300 g/L) and hexamine (200 g/L) to change the fermentation and nutritional value of ruzi grass silage. Treatments were a factorial combination of two forage DM levels (direct cut and wilted up to 426 g/kg DM for 4 h) and four doses of additive (0, 1, 2 and 3 L/t), with four replicates per treatment. After 60 d of regrowth, the ruzi grass field (0.2 ha) was cut with a pull-type rotating disc mower mounted laterally at 10 cm from the ground. The forage available on half of the harvested area was immediately collected manually with  $206 \pm 2.4$  g/kg of DM, chopped in a stationary forage harvester, divided into 16 piles (2 kg FM per pile) to receive the additives. Then, 1 kg of treated forage from each pile was placed in nylon-polyethylene bags and vacuum sealed. The another half of the harvested area was wilted for 4 h till reaching  $426 \pm 9.2$  g/kg of DM before harvesting. Chopping, additive doses and ensiling procedure were as for the direct-cut forage. After 60 d of storage, the silos were opened and silages were sampled to determine: DM loss, microbial counts, fermentation end-products, chemical composition, and *in vitro* DM digestibility. There was an interaction between additive dose and DM content for several silage characteristics ( $P < 0.001$ ). Within each DM level, the fermentation end products associated with *Clostridium* metabolism (e.g. butyric acid, propionic acid, iso-butyric acid, iso-valeric acid, valeric acid, ammonia and 2,3-butanediol) reduced linearly as the additive dose increased. DM losses of direct cut (134, 117, 106, 85 g/kg) and wilted (77, 68, 50, 46 g/kg) silages were also linearly reduced with the application rate of additive. The content of soluble carbohydrates, crude protein, RUP and IVDMD increased linearly with the additive dose in each DM condition (direct cut and wilted), indicating that the treated silages were better preserved. In conclusion, both techniques, i.e., additive based on sodium nitrite and hexamine and wilting, were able to restrict the clostridia development and nutrient losses during the fermentation of ruzi grass silage. Assuming linearity of response, in this study,

each 1 L/t of additive was able to replace approximately 60 g/kg of forage DM at ensiling as a strategy to reduce DM loss.

**Keywords:** *Clostridium*, hexamine, moisture, sodium nitrite, *Urochloa ruziziensis*

## 1. INTRODUÇÃO

Gramíneas tropicais perenes ou semiperenes são culturas com alto potencial de produtividade de matéria seca (MS) (e.g., 20-30 t/ha por ano), alto vigor de rebrota e alta adaptabilidade a diferentes condições de clima e solo, resultando em menor risco agrônomico comparativamente às culturas anuais (Jank *et al.*, 2010); sendo boa fonte de forragem ensilada nas áreas geográficas em que são cultivadas (Nussio, 2002). No entanto, no estágio de crescimento em que apresentam bom valor nutritivo, gramíneas tropicais apresentam alto teor de umidade, alto poder tampão e baixa concentração de carboidratos solúveis, que em conjunto aumentam o risco de desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, principalmente bactérias do gênero *Clostridium* (Weissbach *et al.*, 1974). O desenvolvimento de clostrídios resulta em perdas elevadas de nutrientes e silagens com baixa qualidade higiênica (McDonald *et al.*, 1991).

Embora as pesquisas sobre silagem de gramíneas tropicais não sejam recentes, obter silagem de capins tropicais de alta qualidade ainda é um desafio. Mesmo diante desses desafios, renova-se o interesse de fazendeiros e técnicos pela produção de silagem de capins tropicais como alimento complementar, dentro de sistemas de produção de leite e de carne. Por causa das oscilações em produtividade de culturas anuais (e.g., milho), devido às condições climáticas adversas e ocorrência de pragas e doenças. Essa demanda exige a retomada das pesquisas para encontrar estratégias eficazes para obtenção de silagens de gramíneas tropicais de melhor qualidade.

Até o momento, as estratégias utilizadas para melhorar o processo de fermentação em silagens de capins tropicais não têm levado a resultados consistentes. Os aditivos absorventes de umidade (e.g., casca de soja, polpa cítrica), como estratégia isolada de manejo, diminui a liberação de efluentes, mas nem sempre resulta em boa fermentação (Weissbach *et al.*, 1993), e torna o manejo da ensilagem mais complexo em grandes operações. O emurchecimento da forragem a campo pode ser uma estratégia viável para melhorar o coeficiente de fermentabilidade, assim como reduzir ou eliminar a produção de efluentes, e a perda de nutrientes por ele ocasionada; inibir a propagação de microrganismos indesejáveis, melhorando a qualidade nutricional e higiênica da silagem (McDonald *et al.*, 1991; Nishino *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2018). Embora viável, o emurchecimento da forragem ainda é desafio em regiões tropicais, principalmente pela falta de maquinários especializados para corte e recolhimento. Além disso, melhorar a

fermentabilidade de capins unicamente por redução de umidade nem sempre garante boa fermentação (Weissbach *et al.*, 1993; Weissbach e Honig, 1996; Kaiser *et al.*, 2002).

Em países do hemisfério norte, com tradição na conservação de forragens, os aditivos químicos são amplamente utilizados na produção de silagens de gramíneas temperadas. Por várias décadas o ácido fórmico foi o aditivo predominante na Europa, mas a corrosividade ao maquinário diminuiu a popularidade (Auerbach e Nadeau, 2019). Alternativamente, aditivos à base de sais foram introduzidos no mercado europeu. Dentre os aditivos à base de sais, misturas à base de nitrito de sódio têm a capacidade de inibir fermentação butírica, mas, sem as preocupações relatadas para o ácido fórmico (Weissbach e Auerbach, 2012). Gomes *et al.* (2021) demonstraram que a aplicação de ácido fórmico ou uma mistura de nitrito de sódio (1 g/kg MN) e hexamina (0,6 g/kg MN) foram altamente eficientes para inibir o desenvolvimento de clostrídios, reduzir perdas fermentativas e melhorar a composição nutricional da silagem de capim-Mombaça.

Em silagens produzidas com forragens de clima temperado emurhecidas, a taxa de aplicação da mistura de nitrito de sódio e hexamina pode ser reduzida (Weissbach, 2011). Em gramíneas tropicais, não existe pesquisa avaliando a interação entre o teor de umidade da forrageira e a dose de aditivos químicos. A hipótese é que a dose de aplicação de aditivo químico possa também ser diminuída com o aumento do teor de MS da forragem emurhecida. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da dose de aditivo químico contendo nitrito de sódio e hexamina e do teor de MS da braquiária *ruziziensis* [*Urochloa ruziziensis* (R. Germ. & Evrard) Crins (sin. *Brachiaria ruziziensis* R. Germ. & Evrard) cv. Kennedy] sobre a fermentação e a composição nutricional da silagem.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local e período experimental

O experimento foi realizado no período de 07 de fevereiro a 30 de maio de 2022 na Universidade Estadual de Maringá – Fazenda Experimental Iguatemi, Maringá, Paraná, Brasil (23° 20' S e 52° 04' W, 550 m acima do nível do mar). O clima na região é classificado como subtropical úmido com verões quentes (cfa segundo classificação climática de Köppen-Geiger; Alvares *et al.*, 2013). O solo no local de pesquisa em que o capim-Braquiária *ruziziensis* cresceu é latossolo vermelho distroférrico bem drenado (SiBCS, 2018), ou Latossolos (United State Taxonomy; Soil Survey Staff, 2014), com

textura franco-argilosa arenosa (55% areia, 20% silte e 25% argila). Antes do início do estudo, o pH médio do solo (em  $\text{CaCl}_2$ ) no local era de 5,8, o C orgânico era de  $5 \text{ mg/dm}^3$ , o P extraível (Mehlich-1) era de  $15 \text{ mg/dm}^3$  e o  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  extraíveis era de 0,35, 3,0 e  $1,5 \text{ cmolc/dm}^3$ , respectivamente, na profundidade do solo de 0-20 cm. Os testes de solo indicaram que os níveis de P,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  na camada superficial do solo eram adequados para a produção agrícola.

## 2.2 *Desenho experimental, tratamentos e ensilagem*

O experimento foi realizado em um ensaio fatorial com delineamento dos tratamentos em dois fatores quantitativos (concentração de umidade na forragem ensilada, sob corte direto ou emurchecida) e quatro níveis quantitativos (doses de aditivo químico) inteiramente ao acaso em quatro repetições.

Um campo de 0,2 ha de capim-Braquiária ruziziensis foi cortado para o ensaio no dia 07 de fevereiro de 2022, após 60 d do período de rebrota, no verão. A área foi cortada pela manhã (09h00) em 20 minutos, com cortador de disco rotativo montado lateralmente (Lavrale SD 9165, Caxias do Sul - Rio Grande do Sul), sem condicionadores. As alturas médias do dossel e do resíduo foram de 50 cm e 10 cm, respectivamente. As plantas de uma das metades da área foram imediatamente recolhidas para picagem (corte direto), com concentração de MS de  $206 \text{ g/kg MN}$ ; as plantas da outra metade da área permaneceram no campo desidratando (emurchecimento), por aproximadamente 4 horas, até atingir MS de  $426 \text{ g/kg MN}$  antes de serem recolhidas para picagem. Durante o emurchecimento a massa de forragem foi revolvida a cada hora. As condições climáticas durante o emurchecimento foram as seguintes: temperatura: 24 a  $29^\circ\text{C}$ ; umidade relativa: 41 a 60%; velocidade do vento: 5,6 a  $22,2 \text{ km/h}$ ; precipitação 0 mm; nebulosidade: quase sem nuvens. Assumindo cinética de primeira ordem, a taxa de perda de água foi de  $0,26 \text{ g/g MS por h}$ . O monitoramento da perda de água durante o emurchecimento foi feito pelo teste em forno micro-ondas (Easy Power Blender, Mondial, L-550-B, São Paulo, Brasil).

Antes da ensilagem, tanto a forragem obtida por corte direto quanto a emurchecida foram picadas por um picador de forragem fixo (Nogueira EN-9F3B, São João da Boa Vista, SP - Brasil) com comprimento teórico de corte de 10 mm. Para cada teor de MS, a forragem picada foi dividida em 16 pilhas (2 kg MN/pilha), totalizando 32 pilhas refletindo a combinação de dois teores de matéria seca, quatro tratamentos com aditivos e quatro repetições. Uma amostra de forragem não tratada em cada pilha foi coletada em

saco estéril para determinação das contagens microbianas, composição química e digestibilidade *in vitro* da MS da forragem fresca.

As doses de aditivo químico foram: controle - sem adição de aditivo químico (CON), nitrito de sódio 0,3 g/kg MN + hexamina 0,2 g/kg MN (dose baixa - NHB), nitrito de sódio 0,6 g/kg MN + hexamina 0,4 g/kg MN (dose média - NHM) e nitrito de sódio 0,9 g/kg MN + hexamina 0,6 g/kg MN (dose regular - NHR). As doses foram definidas com base em experimentos prévios (Auerbach *et al.*, 2019; Gomes *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2023). Os aditivos foram diluídos em água destilada (10 mL/kg MN) e aplicados com pulverizadores manuais. O tratamento controle também recebeu o mesmo volume de água destilada (10 mL/kg MN). Em seguida, 1,0 kg MN das forragens tratadas foram ensiladas em sacos de náilon-polietileno (33 × 45 cm, 160 µm de espessura) e selados a vácuo (TecMAq TM-250, São Paulo- SP, Brasil). Após a selagem, os 32 silos experimentais foram pesados e armazenados em galpão coberto em temperatura ambiente (16-32°C).

Após 60 d de armazenamento, os silos foram pesados para determinação das perdas fermentativas. A perda de MS foi calculada como a diferença entre a quantidade de MS ensilada e a quantidade de MS recuperada; expressa como proporção de perdas sobre a quantidade de MS ensilada. Na abertura dos silos, nenhum bolor visível foi detectado na superfície da silagem. Amostras de silagem foram coletadas para medição da contagem microbiana, pH, produtos da fermentação, composição química e digestibilidade *in vitro* da MS.

### 2.3 Análises laboratoriais

As análises das concentrações de MS, pH e contagens microbianas da forragem fresca e não tratada, e das silagens, foram iniciadas em até 30 min após a coleta do material.

#### 2.3.1 Análise microbiológica

Amostras de forragem não tratada, cortada diretamente e emurhecidas, e amostras de silagem, foram utilizadas para análise microbiológica. O pH, BAL, enterobactérias, clostrídios, leveduras e bolores foram avaliados após a preparação de um extrato aquoso misturando 25 g de amostra fresca + 225 g de água destilada estéril por 1 min em liquidificador e filtrando através de um funil com duas camadas de gaze (Kung Jr. *et al.*, 1984). O extrato da amostra foi coletado e o pH registrado por meio de pHmetro

digital (Tec5, Tecnal®, Piracicaba, Brasil). Em seguida, as alíquotas foram diluídas em série ( $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ ) em água peptonada estéril a 0,1% para contagens microbianas em meio seletivo (pour-plating). As BAL foram determinadas em ágar de Man, Rogosa e Sharpe (7543A, Acumedia, Lansing, Michigan, EUA) com adição de nistatina (400.000 UI/L) e as colônias de BAL foram contadas após incubação a 30°C aerobiamente por 48 horas. As enterobactérias foram enumeradas em meio seletivo de ágar violeta de cristal-vermelho neutro-bile (M049, Himedia, Mumbai, Índia) após incubação a 37°C aerobiamente por 72 horas. Após pasteurização (88°C por 13 min), diluições seriadas também foram enumeradas em Ágar Clostridial Reforçado (M154, Himedia, Mumbai, Índia) suplementado com vermelho neutro e D-cicloserina para enumeração de esporos de *Clostridium* (Jonsson, 1990). As colônias de *Clostridium* foram contadas após incubação em frascos anaeróbicos a 37°C por 120 horas. Leveduras e bolores foram enumerados em ágar extrato de malte (M137, Himedia, Mumbai, Índia) acidificado a pH 3,5 com ácido láctico. As amostras foram preparadas e incubadas aerobiamente a 30°C durante e 48 e 72 horas antes da contagem de leveduras e bolores, respectivamente. Todas as amostras de placas de Petri foram preparadas em duplicata e o número de microrganismos foi contado como unidade formadora de colônia (UFC) e expresso como  $\log_{10}$ .

### 2.3.2. Análises químicas

Imediatamente após a amostragem, amostras frescas de forragem e silagem foram desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas para determinação da concentração de MS. A concentração de MS da silagem foi corrigida pela perda de voláteis durante a secagem em estufa (Weissbach e Strubelt, 2008). Em seguida, as amostras foram moídas em moinho Willey (Marconi MA340, Piracicaba, Brasil) com tela de 1 mm e analisados para MS a 105°C, cinzas, proteína bruta e extrato etéreo (AOAC, 1990). Adicionalmente, para amostras de forragem, foram determinados a capacidade tampão (CT, Weissbach, 1967), a concentração de nitrato (Bezerra Neto e Barreto, 2011), o coeficiente de fermentabilidade (CF) foi estimado pela seguinte equação:  $CF = MS + 80 \times CS/CT$  (Weissbach *et al.*, 1974). Amostras de forragem e silagem também foram analisadas quanto ao teor de fibra em detergente neutro (FDN; com adição de amilase estável ao calor e sulfito de sódio e expressa incluindo cinzas residuais; Mertens, 2002), fibra em detergente ácido (FDA; sequencialmente e expressa incluindo cinzas residuais) e lignina (Van Soest, 1973), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi; Huhtanen *et*

*al.*, 1994), carboidrato solúvel em etanol (CS; Hall *et al.*, 1999), PB solúvel, N insolúvel em detergente ácido e N insolúvel em detergente neutro (Licitra *et al.*, 1996). O nitrogênio total foi fracionado em amônia (A1), proteína verdadeira solúvel (A2), proteína verdadeira insolúvel (B1), proteína ligada à fibra (B2) e proteína indigestível (C) de acordo com a metodologia de fracionamento de nitrogênio CNCPS v.6.5 (Van Amburgh *et al.*, 2015). A partir do fracionamento de nitrogênio, foram calculadas as concentrações de proteína degradável ruminal (PDR, g/kg MS) e proteína não degradável ruminal (PNDR, g/kg MS) para bovinos em crescimento usando cinética de primeira ordem [ $kd / (kd + kp)$ ] (Van Amburgh *et al.*, 2015). As taxas de passagem fracionada (líquido, concentrado e forragem) foram estimadas assumindo 6,2 kg/d de consumo de MS, 70% de nível de forragem na dieta e 265 kg de peso corporal reduzido (Tylutki *et al.*, 2008). A digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) também foi analisada em amostras de forragem e silagem utilizando uma incubadora Dayse II (Ankon Technology, Macedon, EUA) durante 48 horas, com soluções preparadas conforme descrito em Holden (1999). O líquido ruminal foi obtido de duas vacas holandesas canuladas, pastando capim-estrela africana (*Cynodon nlemfüensis* Vanderyst), 1 hora após a suplementação com 2 kg/dia de concentrado à base de grão de milho moído, farelo de soja e mistura mineral-vitamínico. As doadoras de fluido ruminal foram manuseados de acordo com o guia para Cuidado e uso de Animais Agrícolas em Pesquisa e Ensino (FASS, 2020). O conteúdo de MS digestível da forragem e da silagem foram calculados como o produto do peso da amostra, expresso em termos de MS, e a DIVMS. A recuperação da MS digestível foi calculada como a proporção do conteúdo de MS digestível na silagem, logo após a abertura do silo, em relação ao conteúdo de MS digestível da forragem, imediatamente antes da ensilagem.

### 2.3.3 Análise de produtos de fermentação

Após a obtenção do extrato aquoso da silagem, uma porção do extrato aquoso não diluído foi centrifugado a  $12.000 \times g$  por 20 min e o sobrenadante utilizado para análise dos produtos da fermentação. Utilizando colorimetria, foram determinadas as concentrações de ácido láctico (Pryce, 1969) e amônia (Chaney e Marbach, 1962). Nos tratamentos contendo nitrito de sódio e hexamina, a concentração de N-NH<sub>3</sub> foi corrigida (N-NH<sub>3</sub><sub>corr</sub>) considerando que 90% do N liberado da hexamina e 50% do N do nitrito de sódio adicionado foram convertidos em NH<sub>3</sub> durante a fermentação no silo. Outros produtos de fermentação, incluindo ácidos graxos voláteis (AGV), álcoois e ésteres foram analisados por cromatografia gasosa (Nexis GC-2030 com autoinjeter AOC-20i Plus,

Shimadzu, Kyoto, Japão), utilizando coluna capilar (Stabilwax 60 m, 0,25 mm Ø, 0,25 µm; Restek, Bellefonte, PA). A identificação dos compostos foi baseada no tempo de retenção e quantificada com padrões externos. A concentração total de ácidos graxos voláteis não dissociados foi calculada pelas somas das concentrações das formas não dissociados dos ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico. A proporção da forma não dissociados de cada AGV foi calculada como  $1/(1 + 10^{(\text{pH} - \text{pKa}))}$  (equação de Henderson-Hasselbalch). A soma dos ácidos butírico, iso-butírico, iso-valérico e valérico também foi calculada (Soma BV).

#### 2.4. Análise estatística

Os dados foram avaliados quanto a presença de outliers (Sauvant *et al.*, 2008), à normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (teste de Bartlett). Como as variáveis atendiam à normalidade e homocedasticidade, os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS (versão 9.4, SAS Institute, Cary, NC, EUA), com modelo que incluiu os efeitos fixos de umidade (corte direto ou emurhecido), dose de aditivo (CON, NHB, NHM ou NHR) e interação entre umidade e dose de aditivo. Em cada nível de umidade, as médias foram comparadas por contrastes ortogonais (com um grau de liberdade) para testar os efeitos lineares e quadráticos da taxa de aplicação de aditivo. Em cada nível de aditivo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer., e diferenças significativas foram declaradas se  $P \leq 0,05$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Composição da forragem

A composição química e microbiológica do capim fresco ou emurhecido antes da ensilagem é apresentada na Tabela 1. O teor de MS para o capim emurhecido ( $426 \pm 9,2$  g/kg MS) foi maior do que o do capim de corte direto ( $206 \pm 2,4$  g/kg MS). As contagens de BAL, clostrídios, enterobactérias e fungos foram menores para a forragem emurhecida. A concentração de CS foi aumentada pelo emurhecimento, especialmente quando expressa com base na matéria natural (27,1 vs 10,6 g/kg MN). O emurhecimento aumentou o CF de 312 para 549.

### 3.2 Características da silagem de capim-Braquiária ruziziensis

As contagens microbianas, o perfil de fermentação das silagens e as perdas fermentativas do capim-Braquiária ruziziensis são apresentados na Tabela 2. Não houve efeito de interação ( $P > 0,300$ ) entre o tipo de silagem (corte direto ou emurchecida) e a dose de aditivo químico para contagem microbiana na silagem, exceto para contagem de BAL ( $P < 0,001$ ). Para população de BAL na silagem de corte direto não houve efeito de dose, já a população de BAL foi menor na silagem emurchecida comparado com a silagem corte direto, na dose regular do aditivo ( $P < 0,001$ ). A população de clostrídios reduziu linearmente ( $P < 0,001$ ) com a dose do aditivo de maneira independente na silagem corte direto ou emurchecida. A média da contagem de clostrídios na silagem emurchecida foi 0,92 log UFC/g MN inferior ao corte direto (2,98 vs. 2,06 log UFC/g MN). A redução média da contagem de clostrídios entre os tratamentos controle e a dose regular de aditivo químico foi de 0,78 log UFC/g MN (3,37 vs. 2,59 log UFC/g MN).

Houve efeito de interação entre as silagens corte direto e emurchecidas e a dose do aditivo químico ( $P < 0,001$ ) para as variáveis relacionadas ao perfil fermentativo, exceto para a concentração de etanol e acetato de etila ( $P > 0,05$ ). O pH não variou ( $P = 0,075$ ) com a dose de aditivo na silagem corte direto, enquanto o pH da silagem emurchecida aumentou com a dose de aditivo (4,88 vs. 5,97;  $P < 0,001$ ), resultando em pH superior na silagem emurchecida nas doses média e regular em relação à silagem corte direto, mas, semelhantes no controle e dose baixa. A concentração de N-NH<sub>3</sub>corr reduziu de forma linear com a dose de aditivo nas silagens de corte direto e emurchecida ( $P < 0,001$ ). No entanto, na silagem de corte direto, houve redução mais acentuada entre as doses controle e regular (332 vs. 73,8 g/kg MS, respectivamente) quando comparada com a redução na silagem emurchecida (134 vs. 50,9 g/kg MS, respectivamente). Com isso, a concentração de N-NH<sub>3</sub>corr foi menor nas silagens emurchecidas em todas as doses de aditivo químico, exceto na dose regular em que a concentração de N-NH<sub>3</sub>corr foi semelhante ( $P > 0,05$ ) nas silagens corte direto e emurchecidas.

A concentração de ácido láctico aumentou linearmente ( $P < 0,001$ ) com a dose de aditivo químico na silagem do corte direto, (4,83 vs. 26,2 g/kg MS para as doses controle e regular, respectivamente), mas, foram semelhantes ( $P > 0,150$ ) na silagem emurchecida entre as doses de aditivo químico. Com essa interação, as concentrações de ácido láctico foram superiores na silagem emurchecida para as doses controle e baixa, mas, semelhantes entre a silagem emurchecida e corte direto nas doses média e regular de

aditivo químico ( $P < 0,001$ ). O efeito de interação entre o tipo de silagem e a dose de aditivo químico para a concentração de ácido acético foi devido ao efeito de dose quadrático e linear ( $P < 0,001$ ) na silagem de corte direto e emurchecida, respectivamente. As concentrações de ácido acético e ácido propiônico foram menores na silagem emurchecida ( $P < 0,001$ ) comparada com a silagem corte direto em todas as doses de aditivo químico. Entretanto, o ácido propiônico reduziu ( $P < 0,001$ ) de forma linear nas silagens de corte direto e emurchecida com diferentes intensidades. A redução da concentração de ácido propiônico na silagem obtida por corte direto foi mais acentuada comparado com a redução na silagem emurchecida.

A concentração de ácido butírico foi menor na silagem emurchecida comparado com a silagem corte direto (19,1 vs. 2,09 g/kg MS;  $P < 0,001$ ), exceto para a dose regular (NHR) de aditivo químico, e as silagens corte direto e emurchecida apresentaram concentrações de ácido butírico semelhantes. A concentração de ácido butírico reduziu linearmente com a dose de aditivo nas silagens corte direto ( $P < 0,001$ ) e emurchecida ( $P = 0,045$ ), no entanto com maior intensidade de redução na silagem corte direto (19,1 vs. 1,06 g/kg MS) de ácido butírico nas doses controle e regular, respectivamente, comparado com a redução na silagem emurchecida (2,09 vs. 0,322 g/kg MS de ácido butírico, nas doses controle e regular, respectivamente). A concentração de ácido iso-butírico diminuiu de forma linear com a dose de aditivo nas silagens de corte direto ( $P < 0,001$ ) e emurchecida ( $P = 0,025$ ), também, houve redução mais acentuada para a silagem de corte direto (1,36 vs. 0,043 g/kg MS) comparada com a silagem emurchecida (0,210 vs. 0,022 g/kg MS). O 2,3-butanodiol reduziu de forma linear ( $P < 0,001$ ) e quadrática ( $P < 0,001$ ) para ambas as silagens, no entanto a redução foi mais acentuada na silagem de corte direto nas doses controle e regular (7,88 vs. 1,44 g/kg MS), comparada a silagem emurchecida (3,15 vs. 0,280 g/kg MS) respectivamente.

O ácido iso-valérico diminuiu linearmente e quadraticamente ( $P < 0,001$ ) na silagem de corte direto (2,83 vs. 0,166 g/kg MS nas doses controle e regular, respectivamente). Já a concentração de ácido valérico reduziu de forma quadrática com a dose de aditivo nas silagens de corte direto ( $P < 0,001$ ) e de forma linear na silagem de corte direto e emurchecida ( $P < 0,001$ ), no corte direto a redução variou de 1,03 vs. <0,001 g/kg MS enquanto na emurchecida foi de 0,092 vs. 0,019 g/kg MS nas doses controle e regular. A concentração de acetato de etila foi reduzida de forma quadrática ( $P < 0,001$ ) na silagem de corte direto, visto que na silagem emurchecida foi reduzido linearmente ( $P = 0,024$ ) com o aumento da dose do aditivo. Já o acetato de propila foi reduzido

linearmente com a dose do aditivo na silagem de corte direto (0,016 vs. < 0,001 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) nas doses controle e regular. Houve efeito de interação entre a dose de aditivo químico e tipo de silagem ( $P < 0,001$ ) para os álcoois 2-butanol e 1-propanol. O 1-propanol apresentou redução linear para dose de aditivo químico (0,809 vs. 0,007 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) na silagem de corte direto. Já a concentração do álcool 2-butanol tanto na silagem de corte direto (0,593 vs. < 0,001 g/kg MS) como emurchecida (0,198 vs. < 0,001 g/kg MS) diminuiu linearmente ( $P < 0,001$ ) e quadraticamente ( $P < 0,001$ ), enquanto o isopropanol reduziu de forma linear (0,268 vs. 0,056 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) e quadrática ( $P = 0,033$ ) na silagem de corte direto e na silagem emurchecida diminuiu de forma linear (0,065 vs. < 0,001 g/kg MS;  $P = 0,043$ ). A soma dos ácidos butírico, isobutírico, valérico e isovalérico (soma BV) foram menores na silagem emurchecida comparado com a silagem corte direto para todas as doses de aditivo químico ( $P < 0,001$ ), no entanto com queda linear mais acentuada na silagem corte direto (24,3, 10,8, 10,1 e 1,27 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) do que na silagem emurchecida (2,59, 1,57, 0,893 e 0,490 g/kg MS;  $P = 0,031$ ) com o aumento da dose de aditivo químico. A razão entre ácidos graxos voláteis não dissociados e carboidratos solúveis mais ácido láctico [AGVnd/(CS+AL)] reduziu de forma linear ( $P < 0,001$ ), mais acentuada que na silagem de corte direto (1,28, 0,927, 0,340 e  $0,308 \pm 0,027$  g/kg MS), no entanto a razão foi menor na silagem emurchecida (0,231, 0,222, 0,044 e 0,007 g/kg MS) comparado com a silagem corte direto em todas as doses de aditivo químico ( $P < 0,001$ ).

Houve efeito de interação entre o tipo de silagem e a dose de aditivo químico para as perdas de MS ( $P < 0,001$ ). Para todas as doses de aditivo químico, as perdas foram inferiores na silagem emurchecida comparado com a silagem corte direto ( $P < 0,001$ ). As perdas foram reduzidas linearmente ( $P < 0,001$ ) para ambas as silagens, no entanto, na silagem corte direto o efeito de dose do aditivo foi mais pronunciado (134 vs.  $84,6 \pm 1,86$  g/kg MS) quando comparado ao efeito na silagem emurchecida (77,1 vs. 45,5 g/kg MS) para as doses controle e regular respectivamente. Enquanto na silagem corte direto a redução de perdas de MS foi de 49,4 g/kg MS entre o tratamento controle e a dose regular, na silagem emurchecida a redução foi de 31,6 g/kg MS. Quando compararam as perdas entre o tratamento controle da silagem corte direto e as perdas da silagem emurchecida com dose regular do aditivo químico, a redução de perdas foi de 88,5 g/kg MS.

### 3.3 Composição química e digestibilidade de silagens

A composição química, DIVMS e recuperação de MS digestível das silagens de capim-Braquiária ruziziensis são apresentadas na Tabela 3. Para a concentração de MS houve efeito exclusivo ( $P < 0,001$ ) do tipo de silagem, com média de 237 g MS/kg MN na silagem corte direto e 393 g MS/kg MN na silagem emurchecida. Houve tendência de interação ( $P = 0,070$ ) entre a dose de aditivo químico e o tipo de silagem (corte direto ou emurchecida) para concentração de CS. A interação ocorreu pois não houve efeito de dose de aditivo químico na silagem corte direto ( $P > 0,159$ ), enquanto na silagem emurchecida houve aumento linear ( $P < 0,001$ ) na concentração CS com o aumento na dose de aditivo químico (26,3 vs. 37,1 g/kg MS nas doses controle e regular, respectivamente). Dessa maneira, a concentração de CS foi superior ( $P < 0,05$ ) na silagem emurchecida comparada com a silagem corte direto apenas na dose regular de aditivo (24,8 vs. 37,1 g/kg MS).

Houve efeito de interação ( $P = 0,002$ ) entre dose de aditivo químico e tipo de silagem para concentração de FDA. Houve redução linear ( $P < 0,001$ ) na concentração de FDA na silagem de corte direto (375 para 345 g/kg MS) com o aumento da dose de aditivo químico, mas, o mesmo não ocorreu com a silagem emurchecida, que não variou a concentração de FDA com a dose de aditivo químico. No entanto, a silagem emurchecida na dose controle apresentou a menor concentração de FDA, comparada com a silagem corte direto, também na dose controle de aditivo químico (375 vs. 338 g/kg MS). De maneira semelhante, houve efeito de interação ( $P < 0,001$ ) entre tipo de silagem e dose de aditivo químico nas concentrações de PB, e a maior concentração de PB foi observada na silagem emurchecida, em relação à silagem corte direto (53,5 vs. 63,5 g/kg MS). A silagem de corte direto aumentou de forma linear e quadrática com a adição do aditivo químico (53,5, 61,5, 67,3 e 66,2 g/kg MS), enquanto na emurchecida a concentração e PB aumentaram de forma linear com as doses do aditivo (63,5, 63,4, 66,9 e 65,6 g/kg MS).

Dentre os parâmetros do fracionamento de proteínas, houve efeito de interação entre o tipo de silagem e a dose de aditivo químico, apenas para as frações A1 e A2, para as demais frações houve efeitos tanto do tipo de silagem quanto da dose de aditivo químico, exceto para as frações B2 e C em que não se observou efeito ( $P > 0,199$ ) do tipo de silagem (corte direto ou emurchecida). A fração A1 foi menor na silagem emurchecida comparada com a silagem corte direto, em todas as doses de aditivo químico (332 vs. 134 g/kg MS;  $P < 0,05$ ). A interação ocorreu pela ausência de efeito de dose de aditivo na silagem emurchecida, enquanto houve redução quadrática ( $P < 0,001$ ) na silagem de corte

direto com o aumento nas doses do aditivo químico (332 para 194 kg/MS). De maneira oposta, a fração A2 foi maior ( $P < 0,05$ ) na silagem emurhecida comparada com a silagem corte direto em todas as doses de aditivo químico ( $P < 0,05$ ), mas, houve efeito da dose de aditivo químico em ambas as silagens, com a fração A2 aumentando de forma quadrática (290, 400, 305 e 310 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) na silagem de corte direto, e diminuindo de forma linear (536, 504, 416 e 381 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) na silagem emurhecida com o aumento da dose de aditivo químico. A fração B1 aumentou linearmente ( $P < 0,001$ ) na silagem e corte direto e emurhecida, com o aumento da dose de aditivo, no entanto o efeito de dose de aditivo foi mais acentuado na silagem emurhecida (217 vs. 293 g/kg MS) quando comparada a silagem de corte direto (259 vs. 311 g/kg MS) nas doses controle e regular respectivamente. Para a fração B2, houve efeito de dose de aditivo químico ( $P < 0,001$ ) independentemente do tipo de silagem, que apresentou aumento de forma linear na fração de proteína B2 com o aumento da dose do aditivo químico na silagem de corte direto (72,8 vs. 138 g/kg MS) e emurhecida (74,4 vs. 152 g/kg MS). Por outro lado, a fração C aumentou de forma linear (38,0 vs. 49,3 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) com o aumento da dose do aditivo químico apenas na silagem emurhecida.

A proporção de PDR reduziu de forma linear ( $P < 0,001$ ) na silagem de corte direto (809 vs. 772 g/kg MS) e emurhecida (787 vs. 758 g/kg MS). Já a proporção de PNDR apresentou comportamento oposto ao da proporção de PDR. Aumentou tanto de forma linear ( $P < 0,001$ ) como quadrática ( $P = 0,011$ ) na silagem de corte direto, enquanto na silagem emurhecida aumentou linearmente ( $P < 0,001$ ) com a dose de aditivo químico, no entanto com maior intensidade na silagem de corte direto (191 vs. 228 g/kg MS nas doses controle e regular, respectivamente) comparada com o aumento de 213 vs. 242 g/kg MS nas doses controle e alta, respectivamente, na silagem emurhecida.

Houve efeito de interação entre as silagens corte direto e emurhecidas e a dose do aditivo químico para a DIVMS ( $P = 0,039$ ). A DIVMS foi maior na silagem emurhecida comparada com a silagem corte direto (439 vs. 531 g/kg MS;  $P < 0,05$ ), somente na dose controle de aditivo químico. Houve aumento linear ( $P < 0,001$ ) na DIVMS com o aumento da dose de aditivo químico. No entanto, o aumento foi mais acentuado na silagem de corte direto ( $83 \pm 0,010$  g/kg MS) comparado com a silagem emurhecida ( $30 \pm 0,010$  g/kg MS), entre as doses controle e regular de aditivo químico. Houve efeito de interação ( $P = 0,027$ ) entre o tipo de silagem e a dose de aditivo químico para a recuperação de MS digestível. Houve aumento da recuperação de MS de forma

linear com o aumento das doses de aditivos químicos para ambas as silagens, no entanto na silagem de corte direto o efeito de dose de aditivo químico foi mais pronunciado ( $P < 0,001$ ) quando comparado ao efeito na silagem emurchecida ( $P = 0,001$ ). Enquanto na silagem corte direto o aumento de recuperação de MS foi de 173 g/kg MS entre o tratamento controle e a dose regular, na silagem emurchecida o aumento foi de 79 g/kg MS. A recuperação de MS foi maior para a silagem emurchecida em qualquer dose de aditivo químico ( $P < 0,05$ ). Quando comparam a recuperação entre o tratamento controle da silagem corte direto e a recuperação da silagem emurchecida, com dose regular do aditivo químico, o aumento na recuperação é de 259 g de nutrientes digestíveis para cada quilograma de MS.

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1 Composição da forragem

Ensilar gramíneas tropicais é tarefa desafiadora por causa das várias características intrínsecas dessas plantas. A fermentação que ocorre em uma cultura, muitas vezes só pode ser compreendida, por meio da avaliação de diversos fatores, como o nível de umidade, a capacidade tampão, a quantidade de açúcar presente e os tipos de microrganismos predominantes no processo (Kung *et al.*, 2018). Com base nas características químicas e microbiológicas do capim-Braquiária ruziziensis no momento da ensilagem considerando a altura e o período de rebrota, pode-se considerar que a forragem apresentou composição típica e consistente com resultados observados anteriormente na literatura sobre as variações nas concentrações de MS e CS na forragem (Santos *et al.*, 2014; Tomaz *et al.*, 2018; Gomes *et al.*, 2021 e Moraes *et al.*, 2023).

Forragens tropicais enfrentam desafios na ensilagem por apresentar baixa concentração de MS e CS no momento ideal de corte, além da alta capacidade de tamponamento, resultando em processo fermentativo indesejável causado principalmente por bactérias do gênero *Clostridium* (Weissbach *et al.*, 1974). Isso justifica a adoção de técnicas para reduzir a umidade durante o processo de ensilagem e reduzir a probabilidade de obter silagens mal fermentadas (Coan *et al.*, 2005). O CF, fundamental para antecipar o processo de fermentação e reduzir o risco de fermentação indesejável causada por clostrídios, auxilia na orientação de como proceder no momento da ensilagem quanto ao uso de aditivos e/ou emurchecimento (Weissbach *et al.*, 1974; Carvalho *et al.*, 2024). O CF inferior a 350 observado neste estudo ( $312 \pm 3,8$ ) na forragem de corte direto, resultou em silagem com alta concentração de ácido butírico, especialmente na dose controle (19,1

g/kg MS). Por outro lado, o aumento do CF na forragem emurchecida ( $549 \pm 10,3$ ) pode ser atribuído especialmente ao aumento no teor de MS e em menor extensão ao pequeno aumento no teor de carboidratos solúveis, como tem sido observado em alguns estudos reportados na literatura (Wilkinson, 1983). Incrementos no teor de CS na forragem durante o emurchecimento pode ser explicado como resultado da síntese de glicose e frutose por meio da quebra de polissacarídeos, que ocorre durante o período de exposição no campo (Mooser, 1995), e pela continuação da fotossíntese nas primeiras horas após o corte.

Além do CF, a quantidade inicial de nitrato presente na forragem desempenha papel importante para a supressão de clostrídios durante as fases iniciais da ensilagem, devido à conversão microbiana em nitrito e óxidos nítrico e nitroso ( $\text{NO}_x$ ) que são fortes inibidores desses microrganismos (Spoelstra, 1985; McDonald *et al.*, 1991), além da contagem epifítica de BAL. Weissbach e Honig (1996) recomendaram uma concentração de nitrato inferior a 1 g/kg MS na forragem de gramíneas temperadas com CF superior a 35, juntamente com uma contagem mínima de BAL ( $10^5$  UFC/g MN), para evitar consistentemente a formação de ácido butírico. No presente estudo a forragem de corte direto apresentou contagem de BAL epifítica de  $10^5$  UFC/g e teor de nitrato de acima de 1 g/kg MS, contudo isso não foi o suficiente para evitar a fermentação indesejável na silagem, indicada pelo elevado teor de  $\text{N-NH}_3$  e ácido butírico ( $> 3$  g/kg MS) nas silagens corte direto e com doses de aditivo químico abaixo da dose regular. Condições semelhantes foram observadas por Gomes *et al.* (2021) e Moraes *et al.* (2023) ao ensilar capim-Mombaça com teor de matéria seca inferior a 30%, contagens epifíticas de BAL superiores a  $10^5$  UFC/g e concentrações de nitrato na forragem superiores a 1 g/kg MS resultaram em fermentação butírica por causa do baixo CF.

Baixos valores de CS são frequentemente observados em gramíneas tropicais, tornando o aumento da MS essencial para melhorar o CF. Teores mínimos de CS acima de 3% da MN têm sido considerados para obtenção de silagens de forragens temperadas (Wilkinson *et al.*, 1981) e tropicais (Wilkinson *et al.*, 1983) bem conservadas. Em gramíneas tropicais, valores de CS mais baixos têm sido consistentemente relatados, incluindo capim-Marandu (3,6 g/kg MS; Carvalho *et al.*, 2024), capim-Mombaça (43 g/kg MS; Gomes *et al.*, 2021), (3,5 g/kg MS; Moraes *et al.*, 2023), (39 g/kg MS; Tomaz *et al.*, 2018). Neste trabalho, a forragem de corte direto apresentou CF de 31,2, que é bem abaixo do valor mínimo de 40 considerado satisfatório para capins tropicais (Carvalho *et al.*, 2024). Já, a forragem emurchecida a campo durante 4 horas, apresentou CF de 54,9, o

que foi suficiente para obter silagem com teor de ácido butírico abaixo de 0,3% da MS. Isso sugere que, em situações práticas, a alteração da MS via emurchecimento pode ser eficaz para garantir boa fermentação (Carvalho *et al.*, 2024).

#### 4.2 Características da fermentação da silagem

O uso de aditivos e/ou o emurchecimento são tecnologias eficazes para prevenir fermentação butírica em capins tropicais (McDonald *et al.*, 1991; Liu *et al.*, 2011; Nishino *et al.*, 2012). Em diversos experimentos, Weissbach *et al.* (1989) e Reuter e Weissbach (1991) demonstraram que a combinação de nitrito de sódio (900 g/t) e hexamina (600 g/t) foi tão eficaz na redução de esporos de *Clostridium* quanto a adição de ácido fórmico (4 L/t - 85%), o aditivo químico mais importante para melhorar a fermentação (Auerbach e Nadeau, 2019).

Além de contagem de clostrídios na abertura do silo, outras características de fermentação da silagem foram afetadas pela dose de aditivo e teor de umidade ou pela sua interação. Neste estudo, as concentrações dos produtos da fermentação foram consistentemente alteradas de forma significativa com a dose do aditivo químico, evidenciando clara relação dose-resposta, exceto para a concentração de etanol e acetato de etila e contagens de fungos, leveduras e enterobactérias que não foram alterados pela adição do aditivo químico.

A redução na concentração de umidade na silagem emurchecida melhorou a qualidade da fermentação, evidenciada por menores concentrações de N-NH<sub>3</sub>, contagens de *Clostridium* e perda de MS, em comparação com a silagem de corte direto ensilada sem aditivo, que apresentou fermentação butírica (> 3 g/kg MS; Kaiser *et al.*, 2002). Na silagem de corte direto, apenas a dose regular do aditivo (NHR) foi eficaz no controle da fermentação por clostrídios, confirmando os achados anteriores com silagem de capim tropical (Gomes *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2023). Enquanto isso, a silagem emurchecida e ensilada sem aditivo apresentou bom perfil de fermentação (~2 g/kg MS de ácido butírico). Silagens de boa qualidade são praticamente isentas de ácido butírico. Embora pequenas quantidades desse ácido possam ser produzidas por outros microrganismos (leveduras e bacilos), concentrações substanciais de ácido butírico (> 0,3% MS) indicam o desenvolvimento de clostrídios, geralmente associado a perdas significativas de nutrientes e redução do valor nutritivo da silagem (McDonald *et al.*, 1991). Os produtos de fermentação associados ao desenvolvimento de clostrídios em silagens, como ácido butírico, ácido propiônico, ácido iso-butírico, ácido iso-valérico, ácido valérico, N-

NH<sub>3</sub>corr e 2,3-butanodiol (McDonald *et al.*, 1991; Pahlow *et al.*, 2003) foram reduzidos em todas as doses de aplicação de NH tanto na silagem de corte direto como na emurhecida. Embora não tenha havido diferença na contagem de BAL na silagem corte direto, com o uso do aditivo, a concentração de ácido láctico foi maior, apenas na silagem corte direto, sugerindo que o aditivo contendo NH pode ter protegido os açúcares da utilização por microrganismos indesejáveis, conservando-os para melhor fornecimento de nutrientes para as BAL.

Auerbach e Nadeau (2019), demonstraram que em silagem de corte direto, as taxas de aplicação de 600 g/t (Nitrito de sódio) e 400 g/t (hexamina) foram capazes de melhorar o processo fermentativo da silagem. O resultado obtido nesse estudo vai ao encontro dos relatados por Moraes *et al.* (2023), em que a dose regular 3 L/t (900 g/t e 600 g/t) de NH demonstrou ser muito promissora para silagem de capim tropical. O nitrito de sódio e seus produtos de degradação (óxidos de nitrogênio) são capazes de inibir seletivamente microrganismos indesejáveis, como clostrídios, durante as fases iniciais da fermentação (Weissbach, 1989; Reuther e Weissbach, 1989). Por outro lado, a conversão gradual de hexamina em formaldeído e amônia durante a fermentação proporciona liberação controlada de um composto inibidor de clostrídios, assegurando a estabilidade anaeróbica das silagens mesmo durante longos períodos de armazenamento, prevenindo a formação de ácido butírico em situações em que o pH está ligeiramente acima do crítico (Weissbach, 1989).

A redução das perdas fermentativas foi observada tanto para o emurhecimento como para o uso de aditivos de silagem em ambos os teores de matéria seca, conforme indicado por estudos anteriores com aditivos contendo nitrito de sódio e hexamina (Reuter e Weissbach, 1991; Knicky e Spörndly, 2011). Assumindo linearidade de resposta, neste estudo, cada 0,3 g/kg de nitrito de sódio + 0,2 g/kg de hexamina foi capaz de compensar aproximadamente 60 g/kg de MS da forragem no momento da ensilagem como estratégia para reduzir perda de MS. Em silagens de gramíneas temperadas, Weissbach e Auerbach (2012) mostraram que 1 L/t dessa mesma mistura foi capaz de compensar aproximadamente 100 g/kg de MS da forragem como estratégia para reduzir perda de MS.

#### 4.3 Composição química e digestibilidade de silagens

As características de composição química e digestibilidade da silagem foram afetadas pela concentração de umidade e pela dose de aditivo ou sua interação.

Adicionalmente, em cada tipo de silagem (corte direto ou emurchecida), houve melhoria significativa nas concentrações de nutrientes e na recuperação de matéria seca digestível com o aumento da dose do aditivo. Esses resultados sugerem fortemente a relação dose-resposta bem definida.

Neste estudo verificou-se que a DIVMS da silagem de capim-Braquiária ruziziensis foi melhorada com o emurchecimento da forragem, em relação a silagem de corte direto em 92 g/kg MS,) sem a aplicação do aditivo químico. A dose regular do aditivo químico em relação ao controle (sem aditivo químico), aumentou a DIVMS na silagem de corte direto em 83 g/kg MS, e o aumento de 122 g/kg MS se comparar a silagem emurchecida com a maior dose de aditivo químico, com a silagem corte direto sem uso de aditivo químico. Esse aumento na DIVMS com o aumento da dose de aditivo químico pode ser explicado pela melhor preservação dos nutrientes disponíveis. Gomes *et al.* (2021) e Moraes *et al.* (2023), também relataram aumento na DIVMS da silagem de capim-Mombaça com adição de aditivos químicos à base de nitrito de sódio e hexamina.

A inclusão de aditivos químicos à base de nitrito de sódio e hexamina nas doses testadas neste estudo resultou em aumentos nos teores de proteína bruta, matéria seca digestível, proteína não degradável no rúmen e simultaneamente reduziu a fração de proteína degradável no rúmen, apresentando perspectivas promissoras para formulações de dietas de ruminantes. A maior recuperação de matéria seca digestível observada neste estudo está alinhada com resultados reportados por Gomes *et al.* (2021) e Moraes *et al.* (2023) em silagens de capim-Mombaça com adição de nitrito de sódio e hexamina. Reduzir as perdas de nutrientes durante a fermentação e melhorar a composição nutricional das silagens tratadas oferecem oportunidades significativas para aumentar a eficiência e a utilização das silagens de gramíneas tropicais.

## 5. CONCLUSÃO

O aditivo à base de nitrito de sódio e hexamina aplicado em dose regular (nitrito de sódio 0,9 g/kg MN + hexamina 0,6 g/kg MN) foi capaz de restringir largamente o desenvolvimento de *Clostridium* e a perda de matéria seca durante a fermentação de capim-Braquiária ruziziensis manejado sob corte e ensilagem direta. O uso do aditivo na dose regular, foi capaz de equiparar o valor nutritivo, as perdas de matéria seca e a recuperação de matéria seca digestível da silagem corte direto (237 MS/kg MN) à silagem emurchecida (393 g MS/kg MN) sem o uso de aditivos químicos. O máximo valor

nutricional e menor perda de MS foi obtida com a combinação de emurchecimento com dose de aditivo. Contudo, os efeitos da dose crescente de aditivos químicos foram menos pronunciados na silagem emurchecida. Assumindo linearidade de resposta, neste estudo, cada 0,3 g/kg de nitrito de sódio + 0,2 g/kg de hexamina foi capaz de compensar aproximadamente 60 g/kg de MS da forragem no momento da ensilagem como estratégia para reduzir perda de MS.

## 6. REFERÊNCIAS

- Association of Official Analytical Chemists–AOAC, 1990. Official methods of analysis, 15th ed. Arlington, VA, USA.
- Auerbach, H., Nadeau, E., 2019. Chemical additives for silages: When to use it and what are the options? In: Nussio, L. G., da Silva, E. B., Oliveira, K. S., Gritti, V. C., Salvo, P.A.R., Salvati, G.G.S., de Sousa, D.O. (Eds.), Proceedings of the XII International Symposium on Forage Quality and Conservation, Piracicaba, Brazil, pp. 49–88.
- Bezerra Neto, E., Barreto, L. P., 2011. Análises químicas e bioquímicas em plantas [Chemical and biochemical analyzes in plants]. UFRPE: Recife, pp. 263 (in Portuguese).
- Carvalho, M. G. M., Bragatto, J. M., Buttow, S. C., Silva, A. F., Silva, L. S., Silva, N. G., Auerbach, H. U., Nussio, L. G., Daniel, J. L. P., 2024. Applying the fermentability coefficient concept in tropical grass silages. *Anim. Feed Sci. Technol.* [.org/10.1016/j.anifeedsci.2024.115995](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2024.115995).
- Chaney, A. L., Marbach, E. P., 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8, 130–132. <https://doi.org/10.1093/clinchem/8.2.130>.
- Coan, R. M., Vieira, P. F., Silveira, R. N., Reis, R. A., Malheiros, E. B., Pedreira, M. S., 2005. Inoculante Enzimático-Bacteriano, Composição Química e Parâmetros Fermentativos das Silagens dos Capins Tanzânia e Mombaça. *R. Bras. Zootec.* 34, 416–424.
- Federation of Animal Science Societies–FASS., 2020. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching. Fourth ed. Champaign, IL, USA.
- Gomes, A. L. M., Auerbach, H. U., Lazzari, G., Moraes, A., Nussio, L. G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P., 2021. Sodium nitrite-based additives improve the conservation and the nutritive value of guinea grass silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 279, 115033. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115033>.

- Hall, M. B., Hoover, W. H., Jennings, J. P., Miller Webster, T. K., 1999. A method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates. *J. Sci. Food Agric.* 79, 2079–2086.
- Huhtanen, P., Kaustell, K., Jaakkola, S., 1994. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 211–227. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90173-2](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90173-2).
- Holden, L. A., 1999. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *J. Dairy Sci.* 82, 1791–1794. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75409-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75409-3).
- Jank, L., Martuscello, J. A., Euclides, V. B. P., Do Valle, C. B., Resende, R. M. S., 2010. *Panicum maximun*. in: Da Fonseca, D. M., Martuscello, J.A. (Eds.), *Plantas forrageiras*. Viçosa: UFV, pp. 166–196.
- Jonsson, A., 1990. Enumeration and confirmation of *Clostridium tyrobutyricum* in silages using neutral red D-cycloserine and lactate dehydrogenase activity. *J. Dairy Sci.* 13, 719–725. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78725-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78725-5).
- Kaiser, E., Weiss, K., Polip, I., 2002. A new concept for the estimation of the ensiling potential of forages. In: Gechie, L. M., Thomas C. (Eds.), *Proceedings of the XIII International Silage Conference*, Auchincruive, Scotland, pp. 344–358.
- Knicky, M., Spörndly, R., 2011. The ensiling capability of a mixture sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium nitrite. *J. Dairy Sci.* 94, 824–831. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3364>.
- Kung Jr, L., Grieve, D. B., Thomas, J. W., Huber, J. T., 1984. Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *J. Dairy Sci.* 67, 299–306.
- Kung Jr, L., Smith, M. L., Da Silva, E. B., Windle, M. C., Da Silva, T. C., Polukis, S. A., 2018. An evaluation of the effectiveness of a chemical additive based on sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium nitrite on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 101, 5949–5960. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14006>.
- Licitra, G., Hernadez, T. M., Van Soest, P. J., 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57, 347–358. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3).

- Liu, Q., Zhang, J., Shi, S., Sun, Q., 2011. The effects of wilting and storage temperatures on the fermentation quality and aerobic stability of stylo silage. *Anim. Sci. J.* 82, 549–553.
- McDonald, P. J., Henderson, A. R., Heron, S. J. E., 1991. *The biochemistry of silage*, 2.ed., Chalcombe Publications, Mallow, pp. 340.
- Mertens, D. R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J. AOAC Int.* 85, 1217–1240.
- Moraes, A., Auerbach, H. U., Bragatto, J. M., Piran Filho, F. A., Silva, S. M. S., Nussio, L. G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P., 2023. Effect of application rate of sodium nitrite and hexamine on the fermentation and the chemical composition of guinea grass silage harvested at different stages of maturity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 302, 115667. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115667>.
- Mooser, L. E., 1995. Post-harvest physiological changes in forage plants. In: *Post-harvest physiology and preservation of forages*. Moore, K. J., Peterson, M. A., Kral, D. M., Viney, M. K. CSSA and ASA, Madison, WI, pp. 1–19.
- Nishino, N., Li, Y., Wang, C., Parvin, S., 2012. Effects of wilting and molasses addition on fermentation and bacterial community in Guinea grass silage. *Letters in Appl. Microbiol.* 54, 175–181.
- Nussio, L. G., Paziani, S. F., Nussio, C. M. B., 2002. Ensilagem de capins tropicais [Ensilaging tropical grasses], in: *Proceedings of the 39th Annual Meeting Brazilian Society of Animal Science*, Recife, Brazil, pp. 60–99 (in Portuguese).
- Oude-Elferink, S. J. W. H., Krooneman, J., Gotschal, J. C., Spoelstra, S. F., Faber, F., Driehuis, F., 2001. Anaerobic degradation of lactic acid to acetic acid and 1,2-propandiol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl. Environm. Microbiol.* 67, 125–132. [doi:10.1128/AEM.67.1.125-132.2001](https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.125-132.2001).
- Pryce, J. D., 1969. A modification of Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. *Analyst.* 94, 1151–1152. <https://doi.org/10.1039/an9699401151>.
- Reuter, B., Weissbach, F., 1991. Results of testing chemical preservatives. *Landbauforschung Völklenrode, Sonderheft.* 123, 338–341.
- Santos, E. M., Pereira, O. G., Garcia, R., Ferreira, C. L. L. F., Oliveira, J. S., Silva, T. C., 2014. Effect of regrowth interval and a microbial inoculant on the fermentation profile and dry matter recovery of guinea grass silages. *J. Dairy Sci.* 97, 4423–4432. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7634>.

- Spoelstra, S. F., 1985. Nitrate in silage. A review. *Grass Forage Sci.* 40, 1–11.
- Tomaz, P. K., Araújo, L. C., Sanches, L. A., Santos-Araújo, S. N., Lima, T. O., Lino, A. A., Ferreira, E. M., 2018. Effect of sward height on the fermentability coefficient and chemical composition of guinea grass silage. *Grass Forage Sci.* 73, 588–598. <https://doi.org/10.1111/gfs.12349>.
- Tylutki, T. P., Fox, D. G., Durbal, V. M., Tedeschi, L. O., Russell, J. B., Van Amburgh, M. E., Overton, T. R., Chase, L. E., Pell, A. N., 2008. Cornell Net Carbohydrate and Protein System: a model for precision feeding of dairy cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 143, 174–202. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.010>.
- Van Soest, P. J., 1973. Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. *J. Assoc. Anal. Chem.* 56, 781–784. <https://doi.org/10.1093/jaoac/56.4.781>.
- Vasconcelos, W. A., Santos, E. M., Zanine, A. D. M., Pinto, T. F., Lima, W. C., Edvan, R. L., Pereira, O. G., 2009. Valor nutritivo de silagens de capim-mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) colhido em função de idades de rebrotação [Nutritive value of silages of mombaça grass (“*Panicum maximum*” Jacq) harvested at diferente regrowth ages]. *Rev. Bras. Saude Prod.* 10, 874–884.
- Wang, Y., Wang, C., Zhou, W., Yang, F. Y., Chen, X. Y., Zhang, Q., 2018. Effects of wilting and *Lactobacillus plantarum* addition on the fermentation quality and microbial community of *Moringa oleifera* leaf silage. *Front. Microbiol.* 9, 1817.
- Weissbach, F., Honig, H., 1996. Über die Vorhersage und Steuerung des Gärungsverlaufs bei der Silierung von Grünfütter aus extensivem Anbau [Predicting and controlling the course of fermentation of extensively grown grasses]. *Landbauforsch. Völklenrode* 46, 10–17.
- Weissbach, F., Strubelt, C., 2008. Correcting the dry matter content of grass silages as a substrate for biogas production. *Landtechnik.* 63, 210–211.
- Weissbach, F., Schmidt, L., Hein, E., 1974. Method of anticipation of the run of fermentation in silage making based on the chemical composition of the green fodder. In: *Proceedings of the XII International Grassland Congress, Moscow, Russia*, pp. 663–673.
- Weissbach, F., Zwierz, P. M., Reuter, B., Köller, S., Weissbach, H., Baronius, B., 1989. Control of the silage fermentation by chemical preserving agents. *Chim. Oggi* 7, 57–60.

- Weissbach, F., Honig, H., Kaiser, E., 1993. The effect of nitrate on the silage fermentation. In: O' Kiely, P., O' Connel, M., Murphy, J. (Eds.), Proceedings of the 10th International Conference of Silage Research. Dublin, Ireland, pp. 6–8.
- Weissbach, F., Auerbach, H., 2011. The future of forage conservation. Proceedings of the “II International Symposium on Forage Quality and Conservation”, November 16-19th, 2011, University of Sao Paulo, Brazil (Editors: J. L. P. Daniel, M. Zopollatto & L.G. Nussio), 319–363.
- Weissbach, F., Auerbach, H., 2012. The future of forage conservation. In: Auerbach, H., Lückstädt, C., Weissbach, F. (Eds.), Proceedings of the I International Silage Summit. Leipzig, Germany, pp. 5–42.
- Wilkinson, J. M., Chapman, P. F., Wilkins, R. J., Wilson, R. F., 1981. Interrelationships between pattern of fermentation during ensilage and initial crop composition. Grassland Research Institute, UK, pp. 1–6.
- Wilkinson, J. M., 1983. Silages made from tropical and temperate crops. 2. techniques for improving the nutritive value of silage. *World Ani. Rev.* 45, 35–40.

## TABELAS

**Tabela 1.** Contagens microbianas, composição química e digestibilidade do capim-Braquiária ruziziensis fresco ou emurchecido antes da ensilagem.

Item	Corte direto	Emurchecido
Bactéria ácido láctica, log UFC <sup>1</sup> /g MN <sup>2</sup>	5,16 ± 0,117	4,38 ± 0,261
Clostrídio, log UFC /g MN	2,65 ± 0,170	2,07 ± 0,119
Enterobactéria, log UFC /g MN	7,23 ± 0,034	5,22 ± 0,052
Leveduras, log UFC /g MN	<2	<2
Fungos filamentosos, log UFC /g MN	4,59 ± 0,113	4,23 ± 0,258
pH	5,66 ± 0,011	5,91 ± 0,018
MS <sup>3</sup> , g/kg MN	206 ± 2,4	426 ± 9,2
Carboidrato solúvel, g/kg MS	51,4 ± 1,10	63,5 ± 0,86
Carboidrato solúvel, g/kg MN	43,6 ± 1,11	58,9 ± 2,04
Capacidade tampão, g/kg MS	38,9 ± 1,27	41,4 ± 0,38
Coefficiente de fermentabilidade	312 ± 3,8	549 ± 10,3
Nitrato, g/kg MS	2,46 ± 0,224	2,91 ± 0,337
FDN <sup>4</sup> , g/kg MS	607 ± 12,7	601 ± 10,8
FDNi <sup>5</sup> , g/kg MS	172 ± 3,0	164 ± 3,0
FDNi:FDN	0,284 ± 0,001	0,273 ± 0,007
FDA, g/kg MS	322 ± 3,6	309 ± 7,5
Lignina (sa), g/kg MS	27,1 ± 0,26	26,2 ± 0,53
FDNi:lignina	6,35 ± 0,121	6,24 ± 0,096
Cinzas, g/kg MS	78,6 ± 2,43	76,9 ± 3,13
Proteína Bruta, g/kg MS	61,7 ± 0,52	66,2 ± 2,82
DIVMS <sup>7</sup> , g/kg MS	566 ± 0,2	576 ± 0,2

<sup>1</sup> Unidade formadora de colônia;

<sup>2</sup> Matéria natural;

<sup>3</sup> Matéria seca;

<sup>4</sup> Fibra em detergente neutro;

<sup>5</sup> Fibra em detergente neutro indigestível;

<sup>6</sup> Fibra em detergente ácido;

<sup>7</sup> Digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

**Tabela 2.** Contagens microbianas, perfil fermentativo e perdas fermentativas da silagem de capim-Braquiária ruziziensis com doses crescentes de aditivo químico.

Item <sup>5</sup>	Umidade	Dose do aditivo <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	P-valor <sup>3</sup>			Contraste <sup>4</sup>	
		CON	NHB	NHM	NHR		U	A	U×A	L	Q
Bactéria ácido láctica, log UFC <sup>6</sup> /g MN <sup>7</sup>	Corte direto	7,67 <sup>a</sup>	7,57 <sup>a</sup>	7,67 <sup>a</sup>	7,61 <sup>a</sup>	0,067	<0,001	<0,001	<0,001	0,774	0,784
	Emurchecido	7,64 <sup>a</sup>	7,53 <sup>a</sup>	7,40 <sup>a</sup>	6,42 <sup>b</sup>					<0,001	<0,001
Clostrídios, log UFC/g MN	Corte direto	3,84 <sup>a</sup>	3,43 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>	1,65 <sup>a</sup>	0,377	0,002	<0,001	0,932	<0,001	0,221
	Emurchecido	2,90 <sup>a</sup>	2,59 <sup>a</sup>	1,81 <sup>b</sup>	0,94 <sup>a</sup>					<0,001	0,465
Enterobactéria, log UFC/g MN	Corte direto	3,63	3,56	3,38	3,16	0,159	0,572	0,029	0,723	0,033	0,636
	Emurchecido	3,71	3,33	3,24	3,19					0,029	0,289
Leveduras, log UFC/g MN	Corte direto	5,18	3,87	3,77	3,69	0,197	0,093	<0,001	0,300	<0,001	<0,001
	Emurchecido	5,03	3,92	3,57	3,00					<0,001	0,186
Fungos filamentosos, log UFC/g MN	Corte direto	3,66	3,63	3,54	3,51	0,297	0,554	0,988	0,997	0,694	0,993
	Emurchecido	3,72	3,73	3,70	3,69					0,935	0,973
pH	Corte direto	4,77 <sup>a</sup>	4,51 <sup>a</sup>	5,03 <sup>b</sup>	4,53 <sup>b</sup>	0,064	<0,001	<0,001	<0,001	0,443	0,075
	Emurchecido	4,88 <sup>a</sup>	4,60 <sup>a</sup>	5,41 <sup>a</sup>	5,97 <sup>a</sup>					<0,001	<0,001
N-NH <sub>3</sub> corr <sup>8</sup> , g/kg N	Corte direto	332 <sup>a</sup>	155 <sup>a</sup>	119 <sup>a</sup>	73,8 <sup>a</sup>	9,15	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Emurchecido	134 <sup>b</sup>	95 <sup>b</sup>	70 <sup>b</sup>	50,9 <sup>a</sup>					<0,001	0,409
Ácido láctico, g/kg MS <sup>9</sup>	Corte direto	4,83 <sup>b</sup>	15,2 <sup>b</sup>	20,5 <sup>a</sup>	26,2 <sup>a</sup>	1,53	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,141
	Emurchecido	19,4 <sup>a</sup>	22,7 <sup>a</sup>	22,9 <sup>a</sup>	22,8 <sup>a</sup>					0,150	0,280

Ácido acético, g/kg MS	Corte direto	37,5 <sup>a</sup>	39,8 <sup>a</sup>	29,3 <sup>a</sup>	23,2 <sup>a</sup>	1,04	<0,001	<0,001	0,027	<0,001	<0,001
	Emurcheado	18,9 <sup>b</sup>	16,0 <sup>b</sup>	9,17 <sup>b</sup>	5,90 <sup>b</sup>					<0,001	0,867
Ácido propiônico, g/kg MS	Corte direto	5,05 <sup>a</sup>	4,22 <sup>a</sup>	2,76 <sup>a</sup>	0,546 <sup>a</sup>	0,235	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,010
	Emurcheado	2,32 <sup>b</sup>	1,17 <sup>b</sup>	0,430 <sup>b</sup>	0,333 <sup>a</sup>					<0,001	0,036
Ácido butírico, g/kg MS	Corte direto	19,1 <sup>a</sup>	8,61 <sup>a</sup>	8,36 <sup>a</sup>	1,06 <sup>a</sup>	0,621	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,018
	Emurcheado	2,09 <sup>b</sup>	1,20 <sup>b</sup>	0,647 <sup>b</sup>	0,322 <sup>a</sup>					0,045	0,653
Ácido iso-butírico, g/kg MS	Corte direto	1,36 <sup>a</sup>	0,584 <sup>a</sup>	0,612 <sup>a</sup>	0,043 <sup>a</sup>	0,057	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,090
	Emurcheado	0,210 <sup>b</sup>	0,091 <sup>b</sup>	0,043 <sup>b</sup>	0,022 <sup>a</sup>					0,025	0,397
2,3-Butanodiol, g/kg MS	Corte direto	7,88 <sup>a</sup>	3,42 <sup>a</sup>	2,01 <sup>a</sup>	1,44 <sup>a</sup>	0,419	<0,001	<0,001	0,002	<0,001	<0,001
	Emurcheado	3,15 <sup>b</sup>	0,683 <sup>b</sup>	0,209 <sup>a</sup>	0,280 <sup>a</sup>					<0,001	<0,001
Ácido iso-valérico, g/kg MS	Corte direto	2,83 <sup>a</sup>	1,13 <sup>a</sup>	0,799 <sup>a</sup>	0,166 <sup>a</sup>	0,110	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Emurcheado	0,198 <sup>b</sup>	0,216 <sup>b</sup>	0,174 <sup>b</sup>	0,127 <sup>a</sup>					0,608	0,775
Ácido valérico, g/kg MS	Corte direto	1,03 <sup>a</sup>	0,459 <sup>a</sup>	0,308 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>	0,024	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Emurcheado	0,092 <sup>b</sup>	0,064 <sup>b</sup>	0,028 <sup>b</sup>	0,019 <sup>a</sup>					0,026	0,706
Etanol, g/kg MS	Corte direto	5,41	5,33	4,37	4,42	0,506	0,871	0,636	0,575	0,097	0,900
	Emurcheado	4,78	4,83	4,93	4,76					0,993	0,822
1-Propanol, g/kg MS	Corte direto	0,809 <sup>a</sup>	0,889 <sup>a</sup>	0,255 <sup>a</sup>	0,007 <sup>a</sup>	0,117	<0,001	<0,001	0,011	<0,001	0,173
	Emurcheado	0,111 <sup>b</sup>	0,158 <sup>b</sup>	<0,001 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>					0,355	0,842
2-Butanol, g/kg MS	Corte direto	0,593 <sup>a</sup>	0,082 <sup>a</sup>	0,053 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>	0,035	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Emurcheado	0,198 <sup>b</sup>	0,012 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>					<0,001	0,013

Isopropanol, g/kg MS	Corte direto	0,268 <sup>a</sup>	0,124 <sup>a</sup>	0,090 <sup>a</sup>	0,056 <sup>a</sup>	0,024	<0,001	<0,001	0,030	<0,001	0,033
	Emurcheado	0,065 <sup>b</sup>	0,040 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>					0,043	0,614
1,2-Propanodiol, g/kg MS	Corte direto	0,059	0,371	0,367	0,369	0,076	0,406	0,384	0,004	0,012	0,052
	Emurcheado	0,383	0,300	0,218	0,083					0,008	0,732
Acetato de etila, g/kg MS	Corte direto	0,025	0,057	0,058	0,025	0,007	0,160	<0,001	0,092	0,977	<0,001
	Emurcheado	0,038	0,046	0,035	0,017					0,024	0,072
Acetato de propila, g/kg MS	Corte direto	0,016 <sup>a</sup>	0,028 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>	0,003	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,063
	Emurcheado	<0,001 <sup>b</sup>	0,002 <sup>b</sup>	<0,001 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>a</sup>					0,881	0,738
Soma BVI <sup>10</sup> , g/kg MS	Corte direto	24,3 <sup>a</sup>	10,8 <sup>a</sup>	10,1 <sup>a</sup>	1,27 <sup>a</sup>	0,682	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,002
	Emurcheado	2,59 <sup>b</sup>	1,57 <sup>b</sup>	0,893 <sup>b</sup>	0,490 <sup>a</sup>					0,031	0,653
AGVnd/(CS+AL) <sup>11</sup>	Corte direto	1,28 <sup>a</sup>	0,927 <sup>a</sup>	0,340 <sup>a</sup>	0,308 <sup>a</sup>	0,027	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Emurcheado	0,231 <sup>b</sup>	0,222 <sup>b</sup>	0,044 <sup>b</sup>	0,007 <sup>b</sup>					<0,001	0,622
Perda de MS, g/kg	Corte direto	134 <sup>a</sup>	117 <sup>a</sup>	106 <sup>a</sup>	84,6 <sup>a</sup>	1,86	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,418
	Emurcheado	77,1 <sup>b</sup>	67,5 <sup>b</sup>	50,0 <sup>b</sup>	45,5 <sup>b</sup>					<0,001	0,190

<sup>a,b</sup> As médias dentro de cada nível de aditivo diferente dos sobrescritos diferem (Teste de Tukey-Kramer  $\alpha = 0,05$ ).

<sup>1</sup> CON: controle, sem adição de aditivo; NHB: nitrito de sódio 0,3 g/kg + hexamina 0,2 g/kg; NHM: nitrito de sódio 0,6 g/kg + hexamina 0,4 g/kg; NHR: nitrito de sódio 0,9 g/kg + hexamina 0,6 g/kg;

<sup>2</sup> Erro padrão da média;

<sup>3</sup> U: Efeito de umidade; A: efeito de aditivo; U×A: Interação entre umidade e aditivo;

<sup>4</sup> L: Efeito linear de dose de aditivo. Q: Efeito quadrático de dose de aditivo;

<sup>5</sup> Lactato de etila <0.001 para todos os tratamentos;

<sup>6</sup> Unidade formadora de colônia;

<sup>7</sup> Matéria natural;

<sup>8</sup> N-NH<sub>3</sub> corrigido para adição de nitrogênio por aditivo;

<sup>9</sup> Matéria Seca;

<sup>10</sup> Soma dos ácidos butírico, iso-butírico, valérico e iso-valérico;

<sup>11</sup> Razão entre ácidos graxos voláteis não dissociados e carboidratos solúveis + ácido lático.

**Tabela 3.** Composição química, digestibilidade e recuperação de nutrientes digestíveis na silagem de capim-Braquiária ruziziensis com doses crescentes de aditivo químico.

Item	Umidade	Dose do aditivo <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	P-valor <sup>3</sup>			Contraste <sup>4</sup>	
		CON	NHB	NHM	NHR		U	A	U×A	L	Q
MS <sup>5</sup> , g/kg MN <sup>6</sup>	Corte direto	233 <sup>b</sup>	238 <sup>b</sup>	238 <sup>b</sup>	241 <sup>b</sup>	4,3	<0,001	0,300	0,249	0,267	0,341
	Emurhecido	395 <sup>a</sup>	400 <sup>a</sup>	384 <sup>a</sup>	394 <sup>a</sup>					0,907	0,633
Cinzas, g/kg MS	Corte direto	90,8 <sup>a</sup>	89,3 <sup>a</sup>	89,0 <sup>a</sup>	89,3 <sup>a</sup>	1,53	<0,001	0,904	0,882	0,478	0,542
	Emurhecido	80,9 <sup>b</sup>	80,2 <sup>b</sup>	81,2 <sup>b</sup>	81,3 <sup>b</sup>					0,757	0,822
Carboidrato solúvel, g/kg MS	Corte direto	21,7 <sup>a</sup>	23,3 <sup>a</sup>	25,8 <sup>a</sup>	24,8 <sup>b</sup>	1,82	<0,001	0,005	0,070	0,159	0,478
	Emurhecido	26,3 <sup>a</sup>	27,5 <sup>a</sup>	28,9 <sup>a</sup>	37,1 <sup>a</sup>					<0,001	0,070
FDN <sup>7</sup> , g/kg MS	Corte direto	626	625	622	627	3,46	0,640	0,633	0,939	0,852	0,404
	Emurhecido	626	622	622	625					0,798	0,329
FDA <sup>8</sup> , g/kg MS	Corte direto	375 <sup>a</sup>	344 <sup>a</sup>	344 <sup>a</sup>	345 <sup>a</sup>	4,05	<0,001	<0,001	0,002	<0,001	<0,001
	Emurhecido	338 <sup>b</sup>	339 <sup>a</sup>	335 <sup>a</sup>	333 <sup>a</sup>					0,300	0,762
Proteína bruta, g/kg MS	Corte direto	53,5 <sup>b</sup>	61,5 <sup>a</sup>	67,3 <sup>a</sup>	66,2 <sup>a</sup>	0,665	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Emurhecido	63,5 <sup>a</sup>	63,4 <sup>a</sup>	66,9 <sup>a</sup>	65,6 <sup>a</sup>					0,004	0,366
Fracionamento de N, g/kg N											
A1	Corte direto	332 <sup>a</sup>	198 <sup>a</sup>	199 <sup>a</sup>	194 <sup>a</sup>	9,1	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Emurhecido	134 <sup>b</sup>	125 <sup>b</sup>	120 <sup>b</sup>	125 <sup>b</sup>					0,453	0,424
A2	Corte direto	290 <sup>b</sup>	400 <sup>b</sup>	305 <sup>b</sup>	310 <sup>b</sup>	14,0	<0,001	<0,001	<0,001	0,552	<0,001

	Emurhecido	536 <sup>a</sup>	504 <sup>a</sup>	416 <sup>a</sup>	381 <sup>a</sup>					<0,001	0,917
B1	Corte direto	259 <sup>a</sup>	270 <sup>a</sup>	325 <sup>a</sup>	311 <sup>a</sup>	9,72	0,003	<0,001	0,373	<0,001	0,205
	Emurhecido	217 <sup>a</sup>	246 <sup>a</sup>	317 <sup>a</sup>	293 <sup>a</sup>					<0,001	0,011
B2	Corte direto	72,8	87,1	125	138	7,47	0,532	<0,001	0,108	<0,001	0,929
	Emurhecido	74,4	81,6	101	152					<0,001	0,007
C	Corte direto	45,9	44,7	46,3	47,5	2,09	0,199	0,034	0,148	0,488	0,590
	Emurhecido	38,0	43,9	45,4	49,3					<0,001	0,648
PDR <sup>9</sup> , g/kg PB	Corte direto	809 <sup>a</sup>	787 <sup>a</sup>	777 <sup>a</sup>	772 <sup>a</sup>	3,2	<0,001	<0,001	0,058	<0,001	0,011
	Emurhecido	787 <sup>b</sup>	779 <sup>a</sup>	772 <sup>a</sup>	758 <sup>b</sup>					<0,001	0,351
PNDR <sup>10</sup> , g/kg de PB	Corte direto	191 <sup>b</sup>	213 <sup>a</sup>	223 <sup>a</sup>	228 <sup>b</sup>	3,2	<0,001	<0,001	0,058	<0,001	0,011
	Emurhecido	213 <sup>a</sup>	221 <sup>a</sup>	228 <sup>a</sup>	242 <sup>a</sup>					<0,001	0,351
DIVMS <sup>11</sup> , g/kg MS	Corte direto	439 <sup>b</sup>	512 <sup>a</sup>	511 <sup>a</sup>	522 <sup>a</sup>	0,010	<0,001	<0,001	0,039	<0,001	0,005
	Emurhecido	531 <sup>a</sup>	555 <sup>a</sup>	555 <sup>a</sup>	561 <sup>a</sup>					0,049	0,385
Recuperação de MS	Corte direto	671 <sup>b</sup>	798 <sup>b</sup>	806 <sup>b</sup>	844 <sup>b</sup>	15.5	<0,001	<0,001	0,027	<0,001	0,008
digestível g/kg MS	Emurhecido	851 <sup>a</sup>	899 <sup>a</sup>	915 <sup>a</sup>	930 <sup>a</sup>					0,001	0,307

<sup>a,b</sup> As médias dentro de cada nível de aditivo diferente dos sobrescritos diferem (Teste de Tukey-Kramer  $\alpha = 0,05$ ).

<sup>1</sup> CON: controle, sem adição de aditivo; NHB: nitrito de sódio 0,3 g/kg + hexamina 0,2 g/kg; NHM: nitrito de sódio 0,6 g/kg + hexamina 0,4 g/kg; NHR: nitrito de sódio 0,9 g/kg + hexamina 0,6 g/kg;

<sup>2</sup> Erro padrão da média;

<sup>3</sup> U: efeito de umidade; A: efeito de aditivo; U×A: Interação entre umidade e aditivo;

<sup>4</sup> L: Efeito linear de dose de aditivo. Q: Efeito quadrático de dose de aditivo;

<sup>5</sup> Matéria seca;

<sup>6</sup> Matéria natural;

<sup>7</sup> Fibra em detergente neutro;

<sup>8</sup> Fibra em detergente ácido;

<sup>9</sup> Proteína degradável no rúmen;

<sup>10</sup> Proteína não degradável no rúmen;

<sup>11</sup> Digestibilidade *in vitro* da MS.

## VI Substituição da hexamina por benzoato de sódio em aditivos à base de nitrito de sódio na conservação do capim-Áries II

(Estilo e forma do manuscrito consistentes com as Instruções para Autores da revista *Animal Feed Science and Technology*)

**RESUMO:** Na Europa, misturas de aditivos contendo nitrito de sódio e hexamina têm sido amplamente utilizadas. Contudo, devido a desafios regulatórios e disponibilidade associadas à hexamina, há interesse crescente em substituir esse composto por substâncias alternativas. O objetivo deste estudo foi verificar se a hexamina pode ser substituída por benzoato de sódio em aditivos à base de nitrito de sódio. Uma área de 0,1 ha de capim-aries II foi colhida após 60 d de rebrota, com aproximadamente  $185 \pm 6,8$  % de MS. Foram testados seis tratamentos: controle (sem aditivo) (CON), nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + hexamina (0,6 g/kg MN) (NH), nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + benzoato de sódio (0,6 g/kg MN) (NB6), nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + benzoato de sódio (0,9 g/kg MN) (NB9), nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + benzoato de sódio (1,2 g/kg MN) (NB12) e nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + benzoato de sódio (1,5 g/kg MN) (NB15). Após 66 d de armazenamento os silos foram abertos e as silagens amostradas para determinar a perda de matéria seca (MS), as contagens de microrganismos, os produtos de fermentação, a composição química, a digestibilidade *in vitro* da MS e a estabilidade aeróbia. O delineamento experimental empregado foi inteiramente ao acaso, com 4 repetições por tratamento, e as médias comparadas por contrastes ortogonais, utilizando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (versão 9.4). O aditivo contendo hexamina (i.e., NH) foi capaz de restringir o desenvolvimento de clostrídios, reduzir as concentrações de N-NH<sub>3</sub>, ácido n-butírico, ácido iso-butírico, ácido iso-valérico e ácido valérico e diminuir a perda de MS durante o processo de fermentação. Os tratamentos NH, NB9, NB12 e NB15 também melhoraram a digestibilidade *in vitro* da MS em comparação com a silagem CON. Entretanto, os tratamentos com benzoato de sódio não foram capazes de restringir eficientemente a ocorrência de fermentação indesejável. Assim, não se recomenda a substituição do componente hexamina por benzoato de sódio para silagens de capim-aries II com baixo teor de MS (i.e., 185 g/kg).

**Palavras-chave:** aditivo químico, capim tropical, *Clostridium*, fermentação, *Megathyrus maximus*

## VI Replacing sodium benzoate for hexamine in sodium nitrite-based additives on guineagrass silage conservation

**ABSTRACT:** In Europe, additive mixtures containing sodium nitrite and hexamine have been widely used. However, due to regulatory challenges, there is growing interest in replacing this compound with alternative substances. The objective of this study was to verify whether hexamine can be replaced by sodium benzoate in sodium nitrite-based additives. A 0.1-ha area of Aries II grass was harvested after 60 d of regrowth, with approximately  $185 \pm 6.8$  g/kg DM. Six treatments were tested: control (without additive) (CON), sodium nitrite (0.9 g/kg MN) + hexamine (0.6 g/kg MN) (NH), sodium nitrite (0.9 g/kg MN) + sodium benzoate (0.6 g/kg MN) (NB6), sodium nitrite (0.9 g/kg MN) + sodium benzoate (0.9 g/kg MN) (NB9), sodium nitrite (0.9 g/kg MN) + sodium benzoate (1.2 g/kg MN) (NB12) and sodium nitrite (0.9 g/kg MN) + sodium benzoate (1.5 g/kg MN) (NB15). After 66 d of storage, the silos were opened and the silages were sampled to determine dry matter (DM) loss, microbial counts, fermentation products, chemical composition, *in vitro* DM digestibility, and aerobic stability. The experimental design was completely randomized, with 4 replicates per treatment. Means were compared by orthogonal contrasts, using the MIXED procedure of SAS (version 9.4). The treatment containing hexamine (i.e., NH) was able to restrict the clostridia development, as it reduced concentrations of  $\text{NH}_3\text{-N}$ , n-butyric acid, iso-butyric acid, iso-valeric acid and valeric acid, and the DM loss during fermentation. The NH, NB9, NB12 and NB15 treatments also improved the *in vitro* DM digestibility compared to CON silage. However, treatments with sodium benzoate were not able to efficiently restrict undesirable fermentation. Therefore, it is not recommended to replace the hexamine with sodium benzoate in nitrite-based additives for Aries II grass silages with low DM content (i.e., 185 g/kg).

**Keywords:** chemical additive, *Clostridium*, fermentation, *Megathyrus maximus*, tropical grass

## 1. INTRODUÇÃO

As condições climáticas do Brasil permitem o cultivo de diversas espécies forrageiras, que podem ser destinadas ao processo de ensilagem. Os capins tropicais representam uma fonte forrageira com alto potencial de produtividade (e.g. 20-30 t/ha por ano) e têm sido cultivadas como forragem complementar à silagem de milho (Daniel *et al.*, 2019). Contudo, essas gramíneas apresentam baixo teor de matéria seca, alto poder tampão e baixo teor de carboidratos solúveis nos estádios de crescimento em que apresentam bom valor nutritivo, colocando em risco o processo de conservação por meio da ensilagem, devido às possibilidades de fermentações secundárias (Evangelista *et al.*, 2004). Obter uma silagem de gramíneas tropicais de alta qualidade no campo ainda é um desafio (Daniel *et al.*, 2019).

Com o intuito de minimizar perdas por modificação do processo fermentativo e da estabilidade aeróbia das silagens têm sido utilizados produtos químicos como aditivos de silagens (Kung Jr. *et al.*, 2003). Aditivos químicos são classificados de acordo com seus efeitos inibitórios nos microrganismos indesejáveis, com o intuito de melhorar a fermentação e/ou a estabilidade aeróbia. Durante muito tempo, desde meados do século XX, a utilização de ácido fórmico dominou em países com tradição na produção de silagem (e. g. países Europeus), mas a sua natureza corrosiva representa graves riscos para a saúde dos trabalhadores, levando a um declínio na popularidade (Auerbach e Nadeau, 2019). Um produto bem estabelecido no mercado Europeus, é composto por nitrito de sódio e hexamina (hexametenotetramina), que durante as fases iniciais da fermentação o nitrito e seus produtos de decomposição (e.g. óxido nítrico) são capazes de inibir bactérias indesejáveis, e.g. *Clostridium*, e posteriormente estes microrganismos são inibidos pela liberação de formaldeído a partir da hexamina em pH baixo (Auerbach e Nadeau, 2019).

Recentemente, Gomes *et al.* (2021) e Moraes *et al.*, (2023) reportaram a combinação de nitrito de sódio e hexamina que foram eficientes para inibir o desenvolvimento de clostrídios e aumentar a recuperação de nutrientes em silagens de capim-Mombaça.

No entanto, na Europa, as misturas de aditivos químicos contendo hexamina têm enfrentado desafios devido à regulamentação e questões de mercado relacionadas à disponibilidade da hexamina. A decomposição da hexamina pode liberar formaldeído, uma substância conhecida por ser irritante para a pele, olhos e membranas mucosas, além

de ser um sensibilizante cutâneo e respiratório. Durante a abertura do silo, agricultores podem ser expostos ao formaldeído (EFSA, 2014; 2015). Devido a esses riscos, a EFSA recomenda medidas rigorosas de proteção para trabalhadores que manuseiam silagem tratada com hexamina. Como alternativa, a EFSA sugere a substituição da hexamina por outros produtos menos nocivos, que ofereçam segurança equivalente na preservação do material ensilado sem os mesmos riscos à saúde humana.

Recentemente, Auerbach *et al.* (2023) verificaram que o uso de misturas à base de nitrito de sódio associado ao formato de sódio ou formato + benzoato ou formato + sorbato, foram eficientes em evitar fermentações indesejáveis em forragens temperadas, indicado pela baixa concentração de ácido n-butírico, N-NH<sub>3</sub> e redução de perdas de MS, resultado em silagens com adequado perfil de fermentação. Contudo, não existe informação na literatura se a hexamina pode ser substituída por outro composto em misturas com nitrito de sódio, quanto utilizadas em silagens de capins tropicais. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi investigar a possibilidade de substituir a hexamina por benzoato de sódio em combinação com nitrito de sódio sobre a conservação da silagem de capim-Áries II. A hipótese é que, o benzoato de sódio elucidaria os mesmos efeitos que a hexamina em gramíneas tropicais e poderiam, portanto, ser uma ferramenta de manejo útil e prática para garantir alta qualidade da silagem, sem os problemas regulatórios enfrentados para os aditivos contendo hexamina.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 *Ensilagem e tratamento*

O experimento foi realizado na Universidade Estadual de Maringá – Fazenda Experimental Iguatemi, Maringá, Paraná, Brasil (23° 20' S e 52° 04' W, 550 m acima do nível do mar). O clima na região é classificado como subtropical úmido com verões quentes (cfa segundo classificação climática de Köppen-Geiger; Alvares *et al.*, 2013). O solo no local de pesquisa em que o capim-Áries II cresceu é latossolo vermelho distroférico bem drenado (SiBCS, 2018), ou Latossolos (United State Taxonomy; Soil Survey Staff, 2014), com textura franco-argilosa arenosa (55% areia, 20% silte e 25% argila). Antes do início do estudo, o pH médio do solo (em CaCl<sub>2</sub>) no local era de 5,8, o C orgânico era de 5 mg/dm<sup>3</sup>, o P extraível (Mehlich-1) era de 15 mg/dm<sup>3</sup> e o K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> extraíveis era de 0,35, 3,0 e 1,5 cmolc/dm<sup>3</sup>, respectivamente, na profundidade do

solo de 0-20 cm. Os testes de solo indicaram que os níveis de P, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> na camada superficial do solo eram adequados para a produção agrícola.

Uma área de 0,1 ha de capim-Áries II [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & S.W.L. Jacobs (Syn. *Panicum maximum* Jacq.) cv. MG18 Áries II] foi cortado para o ensaio, após 60 d de período de rebrota, no dia 06 de novembro de 2021. A forragem foi cortada pela manhã (08h00) em 20 minutos, com cortador de disco rotativo montado lateralmente (Lavrale SD 9165, Caxias do Sul, RS - Brasil) sem condicionadores. As alturas médias da copa e do restolho foram de 80 cm e 10 cm, respectivamente. A forragem foi cortada diretamente e ensilada com concentração de MS de  $185 \pm 0,68$  g/kg MS antes da ensilagem. A composição química e microbiológica do capim-Áries II na colheita é apresentada na Tabela 1.

Antes da ensilagem a forragem foi picada em forrageira estacionária (Nogueira EN-9F3B, São João da Boa Vista, SP - Brasil) (10 mm de comprimento teórico de corte), e na sequência dividida em 24 pilhas (6 kg MN por pilha). Os tratamentos foram os seguintes: controle – sem adição de aditivo químico (CON), nitrito de sódio 0,9 g/kg MN + hexamina 0,6 g/kg MN (NH), nitrito de sódio 0,9 g/kg MN + benzoato de sódio 0,6 g/kg MN (NB6), nitrito de sódio 0,9 g/kg MN + benzoato de sódio 0,9 g/kg MN (NB9), nitrito de sódio 0,9 g/kg MN + benzoato de sódio 1,2 g/kg MN (NB12) e nitrito de sódio 0,9 g/kg MN + benzoato de sódio 1,5 g/kg MN (NB15). Os aditivos foram diluídos em água destilada (10 mL/kg MN) e aplicados com pulverizadores manuais. O tratamento controle também recebeu o mesmo volume de água destilada (10 mL/kg MN). Em seguida, 4,5 kg da forragem tratada foram acondicionados manualmente em baldes de 7,2 L (silos experimentais). Os baldes foram lacrados com tampas plásticas e a tampa envolta com seis camadas de fita adesiva. Após a vedação os silos foram pesados e armazenados em galpão coberto em temperatura ambiente (16-32 °C).

Amostras de forragens picadas não tratadas de cada pilha foram coletadas em sacos estéreis para determinar contagens microbianas [bactérias lácticas (BAL), fungos filamentosos e leveduras e clostrídio], composição química e digestibilidade *in vitro* da MS da forragem fresca. O pH e a análise microbiana foram iniciados imediatamente após a amostragem dentro de 80 minutos após o corte e 40 minutos após o corte, respectivamente.

Após 66 d de armazenamento, os silos foram pesados para determinação das perdas fermentativas. A perda de MS foi calculada como a diferença entre a quantidade de MS ensilada e a MS recuperada como proporção de MS ensilada. Na abertura dos silos,

nenhum bolor visível foi detectado na superfície da silagem. Amostras de silagem foram coletadas para determinação da contagem microbiana, pH, produtos da fermentação, estabilidade aeróbia, composição química e digestibilidade *in vitro* da MS.

## 2.2. Teste de estabilidade aeróbica

Amostras de silagem (3,5 kg MN) foram transferidas para baldes plásticos de 11 L com sensor de temperatura (data logger) colocado no centro na massa de silagem. Na sequência, os baldes foram cobertos com papel alumínio perfurado para reduzir a desidratação e evitar a entrada de sujeira. A temperatura foi registrada a cada 15 minutos durante 10 d em uma sala com temperatura controlada ( $25 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ ). A estabilidade aeróbica baseada na temperatura foi definida como o tempo decorrido até que a temperatura da silagem atingisse  $2^{\circ}\text{C}$  acima da temperatura ambiente (O'Kiely, 1993). Além disso, durante o período de 10 d de aeração, o pH da silagem foi registrado todas as manhãs. O pH foi medido em extrato aquoso preparado com 25 g de silagem + 225 g de água destilada misturado por 1 min em liquidificador e filtrado em funil através de duas camadas de gaze (Kung Jr. *et al.*, 1984).

## 2.3 Análise Microbiologia

Amostras de forragem não tratada, foram utilizadas para análise microbiológica. O pH, BAL, clostrídios, leveduras e fungos filamentosos foram avaliados após a preparação de extrato aquoso. O extrato da amostra foi coletado e o pH registrado por meio de pHmetro digital (Tec5, Tecnal®, Piracicaba, Brasil). Em seguida, alíquotas foram diluídas em série ( $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ ) em água peptonada estéril a 0,1% para contagens microbianas em meio seletivo (pour-plating). As BAL foram determinadas em ágar de Man, Rogosa e Sharpe (7543A, Acumedia, Lansing, Michigan, EUA) com adição de nistatina (400.000 UI/L) e as colônias foram contadas após incubação aerobiamente a  $30^{\circ}\text{C}$  por 3 d. Após pasteurização ( $88^{\circ}\text{C}$  por 13 min), diluições seriadas também foram enumeradas em Ágar Clostridial Reforçado (M154, Himedia, Mumbai, Índia) suplementado com vermelho neutro e D-cicloserina para enumeração de esporos de *clostridium* (Jonsson, 1990). As colônias de *Clostridium* foram contadas após incubação em frascos anaeróbicos a  $37^{\circ}\text{C}$  por 5 d. Leveduras e bolores foram enumerados em ágar extrato de malte (M137, Himedia, Mumbai, Índia) acidificado a pH 3,5 com ácido láctico. As amostras foram preparadas e incubadas aerobiamente a  $30^{\circ}\text{C}$  durante 2 e 3 d antes da contagem de leveduras e bolores, respectivamente. Todas as amostras de placas de

Petri foram preparadas em duplicata e o número de microrganismos foi contado como unidade formadora de colônia (UFC) e expresso como  $\log_{10}$ . A estabilidade aeróbica com base na elevação do pH foi definida como o tempo decorrido até que o pH da silagem aumentasse em 0,5 unidade (Gomes *et al.*, 2021).

#### 2.4 Análises laboratoriais

Amostras frescas de forragem e silagem foram desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas para determinação da concentração de MS. A concentração de MS da silagem foi corrigida pela perda de voláteis durante a secagem em estufa (Weissbach e Strubelt, 2008). Em seguida, as amostras foram moídas em moinho Willey (Marconi MA340, Piracicaba, Brasil) com tela de 1 mm e analisados para MS a 105°C, cinzas, proteína bruta e extrato etéreo (AOAC, 1990). Adicionalmente, para amostras de forragem, foram determinados a capacidade tampão (CT, Weissbach, 1967), a concentração de nitrato (Bezerra Neto e Barreto, 2011), e o coeficiente de fermentabilidade (CF; Weissbach *et al.*, 1974) estimado pela seguinte equação:  $CF = MS + 80 \times CS/CT$ . Amostras de forragem e silagem também foram analisadas quanto ao teor de fibra em detergente neutro (FDN; com adição de amilase termoestável e sulfato de sódio e expressa incluindo cinzas residuais; Mertens, 2002), fibra em detergente ácido (FDA; sequencialmente e expressa incluindo cinzas residuais) e lignina (Van Soest, 1973). Carboidrato solúvel em etanol (CS; Hall *et al.*, 1999), PB solúvel, N insolúvel em detergente ácido e N insolúvel em detergente neutro (Licitra *et al.*, 1996). O nitrogênio total foi fracionado em amônia (A1), proteína verdadeira solúvel (A2), proteína verdadeira insolúvel (B1), proteína ligada à fibra (B2) e proteína indigestível (C) de acordo com a metodologia de fracionamento de nitrogênio CNCPS v.6.5 (Van Amburgh *et al.*, 2015). A partir do fracionamento de nitrogênio, foram calculadas as proporções de proteína degradável ruminal (PDR, g/kg PB) e proteína não degradável ruminal (PNDR, g/kg PB) para bovinos em crescimento usando cinética de primeira ordem  $[kd / (kd + kp)]$  (Van Amburgh *et al.*, 2015). As taxas fracionais de passagem (líquido, concentrado e forragem) foram estimadas assumindo 6,2 kg/d de consumo de MS, 70% de forragem na dieta e 265 kg de peso corporal em jejum (Tylutki *et al.*, 2008). A digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) foi determinada utilizando incubadora Daisy II (Ankon Technology, Macedon, EUA), de acordo com Holden (1999). O líquido ruminal foi obtido de duas vacas holandesas canuladas pastando capim-Estrela-Africana (*Cynodon nlemfüensis Vanderyst*), 1 hora após a suplementação com 2 kg/dia de concentrado à base de grão de

milho moído, farelo de soja e mistura mineral-vitamínico. As doadoras de fluido ruminal foram manuseadas de acordo com o guia para Cuidado e Uso de Animais em Pesquisa e Ensino (FASS, 2020). O teor de FDN indigestível (FDNi) das silagens foi determinado por incubação *in situ* por 288 horas nas mesmas vacas canuladas no rúmen (Huhtanen *et al.*, 1994). A recuperação da MS digestível foi calculada como a proporção do conteúdo de MS digestível na silagem, logo após a abertura do silo, em relação ao conteúdo de MS digestível da forragem, imediatamente antes da ensilagem.

### 2.5 Produtos de fermentação

Após a obtenção do extrato aquoso da silagem, uma porção do extrato aquoso não diluído foi centrifugada a  $12.000 \times g$  por 20 min e o sobrenadante utilizado para análise dos produtos da fermentação. Utilizando colorimetria, foram determinadas as concentrações de ácido láctico (Pryce, 1969) e amônia (Chaney e Marbach, 1962). Nos tratamentos contendo aditivos, a concentração de N-NH<sub>3</sub> foi corrigida (N-NH<sub>3</sub>corr) considerando que 90% do N liberado da hexamina e 50% do N do nitrito de sódio adicionado foram convertidos em NH<sub>3</sub> durante a fermentação no silo. Outros produtos de fermentação, incluindo ácidos graxos voláteis (AGV), álcoois e ésteres foram analisados por cromatografia gasosa (Nexis GC-2030 com autoinjeter AOC-20i Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) utilizando coluna capilar (Stabilwax, Restek, Bellefonte, PA; 60 m, 0,25 mm Ø, 0,25 µm). A identificação dos compostos foi baseada no seu tempo de retenção e quantificada com padrões externos. A concentração total de ácidos graxos voláteis não dissociados foi calculada adicionando as concentrações das formas não dissociados dos ácidos acético, propiônico, iso-butírico, n-butírico, iso-valérico e valérico. A proporção da forma não dissociados de cada AGV foi calculada como  $1/(1 + 10^{(pH - pKa)})$  (equação de Henderson-Hasselbalch). A soma dos ácidos n-butírico, iso-butírico, iso-valérico, valérico também foi calculada (soma BV).

### 2.6 Análise estatística

Os dados foram avaliados quanto a presença de outliers (Sauvant *et al.*, 2008), à normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (teste de Bartlett). Como as variáveis atendiam à normalidade e homocedasticidade, os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS (versão 9.4, SAS Institute, Cary, NC, EUA). O delineamento experimental empregado foi inteiramente ao acaso, e dentro de cada nível de aditivo, as médias foram comparadas por contrastes ortogonais:

C1 = CON vs. NH, C2 = CON vs. NB (aditivos contendo benzoato), C3 = NH vs. NB (aditivos contendo benzoato), efeito linear de dose de benzoato de sódio (L) e efeito quadrático de dose de benzoato de sódio (Q). Diferenças significativas foram declaradas se  $P \leq 0,05$  e tendências de  $0,05 < P \leq 0,10$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Características fermentativas das silagens

As contagens microbianas e o perfil de fermentação da silagem de capim-Áries II são apresentados na Tabela 2. A população de clostrídio diminuiu com a adição de NH ( $P < 0,001$ ) e para a dose mais alta do aditivo contendo de benzoato de sódio (NB15) ( $P < 0,001$ ), também houve efeito linear para doses de benzoato de sódio ( $P < 0,001$ ). A contagem de BAL e fungo não foram afetadas pelos tratamentos, e as contagens de leveduras ficaram abaixo do limite de detecção de  $\log 2$  UFC/g.

O pH foi reduzido com o tratamento NH ( $P < 0,001$ ). Comparado ao tratamento CON a adição de benzoato de sódio aumentou o pH das silagens, destacando que a dose mais alta de benzoato (NB15) resultou em maior valor de pH ( $P < 0,001$ ). E, quando comparado os dois aditivos químicos, o tratamento NH resultou em menor valor de pH ( $P < 0,001$ ).

O teor de N-NH<sub>3</sub>corr foi reduzido com a adição de NH ( $P < 0,001$ ) em comparação ao tratamento CON e com os tratamentos à base de NB. A adição de doses de NB resultou em menor concentração de amônia comparado ao controle ( $P < 0,001$ ). Já os ácidos propiônico, n-butírico, iso-butírico, valérico e iso-valérico foram reduzidos drasticamente com adição do aditivo à base de NH ( $P < 0,001$ ) em comparação ao tratamento CON e com os tratamentos à base de NB. A concentração de ácido láctico foi maior na silagem contendo NH (16,8 vs. 4,67 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) comparada ao tratamento controle e as doses de NB que não diferiram entre si.

As doses crescentes de NB não diferiram do tratamento controle ( $P = 0,122$ ). As concentrações de ácido acético e 1-propanol não foram afetadas pela adição dos aditivos químicos ( $P = 0,186$ ). O teor de etanol aumentou ( $P = 0,003$ ) com a adição do NH em comparação a adição das doses de NB, mas, não diferiu da silagem controle ( $P = 0,253$ ). Houve redução acentuada na concentração de 2-butanodiol, com a adição de NH ( $P < 0,001$ ) comparado a silagem controle e com as doses de NB ( $P = 0,013$ ), ainda comparando os dois tipos de aditivos, houve maior redução com NH comparado ao NB ( $P = 0,057$ ).

A soma BV reduziu com NH comparado a silagem CON ( $P < 0,001$ ) e com as doses de NB ( $P < 0,001$ ). As doses crescentes de NB não diferiram da silagem controle ( $P = 0,996$ ). Já a razão  $AGV_{nd}/(CS+AL)$  na silagem foi reduzida com adição de NB, observando maior redução com a dose NB15 quando comparada ao CON ( $P = 0,002$ ) e ao tratamento contendo NH ( $P = 0,002$ ), enquanto a adição de NH não apresentou diferença da silagem CON (0,348 vs. 0,377;  $P = 0,584$ ). As perdas de MS foram reduzidas com a adição dos aditivos químicos ( $P < 0,001$ ), visto que o NH resultou em menor perda comparado a silagem CON (95,0 vs.  $57,9 \pm 0,12$  g/kg MS). As doses de NB resultaram em menores perdas comparadas a silagem controle ( $P = 0,003$ ), e quando comparados os dois tipos de aditivo (NH vs. NB) foi observado maior redução com NH ( $P < 0,001$ ). Nenhuma mudança foi observada na estabilidade aeróbica com base no aumento de temperatura das silagens. No entanto a estabilidade aeróbia com base no pH foi menor ( $P = 0,003$ ) para as silagens que receberam NH ( $P = 0,014$ ) e NB ( $P = 0,003$ ) em comparação com a silagem controle.

### *3.2 Composição química e digestibilidade das silagens*

A composição química e a DIVMS das silagens de capim-Áries II são apresentadas na Tabela 3. O teor de MS foi aumentado ( $P < 0,001$ ) para o tratamento NH (199 g/kg) comparado ao CON (185 g/kg), assim como para o NB ( $P < 0,001$ ) comparado com o CON (185 g/kg). As doses crescentes de NB não resultaram em diferenças significativas comparadas ao CON ( $P = 0,902$ ). A concentração de cinzas aumentou linearmente ( $P < 0,003$ ) com as doses de NB ( $P = 0,003$ ). A concentração de CS aumentou ( $P < 0,008$ ) com a adição de NH em comparação com o CON. Houve aumento linear da concentração de CS com o aumento da dose de benzoato de sódio ( $P = 0,003$ ).

A concentração de FDN foi menor na silagem contendo NH comparada às silagens CON ( $P < 0,001$ ) e NB ( $P < 0,002$ ). A aplicação de doses crescentes de NB não resultaram em diferenças da silagem CON ( $P = 0,109$ ). Já a fração FDA, foi reduzida com adição de NH (419 vs. 392 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) em comparação com a silagem controle e com as silagens que receberam doses de NB (416 vs. 392 g/kg MS;  $P < 0,001$ ). A aplicação de doses crescentes de NB não resultou em diferenças frente a silagem CON ( $P = 0,468$ ). O teor de proteína bruta aumentou nas silagens contendo NH comparado com a silagem CON (103 vs. 142 g/kg MS;  $P < 0,001$ ). As silagens que receberam NB resultaram em menor teor de PB comparadas a silagem CON ( $P < 0,001$ ) e com as silagens que receberam NH (142 vs. 97,6 g/kg MS;  $P < 0,001$ ).

Houve efeito de dose e tipo de aditivo químico no fracionamento de N. A fração A1 foi reduzida ( $P < 0,001$ ) na silagem com NH comparada a silagem CON. As silagens que receberam doses de NB resultaram em menor fração comparadas a silagem CON ( $P < 0,001$ ) destacando maior efeito na dose NH15; e quando comparada as silagens com os dois tipos de aditivo (NH e NB) foi observado efeito mais acentuado na silagem contendo NH (265 vs. 399 g/kg MS;  $P < 0,001$ ). A fração A2 foi maior ( $P < 0,001$ ) na silagem contendo NH comparada com a silagem CON e comparada com as silagens contendo NB ( $P < 0,001$ ). Houve efeito linear para dose de benzoato de sódio ( $P < 0,001$ ), ou seja, à medida que aumentou a dose de NB aumentou a fração A2, respectivamente. A fração B1 foi maior ( $P < 0,001$ ) na silagem com NH comparado com a silagem CON, foi maior ( $P < 0,001$ ) para doses de NB comparado com o CON, e foi maior ( $P < 0,001$ ) para a silagem que recebeu aplicação de NH comparado com as doses de NB. A fração B2 foi maior ( $P < 0,020$ ) nas silagens que receberam as taxas de aplicação de NB comparada com a silagem que recebeu NH. A fração C foi menor na silagem contendo NH (70,5 vs. 31,1 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) comparada a silagem controle e as silagens contendo doses de NB ( $P < 0,001$ ).

A proporção de PDR aumentou ( $P < 0,001$ ) com a aplicação de NH nas silagens comparadas com as doses de NB (802 vs. 796 g/kg MS). Houve efeito linear para doses de NB ( $P < 0,001$ ). A PDR diminuiu com as aplicações de NB (805 vs. 796 g/kg MS) comparada a silagem controle. A PNDR foi menor ( $P < 0,001$ ) nas silagens que receberam NH comparadas as silagens que receberam as doses de NB (199 vs. 204 g/kg MS). Houve efeito linear para doses de NB ( $P < 0,001$ ). A PNDR aumentou com as aplicações de NB (195 vs. 204 g/kg MS) compara a silagem controle. A DIVMS aumentou com a aplicação de NH na silagem (504 vs. 630 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) comparada a silagem CON. As doses crescentes de NB resultaram em aumento na DIVMS ( $P < 0,001$ ) comparadas as silagens controle. A DIVMS foi maior na silagem com NH comparada as silagens que receberam NB ( $P < 0,001$ ). Houve efeito linear para doses de NB ( $P < 0,001$ ). A recuperação de MS digestível aumentou com aplicação de NH nas silagens (683 vs. 889 g/kg MS;  $P < 0,001$ ) comparada a silagens controle. Foi observada maior recuperação nas silagens que receberam as doses de NB comparadas ao tratamento controle (683 vs. 729 g/kg MS;  $P = 0,011$ ). O tratamento NH aumentou +160 g/kg MS a recuperação de MS em relação às silagens que receberam NB (889 vs. 729 g/kg MS;  $P < 0,001$ ). A recuperação de MS aumentou de forma linear nas silagens que receberam doses crescentes de benzoato de sódio (684, 716, 743 e 773 g/kg MS;  $P < 0,001$ ).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1 Características fermentativas das silagens

Com base no CF determinado nas amostras de forragem fresca (média 21,8), o capim-Áries II utilizado no presente estudo pode ser considerado de difícil conservação por meio da ensilagem, especialmente pelo baixo teor de MS (185 g/kg). Weissbach e Honig (1996) demonstraram para forragens temperadas que valores de CF inferiores a 350 associados a um teor de MS menor que 350g/kg resultaram em alto risco de fermentação butírica. Ainda, os autores relataram que a incidência de silagens com fermentação butírica aumentava à medida que o teor de nitrato diminuía para menos de 1 g/kg de MS, assim como em forragens com contagens de BAL inferiores a  $10^5$  UFC/g de MN. Neste estudo, mesmo com contagens de BAL de 6,12 log UFC/g de MN e teor de nitrato de 12,2 g/kg de MS o capim ensilado sem aditivo apresentou características típicas de fermentação butírica ditada por clostrídios. Carvalho *et al.* (2024) demonstraram que a em forragens tropicais o  $CF \geq 350$  diminuiu o risco de fermentação butírica. Os autores relataram ainda que o limite mínimo de 350 g/kg MS encontrado em sua pesquisa, ocorreu com concentrações de nitrato  $> 1$  g/kg MS e contagens de  $BAL > 5$  log UFC/g MN. Por outro lado, mesmo com altas contagens de BAL e altas concentrações de nitrato nos CF mais baixos ( $< 350$ ), bactérias do gênero *Clostridium* desenvolveram-se na maioria das silagens, enquanto valores  $CF \geq 400$  resultaram em silagens livres de ácido butírico, mesmo com contagem mais baixa de BAL. Assim, em forragens ensiladas após corte direto, o uso de aditivos capazes de inibir microrganismos indesejáveis deve ser considerado.

A fermentação butírica em silagens derivadas de forragens com baixa concentração de nitrato até o teor de 300 g/kg MS é suprimida pela acidificação natural apenas se o teor de esporos de clostrídios for baixo. Na Europa, por exemplo, forragens temperadas com teor de MS  $\leq 300$  g/kg são frequentemente ensiladas com aditivos químicos, enquanto para forragens com maior teor de MS são recomendados aditivos biológicos (Kaiser *et al.*, 2002). Em gramíneas tropicais, Gomes *et al.* (2021) e Moraes *et al.* (2023) demonstraram que um aditivo à base de nitrito de sódio e hexamina (NH) foi altamente eficiente para inibir o desenvolvimento de clostrídios, reduzir perdas fermentativas e melhorar composição nutricional de silagens de capim-Mombaça. No presente experimento, o aditivo NH foi capaz de reduzir o desenvolvimento de clostrídios e a formação de ácido butírico (0,45 g/kg MS). O nitrito e seus produtos de redução, como óxidos nítricos, são capazes de inibir o desenvolvimento de clostrídios nas fases iniciais

da fermentação (Spoelstra, 1985). Nos estágios posteriores, a queda no pH induz a conversão de hexamina em formaldeído, capaz de manter a inibição dos microrganismos indesejáveis (Reuter e Weissbach *et al.*, 1989) em silagens estocadas por vários meses (Weissbach *et al.*, 1989; Gomes *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2023).

A adição de NH resultou em melhora da fermentação da silagem, indicada por menores concentrações de N-NH<sub>3</sub>, menores contagens de *Clostridium* e seus metabólitos, e maiores concentrações de MS e CS. Durante a fermentação da silagem, os compostos nitrogenados passam por proteólise vegetal e microbiana, e a restrição da fermentação limita a degradação das proteínas. Kung *et al.* (2018) observaram que silagens com baixo teor de MS apresentam maiores concentrações de N-NH<sub>3</sub>, resultado também verificado neste experimento. No estudo de Moraes *et al.* (2023), a concentração de ácido láctico aumentou ligeiramente nas silagens tratadas com NH, sugerindo que o aditivo preservou açúcares, fornecendo substrato para a proliferação de BAL. Auerbach e Nadeau (2019) destacam que os aditivos químicos não estimulam seletivamente as BAL homofermentativas, mas, permitem o desenvolvimento de toda a flora epifítica de BAL, que inclui espécies que produzem ácido acético, etanol e ácido láctico.

A eficácia do processo fermentativo também é indicada pela redução das perdas de MS, que foi menor na silagem tratada com NH. Isso destaca o papel dos aditivos químicos à base de nitrito de sódio e hexamina na supressão de microrganismos indesejados, resultando em fermentação mais eficiente e protegendo os carboidratos solúveis da degradação (Auerbach e Nadeau, 2020).

No entanto, o uso de hexamina tem enfrentado desafios regulatórios e de mercado devido à sua oferta. A EFSA (2020) criticou o uso de hexamina como aditivo de silagem por causa dos potenciais riscos à saúde associados à aplicação, e recomenda substituir a hexamina por substâncias mais seguras, que proporcionem a mesma eficácia na preservação do material ensilado. Embora a EFSA tenha demonstrado tal preocupação, estudos anteriores conduzidos por Weissbach (2010) demonstraram que a quantidade de hexamina residual na silagem é sempre muito baixa quando comparada com a concentração adicionada (geralmente inferior a 10 ppm). A hexamina presente na silagem, quando ingerida pelo animal, é absorvida pelo intestino e posteriormente eliminada pela urina. Se a hexamina for decomposta pelo ácido clorídrico no abomaso, o formaldeído resultante é rapidamente absorvido pelo intestino e liga-se imediatamente aos glóbulos vermelhos, em que é enzimaticamente oxidado a ácido fórmico (Lück, 1985). Não se esperam efeitos adversos na qualidade do leite ou a presença de formaldeído no leite do

ponto de vista bioquímico. Essa suposição foi apoiada por estudos em animais, indicando que o risco de transferência de formaldeído para o leite pode ser totalmente descartado (Zwierz e Weissbach, 1989a e b).

Em trabalhos feitos com gramíneas temperadas Auerbach *et al.* (2016) avaliaram os efeitos de uma mistura composta por nitrito de sódio, formato de sódio e benzoato de sódio ou nitrito de sódio, formato de sódio e sorbato de potássio. Os autores observaram melhorias na qualidade fermentativa das silagens avaliadas, evidenciadas pela redução no desenvolvimento de clostrídios e na formação de aminas biogênicas, resultando em silagens bem fermentadas. Em meta-análise mais recente, Auerbach *et al.* (2023) demonstraram que o uso de misturas à base de nitrito de sódio + concentrações variadas de formato de sódio ou formato + benzoato ou formato + sorbato, foram eficientes em substituir a mistura de nitrito de sódio e hexamina e evitar fermentações indesejáveis, indicado pela baixa concentração de ácido butírico, N-NH<sub>3</sub> e redução de perdas de MS.

No presente experimento, a substituição do componente hexamina por benzoato de sódio em mistura com nitrito de sódio, não demonstrou a mesma eficácia que a hexamina em evitar fermentações indesejáveis. A substituição de hexamina por benzoato de sódio resultou em silagens com contagem mais alta de clostrídios, assim como valores mais altos de pH e maiores concentrações de N-NH<sub>3</sub>, ácidos butírico, iso-butírico, valérico, iso-valérico, propiônico.

Avaliar a presença de leveduras e fungos em silagens é crucial, pois a presença pode comprometer a estabilidade aeróbica. Neste estudo, as contagens de leveduras e fungos nas silagens foram extremamente baixas (< 2 e 2,58 UFC/g MN respectivamente), menores que no capim antes da ensilagem, e todas as silagens mantiveram estabilidade ao longo de 10 d de exposição ao ar. A estabilidade adequada é garantida com contagens de leveduras e fungos inferiores a 10<sup>6</sup> (Ranck, *et al.*, 2020), um critério alcançado neste estudo. Contudo, as contagens microbianas devem ser interpretadas com cautela pelas várias limitações nas análises (Auerbach e Nadeau, 2020). Embora a temperatura tenha se mantido constante, durante a aeração em todas as silagens, o pH variou nos tratamentos com aditivo químico à base de hexamina, antecipando a instabilidade aeróbica em cerca de dois d.

#### 4.2 Composição química e digestibilidade de silagens

Neste estudo, além de melhorar o padrão de fermentação, demonstrou-se que a composição nutricional foi melhorada com adição de NH em relação a silagem não

tratada. O teor de PB aumentou + 39 g/kg em comparação a silagem controle (103 vs. 142 g/kg MS). A DIVMS da silagem tratada com NH aumentou +126 g/kg MS em relação a silagem controle (504 vs. 630 g/kg MS), enquanto as silagens que receberam doses crescente de benzoato de sódio aumentou +31 g/kg MS em relação a silagem controle (504 vs. 535 g/kg MS). Esse aumento pode ser atribuído a proteção dos nutrientes disponíveis contra a degradação e a menor concentração de FDA. Esta suposição é apoiada pela maior recuperação de MS digestível no tratamento com NH e em menor magnitude com NB. Moraes *et al.* (2023) observou menor PDR e maior PNDR, estes resultados mostraram efeito menor sobre essas frações com o aditivo contendo NH. Neste estudo a fração PDR diminuiu -3 g/kg PB, enquanto a PNDR aumentou +4 g/kg MS comparado a silagem controle. Por outro lado, as doses de NB demonstraram efeito mais pronunciado nessas frações, de forma que a PDR aumentou enquanto a PNDR reduziu se comparada a silagem controle.

De modo geral, as concentrações dos nutrientes foram melhoradas com a aplicação de NH, assim como demonstrado no trabalho de Gomes *et al.* (2021) e Moraes *et al.*, (2023) com capim-Mombaça. No entanto, a preservação de nutrientes da silagem com a substituição do componente hexamina não demonstrou resultados promissores, assim como no perfil fermentativo das silagens com a adição de benzoato de sódio, diferentemente dos resultados observadas por Auerbach *et al.* (2016 e 2023) em gramíneas temperadas, em que a hexamina foi substituída por formato ou formato em combinação com benzoato ou sorbato. Mais estudos são necessários para confrontar a eficácia da combinação de aditivos químicos em diferentes condições químico bromatológicas de gramíneas tropicais.

## 5. CONCLUSÃO

O aditivo à base de nitrito de sódio e hexamina foi capaz de restringir o desenvolvimento de *Clostridium* e a perda de matéria seca durante o processo fermentativo da silagem de capim-Áries II. A substituição do componente hexamina por benzoato de sódio não é recomendada, pois, ao contrário desta hipótese não se mostrou uma estratégia viável em reduzir perdas, melhorar o valor nutritivo e garantir a qualidade higiênica da silagem de capim-Áries II com baixo teor de MS (i.e., 185 g/kg MS).

## 6. REFERÊNCIAS

- Association of Official Analytical Chemists – AOAC, 1990. Official methods of analysis, 15th ed. Arlington, VA, USA.
- Auerbach, H., Nadeau, E., Weiss, K., Theobald, P., 2016. Effects of sodium nitrite-containing additives on dry matter losses, fermentation pattern and biogenic amine formation in lucerne and cocksfoot silage. In Proceedings International Conference of Forage Conservation. Nat. Agric. Food Centre, Luzianky, Slovak Republic, pp.117–118.
- Auerbach, H., Nadeau, E., 2019. Chemical additives for silages: When to use it and what are the options? In Proceedings of the XII International Symposium on Forage Quality and Conservation, Piracicaba, Brazil, pp. 49–88.
- Auerbach, H., Nadeau, E., 2020. Additive Type on Fermentation and Aerobic Stability and Its Interaction with Air Exposure on Silage Nutritive Value. *Agron.* 10, 1229. <https://doi:10.3390/agronomy10091229>.
- Auerbach, H., Weiss, K., Nadeau, E., Daniel, J. L. P., 2023. A meta-analysis on the effects of nitrite – containing additives on the quality of silages from temperate forages. Proceedings of the XIX International Silage Conference. Beijing, China, p. 476-477.
- Bezerra Neto, E., Barreto, L. P., 2011. Análises químicas e bioquímicas em plantas. Chemical and biochemical analyzes in plants. Recife, Bras (in Portuguese).
- Chaney, A. L., Marbach, E. P., 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8, 130–132. <https://doi.org/10.1093/clinchem/8.2.130>.
- Daniel, J. L. P., Bernardes, T. F., Jobim, C. C., Schmidt, P., Nussio, L. G., 2019. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. *Grass and Forage Science.* 74, 188–200.
- European Food Safety Authority – EFSA, 2014. Scientific Opinion on the re-evaluation of hexamethylene tetramine (E 239) as a food additive. 12, 3696. <http://doi:10.2903/j.efsa.2014.3696>.
- European Food Safety Authority – EFSA, 2015. Scientific Opinion on the safety and efficacy of hexamethylene tetramine as a silage additive for pigs, poultry, bovines, sheep, goats, rabbits and horses. 13, 4014. <https://doi:10.2903/j.efsa.2015.4014>.
- European Food Safety Authority – EFSA, 2020. Scientific Opinion on the safety of hexamethylene tetramine for pigs, poultry, bovines, sheep, goats, rabbits and horses. 18, 6012. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6012>.

- Evangelista, A. R., Abreu, J. G. de., Amaral, P. N. C. do., Pereira, R. C., Salvador, F. M., & Santana, R. A. V., 2004. Produção de silagem de capim-marandu (*Brachiaria brizantha* Stapf cv. Marandu) com e sem emurchecimento. *Ciênc. Agrotec.* 28, 443–449. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542004000200027>
- Federation of Animal Science Societies – FASS, 2020. *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching*, 4th ed. Champaign, Illinois, USA.
- Giudici, P., C. Zambonelli, R. E. Kunkee. 1993. Increased production of n-propanol in wine by yeast strains having an impaired ability to form hydrogen sulfide. *Am. J. Enol. Vitic.* 44, 17–22.
- Gomes, A. L. M., Auerbach, H. U., Lazzari, G., Moraes, A., Nussio, L. G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P., 2021. Sodium nitrite-based additives improve the conservation and the nutritive value of guinea grass silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 279, 115033. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115033>.
- Hall, M. B., Hoover, W. H., Jennings, J. P., Miller Webster, T. K., 1999. A method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates. *J. Sci. Food Agric.* 79, 2079–2086.
- Honig, H., 1990. Evaluation of aerobic stability. In: Lindgren, S., Pettersson, K.L. (Eds.), *Proceedings of the EUROBAC Conference*, Uppsala, Sweden, pp. 76–82.
- Holden, L. A., 1999. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *J. Dairy Sci.* 82, 1791–1794. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75409-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75409-3).
- Huhtanen, P., Kaustell, K., Jaakkola, S., 1994. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 211–227. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90173-2](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90173-2).
- Janssen, P., 2004. Propanol as an end product of threonine fermentation. *Arch. Microbiol.* 182, 482–486.
- Jonsson, A., 1990. Enumeration and confirmation of *Clostridium tyrobutyricum* in silages using neutral red D-cycloserine and lactate dehydrogenase activity. *J. Dairy Sci.* 13, 719–725. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78725-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78725-5).
- Kaiser, E., Weiss, K., Polip, I., 2002. A new concept for the estimation of the ensiling potential of forages. In: Gechie, L. M., Thomas C. (Eds.), *Proceedings of the XIII International Silage Conference*, Auchincruive, Scotland, pp. 344–358.

- Kung Jr, L., Grieve, D. B., Thomas, J. W., Huber, J. T., 1984. Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *J. Dairy Sci.* 67, 299–306.
- Kung Jr., L., Stokes, M. R., Lin, C. J., 2003. Silage additives. *Silage Science and Technology*. D. R. Buxton, 305–360.
- Kung Jr. L., Smith, M. L., Da Silva, E. B., Windle, M. C., Da Silva, T. C., Polukis, S. A., 2018. An evaluation of the effectiveness of a chemical additive based on sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium nitrite on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 101, 5949–5960. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14006>.
- Licitra, G., Hernandez, T. M., Van Soest, P. J., 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57, 347–358. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3).
- Lück, E., 1985. *Chemische Lebensmittelkonservierung*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg NewYork Tokyo, pp. 123–133.
- McDonald, P. J., Henderson, A. R., Heron, S. J. E., 1991. *The biochemistry of silage*, 2.ed., Chalcombe Publications, Mallow, pp. 340.
- Mertens, D. R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J. AOAC Int.* 85, 1217–1240.
- Mills, J. A., Kung Jr., L., 2002. The effect of delayed ensiling and application of a propionic acid-based additive on the fermentation of barley silage. *J. Dairy Sci.* 85, 1969–1975. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74273-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74273-2).
- Moraes, A., Auerbach, H. U., Bragatto, J. M., Piran Filho, F. A., Silva, S. M. S., Nussio, L. G., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P., 2023. Effect of application rate of sodium nitrite and hexamine on the fermentation and the chemical composition of guinea grass silage harvested at different stages of maturity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 302, 115667. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115667>.
- Namihira, T., Shinzato, N., Akamine, H., Maekawa, H., Matsui, T., 2010. Influence of nitrogen fertilization on tropical-grass silage assessed by ensiling process monitoring using chemical and microbial community analyses. *J. Appl. Microbiol.* 108, 1954–1965. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04591.x>.

- O'Kiely, P., 1993. Influence of a partially neutralized blend of aliphatic organic acids on fermentation effluent production and aerobic stability of autumn grass silage. *Ir. J. Agric. Food Res.* 32, 13–26.
- Pryce, J. D., 1969. A modification of Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. *Analyst.* 94, 1151–1152. <https://doi.org/10.1039/an9699401151>.
- Reuter, B., Weissbach, F., Schmidt, L., Zwierz, P. M., 1989. Investigations on the Efficiency of the silage additive Cekafusil. In *Proceeding of the International Symposium on Production, Evaluation and Feeding of Silage*. Rostock, 69–78.
- Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J. J., St-Pierre, N. R., 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal.* 2, 1203–1214.
- Spoelstra, S. F., 1985. Nitrate in silage. A review. *Grass Forage Sci.* 40, 1–11.
- Tomaz, P. K., Araujo, L. C., Sanches, L. A., Santos-Araujo, S. N., Lima, T. O., Lino, A. A., Ferreira, E. M., 2018. Effect of sward height on the fermentability coefficient and chemical composition of guinea grass silage. *Grass Forage Sci.* 73, 588–598. <https://doi.org/10.1111/gfs.12349>.
- Tylutki, T. P., Fox, D. G., Durbal, V. M., Tedeschi, L. O., Russell, J. B., Van Amburgh, M. E., Overton, T. R., Chase, L. E., Pell, A. N., 2008. Cornell Net Carbohydrate and Protein System: a model for precision feeding of dairy cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 143, 174–202. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.010>.
- Van Soest, P. J., 1973. Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. *J. Assoc. Anal. Chem.* 56, 781–784. <https://doi.org/10.1093/jaoac/56.4.781>.
- Van Amburgh, M. E., Collao-Saenz, E. A., Higgs, R. J., Ross, D. A., Recktenwald, E. B., Raffrenato, E., Chase, L. E., Overton, T. R., Mills, J. K., Foskolos, A., 2015. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System: updates to the model and evaluation of version 6.5. *J. Dairy Sci.* 98, 6361–6380.
- Weissbach, F., 1967. The determination of the buffer capacity of forage plants for the assessment of their ensilability. *Acad. Agric. Sci.* 92, 211–220.
- Weissbach, F., Honig, H., 1996. Über die Vorhersage und Steuerung des Gärungsverlaufs bei der Silierung von Grünfütter aus extensivem Anbau [Predicting and controlling the course of fermentation of extensively grown grasses]. *Landbauforsch. Völklenrode.* 46, 10–17.
- Weissbach, F., Schmidt, L., Hein, E., 1974. Method of anticipation of the run of fermentation in silage making based on the chemical composition of the green

- fodder. in: Proceedings of the XII International Grassland Congress, Moscow, Russia, pp. 663–673.
- Weissbach, F., Zwierz, P. M., Reuter, B., Köller, S., Weissbach, H., Baronius, B., 1989. Control of the silage fermentation by chemical preserving agents. *Chim. Oggi* 7, 57–60.
- Weissbach, F., Strubelt, C., 2008. Correcting the dry matter content of grass silages as a substrate for biogas production. *Landtechnik*. 63, 210–211.
- Weissbach, F., 2010. Report on the development of silage additives containing nitrite and hexamine. Elmenhorst, Rostock, Germany, pp. 18.
- Wieringa, G. W., 1966. The influence of nitrate on silage fermentation. *Netherlands J. Agric. Sci.* 6, 204–210.
- Zwierz, P. M., Weissbach, F., 1989a. Investigations into preservative residues in silage and milk. Proceedings International Symposium. Production, evaluation and feeding of silage. Rostock, Germany, pp. 185–195
- Zwierz, P. M., Weissbach, F., 1989b. Untersuchungen zur Frage der Konservierungsmittelrückstände in Silagen, die mit dem Siliermittel “Cekafusil” bereitet wurden. In IV International Symposium Forage Conservation. Brno, República Checa, pp. 171–175.

## TABELAS

**Tabela 1.** Contagens microbianas e composição química do capim-Áries II fresco antes da ensilagem.

Item	Média	Desvio Padrão
Bactérias láticas, log UFC <sup>1</sup> /g MN <sup>2</sup>	6,12	0,079
Clostrídios, log UFC/g MN	1,39	0,472
Leveduras, log UFC/g MN	1,15	1,127
Fungos filamentosos, log UFC/g MN	5,41	0,339
pH	6,44	0,062
MS <sup>3</sup> , g/kg MN	185	0,7
Carboidrato solúvel, g/kg MS	22,1	0,09
Capacidade tampão, g/kg MS	54,1	0,56
Coefficiente de fermentabilidade	218	6,6
Nitrato, g/kg MS	12,2	0,19
FDN <sup>4</sup> , g/kg MS	686	0,7
FDNi <sup>5</sup> , g/kg MS	174	0,4
FDNi:FDN	0,253	0,006
FDA <sup>6</sup> , g/kg MS	398	0,8
Lignina (as), g/kg MS	65,4	0,20
FDNi:lignina	2,66	0,133
Cinzas, g/kg MS	126	0,3
Proteína bruta, g/kg MS	148	0,5
DIVMS <sup>7</sup> , g/kg MS	663	0,9

<sup>1</sup> Unidade formadora de colônia;

<sup>2</sup> Matéria natural;

<sup>3</sup> Matéria seca;

<sup>4</sup> Fibra em detergente neutro;

<sup>5</sup> Fibra em detergente neutro indigestível;

<sup>6</sup> Fibra em detergente ácido;

<sup>7</sup> Digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

**Tabela 2.** Contagens microbianas, perfil fermentativo e perda de matéria seca das silagens de capim-Áries II

Item	Tratamento <sup>1</sup>						EPM <sup>2</sup>	P-Contraste <sup>3</sup>				
	CON	NH	NB6	NB9	NB12	NB15		C1	C2	C3	L	Q
Bactérias lácticas, log UFC <sup>4</sup> /g MN <sup>5</sup>	7,95	7,98	7,99	7,97	7,94	7,95	0,043	0,687	0,898	0,702	0,477	0,689
Clostrídios, log UFC/g MN	4,37	2,13	4,27	3,96	3,75	2,87	0,099	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,009
Leveduras, log UFC/g MN	<2	<2	<2	<2	<2	<2	-	-	-	-	-	-
Fungos filamentosos, log UFC/g MN	2,61	2,61	2,58	2,58	2,54	2,67	0,117	0,976	0,873	0,843	0,652	0,600
pH	5,84	5,22	6,04	5,91	6,04	6,08	0,054	<0,001	0,007	<0,001	0,283	0,165
N-NH <sub>3</sub> corr <sup>6</sup> , g/kg N	436	193	417	415	333	307	8,7	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,187
Ácido láctico, g/kg MS <sup>7</sup>	4,67	16,8	4,72	4,83	4,81	4,72	0,200	<0,001	0,671	<0,001	0,999	0,615
Ácido acético, g/kg MS	51,4	53,4	51,6	55,1	50,8	51,2	2,11	0,517	0,767	0,599	0,562	0,462
Ácido propiônico, g/kg MS	5,17	0,72	4,51	4,82	4,29	4,59	0,341	<0,001	0,122	<0,001	0,856	0,989
Ácido butírico, g/kg MS	19,9	0,46	20,2	20,9	19,9	19,4	1,73	<0,001	0,923	<0,001	0,659	0,726
Ácido iso-butírico, g/kg MS	3,83	0,00	3,38	3,50	3,47	3,52	0,400	<0,001	0,421	<0,001	0,832	0,926
Ácido iso-valérico, g/kg MS	6,37	0,09	6,48	6,97	6,89	7,08	0,540	<0,001	0,425	<0,001	0,487	0,781
Ácido valérico, g/kg MS	1,96	0,050	1,77	1,70	1,61	1,56	0,192	<0,001	0,185	<0,001	0,411	0,939
Etanol, g/kg MS	2,96	3,92	1,88	1,63	1,24	2,17	0,577	0,253	0,072	0,003	0,859	0,322
1-Propanol, g/kg MS	120	67,9	115	110	93,3	93,2	26,7	0,186	0,576	0,256	0,501	0,933
2-Butanol, g/kg MS	118	16,3	71,4	55,3	58,1	52,9	18,99	0,001	0,013	0,057	0,543	0,778
Soma BV <sup>8</sup> , g/kg MS	32,1	0,60	31,9	33,0	32,0	31,5	2,47	<0,001	0,996	<0,001	0,851	0,753
AGVnd/(CS+AL) <sup>9</sup>	0,348	0,377	0,230	0,319	0,199	0,172	0,036	0,584	0,010	0,002	0,088	0,128
Perda de MS, g/kg MS	95,0	57,9	91,8	90,1	91,1	8,86	0,123	<0,001	0,003	<0,001	0,127	0,749

EA temperatura <sup>10</sup> , d	>10	>10	>10	>10	>10	-	-	-	-	-	-	-
EA pH <sup>11</sup> , d	9,50	7,50	7,50	7,68	7,50	7,33	0,518	0,014	0,003	0,999	0,766	0,739

<sup>1</sup> CON: controle, sem adição de aditivo; NH: nitrito de sódio 0,3 g/kg + hexamina 0,2 g/kg; NB6: nitrito de sódio 0,9 g/kg + benzoato de sódio 0,6 g/kg; NB9: nitrito de sódio 0,9 g/kg + benzoato de sódio 0,9 g/kg; NB12: nitrito de sódio 0,9 g/kg + benzoato de sódio 1,2 g/kg; NB15: nitrito de sódio 0,9 g/kg + benzoato de sódio 1,5 g/kg;

<sup>2</sup> Erro padrão da média;

<sup>3</sup> C1: controle vs. NH; C2: controle vs. NB; C3: NH vs. NB; L: efeito linear de dose de benzoato de sódio; Q: efeito quadrático de dose de benzoato de sódio;

<sup>4</sup> Unidade formadora de colônia;

<sup>5</sup> Matéria natural.

<sup>6</sup> N-NH<sub>3</sub> corrigido para adição de nitrogênio por aditivo;

<sup>7</sup> Matéria seca;

<sup>8</sup> Soma dos ácidos butírico, iso-butírico, valérico e iso-valérico;

<sup>9</sup> Razão entre ácidos graxos voláteis não dissociados e carboidratos solúveis + ácido láctico;

<sup>10</sup> Estabilidade aeróbica com base no aumento da temperatura (+2°C);

<sup>11</sup> Estabilidade aeróbica com base no aumento do pH (+0,5).

**Tabela 3.** Composição química e digestibilidade *in vitro* das silagens de capim-Áries II

Item	Tratamento <sup>1</sup>							P-Contraste <sup>3</sup>				
	CON	NH	NB6	NB9	NB12	NB15	EPM <sup>2</sup>	C1	C2	C3	L	Q
MS <sup>4</sup> , g/kg MN <sup>5</sup>	185	199	185	186	184	184	1,1	<0,001	0,902	<0,001	0,371	0,583
Cinzas, g/kg MS	129	130	135	131	131	125	1,8	0,939	0,602	0,670	0,003	0,616
Carboidratos solúveis, g/kg MS	16,9	20,6	16,7	16,0	18,0	20,6	0,90	0,008	0,352	0,010	0,003	0,080
FDN <sup>6</sup> , g/kg MS	678	633	659	659	666	669	7,6	<0,001	0,109	0,002	0,310	0,819
FDA <sup>7</sup> , g/kg MS	419	392	417	412	418	415	4,6	<0,001	0,468	<0,001	0,898	0,811
Proteína bruta, g/kg MS	103	142	98,1	97,8	97,1	97,3	0,90	<0,001	<0,001	<0,001	0,469	0,759
Fracionamento de N, g/kg N												
A1	436	265	449	446	364	338	8,7	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	0,182
A2	131	294	107	113	166	192	10,4	<0,001	0,279	<0,001	<0,001	0,309
B1	294	345	296	298	330	325	7,4	<0,001	0,046	<0,001	0,002	0,630
B2	67,7	64,0	80,6	75,7	71,3	80,3	4,6	0,575	0,085	0,020	0,800	0,147
C	70,5	31,1	68,3	68,3	68,8	64,5	3,2	<0,001	0,416	<0,001	0,463	0,518
PDR <sup>8</sup> , g/kg PB	805	802	801	802	791	788	2,8	0,455	0,005	0,038	<0,001	0,566
PNDR <sup>9</sup> , g/kg PB	195	199	199	198	209	212	2,8	0,455	0,005	0,038	<0,001	0,566
DIVMS <sup>10</sup> , g/kg MS	504	630	503	525	546	566	10,5	<0,001	0,016	<0,001	<0,001	0,923
Recuperação de MS digestível, g/kg	683	889	684	716	743	773	14,6	<0,001	0,011	<0,001	<0,001	0,946

<sup>1</sup> CON: controle, sem adição de aditivo; NH: nitrito de sódio 0,3 g/kg + hexamina 0,2 g/kg; NB6: nitrito de sódio 0,9 g/kg + benzoato de sódio 0,6 g/kg; NB9: nitrito de sódio 0,9 g/kg + benzoato de sódio 0,9 g/kg; NB12: nitrito de sódio 0,9 g/kg + benzoato de sódio 1,2 g/kg; NB15: nitrito de sódio 0,9 g/kg + benzoato de sódio 1,5 g/kg;

<sup>2</sup> Erro padrão da média;

<sup>3</sup> C1: controle vs. NH; C2: controle vs. NB; C3: NH vs. NB; L: efeito linear de dose de benzoato de sódio; Q: efeito quadrático de dose de benzoato de sódio;

<sup>4</sup> Matéria seca;

<sup>5</sup> Matéria natural;

<sup>6</sup> Fibra em detergente neutro;

<sup>7</sup> Fibra em detergente ácido;

<sup>8</sup> Proteína degradável no rúmen;

<sup>9</sup> Proteína não degradável no rúmen;

<sup>10</sup> Digestibilidade *in vitro* da matéria seca;

## VII CONSIDERAÇÕES GERAIS

As gramíneas tropicais têm se destacado como fonte de volumoso **complementar** nas operações de produção de corte e leite pela adaptação a diferentes condições climáticas e de manejo agrônomo, e à adoção nos sistemas de integração lavoura-pecuária. Estes resultados indicam grande variação na qualidade nutricional e baixa qualidade fermentativa das silagens de capins tropicais produzidas atualmente nos sistemas pecuários no Brasil central, muitas vezes induzidas por práticas inadequadas de manejo.

Para modificação positiva deste cenário, faz-se necessário o desenvolvimento, a transferência e a adoção de técnicas capazes de suportar a obtenção de silagens de capins tropicais de alta qualidade.

Neste estudo verificou-se que:

1. Foi possível produzir silagens com maior **valor nutricional** quando:
  - o capim foi colhido precocemente, resultando em menor teor de FDN<sub>i</sub> e maior digestibilidade de FDN e MS;
  - a cultura foi nutrida com maiores doses de fertilizantes.
2. Silagens **livres de fermentação butírica** e com **menores perdas fermentativas** foram obtidas quando:
  - o teor de MS da silagem era superior a 370 g/kg MS;
  - o teor de MS da forragem foi incrementado via emurchecimento;
  - aditivos químicos, à base de nitrito de sódio, foram aplicados em dose adequada;
  - emurchecimento e aditivos químicos foram associados;
  - a forragem foi bem processada, resultando em silagens com menores proporções de partículas com >19 mm.

Pesquisas futuras devem avaliar se a adoção conjunta de emurchecimento e inoculantes microbianos pode contribuir para melhoria do processo de conservação de silagens de capins tropicais.

As recomendações geradas nos estudos em nível de conservação deverão ser testadas em experimentos com animais.