

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EFEITO DE EMURCHECIMENTO E ADITIVO À BASE DE
NITRITO DE SÓDIO E HEXAMINA NA CONSERVAÇÃO
DA SILAGEM DE CAPIM-MOMBAÇA

Autora: Pâmela de Jesus de Roco
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

MARINGÁ – PR
Março – 2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EFEITO DE EMURCHECIMENTO E ADITIVO À BASE DE
NITRITO DE SÓDIO E HEXAMINA NA CONSERVAÇÃO
DA SILAGEM DE CAPIM-MOMBAÇA

Autora: Pâmela de Jesus de Roco
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

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

Maringá – PR
Março – 2025

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

R684e

Roco, Pâmela de Jesus de

Efeito de emurhecimento e aditivo à base de nitrito de sódio e hexamina na conservação da silagem de capim-mombaça / Pâmela de Jesus de Roco. -- Maringá, PR, 2025.

xiv, 44 f. : il., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2025.

CDD 23.ed. 633.2



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EFEITO DE EMURCHECIMENTO E ADITIVO A BASE
DE NITRITO DE SÓDIO E HEXAMINA NA CONSERVAÇÃO
DA SILAGEM DE CAPIM-MOMBAÇA

Autora: Pâmela de Jesus de Roco
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 25 de abril de 2025.

Prof. Dr. Edson Mauro Santos

Prof. Dr. Carlos Henrique
Silveira Rabelo

Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel
Orientador

“Portanto, não percam a coragem, pois ela traz uma grande recompensa.”

Hebreus 10:35

Aos meus pais e ao meu irmão, que me deram a base para que eu pudesse me tornar o que sou hoje, e aos meus verdadeiros amigos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por proporcionar perseverança, saúde e força durante toda a minha vida.

À Universidade Estadual de Maringá e o Programa de Pós-Graduação.

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

Ao meu orientador Dr. João Luiz Pratti Daniel, pelo incentivo e pela dedicação de seu tempo ao meu projeto de pesquisa, e por todo apoio e paciência.

A todos do grupo de Estudos em Silagem e Feno (GESF), em especial, à Ariane Freitas, Janaina Bragatto, Nailah Grunndemann e Emily Saalfeld, por todo carinho, amizade e ajuda prestada, vocês foram essenciais nessa caminhada, muito obrigada.

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

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI).

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

Aos meus pais Adelson de Roco e Suzana de Jesus de Roco, por todo o esforço investido na minha educação, que me deram a base para que eu pudesse me tornar o que sou hoje, pois sem eles, nada seria possível.

Agradeço ao meu irmão Rodrigo de Jesus de Roco, por todo apoio.

Aos meus avós Castorino Moraes Machado, Leonor da Luz Machado e Sueli Cardin de Roco, por sempre me incentivarem.

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

PÂMELA DE JESUS DE ROCO, filha de Suzana de Jesus de Roco e Adelson de Roco, nasceu em Atalaia, Paraná, no dia 8 de outubro de 1999. Em março de 2018, iniciou no curso de graduação em Zootecnia, pela Universidade Estadual de Maringá. Em 2023, obteve o título de Zootecnista pela mesma instituição. Em março de 2023 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 forragens conservadas. Em março de 2025 submeteu-se à banca examinadora para defesa da dissertação.

ÍNDICE

	página
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUÇÃO.....	1
I. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
1. SILAGEM DE CAPIM TROPICAL.....	3
2. ADITIVOS QUÍMICOS PARA SILAGENS DE CAPINS TROPICAIS.....	4
2.1. <i>Nitrito de sódio</i>	4
2.2. <i>Hexamina</i>	6
2.3. <i>Combinação de nitrito de sódio e hexamina</i>	6
3. EMURCHECIMENTO.....	7
4. COMBINAÇÃO DE EMURCHECIMENTO E ADITIVOS QUÍMICOS...	8
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	9
II. Efeito de aditivo químico na conservação da silagem de capim-Mombaça com diferentes teores de matéria seca.....	13
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUÇÃO.....	15

MATERIAL E MÉTODOS.....	16
RESULTADOS.....	20
DISCUSSÃO.....	25
CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Contagens microbianas, composição química e digestibilidade do capim-Mombaça fresco ou emurchecido antes da ensilagem.....	35
Tabela 2. Contagens microbianas, perfil fermentativo e perdas fermentativas da silagem de capim-Mombaça com diferentes doses de aditivo químico.....	36
Tabela 3. Composição química e recuperação de nutrientes digestíveis na silagem de capim-Mombaça com diferentes doses de aditivo químico.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Relação entre a taxa de aplicação de aditivos ou o teor de matéria seca da cultura e a perda de MS da silagem de capim-Mombaça.....	44
---	----

RESUMO

Este estudo objetivou avaliar a interação entre o teor de matéria seca (MS) e a dose de aditivo químico à base de nitrito de sódio e hexamina no perfil de fermentação, estabilidade aeróbia e composição química da silagem de capim-Mombaça. Três teores de MS foram induzidos por emurchecimento: 20-25% (corte direto - CD), 30-35% (EM35) e 40-45% (EM45). As forragens foram ensiladas sem aditivo químico (CON), ou com adição de nitrito de sódio (0,3 g/kg MN) + hexamina (0,2 g/kg MN) (NHB), ou nitrito de sódio (0,6 g/kg MN) + hexamina (0,4 g/kg MN) (NHM) ou nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + hexamina (0,6 g/kg MN) (NHA), compondo um arranjo fatorial 3×4 . Após 60 dias de estocagem, as silagens foram amostradas para determinação de perdas fermentativas, composição química, produtos de fermentação e contagens microbianas. O efeito de dose de aditivo foi comparado por contrastes (linear e quadrático) e o efeito de teor de MS pelo teste de Tukey. Houve interação entre dose de aditivo e teor de MS para várias características da silagem. Em cada nível de MS, a aplicação do aditivo químico reduziu linearmente os níveis de ácidos n-butírico e propiônico, N-NH₃ e outros compostos associados com o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, mas a magnitude de resposta ao aditivo foi maior na silagem CD do que nas silagens emurchecidas. A perda de MS diminuiu significativamente à medida que a dose de aditivo aumentou na silagem de CD. Os teores de carboidratos solúveis, digestibilidade *in vitro* da MS e a proporção de proteína não degradável no rúmen também aumentaram quando a dose do aditivo e a teor de MS aumentaram. Em conclusão, tanto o emurchecimento quanto o uso de aditivo contendo nitrito de sódio e hexamina foram eficazes na inibição do crescimento de clostrídios e na redução das perdas de nutrientes durante a fermentação

da silagem de capim-Mombaça. Além disso, a quantidade de aditivo necessária para inibir fermentação butírica variou, conforme o teor de MS da forragem. Assumindo linearidade de resposta, a aplicação de 1 L/t do aditivo permitiu compensar aproximadamente 4,4 unidades percentuais de MS da cultura, representando uma estratégia plausível para melhorar a qualidade da silagem de capim-Mombaça.

Palavras-chave: capim tropical, clostrídios, fermentação

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the interaction between dry matter (DM) content and the dose of a chemical additive based on sodium nitrite and hexamine on the fermentation profile, aerobic stability, and chemical composition of guinea grass silage. Three DM contents were induced by wilting: 20-25% (direct cut - DC), 30-35% (W35), and 40-45% (W45). The forages were ensiled without chemical additive (CON), or with the addition of sodium nitrite (0.3 g/kg MN) + hexamine (0.2 g/kg MN) (NHL), or sodium nitrite (0.6 g/kg MN) + hexamine (0.4 g/kg MN) (NHM), or sodium nitrite (0.9 g/kg MN) + hexamine (0.6 g/kg MN) (NHH), in a 3×4 factorial arrangement. After 60 days of storage in experimental silos (7.2 L), the silages were sampled to determine the fermentation losses, chemical composition, fermentation products, and microbial counts. The additive dose effect was compared by contrasts (linear and quadratic) and the DM content effect by the Tukey test. There was an interaction between additive dose and DM content for several silage characteristics. In each DM level, the chemical additive application linearly reduced the contents of n-butyric and propionic acids, $\text{NH}_3\text{-N}$, and other compounds associated with mal fermentation, but the magnitude of response to the additive was greater in CD than in wilted silages. Dry matter loss decreased significantly as the additive dose increased in CD silage. Furthermore, the increase in DM content and additive application linearly reduced DM loss. The content of soluble carbohydrates, the *in vitro* DM digestibility, and the proportion of rumen undegradable protein increased when the additive dose and DM content were increased. In conclusion, both wilting and the additive containing sodium nitrite and hexamine were effective in inhibiting the clostridia growth and reducing nutrient losses during the fermentation of guinea grass silage. Furthermore, the amount of additive required to control butyric fermentation varied according to the

forage DM content. Assuming linearity of response, the application of each 1 L/t of the additive allowed replacing for approximately 4.4 percentage units of crop DM, as a plausible strategy to improve the quality of mombaça grass silage.

Keywords: clostridia, fermentation, tropical grass.

INTRODUÇÃO

A produção de ruminantes em regiões tropicais é um desafio devido às condições climáticas adversas. Nesse contexto, o cultivo de gramíneas tropicais é uma estratégia para otimizar a produtividade, graças à eficiente via fotossintética C₄. A utilização de gramíneas tropicais como forragem conservada (silagem e feno) surge como alternativa viável para superar as limitações impostas pela estação seca e atender à demanda por forragem na produção pecuária tropical (Da Silva *et al.*, 2019). Os fatores climáticos, como alta umidade e chuvas frequentes, associados à disponibilidade de maquinário e aos aspectos culturais, tornam a produção de feno menos comum em ambientes tropicais, consequentemente, a ensilagem é o método predominante para preservar forragem em climas quentes e úmidos (Adesogan, 2009).

A produção de silagem de capins tropicais com alta qualidade ainda é um desafio, pois no estágio de crescimento em que apresentam bom valor nutritivo, elas apresentam baixo teor de MS, alto poder tampão e baixa concentração de carboidratos solúveis (Gomes *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2023; Carvalho *et al.*, 2024). A interação desses fatores dificulta o rápido declínio do pH e promove condições propícias para o crescimento de clostrídios (i.e., fermentação butírica) resultando em perda significativa de nutrientes e comprometendo a qualidade higiênica da silagem (McDonald *et al.*, 1991), a presença de clostrídios na silagem compromete a qualidade higiênica, devido à produção de compostos indesejáveis como aminas biogênicas, e risco de contaminação para animais e produtos de origem animal (Borreani *et al.*, 2019; Pahlow *et al.*, 2003). Portanto, é essencial empregar técnicas específicas para inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis e melhorar o perfil fermentativo de silagens de capim tropical.

As estratégias atualmente adotadas no Brasil para melhorar a fermentação de silagens de gramíneas tropicais apresentam resultados variáveis, tais como a utilização isolada de inoculantes bacterianos ou baixas doses de absorventes de umidade na ensilagem após corte direto. Aditivos químicos são frequentemente utilizados na produção de silagem de gramíneas temperadas para melhorar a qualidade e estabilidade. O ácido fórmico foi muito utilizado, e embora seja eficaz, devido aos riscos à saúde e à corrosividade, ele perdeu popularidade (Auerbach e Nadeau, 2019). Na década de 1980, a Alemanha Oriental introduziu uma solução alternativa ao ácido fórmico, baseada em uma combinação de nitrito de sódio e hexametilenotetramina (hexamina). Esta combinação de nitrito e hexamina é eficaz na inibição de bactérias indesejáveis, como os clostrídios, durante as etapas iniciais da fermentação o nitrito e seus produtos de decomposição inibem o crescimento dessas bactérias, gerando substâncias oxidantes que danificam proteínas, lipídios e DNA. Nos clostrídios, isso compromete a produção de ATP, essencial para a sobrevivência, inibindo enzimas importantes (Carpenter *et al.*, 1987; Majou e Christeans, 2018), enquanto a hexamina libera formaldeído em pH baixo, o formaldeído prejudica as enzimas e proteínas dos microrganismos reforçando essa inibição nas fases posteriores da estocagem (Auerbach e Nadeau, 2019).

O emurchecimento da forragem a campo também é uma estratégia viável para melhorar o processo de fermentação, pois aumenta o coeficiente de fermentabilidade via aumento do teor de MS, reduzindo a produção de efluentes e as perdas de nutrientes. Além disso, essa prática inibe 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). No entanto, a interação entre o teor de umidade da forrageira e a quantidade de aditivos químicos ainda é desconhecida e não está bem estabelecida em silagens de capins tropicais, e será motivo de exploração nesta dissertação de mestrado.

I. REVISÃO DE LITERATURA

1. SILAGEM DE CAPIM TROPICAL

As secas têm se tornado mais longas e frequentes a cada ano, o que tem levado os agricultores a repensarem as estratégias de cultivo, priorizando culturas mais tolerantes à seca, pragas e doenças. (Carvalho *et al.*, 2024). Portanto, capins tropicais têm sido cultivados como uma forragem complementar a silagem de milho.

Os capins de clima tropical, dentre eles o capim-Mombaça, possuem grande potencial para produção de silagem, devido ao seu alto rendimento (e.g. 20-30 t MS/ha) (Daniel, *et al.*, 2019). No entanto capins tropicais são considerados difíceis de ensilar, pois no estágios de crescimento que apresentam bom valor nutritivo, eles apresentam baixo teor de MS (<300 g/kg de matéria fresca), alto poder tampão (>40 g de ácido láctico/Kg MS) e baixa concentração de carboidratos solúveis (<40 g/kg MS) (Gomes *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2023; Carvalho *et al.*, 2024), que em conjunto favorece as perdas durante o processo de ensilagem e aumentam o risco de desenvolvimento de microrganismos indesejáveis (e.g. bactérias do gênero *Clostridium*) (Weissbach *et al.*, 1974). A atividade de microrganismos indesejáveis pode levar a perdas significativas de matéria seca (MS), além de intensa proteólise, resultando em altas concentrações de nitrogênio amoniacal e formação de aminas biogênicas (Auerbach *et al.*, 2016), piorando também, a qualidade higiênica das silagens (McDonald *et al.*, 1991). As perdas ao longo do processo de ensilagem reduzem a eficiência da transformação do potencial produtivo da planta em silagem de boa qualidade, podendo afetar negativamente a nutrição e o desempenho dos animais.

A produção de silagem de capim tropical que possui alto valor nutritivo, precisa de estratégias que melhorem a fermentação, principalmente aquelas que inibem o desenvolvimento dos microrganismos indesejáveis. O emurchecimento ou aplicação de aditivos químicos geralmente são necessários para reduzir o risco de fermentação butírica e efluentes (Nussio, 2005). Os aditivos químicos são classificados com base na capacidade de inibir microrganismos específicos, visando melhorar a eficiência da fermentação ou aumentar a estabilidade aeróbia (Auerbach e Nadeau, 2019)

2. ADITIVOS QUÍMICOS PARA SILAGENS DE CAPINS TROPICAIS

Os aditivos na ensilagem são utilizados como ferramenta de manejo para controlar a atividade microbiana indesejada, ajudando a reduzir as perdas de matéria seca, mantendo o valor nutricional da forragem durante o processo.

Os aditivos químicos na ensilagem de capim são ferramenta valiosa para melhorar a qualidade da silagem, atuando em diversas áreas, como fermentação, controle microbiano, redução de perdas nutricionais e aumento da palatabilidade. Para garantir a eficácia desses aditivos, é fundamental considerar as características específicas da silagem e os objetivos de manejo, além de contar com o apoio de profissionais técnicos especializados. Existem diversos produtos químicos disponíveis para uso como aditivos em silagens, eles são compostos por ácidos e/ou sais. Esses produtos são classificados de acordo com o efeito, em quatro categorias principais: estimulantes de fermentação, inibidores de fermentação, inibidores de deterioração aeróbica e nutrientes/absorventes (McDonald *et al.*, 1991; Kung *et al.*, 2003).

Na década de 1980, a Alemanha Oriental introduziu uma solução alternativa ao ácido fórmico, baseada em nitrito de sódio e hexametenotetramina (hexamina) (Auerbach e Nadeau, 2019). Alguns Estudos demonstraram que aditivos à base de nitrito em combinação com a hexamina apresentam superioridade sobre produtos à base de ácido fórmico na redução de contaminação por clostrídios e formação de ácido butírico (König *et al.*, 2017)

2.1. Nitrito de sódio

O nitrito de sódio (NaNO_2) é um agente antimicrobiano eficaz, exercendo atividade bacteriostática e bactericida, especialmente em ambientes ácidos (Woolford, 1975).

A ação antimicrobiana do nitrito (NO_2^-) é principalmente atribuída à geração de óxido nítrico (NO) e outros compostos reativos de nitrogênio, como: Óxido nítrico (NO): inibe enzimas essenciais e danifica DNA, peroxinitrito (ONOO^-): oxidante potente que danifica proteínas e lipídios e ácido peroxinitroso (HOONO): forma ácida do peroxinitrito. Esses compostos oxidam moléculas essenciais, como zinco, tióis proteicos e lipídios de membrana, interferindo na síntese de proteínas ferro-enxofre e danificando o DNA. Nos clostrídios, o óxido nítrico compromete o sistema fosforoclástico, fundamental para a produção de ATP, ao inibir enzimas ferro-enxofre como ferredoxina e piruvate-ferredoxina oxidoredutase. (Carpenter *et al*, 1987; Majou e Christieans, 2018). Em condições de acidez fraca, no início da fermentação, o nitrito é convertido em óxidos nítricos (NO e NO_2^-) por hidrólise, exercendo efeito bacteriostático sobre os clostrídios (Lück, 1985). Desta forma, os esporos de clostrídios são destruídos, evitando a formação de ácido butírico (Reuter e Weissbach, 1989).

De acordo com o estudo de Gomes *et al.* (2021), mostrou que a adição do aditivo nitrito de sódio e hexamina ao capim-Mombaça resultou em redução significativa do crescimento de clostrídios, diminuição da concentração de N-NH_3 , redução da produção de ácido butírico, menores perdas de matéria seca e gases, melhoria na qualidade da proteína e aumento da digestibilidade *in vitro* da matéria seca, indicando que o aditivo foi eficaz em melhorar a qualidade da silagem de capim-Mombaça. Moraes *et al.* (2023) avaliou o impacto de diferentes maturidades do capim-Mombaça (5 e 10 semanas) e doses de aditivo químico (nitrito de sódio + hexamina) na qualidade da silagem. Os resultados mostraram que o aditivo reduziu o pH e os produtos da fermentação indesejáveis em ambos os estágios de maturidade, a aplicação do aditivo diminuiu a perda de matéria seca e aumentou a concentração de carboidratos solúveis e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca, a dose mais alta do aditivo foi mais eficaz em restringir o desenvolvimento de *Clostridium* e reduzir perdas de matéria seca e a colheita de capins mais maduros (10 semanas) comprometeu a composição química e digestibilidade da silagem.

Os autores concluíram que a aplicação de nitrito de sódio e hexamina em dose regular é eficaz em melhorar a qualidade da silagem de capim-Mombaça em ambos os estágios de maturação.

2.2.Hexamina

A hexametilenotetramina (hexamina) exerce atividade bacteriostática e, em pH ácido, sofre decomposição química em amônia e formaldeído (Restani *et al.*, 1992).

A hexamina exerce sua atividade antimicrobiana mediante a liberação de formaldeído, que ocorre à medida que o pH da silagem diminui durante a fermentação (Weissbach, 1989). O formaldeído reage com as proteínas e resulta em modificação química que inibe o crescimento microbiano, portanto a liberação de formaldeído da hexamina resulta na erradicação dos clostrídios (Auerbach e Nadeau 2012). É relevante observar que o formaldeído não é seletivo e pode ter sua eficácia reduzida em plantas com alto teor de proteínas.

2.3.Combinação de nitrito de sódio e hexamina

A eficácia da hexamina na inibição de bactérias indesejáveis é mais significativa durante o período posterior da fermentação, destacando a necessidade de combinação com um agente suplementar para controle microbiano no início do processo e o nitrito de sódio demonstrou ser um agente eficaz para essa finalidade (Weissbach, 1989), pois o nitrito atua nas fases iniciais do processo fermentativo. A associação de nitrito de sódio e hexamina visa otimizar a qualidade da silagem, superando os resultados obtidos com o uso exclusivo do nitrito de sódio (Hellberg, 1967; Weissbach, 2010; Auerbach e Nadeau, 2019). A combinação de nitrito de sódio e hexamina apresenta um potencial significativo para melhorar o padrão de fermentação, reduzindo a produção de ácido butírico e proteólise, e resultando em silagens com características higiênicas e valor nutricional desejáveis (Weissbach e Auerbach, 2012).

Estudos realizados por Weissbach *et al.* (1989) e Reuter e Weissbach (1991) em 143 ensaios conduzidos entre 1984 e 1989 mostraram que a combinação de nitrito de sódio e hexamina em concentrações específicas foi equivalente ao uso de ácido fórmico em reduzir a carga de esporos de clostrídios e controlar a atividade metabólica dos clostrídios durante a fermentação. Outros estudos sugerem que a combinação de hexamina e nitrito de sódio tem efeito sinérgico positivo na fermentação, reduzindo perdas de matéria seca e contaminação por clostrídios, além de minimizar resíduos na silagem e transferência para o leite (Hellberg, 1967; Weissbach, 2010; Auerbach e Nadeau, 2019).

3. EMURCHECIMENTO

Durante a ensilagem, é essencial inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis, como enterobactérias, clostrídios, bacillus e leveduras, para evitar que compitam com as bactérias lácticas por substrato, garantindo uma fermentação eficaz e uma silagem de alta qualidade (McDonald *et al.*, 1991).

A remoção parcial de água das plantas, através do emurchecimento ou pré-secagem, é uma estratégia promissora, pois cria condições favoráveis para o crescimento de bactérias lácticas. A fermentação láctica é a chave para inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis, portanto, uma alternativa viável é o emurchecimento prévio à ensilagem, que reduz o teor de umidade da forragem e ajuda a controlar o crescimento de bactérias indesejáveis (McDonald *et al.*, 1991). O emurchecimento intensivo pode diminuir a acidificação, mas é especialmente eficaz na restrição do crescimento de clostrídios proteolíticos, em comparação com microrganismos não proteolíticos. Assim, o emurchecimento é essencial para garantir uma ensilagem de alta qualidade, com máxima recuperação de matéria seca (Nussio, 2005).

O processo de emurchecimento da forragem é influenciado por fatores como espécie, maturidade e razão folha/colmo (Moser, 1995). A secagem da forragem ocorre em três fases. Fase inicial: perda rápida de água (até 700-800 g/kg) através dos estômatos, fase intermediária: evaporação lenta da água através da cutícula, influenciada pela estrutura da folha e condições ambientais e fase final: remoção difícil da água restante, com a forragem tornando-se mais suscetível a danos ambientais (McDonald e Clark, 1987). As condições ambientais naturais também desempenham papel crucial no controle da taxa de perda de umidade, especialmente em relação a fatores climáticos como radiação solar, déficit de pressão de vapor, velocidade do vento e precipitação (McDonald *et al.*, 1991). A radiação solar é o fator mais importante que influencia o processo de secagem da forragem. A taxa de secagem está fortemente correlacionada com os níveis de radiação solar e pode aumentar até 10 vezes entre os níveis mínimos e máximos de radiação solar. A ausência de luz solar também pode retardar a secagem pelas temperaturas mais baixas e umidade relativa mais alta (Rotz e Chen, 1985).

De acordo com Moser (1995), a respiração é o processo metabólico mais importante nas plantas após o corte. Além disso, os CS são a principal fonte de energia utilizada pelas plantas durante o período de exposição ao campo, como destacado por Parkes e Greig

(1974). A respiração e a perda de CS são processos naturais, mas podem ser reduzidos com práticas de manejo eficazes e condições climáticas favoráveis durante o emurchecimento (Moser 1995). O estudo de Nishino *et al.* (2011) avaliou a silagem de capim-Mombaça emurchecida no campo por 6 horas. Os resultados mostraram: aumento no teor de MS de 145 para 229 g/kg MS, concentração de carboidratos solúveis (CS) não foi significativamente alterada. Após 56 dias de armazenamento, a silagem emurchecida apresentou maior teor de ácido láctico e maior contagem de bactérias ácido lácticas (BAL), menores concentrações de amônia, ácido butírico, etanol e menor contagem de leveduras e enterobactérias. As BAL desempenham papel crucial na fermentação das silagens, pois são os principais microrganismos responsáveis pela produção de ácido láctico, que é o produto principal da fermentação dos CS, conforme destacado por Pahlow *et al.* (2003). O estudo concluiu que o emurchecimento leve aumentou a produção de ácido láctico e reduziu a produção de ácido butírico, influenciando positivamente o processo fermentativo.

4. COMBINAÇÃO DE EMURCHECIMENTO E ADITIVOS QUÍMICOS

A fermentação de silagem é um processo complexo que depende da disponibilidade de substratos para as bactérias produtoras de ácido láctico e da relação entre CS e capacidade tampão CT da forragem, além do mais a sensibilidade dos clostrídios ao ácido aumenta quando a atividade de água em seu ambiente diminui (Weissbach e Auerbach, 2012). Para evitar a má fermentação, é importante considerar a relação CS:CT e o teor de MS da forragem. Plantas com CF abaixo de 35 são consideradas desafiadoras para ensilar, enquanto aquelas com CF acima de 45 são consideradas fáceis de ensilar (Weissbach e Auerbach, 2012). No entanto, atingir um teor mínimo de MS não é suficiente para prevenir a fermentação do ácido butírico. Além disso, a cultura a ser ensilada deve conter níveis adequados de nitrato, (Weissbach e Honig, 1996). Por outro lado, quando a forragem é submetida a um alto grau de emurchecimento, isso geralmente leva a maiores perdas no campo, devido ao tempo prolongado necessário para o emurchecimento e a necessidade de espalhamento (Weissbach, 2010).

O uso de aditivos de silagem pode ser uma estratégia eficaz para garantir uma fermentação de alta qualidade. Aditivos químicos para silagens, como ácidos orgânicos, sais e conservantes neutros (incluindo nitrito de sódio e hexamina), devem ter efeito

equivalente ao aumento de pelo menos 10% no teor de MS da cultura (Reuter e Weissbach, 1989). A dose de aditivo pode ser ajustada de acordo com as condições específicas da cultura, especialmente o teor de MS, isso torna o processo mais eficiente do ponto de vista econômico e menos dependente das condições climáticas (Weissbach, 1996). É importante respeitar a data ideal de colheita da forragem para evitar perdas significativas de qualidade. O emurchecimento prolongado no campo pode levar a perdas por respiração, perda de nutrientes, redução do teor de MS e perda física (Weissbach, 2010).

A combinação de emurchecimento e aditivos químicos pode ser uma solução eficiente para otimizar a qualidade da silagem, promovendo fermentações mais seguras e melhorando o valor nutricional. No entanto, ainda é necessário investigar mais sobre as doses ideais, assim como os efeitos sobre a fermentação e composição química da silagem, além disso nota-se que a maioria dos estudos sobre aditivos químicos concentram-se em forragens de clima temperado, destacando a necessidade de pesquisas que avaliem o uso desses aditivos em forragens tropicais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- 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.
- 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., Weiss, K., Nadeau, E., 2012. Benefits of using silage additives. In Proceedings 1st International Silage Summit, Leipzig, Saxony, Germany, pp. 75–144.
- Borreani, G., Tabacco, E., Schmidt, R.J., Holmes, B.J., Muck, R.E., 2018. Silage review: Factors affecting dry matter loss and quality in silages. *J. Dairy Sci.* 101, 3952–3979.
- 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.
- 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, 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.*
- Da Silva, T. C., Dos Santos, R. I. R., Santos, E. M., Rodrigues, J. P. P., Santos, E. M. Do Rego, A. C. 2019. Challenges and perspectives of tropical grasses silages. In Proc. VI International Symposium on Forage Quality and Conservation, pp. 247-270.
- 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.
- 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.
- 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.
- König, B., Hahn, L., Gruber, L., Jilg, T., Mayrhuber, E., Schüßler, M., Knaus, W., 2016. Influence of protein content and buffering capacity on clostridia in silages. *Grassland Science* 62, 165–174.
- Kung Jr., L., Stokes, M. R., Lin, C. J. 2003. Silage additives. In D. R. Buxton (Ed.), *Silage Science and Technology*, pp. 305–360.
- Lück, E., 1985. *Chemische Lebensmittelkonservierung*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg NewYork Tokyo. 2nd edition, 123–133.

- 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.
- McDonald, P. J., Henderson, A. R., Heron, S. J. E., 1991. *The biochemistry of silage*, 2.ed., Chalcombe Publications, Mallow, pp. 340.
- 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.
- Nussio, L. G., 2005. Silage production from tropical forages. In R. S. Park & M. D. Stronge (Eds.), *Proceedings of the XIV International Silage Conference*, Belfast, UK, pp. 97–107.
- 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.
- Restani, P., Restelli, AR, Galli, CL, 1992. Formaldeído e hexametilenotetramina como aditivos alimentares: interações químicas e toxicologia. *Adição Alimentar. Contam.* pp. 597–605.
- Reuter, B., Weissbach, F., 1991. Results of testing chemical preservatives. *Landbauforschung Völklenrode, Sonderheft.* 123, 338–341.
- 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.
- Rotz, C. A., Chen, Y., 1985. Alfalfa drying model for the field environment. *Transactions of the ASAE. Am. Soc. Agric. Eng.* 28, 1687–1672.

- 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., 2010. Report on the development of silage additives containing nitrite and hexamine. Elmenhorst, Rostock, Germany, pp. 18.
- 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.
- Weissbach, F., Honig, E., 1996. Über die Vorhersage und Steuerung des Gärungsverlaufs bei der Silierung von Grünfutter aus extensivem Anbau [Predicting and controlling the course of fermentation of extensively grown grasses]. *Landbauforschung Völkenrode*. 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.
- 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.

Efeito de emurchecimento e aditivo a base de nitrito de sódio e hexamina na conservação da silagem de capim-Mombaça

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

RESUMO: Este estudo avaliou a interação entre o teor de matéria seca (MS) e doses de aditivo químico à base de nitrito de sódio e hexamina no perfil de fermentação, estabilidade aeróbia e composição química da silagem de capim-Mombaça. Três teores de MS foram induzidos por emurchecimento: 20–25% (corte direto – CD), 30–35% (EM35) e 40–45% (EM45). As forragens foram ensiladas sem aditivo (CON) ou com 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) ou nitrito de sódio (0,9 g/kg MN) + hexamina (0,6 g/kg MN) (NHA). Após 60 dias, foram avaliadas perdas fermentativas, composição química, produtos da fermentação e contagens microbianas. Em cada nível de MS a aplicação do aditivo químico reduziu linearmente os níveis de ácido n-butírico e propiônico, N-NH₃ e outros compostos associados com desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, mas a magnitude de resposta ao aditivo foi maior nas silagens CD. A perda de MS diminuiu com o aumento da dose de aditivo na silagem CD, enquanto carboidratos solúveis, digestibilidade *in vitro* e proteína não degradável no rúmen aumentaram com o emurchecimento e adição do aditivo. Conclui-se que o emurchecimento e o uso do aditivo contendo nitrito de sódio e hexamina foram eficazes na inibição de clostrídios e preservação de nutrientes. A dose necessária para inibir a fermentação butírica variou com o teor de MS. A aplicação de 1 L/t do aditivo compensa 4,4 pontos percentuais de MS.

Palavras-chave: aditivo químico, capim tropical, clostrídios, fermentação

Effect of wilting and sodium nitrite and hexamine-based additive on guinea grass silage conservation

ABSTRACT: This study evaluated the interaction between dry matter (DM) content and doses of a chemical additive based on sodium nitrite and hexamine on fermentation profile, aerobic stability, and chemical composition of guinea grass silage. Three DM levels were induced by wilting: 20–25% (direct cut – DC), 30–35% (W35), and 40–45% (W45). The forages were ensiled without additive (CON) or with sodium nitrite (0.3 g/kg FM) + hexamine (0.2 g/kg FM) (NHL), sodium nitrite (0.6 g/kg MN) + hexamine (0.4 g/kg MN) (NHM), or sodium nitrite (0.9 g/kg MN) + hexamine (0.6 g/kg MN) (NHH). After 60 days, the fermentative losses, chemical composition, fermentation products, and microbial counts were evaluated. At each DM level, the chemical additive application linearly reduced n-butyric and propionic acid levels, $\text{NH}_3\text{-N}$, and other compounds associated with the development of undesirable microorganisms, with the greatest response magnitude observed in DC silages. DM loss decreased with increasing additive dose in DC silage, while soluble carbohydrates, digestibility in vitro, and rumen undegradable protein increased with wilting and additive addition. It was concluded that wilting and the additive containing sodium nitrite and hexamine were effective in inhibiting clostridia and preserving nutrients. The dose required to inhibit butyric fermentation varied with DM content. The application of 1 L/t of the additive offsets 4.4 percentage points of DM.

Keywords: chemical additive, tropical grass, clostridia, fermentation

INTRODUÇÃO

As condições climáticas irregulares têm levado os agricultores a repensarem suas estratégias de cultivo, priorizando culturas mais tolerantes à seca, pragas e doenças. Além disso, a inserção de gramíneas em sistemas de integração lavoura pecuária também tem contribuído para a retomada do cultivo de capins e a conservação na forma de silagem, muitas vezes de forma complementar às culturas anuais tradicionais como a silagem de milho (Daniel et al., 2019).

Os capins tropicais são culturas com bom potencial de produtividade de MS (20-30 t MS/ha), alto vigor de rebrota e alta adaptabilidade a diferentes condições de clima e solo (Siqueira e Bernardes, 2013). No entanto gramíneas tropicais são consideradas difíceis de ensilar, pois no estágios de crescimento em que apresentam bom valor nutritivo, elas apresentam baixo teor de MS (<300 g/kg de matéria fresca), alto poder tampão (>40 g de ácido láctico/kg MS) e baixa concentração de carboidratos solúveis (<40 g/kg MS) (Gomes et al., 2021; Moraes et al., 2023; Carvalho et al., 2024), isso contribui para perdas significativas durante a ensilagem e aumenta o risco de proliferação de microrganismos indesejáveis, como bactérias do gênero *Clostridium*.

Visando minimizar perdas durante a ensilagem, diversos produtos podem ser empregados como aditivos, dentre eles os compostos químicos (Kung Jr. et al., 2003). O ácido fórmico foi muito utilizado, embora seja eficaz, devido aos riscos à saúde e à corrosividade, o ácido fórmico perdeu popularidade (Auerbach e Nadeau, 2019). Na década de 1980, a Alemanha Oriental introduziu uma solução alternativa ao ácido fórmico, baseada em uma combinação de nitrito de sódio e hexametenotetramina (hexamina) (Auerbach e Nadeau, 2019). O nitrito de sódio é um agente antimicrobiano eficaz, exercendo atividade no início da fermentação, já a hexamina exerce ação nas fases posteriores quando o ambiente está mais ácido (Auerbach e Nadeau, 2019). Em um estudo recente, Gomes (2021) demonstrou que a aplicação da combinação de nitrito de sódio e hexamina foram eficientes para inibir o desenvolvimento de clostrídios e aumentar a recuperação de nutrientes em silagens de capim-Mombaça.

Além da utilização de aditivos, a desidratação da forragem no campo melhora a qualidade da silagem, minimizando efluentes, perdas de nutrientes e crescimento de microrganismos indesejáveis, melhorando a qualidade higiênica da silagem (McDonald et al., 1991). A relação entre o teor de umidade das gramíneas tropicais e a quantidade

ótima de aditivos químicos ainda não está bem estabelecida. A hipótese é que a dose ótima de aditivo químico variará de acordo com o teor de MS do capim-Mombaça. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar o efeito da dose de um aditivo químico contendo nitrito de sódio e hexamina em diferentes teores de MS do capim-Mombaça sobre a conservação e a composição química da silagem.

MATERIAL E MÉTODOS

Local

O experimento foi realizado no período de 14 de dezembro de 2023 na Fazenda Experimental de Iguatemi localizada a 23° 20' 48" Sul e 52° 04' 17" Oeste, com altitude aproximada de 550 m, município de Maringá, região noroeste de Estado do Paraná. O clima na região é classificado como subtropical úmido com verões quentes (cfa segundo classificação climática de Köppen-Geiger; Alvares *et al.*, 2013), com precipitação média anual de 1.675 mm, sendo os maiores volumes de outubro a março, em que a média mensal histórica de 1980 a 2023 para esses meses é de aproximadamente 180 mm (IAT, 2023). A temperatura média ambiental estava a cerca de 27,9°C, com mínima de 21,9°C e máxima de 33,7°C. A umidade relativa do ar apresentou média de 66,5%, variando entre 82% e 49%. O solo no local de pesquisa em que o capim-Mombaça cresceu é latossolo vermelho distroférrico bem drenado (SiBCS, 2018), ou Latossolo (United State Taxonomy; Soil Survey Staff, 2014), com textura média (55% areia, 20% silte e 25% argila). Em 28 de novembro de 2023, foi feita a adubação com um fertilizante que continha 10% de nitrogênio, 15% de fósforo e 15% de potássio, na dose de 250 kg/ha.

Ensilagem

O capim-Mombaça [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & S.W.L. Jacobs (Syn. *Panicum maximum* Jacq.) cv. Mombaça] foi cortado após 60 d do período de rebrota, a 15 cm do solo. Uma fração da forragem foi colhida, picada e ensilada (corte direto), enquanto uma outra fração foi emurchecida a campo até atingir teor de matéria seca entre 30 e 35% após 5 horas e entre 40 e 45% após 8 horas de exposição, antes da ensilagem. O monitoramento da perda de água durante o murchamento foi feito através de teste em forno micro-ondas (Electrolux, modelo MRAS21, 127 V, Curitiba, Brasil), conforme descrito por Silva e Queiroz (2002). Antes de serem ensiladas, tanto a forragem colhida diretamente quanto a forragem emurchecida foram processadas por um picador

de forragem estacionário (Nogueira EN-9F3B, São João da Boa Vista, SP - Brasil), e dividida em 48 montes (5 kg de MN por monte), para receber um dos quatros tratamentos com aditivos (4 montes por tratamento). Os tratamentos foram: controle (CON; sem adição de aditivo químico), 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 alta (NHA). Os aditivos foram diluídos em água para aplicação (10 mL/kg MN) e aplicados com pulverizadores manuais de forma isolada para cada tratamento. O tratamento controle também recebeu o mesmo volume de água destilada (10 mL/kg MN). Em seguida, aproximadamente 4,5 kg da forragem foi alocada manualmente em balde plástico 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 experimentais foram pesados e armazenados em galpão coberto em temperatura ambiente.

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, amostras de silagem foram coletadas para determinação da contagem microbiana, pH, composição química, produtos de fermentação.

Teste de estabilidade aeróbia

Amostras de silagens (2,5 kg MN) derivada de cada minissilo foram transferidas para baldes plásticos de 11 L com um sensor de temperatura (data logger) inserido no centro da massa de silagem para aferir a temperatura a cada 15 min. Na sequência, os baldes foram cobertos com papel alumínio perfurado para reduzir a desidratação e evitar a entrada de sujeira. A estabilidade aeróbia teve duração de 10 dias em sala com temperatura controlada ($25 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$). A deterioração aeróbia foi indicada em dias até a temperatura da silagem atingir 2°C acima da temperatura ambiente. Os acúmulos de temperatura durante 5, 7 e 10 dias foram somados e usados como indicadores de deterioração aeróbia (O'Kiely, 1993). Diariamente, o pH da silagem foi registrado por meio de 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).

Análises laboratoriais e microbiológicas

As contagens microbianas (bactérias lácticas, fungos filamentosos, leveduras e clostrídios) foram determinadas por plaqueamento de extrato aquoso diluído em série (10^1 a 10^{-6}) em água peptonada 0,1% em meio seletivo (pour-plating). As BAL foram cultivadas em ágar Man, Rogosa e Sharpe (7543A, Acumedia, Lansing, Michigan, EUA) com adição de nistatina (400.000 UI/L) e incubadas a 30°C por 48 horas em condições aeróbicas. Após pasteurização (80°C por 13 min), os esporos de *Clostridium* foram enumerados em ágar RCM (M154, Himedia, Mumbai, Índia) suplementado com vermelho neutro e D-cicloserina, (Jonsson, 1990), e incubados em jaras de anaerobiose a 37°C por 5 dias. Leveduras e fungos filamentosos foram enumerados em ágar extrato de malte (M137, Himedia, Mumbai, Índia) acidificado a pH 3,5 com ácido láctico e incubados a 30°C por 48 e 72 horas, respectivamente. As amostras foram preparadas em duplicata e os resultados expressos em log₁₀ UFC/g.

Amostras frescas de forragem e silagem foram desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 h para determinação da concentração de MS e posteriormente moídas em moinho de facas Willey (Marconi MA340, Piracicaba, Brasil) com peneira de crivo de 1 mm. O teor de MS foi determinado de acordo com o método n° 930.15 da AOAC (1990). O teor de cinzas determinada por combustão em mufla a 600°C durante 4 h, de acordo com o método n° 924.05 da AOAC (1990). A determinação do nitrogênio (N) total foi realizada de acordo com o método n° 984.13 da AOAC (1990) e o teor de PB obtido multiplicando o teor de N por 6,25. O teor de fibra em detergente neutro (FDN) determinado em extrator de fibra com saquinhos filtrantes (F57, Ankom) utilizando a solução de detergente neutro descrita por Mertens (2002) incluindo amilase termoestável e sulfito de sódio. Os teores de fibra em detergente ácido (FDA) e lignina foram determinados segundo Van Soest *et al.* (1973), de modo sequencial. 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). 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) estimado pela seguinte equação: $CF = MS \text{ (g/100g)} + 8 \times CT/CS$ (Weissbach *et al.*, 1974). O teor de carboidratos solúveis (CS) em etanol foi determinado segundo Hall *et al.* (2014). A digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) determinada utilizando incubadora Daisy II (Ankon Technology, Macedon, EUA), durante 48 h com soluções preparadas conforme descrito em Holden (1999).

Perfil fermentativo

Após a obtenção do extrato aquoso da silagem, uma porção não diluída foi centrifugada a $12.000 \times g$ por 20 min e o sobrenadante utilizado para análise dos produtos da fermentação. A concentração de ácido lático foi determinada segundo a metodologia de Pryce (1969) e amônia segundo Chaney e Marbach (1962) por colorimetria. Outros produtos de fermentação, incluindo ácidos graxos voláteis (AGV), ésteres, álcoois e acetona foram analisados por cromatografia gasosa (Nexis GC-2030 com autoinjeter AOC-20i Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão).

Cálculos e 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 o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + A_j + MA_{ij} + e_{ijk}$$

em que μ = média geral, M_i = efeito fixo de umidade (i = CD, EM35 e EM45), A_j = efeito fixo de aditivos químicos (j = CON, NHB, NHM e NHA), MA_{ij} = interação entre umidade e aditivo, e e_{ijk} = resíduo, assumido independente e com distribuição normal com média zero e variância σ^2 . Em cada nível de umidade, as médias foram comparadas por contrastes ortogonais (com um grau de liberdade) para testar os efeitos linear e quadrático da dose de aditivo. Em cada nível de aditivo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer. Diferenças significativas foram declaradas se $P \leq 0,05$.

A eficácia do aditivo químico em comparação ao aumento da MS da cultura na redução de perda de MS (ou seja, substituir unidades de MS ou CF) foi calculada assumindo linearidade da resposta, dividindo a inclinação da regressão linear de perda de

MS sobre a dose de aditivo pela inclinação da regressão linear de perda de MS sobre o teor de MS. Para avaliar o efeito de incremento de MS, foram considerados apenas as silagens CD e EM35 sem aditivo, uma vez que a resposta apresentou assíntota entre EM35 e EM45. Para cálculo do efeito do aditivo, todas as doses foram consideradas para a silagem CD.

RESULTADOS

Composição da forragem

A composição microbiológica e química do capim-Mombaça fresco ou emurchecido antes da ensilagem é apresentada na Tabela 1. O teor de MS aumentou com o emurchecimento (EM35: 33,1 e EM45: 50,8% MS), comparativamente ao capim-Mombaça obtido por corte direto (20,5 %MS). Os valores de pH (~ 6) e as contagens de BAL (~ 6 log UFC/g MN) e clostrídios ($\sim 2,8$ log UFC/g MN) foram similares entre as forragens. O emurchecimento resultou em maiores contagens de fungos filamentosos (EM35: 4,23 e EM45: 4,31 log UFC/g MN) comparativamente ao CD (3,87 log UFC/g MN).

O teor de CS foi maior no capim EM45 (2,03%MS), comparativamente aos capins CD e EM35 ($\sim 1,7$ %MS). A CT foi ligeiramente menor no capim EM45 (37,8 g/kg MS), em relação ao CD e EM35 (39,4 e 40,4 g/kg MS, respectivamente). O CF aumentou com o emurchecimento (EM35: 36,3 e EM45: 54,8) em relação ao valor observado no CD (23,9). O teor de nitrato foi semelhante entre as forragens ($\sim 2,4$ g/kg MS).

O emurchecimento da forragem resultou em ligeiro aumento do teor de PB (EM35: 9,58 e EM45: 9,47% MS) comparativamente ao CD (8,48%MS). Observou-se menor teor de cinzas no capim EM45 (8,75% MS), frente aos valores encontrados para CD e EM35 ($\sim 9,3$ %MS). O teor de FDN da forragem EM45 também foi menor (67,7% MS), comparativamente às forragens CD e EM35 (70,9 e 69,3% MS respectivamente). A concentração de lignina foi semelhante entre as forragens ($\sim 3,7$ %MS).

Características da silagem de capim-Mombaça

As contagens microbianas, o perfil fermentativo das silagens e as perdas fermentativas do capim-Mombaça são apresentados na Tabela 2. Houve efeito de interação entre a umidade da forragem e a dose de aditivo químico para todas as variáveis ($P < 0,05$), com exceção da contagem de fungos filamentosos ($P = 0,999$). Na maior parte

dos casos, o efeito da interação ocorreu pela maior magnitude de resposta ao aditivo químico no tratamento CD comparativamente aos tratamentos EM35 e EM45.

A população de BAL apresentou aumento linear com o aumento da dose de aditivo nas silagens CD ($P < 0,001$) e EM35 ($P = 0,010$). Já no EM45, a população de BAL diminuiu de forma quadrática ($P = 0,001$). O aumento da dose de aditivo induziu redução linear ($P < 0,001$) da população de clostrídios nas silagens CD e EM35, e uma redução quadrática ($P = 0,018$) na silagem EM45. A contagem de clostrídios foi significativamente menor na silagem EM35 em comparação com a silagem CD, com diferença média de 0,34 log UFC/g MN (3,41 vs. 3,07 log UFC/g MN). Além disso, a silagem EM45 apresentou redução de 0,34 log UFC/g MN em relação à silagem EM35 (3,07 vs. 2,73 log UFC/g MN).

O pH das silagens aumentou de forma linear com o aumento das doses do aditivo nas silagens CD e EM45 ($P < 0,001$). Na silagem EM35, o comportamento foi quadrático ($P = 0,018$), com valor máximo observado na dose NHM. Notavelmente, na silagem EM45 houve aumento mais pronunciado no pH entre o controle e a dose alta (NHA), passando de 4,60 para 6,52. A concentração de ácido lático aumentou de forma quadrática ($P < 0,001$) com a dose de aditivo químico na silagem CD, (de 0,097% MS no CON para 2,45% MS no tratamento NHA), mas diminuiu linearmente ($P < 0,001$) com aumento da dose na silagem EM45 (de 1,47% MS no controle para 0,132% MS no tratamento NHA).

A concentração de N-NH₃corr apresentou redução quadrática ($P < 0,001$) com o aumento da dose de aditivo nas silagens CD e EM35. A redução foi mais acentuada na silagem CD, passando de 41,7% MS no CON para 10,6% MS no tratamento NHA. Em contraste, as silagens emurchecidas apresentaram reduções mais modestas, com a silagem EM35 passando de 15,9 para 8,78% MS e a silagem EM45 passando de 8,10 para 2,29% MS, do CON ao NHA respectivamente.

A concentração de etanol aumentou de forma linear ($P = 0,002$) na silagem CD e de forma quadrática ($P < 0,001$) nas silagens emurchecidas, à medida que a dose de aditivo químico aumentou. Além disso, a silagem CD apresentou concentrações de etanol significativamente maiores do que as silagens emurchecidas quando as doses de aditivo foram NHM e NHA.

A interação entre o teor de umidade da forragem e a dose de aditivo também foi significativa para a concentração de ácido acético. Observou-se que a concentração de ácido acético diminuiu linearmente ($P < 0,001$) na silagem CD e nas silagens

emurchecidas à medida que a dose de aditivo aumentava. Além disso, o emurchecimento mais intenso resultou em menores concentrações de ácido acético, com a silagem EM45 apresentando os menores valores ($P < 0,001$), independentemente da dose de aditivo químico utilizada. A concentração de ácido propiônico diminuiu de forma linear ($P < 0,001$) tanto na silagem CD quanto na silagem EM35. No entanto, as silagens CD apresentaram concentrações maiores ($P < 0,001$) de ácido propiônico, exceto quando se aplicou a dose mais alta de aditivo químico (NHA). A concentração de 2,3-butanodiol diminuiu ($P < 0,001$) de forma quadrática à medida que a dose de aditivo aumentava nas silagens CD e EM45. Já na silagem EM35, a diminuição foi linear ($P = 0,024$). Além disso, a redução foi mais acentuada na silagem EM45, passando de 0,356% MS para 0,028% MS, em comparação com a silagem de corte direto, que passou de 0,284% MS para 0,158% MS. A concentração de 1,2-propanodiol apresentou aumento linear ($P < 0,001$) na silagem CD e aumento quadrático ($P < 0,001$) na silagem EM35. Já na silagem EM45, houve diminuição linear ($P < 0,001$) na concentração deste composto. No entanto, as concentrações de 1,2-propanodiol foram menores na silagem CD em comparação com as silagens emurchecidas.

A concentração de ácido n-butírico diminuiu de forma quadrática ($P < 0,001$) na silagem CD, à medida que a dose de aditivo aumentou. As silagens EM35 e EM45 apresentaram concentrações relativamente baixas de ácido n-butírico, incluindo na silagem CON.

As perdas de MS diminuíram quadraticamente à medida que a dose de aditivo aumentou em todos os tipos de forragem ($P < 0,001$). Além disso, as perdas de MS foram significativamente menores ($P < 0,001$) nas silagens emurchecidas em comparação com as silagens CD, em todas as doses de aditivos testadas. Com o aumento da dose de aditivo, o pH das silagens CD apresentou tendência quadrática, com menores valores para os tratamentos NHB e NHM. Na silagem EM45, o pH aumentou linearmente com a dose de aditivo.

A soma dos ácidos n-butírico, i-butírico, n-valérico e i-valérico (somaBV) apresentou diminuição quadrática ($P < 0,001$) apenas na silagem CD, à medida que a dose de aditivo aumentava. A soma BV foi mais baixa nas silagens emurchecidas em comparação à silagem CD. Os ácidos graxos voláteis não dissociados (AGVnd) apresentaram redução significativa em resposta ao aumento da dose de aditivo. Essa redução foi quadrática ($P < 0,023$) para as silagens CD e EM35, e linear ($P < 0,001$) para a silagem EM45. Além disso, as concentrações dos AGVnd foram menores na silagem

EM45, em todas as doses de aditivo químico. A razão $AGV_{nd}/(CS+AL)$ apresentou redução quadrática ($P < 0,001$) com o aumento da dose de aditivo apenas na silagem CD. No entanto, foi observado que o valor mais alto desta razão foi encontrado na silagem CD sem aditivo (CON), em comparação com as silagens que passaram pelo processo de emurchecimento.

Composição química e digestibilidade de silagens

A composição química, a DIVMS e recuperação de MS digestível nas silagens de capim-Mombaça são apresentadas na Tabela 3. O aumento da dose de aditivo resultou em aumento ($P < 0,001$) no teor de MS em todas as condições estudadas. No entanto, os valores médios de MS variaram significativamente entre as condições de corte direto, EM35 e EM45, apresentando valores de 21,8, 31,5 e 49,5% MN, respectivamente. Isso sugere que a resposta ao aditivo variou dependendo da condição de ensilagem. O teor de CS apresentou aumento quadrático ($P < 0,016$) nas silagens CD e EM45 à medida que a dose de aditivo químico aumentava. No entanto, a silagem EM45 destacou-se por apresentar maior concentração de CS, especialmente quando tratada com as doses NHM e NHA (0,860 e 1,15% MS, respectivamente). O teor de cinzas apresentou redução quadrática ($P < 0,003$) em resposta ao aumento da dose de aditivo, nas silagens CD e EM45.

Não foi observada interação significativa entre o tipo de silagem e o aditivo químico para o teor de FDN ($P = 0,208$). Em relação ao tipo de silagem, a EM45 apresentou maior teor de FDN em comparação às silagens CD e EM35. Quanto ao efeito do aditivo químico, observou-se aumento no teor de FDN com o aumento das doses. Esse efeito foi quadrático para a silagem EM35 ($P < 0,004$) e linear para a silagem EM45 ($P = 0,005$). Para o teor de FDA, também não foi observada interação significativa entre os fatores. Não houve efeito do tipo de unidade sobre a concentração de FDA ($P > 0,05$). No entanto, houve efeito das doses do aditivo químico, com redução nos teores de FDA. Esse efeito foi quadrático para a silagem CD ($P = 0,005$) e linear para a silagem EM35 ($P = 0,001$). A PB apresentou aumento significativo em resposta ao aumento da dose de aditivo químico. Especificamente, esse aumento foi quadrático ($P < 0,001$) na silagem CD e linear ($P = 0,003$) na silagem EM35. No entanto, a PB foi geralmente menor nas silagens CD em comparação com as silagens emurchecidas, exceto quando foi aplicada a maior dose de aditivo, que alterou essa tendência.

Analisando os parâmetros do fracionamento de proteínas, foi observado que houve interação significativa entre o tipo de silagem e a dose de aditivo químico, apenas para as frações A1, A2 e C. Já para as demais frações, foram detectados efeitos independentes tanto do tipo de silagem quanto da dose de aditivo químico, indicando que esses fatores influenciaram de maneira distinta as diferentes frações de proteínas. A fração A1 apresentou diminuição à medida que o emurchecimento foi mais extenso. A silagem EM45 apresentou as menores concentrações de fração A1, seguida pela silagem EM35, que também apresentou valores inferiores em comparação com a silagem CD. Além disso, foi observada redução quadrática ($P < 0,001$) na fração A1 nas silagens CD e EM35 à medida que as doses do aditivo químico aumentaram. A fração A2 foi maior na silagem EM35 comparada com a silagem CD somente nas doses CON e NHB. A fração A2 foi menor no EM45 quando comparada à silagem EM35 nas doses NHB e NHA. A dose de aditivo apresentou influência significativa nas três silagens em relação à fração A2. Especificamente, a fração A2 aumentou de forma quadrática ($P < 0,001$) na silagem CD, enquanto diminuiu de quadrática ($P < 0,05$) nas silagens EM35 e EM45, à medida que a dose de aditivo químico aumentava. Isso sugere que a resposta da fração A2 à dose de aditivo variou, dependendo do tipo de silagem. A fração B1 de proteínas apresentou diminuição em resposta ao aumento da dose de aditivo nas silagens de CD e EM35. Na silagem CD, a fração B1 diminuiu de forma quadrática ($P < 0,05$) com o aumento da dose de aditivo. Já na silagem EM35, a diminuição foi linear ($P = 0,05$). A fração B2 apresentou aumento quadrático ($P < 0,05$) em resposta às doses de aditivo nas silagens CD e EM35. Na silagem EM45, foi observado um padrão diferente, com o maior valor da fração B2 sendo encontrado na silagem CON. A fração C do N apresentou aumento quadrático ($P = 0,001$) apenas na silagem CD. No entanto, foram observados valores mais elevados da fração C na silagem EM45 em comparação com as silagens CD e EM35, especialmente nas doses NHM e NHA. A proporção de PDR apresentou redução significativa pela aplicação de aditivo em todas as silagens. A redução foi quadrática ($P < 0,001$) em todas as silagens. No tratamento CD a PDR passou de 74,7% no CON para 66,0% no NHA, no EM35 de 71,3 para 67,9% e no EM45 de 69,7 para 57,6% da PB, respectivamente.

Não foi observada interação significativa entre o tipo de silagem e a dose de aditivo químico na DIVMS. No entanto, foi observado aumento significativo na DIVMS em todas as silagens analisadas com o aumento da dose de aditivo. Especificamente, as silagens CD e EM35 apresentaram aumento quadrático ($P < 0,001$) e a silagem EM45

apresentou aumento linear ($P = 0,008$) na DIVMS conforme a dose do aditivo aumentou. Além disso, a silagem EM45 apresentou valor de DIVMS maior no CON, com 69,0% MS, em comparação com as silagens CD e EM35, que apresentaram valores de 66,4 e 66,5% MS, respectivamente. A recuperação de MS digestível apresentou aumento com a aplicação de aditivo, em todas as silagens analisadas. Nas silagens CD e EM35 o aumento foi quadrático ($P < 0,001$), enquanto na silagem EM45 o aumento foi linear ($P = 0,001$). No entanto, o efeito da dose de aditivo químico foi mais pronunciado na silagem CD, com aumento de 8,5 unidades percentuais entre o tratamento CON e a dose NHA. Em contraste, as silagens emurchecidas apresentaram aumentos menores, com 4,4 e 1,5 unidades percentuais nas silagens EM35 e EM45, respectivamente. Além disso, a recuperação de MS digestível foi maior para a silagem EM45, em comparação com a silagem EM35, que por sua vez superou a silagem CD, nas doses CON e NHB.

Substituição de MS da cultura por aditivo

A perda de MS durante a fermentação estava intimamente relacionada à taxa de aplicação de aditivo e MS da cultura na ensilagem (Figura 1). Com base na redução da perda de MS, cada 0,3 g/kg de nitrito de sódio mais 0,2 g/kg de hexamina (ou seja, equivalente a 1 L/t de um produto contendo nitrito de sódio a 300 g/L e hexamina a 200 g/L) foi capaz de substituir 4,4 unidades percentuais de MS da cultura como estratégia para reduzir a perda de MS.

DISCUSSÃO

Composição da forragem

Ensilar gramíneas tropicais é um desafio devido às características intrínsecas, como a baixa concentração de MS e CS, exigindo alternativas para melhorar a fermentação (Weissbach *et al.*, 1974). Neste estudo, demonstra-se que a implementação de técnicas de redução de umidade (i.e., emurchecimento) e a aplicação de aditivos durante a ensilagem são práticas plausíveis para evitar problemas de fermentação.

O aumento do teor de MS foi observado com o tempo de emurchecimento, variando de 20,5% no CD para 50,8% no tratamento EM45. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Parvin *et al.* (2010), em que o capim-Mombaça foi

emurchecido por aproximadamente 8 horas para alcançar teor 50,3% de MS. De acordo com Carvalho *et al.* (2024) a baixa relação CS:CT encontradas em gramíneas tropicais sugere que a prática de emurchecimento pode ser uma estratégia eficaz para melhorar a qualidade da silagem. Além disso, os autores destacam que, para gramíneas tropicais com baixa relação CS:CT ($\sim 0,5$) é recomendável o teor mínimo de 35% MS para garantir a qualidade da silagem.

O CF é utilizado principalmente para prever o risco de fermentação inadequada causada por bactérias do gênero *Clostridium*, fornece orientação sobre como realizar a ensilagem de forma eficaz, incluindo a utilização de aditivos e o emurchecimento (Weissbach *et al.*, 1974; Carvalho *et al.*, 2024). A forragem submetida ao corte direto apresentou baixo CF (23,9) resultando em silagem com alta concentração de ácido n-butírico no tratamento controle (sem aditivo). Resultados semelhantes foram observadas por Bragatto (2024) que avaliou o efeito da dose de aditivo químico contendo nitrito de sódio e hexamina e do teor de MS da *braquiária ruziziensis*, em que o CF próximo a 31 foi observado na forragem de corte direto.

No presente estudo, além do aumento no teor de MS, o ligeiro incremento no teor de CS na forragem durante o emurchecimento pode ter sido causado pela quebra de polissacarídeos em mono ou dissacarídeos, durante o período de secagem no campo (Mooser, 1995), e da continuação da atividade fotossintética nas primeiras horas, após o corte. Estudos realizados em gramíneas tropicais, especificamente em capim-Mombaça, mostraram valores de CS consistentemente mais baixos, variando de 3,15% MS (Moraes *et al.*, 2023) a 4,3% MS (Gomes *et al.*, 2021) e 3,9% MS (Tomaz *et al.*, 2018). Neste estudo o CF foi maior nas forragens emurchecidas (36,3 para EM35 e 54,8 para EM45), o que pode ser atribuído ao aumento do teor de MS induzido pelo emurchecimento, e, em menor grau, ao aumento do teor de CS, como também foi reportado em estudos anteriores (Wilkinson, 1983; Bragatto, 2024). A alteração da MS por meio do emurchecimento foi suficiente para produzir silagem de boa qualidade, com teor de ácido n-butírico inferior a 0,3% da MS, sugerindo que essa técnica pode ser eficaz em situações práticas para garantir boa fermentação em capins tropicais (Carvalho *et al.*, 2024)

As concentrações de nitrato na forragem é outro fator importante que inibe o crescimento de clostrídios durante os estágios iniciais de fermentação, uma vez que é convertida em nitrito e óxidos nítrico e nitroso, que são conhecidos pela capacidade de inibir essas bactérias (Wieringa, 1966; Spoelstra, 1985; McDonald *et al.*, 1991) além da contagem epifítica de BAL. De acordo com um estudo realizado por Weissbach e Honig

(1996), o risco de formação de ácido butírico é maior quando a forragem contém menos de 10^5 UFC/g de BAL epifíticas e menos de 0,5 g/kg MS de nitrato. Os resultados nesse estudo mostraram que a forragem de corte direto tinha uma contagem de BAL epifítica maior que 10^5 UFC/g e teor de nitrato superior a 1 g/kg de MS, mas apesar disso, a silagem CD ainda apresentou evidências claras de fermentação indesejável, com teores elevados de N-NH₃ e ácido butírico (> 0,3% MS) na silagem CD sem adição de aditivo químico. Estudos anteriores realizados por Gomes *et al.* (2021), Moraes *et al.* (2023) e Bragatto *et al.* (2024) também observaram respostas semelhantes, em que a ensilagem de capins com baixo CF resultou em desenvolvimento de clostrídios durante a fermentação, apesar dos valores relativamente altos de nitrato e contagens de BAL epifíticas.

Características da fermentação da silagem

A produção de silagem de capim tropical de alto valor nutritivo requer estratégias que otimizem a fermentação, evitando o crescimento de microrganismos indesejáveis. Para isso, o emurchecimento ou a aplicação de aditivos químicos são métodos comuns para reduzir o risco de fermentação butírica e efluentes (Nussio, 2005). Pesquisas conduzidas por Weissbach *et al.* (1989) e Reuter e Weissbach (1991) demonstraram que a combinação de nitrito de sódio e hexamina em concentrações específicas foi tão eficaz quanto o ácido fórmico em reduzir a carga de esporos de clostrídios e controlar a atividade metabólica dos clostrídios durante a fermentação.

Neste estudo, a redução da umidade e a adição de aditivo químico à base de nitrito de sódio e hexamina nas silagens melhorou significativamente a qualidade da fermentação, reduzindo as contagens de clostrídios, as concentrações de metabólitos produzidos por clostrídios (e.g., N-NH₃ e ácido n-butírico) e a perda de MS, em comparação com a silagem CD ensilada sem aditivo, que claramente apresentou fermentação butírica. A silagem emurchecida e ensilada sem aditivo apresentou um perfil de fermentação satisfatório, com baixos teores de ácido n-butírico. Isso é importante, pois silagens de alta qualidade geralmente não contêm concentrações significativas de ácido n-butírico. A presença de pequenas quantidades pode ser atribuída a outros microrganismos, mas concentrações significativas (> 0,3% MS) indicam a presença de clostrídios, o que pode resultar em perdas nutricionais e redução do valor da silagem, conforme já relatado na literatura clássica (McDonald *et al.*, 1991). A aplicação de aditivo químico reduziu significativamente os produtos de fermentação associados ao desenvolvimento de clostrídios (McDonald *et al.*, 1991; Pahlow *et al.*, 2003), incluindo

os ácidos n-butírico, i-butírico, n-valérico, i-valérico e propiônico, amônia e 2,3-butanodiol, em todas as doses de aplicação, tanto na silagem CD quanto nas silagens emurchecidas.

A concentração de ácido láctico e ácido acético foram menores na silagem EM45 e na dose mais alta de aditivo. A adição do aditivo resultou em maiores concentrações de ácido láctico na silagem CD e na silagem EM35. O aditivo contendo NH pode ter protegido os açúcares da utilização por microrganismos indesejáveis, conservando-os para melhor fornecimento de nutrientes para as BAL (Bragatto, 2024). Geralmente silagens com teores mais elevados de MS (> 40%) tendem a apresentar menores concentrações de produtos de fermentação, como observado neste trabalho, visto que, de modo geral, menores teores de umidade tendem a limitar a atividade de microrganismos (Pahlow *et al.*, 2003).

A análise dos valores de pH revelou que as silagens EM45 tratadas com NHM e NHA tiveram fermentação menos intensa, assim como observado por Bragatto (2024), que reportou que a silagem emurchecida apresentou pH mais alto nas doses média e alta do aditivo contendo nitrito e hexamina. De acordo com Woolford (1984), maiores valores de pH em silagens com maior teor de matéria seca é decorrente da menor atividade microbiana, devido ao aumento da pressão osmótica.

Auerbach e Nadeau (2019) avaliaram o efeito de nitrito de sódio e hexamina como aditivos em forragens temperadas e constataram que mesmo as taxas de aplicação mais baixas melhoraram a fermentação da silagem. Além disso, a utilização da taxa mais alta resultou em redução significativa na concentração de ácido butírico e em maior frequência de silagens livres desse ácido. Esses resultados são corroborados por Moraes *et al.* (2023), que também observaram que esses aditivos são promissores para as silagens de capins tropicais.

Recuperação de nutrientes e composição química das silagens

Os resultados mostraram que a composição da silagem foi influenciada pelo emurchecimento, pela dose de aditivo e pela interação entre esses fatores. Este estudo demonstrou que o emurchecimento da forragem melhorou DIVMS da silagem de capim-Mombaça, em comparação com a silagem CD sem aditivo químico. Além disso, a aplicação de alta dose de aditivo químico aumentou significativamente a DIVMS na silagem CD. Esse aumento pode ser atribuído a melhor preservação dos nutrientes digestíveis. Estudos anteriores, como os de Gomes *et al.* (2021) e Moraes *et al.* (2023),

também relataram melhorias na DIVMS da silagem de capim-Mombaça com a adição de aditivos químicos à base de nitrito de sódio e hexamina.

Os teores de PB, MS e PNDR aumentaram significativamente à medida que as concentrações do aditivo foram aumentadas. Esses resultados são consistentes com os encontrados por Bragatto (2024) e demonstram que a adição de aditivo e emurchecimento pode melhorar a fermentação da silagem, reduzindo a contagem de clostrídios e prevenindo a degradação de proteínas. Consequentemente, a adição de aditivo contribuiu para a preservação das proteínas e a melhoria da concentração de PNDR, garantindo a qualidade das silagens, conforme observado por Nadeau *et al.* (2015). O aumento da concentração de MS nas silagens tratadas com aditivo químico pode ser atribuído à redução das perdas de MS durante a fermentação, conforme observado por McDonald *et al.* (1991). Essa redução na perda de qualidade nutricional, combinada com a recuperação da MS, pode ser uma ferramenta importante para aumentar a eficiência da ensilagem de gramíneas tropicais, como destacado por Moraes (2023).

Substituição de MS da cultura por aditivo químico

O teor de matéria seca (MS) da cultura durante a ensilagem, que pode ser considerado um indicador indireto da atividade da água, é um parâmetro adequado para determinar tanto o grau necessário de acidificação da silagem (Weissbach *et al.*, 1974) quanto a dosagem ideal de compostos com atividade anticlostrídios (Weissbach *et al.*, 1989). Isso ocorre porque a sensibilidade dos clostrídios aos produtos da fermentação ou aos aditivos químicos aumenta com a diminuição da atividade da água.

Neste estudo, considerando uma resposta linear, cada 0,3 g/kg de nitrito de sódio combinado com 0,2 g/kg de hexamina (o que corresponde a 1 L/t de um produto comercial contendo 300 g/L de nitrito de sódio e 200 g/L de hexamina) conseguiu compensar a cerca de 4,4 unidades percentuais de MS da cultura, contribuindo para a redução das perdas de MS. De forma semelhante, Bragatto (2024) encontraram que, ao trabalhar com *Urochloa ruziziensis*, o uso de 1 L/t de aditivo permitiu reduzir a perda de MS, substituindo 6,16 unidades percentuais de MS da cultura. Para a cultura da alfafa, Weissbach *et al.* (1989) observaram que uma dose de aditivo de 3 L/t poderia substituir aproximadamente 13,8 unidades percentuais de MS da cultura.

Na prática, a MS ideal pode variar, conforme o tipo de estrutura utilizada para armazenamento da silagem. Além disso, a umidade da forragem pode apresentar

variações entre diferentes áreas do campo ou ao longo do período de murchamento, resultando em ampla faixa de teores de MS na colheita. Por esse motivo, a dosagem de aditivos pode ser ajustada de acordo com as condições específicas da cultura (Weissbach e Auerbach, 2012).

CONCLUSÃO

O emurhecimento e a aplicação de aditivos químicos, isoladamente ou combinados, foram eficazes em restringir o crescimento de clostrídios e minimizar as perdas de matéria seca durante o processo fermentativo. Embora o aditivo tenha sido mais eficaz na silagem mais úmida (corte direto), a combinação do emurhecimento com a dose de aditivo químico resultou nos maiores valores nutricionais e na maior recuperação de matéria seca digestível. A escolha da estratégia a ser adotada deve considerar a disponibilidade de recursos materiais e humanos, assim como o sistema de produção e seus aspectos econômicos. Considerando uma resposta linear, neste estudo, cada 0,3 g/kg de nitrito de sódio associado a 0,2 g/kg de hexamina (ou seja, equivalente a 1 L/t de um produto contendo 300 g/L de nitrito de sódio e 200 g/L de hexamina) foi capaz de substituir aproximadamente 4,4 pontos percentuais da MS da cultura, representando uma estratégia para minimizar as perdas de MS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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).

- Bragatto, J.M., 2024. Caracterização do perfil fermentativo e nutricional, emurhecimento e aditivos químicos em silagens de capins tropicais. Tese (Doutorado), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brazil.
- 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.*
- Chaney, A. L., Marbach, E. P., 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8, 130–132.
- 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.
- 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.
- 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.
- Holden, L. A., 1999. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *J. Dairy Sci.* 82, 1791–1794
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Nadeau, E., B. Johansson, W. Richardt e M. Murphy. 2015. The impact of silage additives on the protein quality of grass silage and their subsequent effects on the performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 98, pp. 206.
- Nussio, L. G., 2005. Produção de silagem a partir de forrageiras tropicais. No RS Park & MD Stronge (Eds.), *Anais da XIV Conferência Internacional de Silagem*, Belfast, Reino Unido, pp. 97–107.
- 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.
- 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.
- 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.

- Pryce, J. D., 1969. A modification of Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. *Analyst*. 94, 1151–1152.
- 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.
- Silva, D.J., Queiroz, A.C., 2002. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*, third ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil.
- Siqueira, G. R., Bernardes, T. F. 2013. Culturas destinadas à ensilagem. In: *Forragicultura: ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros*. 1st ed. Reis, R. A., Bernardes, T. F., Siqueira, G. R., ed. Funep, Jaboticabal-SP, pp. 661
- 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.
- 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.
- Van Soest, P. J. 1973. Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 56, 781–784.
- 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., 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, H., 1996. Über die Vorhersage und Steuerung des Grünsverlaufs bei der Silierung von Grünfutter aus extensivem Anbau [Predicting and

controlling the course of fermentation of extensively grown grasses].
Landbauforsch. Völkensrode. 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.

Wieringa, G. W., 1966. The influence of nitrate on silage fermentation. *Netherlands J. Agric. Sci.* 6, 204–210.

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. *Microbiol.* Marcel Dekker, New York, pp. 350.

TABELAS

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

Item ²	Forragem ¹		
	CD	EM_35	EM_45
Bactérias láticas, log UFC ³ /g MN ⁴	6,18 ± 0,177	6,05 ± 0,326	5,87 ± 0,239
Fungos filamentosos, log UFC/g MN	3,87 ± 0,226	4,23 ± 0,164	4,31 ± 0,174
Clostrídios, log UFC/g MN	2,71 ± 0,011	2,84 ± 0,010	2,87 ± 0,190
pH	5,93 ± 0,022	6,10 ± 0,026	6,14 ± 0,017
MS ⁵ , % MN	20,5 ± 0,54	33,1 ± 0,43	50,8 ± 0,74
Carboidratos solúveis, %MS	1,67 ± 0,097	1,70 ± 0,224	2,03 ± 0,248
Capacidade tampão, g/kg MS	39,4 ± 0,40	40,42 ± 0,918	37,8 ± 0,47
Nitrato, g/kg MS	2,39 ± 0,413	2,30 ± 0,158	2,47 ± 0,266
Coefficiente de fermentabilidade	23,9 ± 0,21	36,27 ± 0,506	54,8 ± 0,48
Proteína bruta, % MS	8,48 ± 0,258	9,58 ± 0,128	9,47 ± 0,348
Cinzas, % MS	9,34 ± 0,127	9,33 ± 0,367	8,75 ± 0,440
FDN ⁶ , % MS	70,9 ± 1,33	69,29 ± 0,968	67,7 ± 0,65
FDA ⁷ , % MS	41,5 ± 0,55	40,91 ± 0,736	39,9 ± 0,72
Lignina, % MS	3,81 ± 0,143	3,71 ± 0,558	3,72 ± 0,062
DIVMS ⁸ , % MS	67,1 ± 2,13	67,8 ± 0,63	67,6 ± 1,31

¹ CD: corte direto; EM_35: forragem emurchecida (~30% de MS); EM_45: forragem emurchecido (~40% de MS).

² Leveduras <2 log UFC/g MN

³ Unidade formadora de colônia.

⁴ Matéria natural.

⁵ Matéria seca.

⁶ Fibra em detergente neutro.

⁷ Fibra em detergente ácido.

⁸ Digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Tabela 2. Contagens microbianas, perfil fermentativo e perdas fermentativas da silagem de capim-Mombaça com diferentes doses de aditivo químico.

Item ⁵	Umidade	Tratamento ¹				EPM ²	P-valor ³			Contraste ⁴	
		CON	NHB	NHM	NHA		U	T	U x T	L	Q
Bactérias lácticas, log UFC ⁶ /g MN ⁷	CD	6,27 ^b	7,47 ^a	7,68 ^a	7,96 ^a	0,111	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,175
	EM_35	7,85 ^a	7,63 ^a	7,85 ^a	8,13 ^a					0,010	0,175
	EM_45	7,52 ^a	7,62 ^a	7,43 ^a	6,76 ^a					0,927	0,001
Clostrídios, log UFC/g MN	CD	4,02 ^a	3,35 ^a	3,26 ^a	3,00 ^a	0,096	<0,001	<0,001	0,005	<0,001	<0,001
	EM_35	3,90 ^a	2,90 ^{ab}	2,78 ^{ab}	2,70 ^a					0,003	<0,001
	EM_45	3,04 ^b	2,65 ^b	2,65 ^b	2,57 ^a					0,428	0,018
Fungos filamentosos, log UFC/g MN	CD	3,25	3,33	3,24	3,33	0,294	0,239	0,959	0,999	0,409	0,539
	EM_35	3,30	3,35	3,42	3,44					0,993	0,916
	EM_45	3,57	3,67	3,56	3,73					0,619	0,926
pH	CD	4,73 ^a	4,28 ^a	4,40 ^b	4,78 ^b	0,093	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	4,34 ^a	4,25 ^a	4,25 ^b	4,44 ^b					0,176	0,0048
	EM_45	4,60 ^a	4,50 ^a	5,31 ^a	6,52 ^a					0,006	0,375
Ácido láctico, % MS ⁸	CD	0,097 ^c	2,37 ^a	2,44 ^b	2,45 ^b	0,111	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	2,50 ^a	2,69 ^a	3,81 ^a	3,54 ^a					0,423	0,955
	EM_45	1,47 ^b	1,79 ^b	0,611 ^c	0,132 ^c					<0,001	<0,001
N-NH ₃ corr ⁹ , % MS	CD	41,7 ^a	20,5 ^a	15,7 ^a	10,6 ^a	1,10	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Etanol, % MS	EM_35	15,9 ^b	9,77 ^b	8,68 ^b	8,78 ^a					<0,001	<0,001
	EM_45	8,10 ^c	6,31 ^b	3,21 ^c	2,29 ^b					0,325	0,855
	CD	0,315 ^a	0,221 ^a	0,570 ^a	0,712 ^a	0,041	<0,001	<0,001	<0,001	0,002	0,048
	EM_35	0,272 ^a	0,133 ^a	0,121 ^b	0,429 ^b					0,114	<0,001
	EM_45	0,120 ^a	0,119 ^a	0,121 ^b	0,146 ^c					0,274	<0,001
Ácido acético, % MS	CD	2,45 ^a	2,53 ^a	2,30 ^a	1,85 ^a	0,074	<0,001	<0,001	0,006	<0,001	<0,001
	EM_35	1,70 ^b	1,50 ^b	1,18 ^b	1,25 ^b					<0,001	0,615
	EM_45	0,425 ^c	0,425 ^c	0,225 ^c	0,200 ^c					<0,001	0,002
Ácido propiônico, g/kg	CD	206 ^a	52,6 ^a	68,6 ^a	0,000	6,59	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	0,000 ^b	0,000 ^b	0,000 ^b	0,000					<0,001	0,234
	EM_45	0,000 ^b	0,000 ^b	0,000 ^b	0,000					1,000	1,000
2,3-Butanodiol, mg/kg MS	CD	0,284 ^a	0,199 ^a	0,136 ^a	0,158 ^a	0,021	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	0,118 ^b	0,060 ^b	0,040 ^{ab}	0,000 ^{ab}					0,024	0,573
	EM_45	0,356 ^a	0,140 ^{ab}	0,034 ^b	0,028 ^b					<0,001	<0,001
1,2-Propanodiol, mg/kg MS	CD	0,000 ^c	0,003 ^c	0,015 ^b	0,033 ^b	0,005	<0,001	<0,001	<0,001	0,000	0,099
	EM_35	0,112 ^a	0,156 ^a	0,077 ^a	0,114 ^a					<0,001	<0,001
	EM_45	0,040 ^b	0,033 ^b	0,007 ^b	0,008 ^b					<0,001	0,550
Ácido n-butírico, % MS	CD	2,74 ^a	0,163 ^a	0,319 ^a	0,047 ^a	0,122	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Soma BV ¹⁰ , % MS	EM_35	0,018 ^b	0,005 ^a	0,011 ^a	0,036 ^a					0,201	0,452
	EM_45	0,027 ^b	0,003 ^a	0,002 ^a	0,003 ^a					0,867	0,951
	CD	2,84 ^a	0,180 ^a	0,330 ^a	0,053 ^a	0,126	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	0,020 ^b	0,008 ^a	0,013 ^a	0,035 ^a					0,186	0,472
AGVnd/(CS+AL) ¹³ , % MS	EM_45	0,030 ^b	0,000 ^a	0,000 ^a	0,000 ^a					0,874	0,969
	CD	13,6 ^a	0,799 ^a	0,683 ^a	0,331 ^a	0,659	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	0,464 ^b	0,393 ^a	0,223 ^a	0,220 ^a					0,649	0,852
	EM_45	0,166 ^b	0,138 ^a	0,037 ^a	0,004 ^a					0,818	0,931
Perda de MS, % MS	CD	9,06 ^a	6,04 ^a	4,78 ^a	4,15 ^a	0,132	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	4,44 ^b	3,92 ^b	3,61 ^b	3,40 ^b					<0,001	<0,001
	EM_45	4,03 ^b	3,32 ^b	3,21 ^b	3,06 ^b					0,825	0,001
	CD	10,0 ^a	3,75 ^a	3,75 ^a	3,75 ^a	0,386	0,0001	0,002	<0,001	<0,001	<0,001
EA pH ¹⁴ , d	EM_35	3,00 ^b	4,75 ^a	4,50 ^a	4,50 ^a					0,201	0,338
	EM_45	3,50 ^b	4,00 ^a	4,75 ^a	4,25 ^a					0,037	0,338

^{a,b,c} As médias dentro de cada nível de aditivo, ao contrário dos sobrescritos, diferem (Teste de Tukey-Kramer $\alpha = 0,05$).

¹ 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; NHA: nitrito de sódio 0,9 g/kg + hexamina 0,6 g/kg.

² Erro padrão da média.

³ U: Efeito de umidade; T: efeito de tratamento; U×T: Interação entre umidade e tratamento.

⁴ L: Efeito linear de dose de aditivo. Q: Efeito quadrático de dose de aditivo.

⁵ Leveduras <2 log UFC/g MN, acetona <14,4 % MS, acetato de etila <176,2 mg/kg MS, metanol <413,8 mg/kg MS, isopropanol <68,7 mg/kg MS, acetato de propila <60,6 mg/kg MS, 2 – butanol <58 mg/kg MS, 1 – propanol <1.646 mg/kg MS, lactato de etila <0 mg/kg MS, ácido iso-butírico <301 mg/kg MS, ácido iso-valérico <406 mg/kg MS, ácido valérico <313 mg/kg MS.

⁶ Unidade formadora de colônia.

⁷ Matéria natural.

⁸ Matéria seca.

⁹ N-NH₃ corrigido para adição de nitrogênio por aditivo.

¹⁰ Soma dos ácidos n-butírico, iso-butírico, n-valérico e iso-valérico.

¹³ Razão entre ácidos graxos voláteis não dissociados e carboidratos solúveis + ácido láctico.

¹⁴ Estabilidade aeróbia com base no aumento do pH (+0,5).

Tabela 3. Composição química e recuperação de nutrientes digestíveis na silagem de capim-Mombaça com diferentes doses de aditivo químico.

Item	Umidade	Tratamento ¹				EPM ²	P-valor ³			Contraste ⁴	
		CON	NHB	NHM	NHA		U	T	U × T	L	Q
MS ⁵ , % MN ⁶	CD	20,5 ^c	21,9 ^c	21,8 ^c	22,5 ^c	0,19	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	31,1 ^b	31,2 ^b	31,6 ^b	31,5 ^b					<0,001	<0,001
	EM_45	49,6 ^a	49,0 ^a	49,3 ^a	50,1 ^a					<0,001	<0,001
Cinzas, % MS	CD	10,4 ^a	9,78 ^a	9,73 ^a	9,88 ^a	0,222	<0,001	0,340	0,009	0,001	<0,001
	EM_35	9,48 ^{ab}	9,15 ^a	9,48 ^a	10,1 ^{ab}					0,455	0,436
	EM_45	9,00 ^b	9,03 ^a	8,85 ^a	8,18 ^b					0,960	0,003
FDN ⁷ , % MS	CD	68,1 ^a	65,6 ^b	66,6 ^a	69,7 ^a	0,51	0,001	<0,001	0,208	0,719	0,120
	EM_35	67,6 ^a	67,2 ^b	67,2 ^a	69,1 ^a					0,000	0,004
	EM_45	68,8 ^a	68,6 ^a	68,0 ^a	70,3 ^a					0,005	0,770
FDA ⁸ , % MS	CD	43,2	39,8	40,5	42,7	0,56	0,956	0,001	0,008	0,141	0,050
	EM_35	42,3	41,3	39,6	42,6					0,001	0,345
	EM_45	41,3	41,9	41,4	41,5					0,240	0,757
CS ⁹ , % MS	CD	0,130 ^a	0,186 ^a	0,287 ^b	0,352 ^b	0,069	<0,001	<0,001	<0,001	0,488	<0,001
	EM_35	0,200 ^a	0,230 ^a	0,347 ^b	0,443 ^b					0,762	0,070
	EM_45	0,210 ^a	0,300 ^a	0,860 ^a	1,15 ^a					0,900	0,016
Proteína bruta, % MS	CD	7,16 ^b	8,28 ^b	8,61 ^b	8,84 ^a	0,172	<0,001	<0,001	0,018	<0,001	<0,001
	EM_35	9,03 ^a	9,00 ^a	9,66 ^a	9,84 ^a					0,003	0,707

	EM_45	9,49 ^a	9,62a	9,73a	9,95 ^a					0,982	0,191
Fracionamento de N, % N											
A1	CD	41,7 ^a	20,5 ^a	15,7 ^a	10,6 ^a	1,096	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	15,9 ^b	9,77 ^b	8,67 ^b	8,78 ^a					<0,001	<0,001
	EM_45	8,10 ^c	6,31 ^b	3,21 ^c	2,29 ^b					0,325	0,855
A2	CD	13,2 ^b	37,4 ^b	37,3 ^a	35,9 ^{ab}	1,19	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	44,2 ^a	46,0 ^a	42,0 ^a	40,1 ^a					0,013	0,015
	EM_45	42,7 ^a	37,8 ^b	36,4 ^a	31,4 ^b					0,111	0,045
B1	CD	26,5	23,7	23,7	20,8	1,15	0,086	0,060	0,175	0,381	0,005
	EM_35	21,3	22,5	22,7	21,2					0,051	0,817
	EM_45	23,4	25,0	22,3	22,3					0,802	0,396
B2	CD	4,02 ^b	4,95 ^a	9,68 ^a	16,49 ^a	1,66	<0,001	<0,001	0,242	0,006	<0,001
	EM_35	4,58 ^b	10,4 ^a	12,9 ^a	16,4					0,447	<0,001
	EM_45	13,70 ^a	12,1 ^a	17,3 ^a	20,0					0,081	0,126
C	CD	14,6 ^a	13,4 ^b	13,6 ^a	16,2 ^b	1,51	<0,001	0,006	0,004	0,186	0,001
	EM_35	14,1 ^a	11,3 ^b	13,7 ^a	13,6 ^b					0,474	0,457
	EM_45	12,1 ^a	18,7 ^a	20,8 ^a	24,1 ^a					0,756	0,205
PDR ¹⁰ , % PB	CD	74,7 ^a	72,4 ^a	70,5 ^a	66,0 ^a	0,98	<0,001	<0,001	0,004	<0,001	<0,001
	EM_35	71,3 ^{ab}	71,3 ^a	68,7 ^a	67,9 ^a					0,076	0,001
	EM_45	69,7 ^b	64,4 ^b	61,0 ^b	57,6 ^b					0,214	0,030

PNDR ¹¹ , % PB	CD	25,3 ^b	27,6 ^b	29,5 ^b	34,0 ^b	0,98	<0,001	<0,001	0,004	<0,001	<0,001
	EM_35	28,7 ^{ab}	28,7 ^b	31,3 ^b	32,1 ^b					0,076	0,001
	EM_45	30,3 ^a	35,6 ^a	39,0 ^a	42,4 ^a					0,214	0,030
DIVMS ¹² , %MS	CD	66,4 ^b	67,6 ^a	68,4 ^a	68,9 ^a	0,42	<0,001	<0,001	0,365	<0,001	<0,001
	EM_35	66,5 ^b	67,4 ^a	68,4 ^a	68,9 ^a					0,185	0,001
	EM_45	69,0 ^a	69,4 ^a	70,3 ^a	69,6 ^a					0,008	0,254
Recuperação de MS digestível, % MS	CD	90,0 ^c	94,6 ^b	97,1 ^a	98,5 ^a	0,79	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	EM_35	93,8 ^b	95,5 ^b	97,2 ^a	98,2 ^a					0,593	<0,001
	EM_45	98,0 ^a	99,3 ^a	99,5 ^a	99,5 ^a					0,001	0,065

^{a,b,c} As médias dentro de cada nível de aditivo, ao contrário dos sobrescritos, diferem (Teste de Tukey-Kramer $\alpha = 0,05$).

¹ 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; NHA: nitrito de sódio 0,9 g/kg + hexamina 0,6 g/kg.

² Erro padrão da média.

³ U: efeito de umidade; T: efeito de tratamento; U×T: Interação entre umidade tratamento.

⁴ L: Efeito de dose de aditivo. Q: Efeito quadrático de dose de aditivo.

⁵ Matéria seca.

⁶ Matéria natural.

⁷ Fibra em detergente neutro.

⁸ Fibra em detergente ácido.

⁹ Carboidratos solúveis.

⁹ Proteína degradável no rúmen.

¹⁰ Proteína não degradável no rúmen.

¹¹ Digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

FIGURA 1

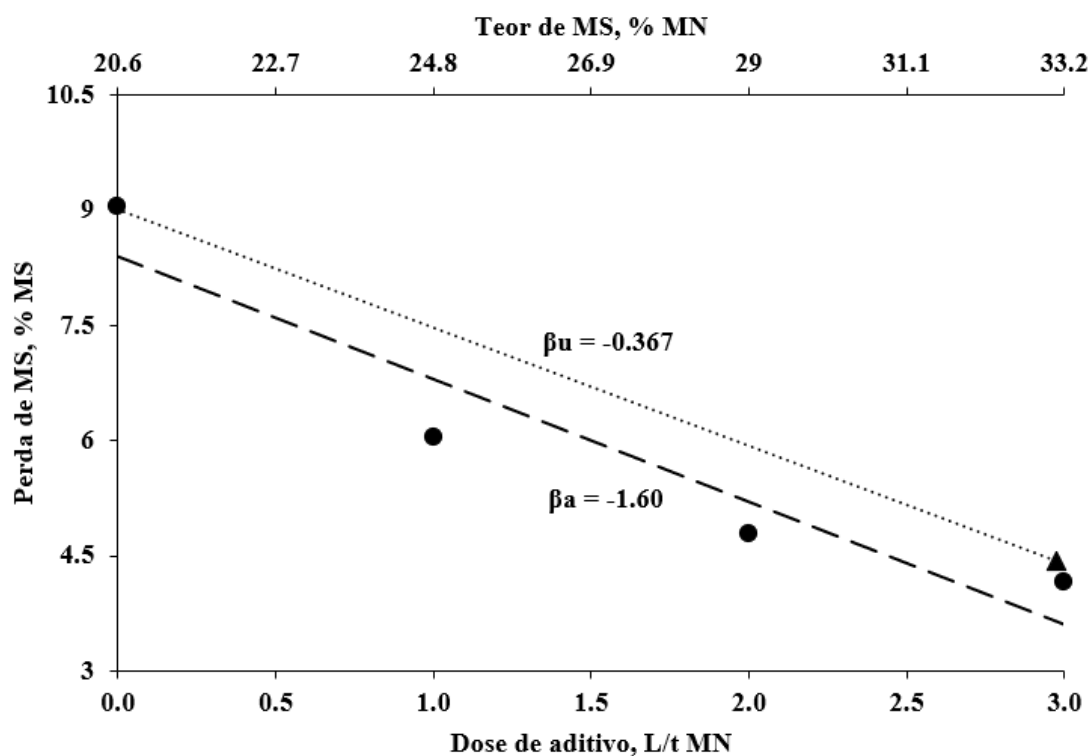


Figura 1. Relação entre a taxa de aplicação de aditivos (●, linha tracejada) ou o teor de matéria seca da cultura (▲, linha pontilhada) e a perda de MS da silagem de capim-Mombaça. Cada ponto representa uma média de tratamento (n=4). β_u : inclinação da regressão linear de perda de MS sobre o teor de MS. β_a : inclinação da regressão linear de perda de MS sobre a dose de aditivo. $\beta_a/\beta_u = 4,36$ unidades percentuais.