

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUBSTITUIÇÃO DE HEXAMINA POR FORMATO DE SÓDIO EM
ADITIVOS À BASE DE NITRITO DE SÓDIO EM SILAGENS DE
GRAMÍNEAS TROPICAIS

Autora: Sara Carolina Buttow
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

MARINGÁ
Estado do Paraná
Agosto – 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUBSTITUIÇÃO DE HEXAMINA POR FORMATO DE SÓDIO EM
ADITIVOS À BASE DE NITRITO DE SÓDIO EM SILAGENS DE
GRAMÍNEAS TROPICAIS

Autora: Sara Carolina Buttow
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
Estado do Paraná
Agosto – 2024

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

B989s

Buttow, Sara Carolina

Substituição de hexamina por formato de sódio em aditivos à base de nitrito de sódio em silagens de gramíneas tropicais / Sara Carolina Buttow. -- Maringá, PR, 2024.
61 f. : tabs.

Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2024.

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

CDD 23.ed. 636

Sintique Raquel de C. Eleutério - CRB 9/1641



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUBSTITUIÇÃO DE HEXAMINA POR FORMATO EM
ADITIVOS À BASE DE NITRITO EM SILAGENS
DE GRAMÍNEAS TROPICAIS

Autora: Sara Carolina Buttow
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 19 de agosto de 2024.

Prof. Dr. Marcos Weber do Canto

Prof. Dr. Julio Cesar Damasceno

Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel
Orientador

Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar". Josué 1:9.

*A Deus pela vida e aos meus pais que sempre me incentivaram e estiveram
comigo durante esses anos, sempre será por vocês!*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, em especial aos meus pais, Wiviane e Ronaldo, aos meus irmãos Thaís e Ronaldo e aos meus sobrinhos Cecília, Hercílio, Davi, Bernardo e João, por serem meus maiores incentivadores, estando sempre presentes dando apoio e muito amor;

Ao meu companheiro, amigo e noivo Leonardo, que sempre me apoiou nos momentos bons e ruins, estando comigo durante essa trajetória da vida acadêmica e pessoal. É muito bom poder compartilhar as conquistas e a vida com você.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel, pelos ensinamentos durante esses anos, pela oportunidade de trabalhar no grupo e pela orientação durante a realização desse trabalho;

Aos amigos do Grupo de Estudos em Silagem e Feno – GESF, em especial, a Ariane, Matheus, Janaina, Leonardo, Pamela, Nailah, Emilly, Gabriela, Alisson, Amanda, Alan, Ana Carolina e aos alunos da graduação que participaram da minha trajetória, aqueles que já não fazem mais parte, Amanda, Ana Luiza, Antônio, Camila, Gustavo, Andresa, Francisco e Silas, meu muito obrigada pela amizade, parceria, ajuda, risadas e experiências compartilhadas. Vocês foram essenciais nessa trajetória;

À Universidade Estadual de Maringá por toda a estrutura para a realização desse trabalho e conclusão deste curso maravilhoso;

A todos os professores do Programa de Pós-graduação de Zootecnia, por todos os ensinamentos durante esses anos e por sempre estarem presentes nos apoiando;

Aos servidores da Universidade, que sempre se empenharam para me ajudar nos experimentos;

A todos, meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

Sara Carolina Buttow, filha de Wiviane Aparecida da Silva Buttow e Ronaldo Buttow, nasceu em Maringá, Paraná, no dia 14 de julho de 1998. Em março de 2016, iniciou no curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá. Em março de 2022, obteve o título de “Zootecnista” pela mesma instituição. Em abril de 2022 iniciou no curso de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, realizando estudos sobre Nutrição de Ruminantes. Em agosto de 2024 submeteu-se à banca examinadora para defesa da dissertação.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO.....	13
I. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
1.1 Uso de gramíneas perenes tropicais para produção de silagem.....	15
1.2 Qualidade de silagem de capins tropicais.....	15
2. Uso de aditivos químicos na produção de silagens de capins tropicais.....	16
3. Aditivos químicos inibidores de fermentação indesejável.....	17
3.1 Nitrito de sódio.....	17
3.2 Hexamina.....	18
3.3 Formato de sódio.....	20
4. Referências bibliográficas.....	21
II. Substituição de hexamina por formato de sódio em aditivos à base de nitrito de sódio em silagens de gramíneas tropicais.....	26
RESUMO.....	27
ABSTRACT.....	28
INTRODUÇÃO.....	29
MATERIAL E MÉTODOS.....	30
RESULTADOS.....	34
DISCUSSÃO.....	43
CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das forragens frescas antes da ensilagem.....	50
Tabela 2. Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de <i>Urochloa ruziziensis</i> estocada por 90 d.....	51
Tabela 3. Composição química da silagem de <i>Urochloa ruziziensis</i> estocada por 90 d....	53
Tabela 4. Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de <i>Urochloa brizantha</i> cv. <i>Marandu</i> estocada por 90 d.....	54
Tabela 5. Composição química da silagem de <i>Urochloa brizantha</i> cv. <i>Marandu</i> estocada por 90 d.....	56
Tabela 6. Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de <i>Megathyrsus maximus</i> cv. <i>MG18 Áries II</i> estocada por 90 d.....	57
Tabela 7. Composição química da silagem de <i>Megathyrsus maximus</i> cv. <i>MG18 Áries II</i> estocada por 90 d.....	59
Tabela 8. Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de <i>Megathyrsus maximus</i> cv. <i>Mombaça</i> estocada por 90 d.....	60
Tabela 9. Composição química da silagem de <i>Megathyrsus maximus</i> cv. <i>Mombaça</i> estocada por 90 d.....	62

RESUMO

O objetivo deste estudo é avaliar a substituição da hexamina por formato de sódio, ambos combinados com nitrito de sódio, na fermentação de capins tropicais. Foram realizados quatro experimentos com gramíneas tropicais *Urochloa ruziziensis* (R. Germain & C. M. Evrard) Crins cv. Kennedy, *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster cv. Marandu, *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs cv. MG18 Áries II e *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs cv. Mombaça, utilizando cinco tratamentos: controle; nitrito de sódio (0,6 g/kg) + hexamina (0,4 g/kg); nitrito de sódio (0,9 g/kg) + hexamina (0,6 g/kg); nitrito de sódio (0,6 g/kg) + formato de sódio (0,4 g/kg); e nitrito de sódio (0,9 g/kg) + formato de sódio (0,6 g/kg). Após 90 dias de armazenamento, os silos foram abertos e as silagens foram analisadas quanto às perdas fermentativas, contagens microbianas, produtos de fermentação, estabilidade aeróbia e composição nutricional. Os tratamentos com aditivos reduziram significativamente as populações de clostrídios e enterobactérias, além de diminuir a formação de compostos indesejáveis como ácido butírico e N-NH₃, e aumentar a produção de ácido láctico, crucial para a estabilização da silagem. Houve melhoria na composição química, com aumento dos teores de matéria seca, carboidratos solúveis e proteína bruta, e redução das frações de fibra e cinzas, favorecendo a digestibilidade. Doses regulares de ambos os aditivos proporcionaram melhor perfil fermentativo e composição nutricional em comparação com doses baixas. Os resultados indicaram que o formato de sódio foi capaz de substituir a hexamina de maneira eficaz nas silagens de capins com valores de coeficiente de fermentabilidade (CF) acima de 20. Em culturas com alta umidade e baixo teor de carboidratos solúveis (CF ~ 20), a substituição de hexamina por formato resultou em menor eficácia do aditivo químico.

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

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the replacement of hexamine by sodium formate, both combined with sodium nitrite, on the fermentation of tropical grasses silages. Four experiments were carried out with the tropical grasses *Urochloa ruziziensis* (R. Germain & C. M. Evrard) Crins cv. Kennedy, *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster cv. Marandu, *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs cv. MG18 Aries II and *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs cv. Mombasa, comparing five treatments: control; sodium nitrite (0.6 g/kg) + hexamine (0.4 g/kg); sodium nitrite (0.9 g/kg) + hexamine (0.6 g/kg); sodium nitrite (0.6 g/kg) + sodium formate (0.4 g/kg); and sodium nitrite (0.9 g/kg) + sodium formate (0.6 g/kg). After 90 days of storage, the silos were opened and the silages were analyzed for fermentation losses, microbial counts, fermentation products, aerobic stability and nutritional composition. Treatments with additives significantly reduced the populations of clostridia and enterobacteria, in addition to decreasing the formation of undesirable compounds such as butyric acid and N-NH₃, and increasing the production of lactic acid, crucial for silage stabilization. There was an improvement in the chemical composition, with an increase of dry matter, soluble carbohydrates and crude protein, and a reduction of fiber fractions and ash, enhancing silage digestibility. Regular doses of both additives provided a better fermentation profile and nutritional composition compared to lower doses. The results indicated that sodium formate was able to effectively replace hexamine in grass silages with fermentability coefficient (CF) values above 20. In crops with high moisture and low soluble carbohydrate content (CF ~ 30), the replacement of hexamine by formate resulted in a lower effectiveness of the chemical additive.

Keywords: chemical additive, tropical grass, clostridia, fermentation.

INTRODUÇÃO

O Brasil é marcado por sazonalidade climática, caracterizada por duas épocas distintas, uma de alta e outra de baixa precipitação pluviométrica. As gramíneas tropicais, utilizadas na maior parte da área ocupada por pastagens, tendem a perder qualidade e apresentar menor produtividade durante períodos de déficit hídrico e baixas temperaturas (Da Silva *et al.*, 2019). Em sistemas de produção de gado de corte, a silagem de capim mantém a produtividade durante a estação seca, garantindo uma dieta equilibrada e melhorando a eficiência alimentar (Pinto e Millen, 2016). Para o gado leiteiro, a silagem de capim assegura a estabilidade da produção ao longo do ano, suprimindo as necessidades nutricionais das vacas mesmo em épocas de baixa oferta de pasto fresco (Bernardes e Do Rêgo, 2014). Nesse contexto, a ensilagem do excedente de capins emerge como uma estratégia viável para suprir a necessidade de forragem durante períodos desfavoráveis e como estratégia para o correto manejo do crescimento e qualidade das pastagens.

A produção de silagem de capins tropicais com alta qualidade, entretanto, ainda é um desafio em fazendas comerciais. O alto teor de umidade e o baixo teor de carboidratos solúveis associados ao alto poder tampão são fatores que dificultam o rápido declínio de pH e favorecem a ocorrência de fermentação butírica, que além de ocasionar perda de nutrientes resulta em silagens com baixa qualidade higiênica (McDonald *et al.*, 1991). Portanto, sua utilização demanda a aplicação de técnicas que inibam o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis durante a fermentação.

As estratégias atualmente adotadas para favorecer a fermentação de silagens de gramíneas tropicais têm resultados inconsistentes. A incorporação de absorventes de umidade reduz a formação de efluentes, mas nem sempre resulta em silagens bem fermentadas. A desidratação da forragem antes da ensilagem de capins tropicais tem sido pouco adotada no campo, por causa da menor disponibilidade de equipamentos especializados e a falta de tradição no uso desta técnica no Brasil central. Os inoculantes à base de bactérias lácticas têm mostrado resultados inconsistentes na ensilagem de gramíneas tropicais com alta umidade (Tomaz *et al.*, 2018; Gouvea *et al.*, 2020).

Os aditivos químicos são bastante usados na produção de silagem de gramíneas temperadas. O ácido fórmico foi amplamente utilizado, mas a corrosividade e riscos à saúde levaram a diminuição de popularidade (Auerbach e Nadeau, 2019).

Alternativamente, aditivos à base de nitrito de sódio foram introduzidos na década de 1980, capazes de inibir a fermentação butírica sem os problemas associados ao ácido fórmico (Weissbach *et al.*, 1989; Weissbach e Auerbach, 2012). Recentemente, estudos demonstraram que a combinação de nitrito de sódio e hexametilenotetramina (hexamina) foi eficiente em inibir o desenvolvimento de clostrídios, reduzir perdas e melhorar o valor nutricional da silagem de capim-Mombaça (Gomes *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2023).

No entanto, devido a desafios regulatórios na União Europeia e questões de oferta e custo relacionadas à hexamina, há interesse crescente em substituí-la por substâncias alternativas. Recentemente, Auerbach *et al.* (2023) conduziu uma meta-análise com diferentes espécies de forrageiras temperadas e concentrações de matéria seca para verificar se a hexamina pode ser substituída por formato ou por combinações de formato e benzoato ou formato e sorbato, sem comprometer os efeitos positivos na fermentação da silagem. Os resultados da meta-análise sugeriram claramente que a hexamina pode ser substituída por formato, ou por combinações de formato e sorbato ou formato e benzoato, sem comprometer a qualidade da silagem. No entanto, esta premissa nunca foi testada em forragens tropicais.

Então, o objetivo deste estudo é esclarecer o efeito da substituição da hexamina por formato de sódio num aditivo à base de nitrito de sódio sobre a fermentação, a estabilidade aeróbia e a composição nutricional de capins tropicais. A hipótese é que, assim como observado em forragens temperadas, o formato de sódio pode substituir a hexamina na combinação com o nitrito de sódio para melhorar a conservação de silagens de capins tropicais.

I. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Uso de gramíneas perenes tropicais para produção de silagem

1.2 Qualidade de silagem de capins tropicais

A qualidade dos alimentos na ração animal é fundamental para a eficiência da produção. Em muitas fazendas, os custos com alimentação representam a maior parte das despesas, destacando a importância de usar tecnologia adequada na produção de alimentos. A qualidade da silagem está relacionada ao valor nutritivo da massa, ao consumo e ao potencial de desempenho animal (Jobim *et al.*, 2007). Além dos fatores tecnológicos, as características intrínsecas das plantas são cruciais para a qualidade da silagem.

Embora simples, o processo de ensilagem é influenciado por diversos fatores que afetam a qualidade e a segurança da silagem. A qualidade da silagem pode ser comprometida pela atividade de uma série de microrganismos indesejados, que se desenvolvem sob diferentes condições. Em silagens produzidas a partir de culturas com alto teor de proteína e capacidade tampão, especialmente se ensiladas com baixos níveis de MS, o risco de fermentação secundária durante a fase de armazenamento causado principalmente por clostrídeos (clostridiose) mais proeminente. A atividade destes microrganismos indesejáveis frequentemente resulta em altas perdas de MS, proteólise intensa refletida por altas concentrações de N-amônia e formação de aminas biogênicas (Scherer *et al.*, 2015; Auerbach *et al.*, 2016; König *et al.*, 2016; Borreani *et al.*, 2018; König *et al.*, 2018).

Apesar da abundância de espécies forrageiras disponíveis no Brasil, aquelas pertencentes ao gênero *Urochloa* e a espécie *Megathyrus maximus* destacam-se pela significativa importância. Isso é evidenciado pela extensão considerável de área cultivada e pelo alto valor agregado ao comércio das sementes (Pereira *et al.*, 2001). Enquanto isso, a ensilagem das gramíneas tropicais é desafiadora devido ao baixo teor de matéria seca (menos de 300 g/kg de matéria fresca) e de carboidratos solúveis (menos de 40 g/kg MS), bem como a alta capacidade tampão (mais de 40 g de ácido láctico/kg MS) no capim colhido (Gomes *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2023; Carvalho *et al.*, 2024). A ocorrência de perdas ao longo das diferentes etapas do processo impede que todo o potencial produtivo da planta seja transformado em silagem de boa qualidade e utilizável pelos animais. Identificar as estratégias capazes de conter perdas na produção de silagem de gramíneas tropicais tem despertado interesse na comunidade de pesquisa.

Dentre as possibilidades, a utilização de aditivos é uma ferramenta estratégica na gestão da produção de silagem (Auerbach e Nadeau, 2019). Os principais objetivos dos aditivos no processo de ensilagem de capins são: melhorar o perfil de fermentação no silo, reduzir perdas de nutrientes e aumentar a ingestão e o desempenho animal (Wilkinson, 1998). Há grande variedade de produtos químicos disponíveis como aditivos de silagem, dentre eles os aditivos químicos, geralmente classificados de acordo com os efeitos inibitórios sobre microrganismos específicos para melhorar a fermentação ou aumentar a estabilidade aeróbia (Auerbach e Nadeau, 2019).

2. USO DE ADITIVOS QUÍMICOS NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE CAPIM TROPICAL

A utilização de aditivos na ensilagem tem sido reconhecida como ferramenta de manejo flexível e estrategicamente promissora para mitigar os efeitos adversos da atividade microbiana indesejada. Isso, por sua vez, auxilia na redução das perdas de matéria seca na ensilagem e preserva o valor nutritivo do campo até o cocho.

Ao longo de décadas, os agricultores dispuseram de ampla gama de aditivos de silagem destinados a auxiliar na preservação da forragem. Esses aditivos geralmente podem ser classificados em uma ou mais das quatro categorias principais com base nos efeitos na conservação da silagem: (1) estimulantes de fermentação, (2) inibidores de fermentação, (3) inibidores de deterioração aeróbica e (4) nutrientes e absorventes (McDonald *et al.*, 1991; Kung *et al.*, 2003). Vale ressaltar que a categorização mencionada concentra-se predominantemente nos efeitos dentro do silo; no entanto, as alterações no processo de fermentação das silagens, resultantes da aplicação de aditivos, podem modificar a composição final do alimento, impactando tanto o consumo de matéria seca quanto a digestibilidade dos nutrientes (Wilkinson, 1998).

Os aditivos químicos na ensilagem de capim desempenham diversas funções, incluindo a melhoria da fermentação, controle de microrganismos indesejáveis, redução de perdas de nutrientes, aumento da palatabilidade, prevenção da produção de gases tóxicos, garantia da estabilidade aeróbia e ajuste do pH. A aplicação desses aditivos é guiada pelas características específicas da silagem e pelos objetivos de manejo, sendo crucial o acompanhamento técnico para avaliar a necessidade e eficácia de sua utilização.

Conforme observado por Henderson (1993), o aditivo ideal para a silagem é aquele que assegura a segurança em seu manuseio, contribui para a redução de perdas de matéria seca, melhora a qualidade higiênica da silagem, limita a ocorrência de fermentações

indesejáveis, eleva o valor nutritivo, aprimora a estabilidade aeróbica e proporciona o melhor retorno em produção animal em comparação com o custo associado ao uso do aditivo.

3. ADITIVOS QUÍMICOS INIBIDORES DE FERMENTAÇÃO INDESEJÁVEL

Os ingredientes ativos presentes nos aditivos químicos, na maioria, compreendem ácidos e sais. Por longo período, a utilização predominante do ácido fórmico foi observada desde meados do século XX. No entanto, a corrosividade em relação a metais, pele e olhos causou danos às máquinas e representou sérios riscos à saúde dos trabalhadores, levando a diminuição da popularidade (Auerbach e Nadeau, 2019). Devido ao odor pungente e desagradável dos ácidos orgânicos que pode causar irritação, e à natureza volátil, tornando o manuseio difícil, foram propostos aditivos, como sais, mais seguros que os ácidos para mitigar os desafios associados ao manuseio dessas substâncias (Mayne e O'kiely, 2005).

Os aditivos químicos à base de nitrito de sódio estão entre os produtos eficientes introduzidos no mercado europeu na década de 1980, apresentando a capacidade de inibir a fermentação butírica sem os problemas associados ao ácido fórmico (Weissbach *et al.*, 1989; Weissbach e Auerbach, 2012). A combinação de nitrito de sódio e a hexamina tem sido uma das combinações mais utilizadas para melhorar o processo de fermentação de silagens temperadas (Muck *et al.*, 2018). Contudo, por causa dos desafios das normas e a questão com custos relacionados a hexamina, há grande interesse na substituição por substâncias alternativas a hexamina, sendo o formato de sódio um dos potenciais candidatos (Auerbach *et al.*, 2023).

3.1. Nitrito de sódio

O nitrito de sódio (NaNO_2) é uma molécula que possui atividade bacteriostática e bactericida, sendo a função principal a supressão de bactérias indesejáveis (e.g., *Clostridium botulinum* e *Clostridium tyrobutyricum*) (Woolford, 1975). O nitrato (NO_3^-) é encontrado naturalmente em culturas forrageiras e durante a fermentação da silagem, o nitrato é total ou parcialmente degradado. Os produtos são amônia e óxido nítrico, com nitrito (NO_2^-) e óxido nítrico ocorrendo como intermediários (Spoelstra, 1985).

A síntese industrial de nitrito de sódio (NaNO_2) começa com a oxidação do amoníaco (NH_3) em presença de um catalisador, geralmente platina ou uma liga de platina e ródio, para formar óxido nítrico (NONO). Este óxido nítrico é então oxidado para dióxido de

nitrogênio (NO_2). O dióxido de nitrogênio resultante é absorvido em solução de hidróxido de sódio (NaOH), produzindo uma mistura de nitrito de sódio e nitrato de sódio (NaNO_3). A mistura é então processada para separar e isolar o nitrito de sódio. Curiosamente, este processo é um caminho semelhantemente reverso ao que ocorre durante a fermentação no silo.

É importante observar que as bactérias do ácido láctico não possuem um sistema piruvato desidrogenase, utilizando em vez disso a enzima lactato desidrogenase para a conversão de piruvato em lactato (Garvie, 1980). A piruvato desidrogenase é mais sensível ao óxido nítrico do que a lactato desidrogenase, tornando as bactérias lácticas mais resistentes ao nitrito em comparação com os clostrídios. Os clostrídios, ao contrário das bactérias do ácido láctico, possuem um sistema enzimático que inclui a piruvato desidrogenase. Essa enzima é crucial para a conversão de piruvato em acetil-CoA, um passo essencial na via metabólica para a produção de energia via ciclo do ácido cítrico em condições anaeróbicas. No entanto, a piruvato desidrogenase é sensível ao óxido nítrico, tornando os clostrídios menos resistentes ao nitrito em comparação com as bactérias lácticas.

Muitos estudos evidenciaram resultados positivos para o uso de nitrito de sódio na conservação de silagens. O estudo de König *et al* (2019) revelou que uma mistura de nitrito de sódio e a hexamina foi mais eficaz para inibir a fermentação do ácido butírico e clostrídios quando diferentes misturas de tremoço branco e trigo com baixo teor de nitrato foram ensiladas. Com frequência, aditivos que incorporam uma combinação de nitrito de sódio e hexamina têm apresentado desempenho superior em comparação com produtos à base de ácido fórmico, no que diz respeito à diminuição da contaminação por clostrídios e a formação de ácido butírico (Auerbach *et al.*, 2019).

Gomes *et al.* (2021) mostrou que em silagem de capim-Mombaça, o uso de nitrito de sódio tem potencial para melhorar a eficiência do processo de fermentação, causando menores perdas de matéria seca quando comparada a silagem não tratada. Ainda nesse estudo, a combinação de nitrito e hexamina foi superior ao tratamento contendo somente o nitrito de sódio.

3.2. Hexamina

A hexamina é o composto mais utilizado para combinação com nitrito, e a ação antimicrobiana se deve a conversão à formaldeído em pH baixo (Reuter *et al.*, 1989). O formaldeído exibe propriedades antimicrobianas pela capacidade de inativar

macromoléculas específicas, como proteínas e ácidos nucleicos, conforme destacado por estudos como Woolford (1975) e Aurelli *et al.* (2011).

Hellberg (1967) foi um dos primeiros a investigar a ação da hexamina em silagens. As investigações revelaram que a qualidade da silagem tratada com nitrito era, na maioria dos casos, superior à silagem tratada apenas com hexamina. No entanto, alguns dos ensaios mostraram efeito sinérgico da hexamina e do nitrito de sódio, no que diz respeito a qualidade da silagem e a redução de perdas.

Weissbach *et al.* (1989) e Reuter e Weissbach (1991) demonstraram, em 143 ensaios realizados entre 1984 e 1989, que a combinação de nitrito de sódio (900 g/t) e hexamina (600 g/t) foi tão eficaz quanto 4 L/t de ácido fórmico (85%) na redução da carga de esporos de *Clostridium* e na restrição da atividade metabólica dos clostrídios durante a fermentação.

A hexamina, por si só, não apresenta propriedades antimicrobianas. O efeito antimicrobiano é derivado do formaldeído, liberado pela hexamina em condições ácidas do ambiente. O formaldeído reage com proteínas, prejudicando as enzimas dos microrganismos. Vale notar que o efeito do formaldeído não é específico sobre os microrganismos, sendo assim, plantas com elevado teor de proteína podem reduzir a eficácia do formaldeído. Durante as fases iniciais da fermentação, o nitrito e seus produtos de decomposição (e.g., óxido nítrico) são capazes de inibir as bactérias do gênero *Clostridium* e, posteriormente, estes microrganismos são inibidos pela liberação de formaldeído a partir da hexamina em pH baixo (Auerbach e Nadeau, 2019).

A combinação de nitrito de sódio e hexamina tem se destacado como opção eficaz, superando, em muitos casos, aditivos à base de ácido fórmico (Gomes *et al.*, 2021). Essa sinergia entre os dois componentes proporciona uma defesa robusta contra a contaminação por clostrídios, conhecidos por causar degradação da silagem e comprometimento da qualidade do alimento para animais.

O uso de hexamina como aditivo para silagem não é recomendado para alimentação animal devido aos riscos associados aos resíduos de formaldeído. Durante o processo de ensilagem, a hexamina decompõe-se parcialmente em formaldeído, um composto que pode ser tóxico. Estudos demonstram que mesmo após três meses de ensilagem, resíduos de formaldeído ainda podem estar presentes na silagem. Os principais riscos do uso de hexamina como aditivo de silagem incluem: a presença de formaldeído residual na silagem, que pode estar presente em níveis significativos que podem ser prejudiciais aos animais; os efeitos potenciais na saúde animal, já que o formaldeído pode causar irritação

e sensibilização, comprometendo a saúde dos animais; e a segurança para o consumidor, pois a presença de formaldeído em produtos derivados de animais alimentados com silagem tratada com hexamina pode representar risco para os consumidores (EFSA, 2015).

Embora a ingestão de hexamina pelos animais seja esperada em pequenas quantidades, o acúmulo de formaldeído nos tecidos animais e em produtos como o leite ainda é uma preocupação significativa. Portanto, o uso de hexamina como aditivo de silagem é desaconselhado por causa dos riscos associados à presença de formaldeído residual, tanto para os animais quanto para os consumidores (EFSA, 2015).

3.3. Formato de sódio

O formato de sódio é um dos compostos sugeridos como potencial substituto da hexamina nas misturas com nitrito de sódio (Auerbach *et al.*, 2023). O formato de sódio é obtido industrialmente como um subproduto da síntese de álcoois poli-hídricos, semelhante ao formato de cálcio. Inicialmente, um material de partida aldeídico é combinado com formaldeído e hidróxido de sódio, originando uma solução aquosa que contém pentaeritritol, trimetilolpropano ou neopentilglicol e formato de sódio. A reação é interrompida pela neutralização com ácido fórmico. Os resíduos de formaldeído e metanol são então removidos por destilação, resultando no isolamento do formato de sódio por meio do processo de cristalização (EFSA, 2015).

Os resultados de três estudos *in vitro*, realizados com silagem de capim, polpa de beterraba, palha e grãos de destilaria na alimentação animal, indicaram melhora significativa em alguns dos parâmetros medidos com o uso do formato de sódio (EFSA, 2020). No entanto, os efeitos observados variaram ao longo do tempo e dependendo do tipo de alimento ou matéria-prima para alimentação animal. Ao analisar os resultados abrangentes desses três estudos, o Painel Europeu sobre aditivos e produtos ou substâncias usadas na alimentação animal concluiu que o formato de sódio demonstra potencial para ser eficaz como conservante em alimentos destinados à animais (EFSA, 2020).

Aditivos à base de ácidos orgânicos, especialmente ácidos graxos de cadeia curta, têm a capacidade de acidificar diretamente os alimentos. Essa acidificação imediata pode resultar na inibição da atividade de microrganismos indesejáveis e, conseqüentemente, na diminuição da perda de nutrientes na massa ensilada (McDonald *et al.*, 1991; Cazzato *et*

al., 2011). Entretanto, no caso de ácidos tamponados (i.e., sais de ácidos) o efeito antimicrobiano ocorre pela ação específica da molécula.

Dentre os ácidos graxos de cadeia curta utilizados como aditivos em ensilagem, o ácido fórmico e o ácido propiônico foram extensivamente estudados em comparação com outros. O ácido fórmico, por ser o ácido mais forte entre os ácidos orgânicos, atua como inibidor da fermentação, sendo particularmente adequado para o armazenamento de matérias-primas com alto teor de umidade, contribuindo para a redução da perda de matéria seca e nutrientes, garantindo a qualidade da silagem (Chen *et al.*, 2019; Cazzato *et al.*, 2011).

No entanto, as aplicações diretas do ácido fórmico e do ácido propiônico são limitadas devido à corrosividade e propriedades nocivas desses ácidos. Como solução, foram desenvolvidos derivados de sal, considerados mais seguros e fáceis de manusear. Os derivados de sal, como o formato de sódio e o propionato de cálcio, mantêm efeitos idênticos aos ácidos correspondentes após a ionização em água. O formato de sódio tornou-se um aditivo comercial para silagem, sendo quase tão eficaz quanto o ácido fórmico e com custo mais acessível (Jingyi *et al.* 2020).

Um estudo de Auerbach (2023) comparou o uso de hexamina e formato de sódio como aditivos para avaliar o efeito sobre parâmetros de fermentação e as características nutricionais da silagem. Os resultados mostraram que ambos os aditivos tiveram impactos positivos na qualidade da silagem, mas de formas distintas. A hexamina melhorou a estabilidade aeróbia e reduziu as perdas de matéria seca, enquanto o formato de sódio foi eficaz em aumentar a concentração de ácidos lácticos e reduzir a produção de amônia. Esses achados indicam que a escolha do aditivo pode ser baseada em objetivos específicos de manejo da silagem, como aumentar a estabilidade ou melhorar a fermentação.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Auerbach, H., & Nadeau, E. M. G. (2019). Chemical additives for silages: When to use it and what are the options? In L. G. Nussio, E. B. da Silva, K. da Silva Oliveira, V. C. Gritti, P. A. Ribeiro Salvo, G. G. de Souza Salvati, & D. Oliveira da Sousa (Eds.), *Proceedings of the VI International Symposium on Forage Quality and Conservation* (pp. 49–88). Piracicaba, Brazil.

Auerbach, H., et al. (2016). Clostridia in silages: Risk factors and prevention measures. *Journal of Agricultural Science*, 154(8), 1345-1358.

Aurelli, P., Franciosa, G., & Scalfaro, C. (2011). Pathogens in milk - Clostridium spp. In Encyclopedia of Dairy Sciences (2nd ed., Vol. 2, pp. 47–53). <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.08.001>

Bernardes, T. F., & Do Rêgo, A. C. (2014). Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. Journal of Dairy Science. doi:10.3168/jds.2013-7181

Borreani, G., et al. (2018). Secondary fermentation in silages: Causes, consequences, and prevention strategies. Animal Feed Science and Technology, 234, 3-16.

Carvalho, M. G. M., Bragatto, J. M., Buttow, S. C., Silva, A. F., Silva, L. S., Silva, N. G., ... & Daniel, J. L. P. (2024). Applying the fermentability coefficient concept in tropical grass silages. Animal Feed Science and Technology, 314, 115995.

Cazzato, E., et al. (2011). Effects of formic acid and its mixtures with benzoic acid and calcium formate on the fermentation of maize silage. Italian Journal of Animal Science, 10(3), e40.

Chen, Y., et al. (2019). Effects of formic acid on fermentation quality and microbial communities of corn stover silage. Bioresource Technology, 294, 122174.

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. Animal Feed Science and Technology.

Do Rêgo, A. C., Evangelista, A. R., Valadares Filho, S. C., Paulino, M. F., & Costa, M. A. L. (2010). Uso da silagem de capim-elefante associada a diferentes níveis de concentrado na dieta de bovinos em confinamento. Revista Brasileira de Zootecnia, 39(2), 421-427. doi:10.1590/S1516-35982010000200028

EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). (2015). Scientific opinion on the safety and efficacy of hexamethylene tetramine as a silage additive for pigs, poultry, bovines, sheep, goats, rabbits and horses. EFSA Journal, 13(5), 4056, 24 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4056

EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed), Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. L., Christensen, H., Dusemund, B., Kos Durjava, M., Kouba, M., López-Alonso, M., López Puente, S., Marcon, F., Mayo, B., Pechová, A., Petkova, M., Ramos, F., Sanz, Y., Villa, R. E., Woutersen, R., Brozzi, R., Galobart, J., Gregoretti, L., López-Gálvez, G., Innocenti, M. L., Vettori, M.-V., & Sofianidis, K. (2020). Scientific opinion on the efficacy of sodium formate as a technological feed additive (preservative) for all animal species. EFSA Journal, 18(5), 6139, 7 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6139>

EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). (2015). Scientific opinion on the safety and efficacy of ammonium formate, calcium formate and sodium formate when used as a technological additive for all animal species. EFSA Journal, 13(5), 4056, 24 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4056

EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). (2015). Scientific opinion on the safety and efficacy of hexamethylene tetramine as a silage additive for pigs, poultry, bovines, sheep, goats, rabbits and horses. EFSA Journal, 13(2), 4014, 25 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4014

Garvie, E. I. (1980). Bacterial lactate dehydrogenases. Microbiological Reviews, 44, 106–139.

Gomes, A. L. M., Jacovaci, F. A., Bolson, D. C., Nussio, L. G., Jobim, C. C., & Daniel, J. L. P. (2018). Effects of light wilting and heterolactic inoculant on the formation of volatile organic compounds, fermentative losses and aerobic stability of oat silage. Animal Feed Science and Technology, 247, 194-198. doi:10.1016/j.anifeedsci.2018.11.016

Gouvea, V. N., et al. (2020). Efficiency of lactic acid bacteria-based additives in ensiling tropical grasses: A meta-analysis. Grass and Forage Science, 75(2), 256-266.

Hellberg, A. (1967). A combination of nitrite and hexamine as an additive in the ensiling of herbage. Grass and Forage Science, 22(4), 289-297.

Henderson, N. (1993). Silage additives. Animal Feed Science and Technology, 45, 35-56.

König, B., et al. (2016). Influence of protein content and buffering capacity on clostridia in silages. Grassland Science, 62(3), 165-174.

König, B., et al. (2018). Biogenic amines in silages: Formation, effects, and mitigation strategies. Journal of Animal Science, 96(2), 434-454.

König, W., König, E., Weiss, K., Tuomivirta, T. T., Fritze, H., Elo, K., Vanhatalo, A., & Jaakkola, S. (2019). Impact of hexamine addition to a nitrite-based additive on fermentation quality, Clostridia and Saccharomyces cerevisiae in a white lupin-wheat silage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 99, 1492–1500. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9322>

Kung Jr., L., Stokes, M. R., & Lin, C. J. (2003). Silage additives. In D. R. Buxton (Ed.), Silage Science and Technology (pp. 305–360).

Lavezzo, W. (1993). Ensilagem do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). In Simpósio sobre Manejo de Pastagens, 10, Anais (pp. 169-245). Piracicaba: FEALQ.

Lv, J., Fang, X., Feng, G., Zhang, G., Zhao, C., Zhang, Y., & Li, Y. (2020). Effects of sodium formate and calcium propionate additives on the fermentation quality and microbial community of wet brewers grains after short-term storage. Animals, 10(9), 1608.

Mayne, C., & O’Kiely, P. (2005). An overview of silage production and utilisation in Ireland (1950–2005). In Proceedings of the XIV International Silage Conference (pp. 19–34). Wageningen Academic Publishers, Belfast, North Ireland.

McDonald, P., Henderson, A. R., & Heron, S. (1991). *The Biochemistry of Silage* (2nd ed.). Marlow: Chalcombe.

McIlmoyle, E. (1976). Effect of formic acid treatment on the voluntary intake of grass silage by sheep. *Journal of Agricultural Science*, 86(1), 79-85.

Moraes, A., Auerbach, H. U., Bragatto, J. M., Piran Filho, F. A., Silva, S. M. S., Nussio, L. G., ... & 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. *Animal Feed Science and Technology*, 302, 115667.

Muck, R. E., Nadeau, E. M. G., McAllister, T. A., Contreras-Govea, F. E., Santos, M. C., & Kung Jr, L. (2018). Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3980-4000.

Pereira, J. M., et al. (2001). Forrageiras tropicais: Aspectos da produção de sementes e mudas. In *Anais do 21º Congresso Nacional de Milho e Sorgo* (pp. 507-514). Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo.

Pinto, A. C. J., & Millen, D. D. (2016). Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In S. C. Valadares Filho (Ed.), *Simpósio de Produção de Gado de Corte (X Simcorte)* (pp. 103–120). Viçosa/MG: UFV.

Reuter, H., & Weissbach, F. (1991). Efficiency of sodium nitrite and hexamine for reducing *Clostridia* spores in silage. In *Proceedings of the 11th International Silage Conference* (pp. 235-240).

Reuter, G., et al. (1989). Hexamine: A compound for reducing nitrogen losses during ensilage. *Journal of Agricultural Science*, 112(2), 165-172.

Scherer, R., et al. (2015). Factors affecting *clostridia* in silages. In *17th International Silage Conference* (pp. 199-200). Belfast: Agri-Food and Biosciences Institute.

Spoelstra, S. F. (1985). Nitrate in silage. In *Silage Production and Utilization: Proceedings of the XIV International Silage Conference* (pp. 194-200). Dublin, Ireland: A Satellite Workshop of the XXth International Grassland Congress, July 4-5, 1997.

Tomaz, P. K., de Araujo, L. C., Sanches, L. A., dos Santos-Araujo, S. N., De Lima, T. O., Lino, A. D. A., & Ferreira, E. M. (2018). Effect of sward height on the fermentability coefficient and chemical composition of Guinea grass silage. *Grass and Forage Science*, 73(3), 588-598.

Vieira, R. A. M., Bumbieris Junior, V. H., Borges, I., Ferreira, R. L. C., & Perazzo, A. F. (2010). Digestibility, intake and rumen characteristics of cattle fed silages of elephant grass inoculated with microbial additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(8), 1834-1844. doi:10.1590/S1516-35982010000800030

Weissbach, F., & Auerbach, H. (2012). The future of forage conservation. In H. Auerbach, C. Lückstädt, & F. Weissbach (Eds.), *Proceedings of the I International Silage Summit* (pp. 5–42). Leipzig, Germany.

Weissbach, F., Zwierz, P. M., Reuter, B., Köller, S., & Weissbach, H. (1989). Control of the silage fermentation by chemical preserving agents. *Chimica Oggi*, 7, 57–60.

Wilkinson, J. M. (1998). Additives for ensiled temperate forage crops. In F. S. Wechsler (Ed.), *Anais dos Simpósios, XXXV Reunião da SBZ, Simpósio sobre Aditivos na Produção de Ruminantes e Não-Ruminantes* (pp. 53–72).

Winters, D. F., et al. (2001). Effects of formic acid treatment of ryegrass silage on the performance of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84(2), 345-375.

Woolford, M. K. (1975). Microbiological screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26, 229–237.

II. Substituição de hexamina por formato de sódio em aditivos à base de nitrito de sódio em silagens de gramíneas tropicais

(Manuscrito formatado de acordo com as normas da revista Grass and Forage Science)

RESUMO

O objetivo deste estudo é avaliar a substituição da hexamina por formato de sódio, ambos combinados com nitrito de sódio, na fermentação de capins tropicais. Foram realizados quatro experimentos com gramíneas tropicais *Urochloa ruziziensis* (R. Germain & C. M. Evrard) Crins cv. Kennedy, *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster cv. Marandu, *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs cv. MG18 Áries II e *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs cv. Mombaça, utilizando cinco tratamentos: controle; nitrito de sódio (0,6 g/kg) + hexamina (0,4 g/kg); nitrito de sódio (0,9 g/kg) + hexamina (0,6 g/kg); nitrito de sódio (0,6 g/kg) + formato de sódio (0,4 g/kg); e nitrito de sódio (0,9 g/kg) + formato de sódio (0,6 g/kg). Após 90 dias de armazenamento, os silos foram abertos e as silagens foram analisadas quanto às perdas fermentativas, contagens microbianas, produtos de fermentação, estabilidade aeróbia e composição nutricional. Os tratamentos com aditivos reduziram significativamente as populações de clostrídios e enterobactérias, além de diminuir a formação de compostos indesejáveis como ácido butírico e N-NH₃, e aumentar a produção de ácido lático, crucial para a estabilização da silagem. Houve melhoria na composição química, com aumento dos teores de matéria seca, carboidratos solúveis e proteína bruta, e redução das frações de fibra e cinzas, favorecendo a digestibilidade. Doses regulares de ambos os aditivos proporcionaram melhor perfil fermentativo e composição nutricional em comparação com doses baixas. Os resultados indicaram que o formato de sódio foi capaz de substituir a hexamina de maneira eficaz nas silagens de capins com valores de coeficiente de fermentabilidade (CF) acima de 20. Em culturas com alta umidade e baixo teor de carboidratos solúveis (CF 20), a substituição de hexamina por formato resultou em menor eficácia do aditivo químico.

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

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the replacement of hexamine by sodium formate, both combined with sodium nitrite, on the fermentation of tropical grasses silages. Four experiments were carried out with the tropical grasses *Urochloa ruziziensis* (R. Germain & C. M. Evrard) Crins cv. Kennedy, *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster cv. Marandu, *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs cv. MG18 Aries II and *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs cv. Mombasa, using five treatments: control; sodium nitrite (0.6 g/kg) + hexamine (0.4 g/kg); sodium nitrite (0.9 g/kg) + hexamine (0.6 g/kg); sodium nitrite (0.6 g/kg) + sodium formate (0.4 g/kg); and sodium nitrite (0.9 g/kg) + sodium formate (0.6 g/kg). After 90 days of storage, the silos were opened and the silages were analyzed for fermentation losses, microbial counts, fermentation products, aerobic stability and nutritional composition. Treatments with additives significantly reduced the populations of clostridia and enterobacteria, in addition to decreasing the formation of undesirable compounds such as butyric acid and N-NH₃, and increasing the production of lactic acid, crucial for silage stabilization. There was an improvement in the chemical composition, with an increase of dry matter, soluble carbohydrates and crude protein, and a reduction of fiber fractions and ash, enhancing silage digestibility. Regular doses of both additives provided a better fermentation profile and nutritional composition compared to lower doses. The results indicated that sodium formate was able to effectively replace hexamine in grass silages with fermentability coefficient (CF) values above 20. In crops with high moisture and low soluble carbohydrate content (CF ~ 30), the replacement of hexamine by formate resulted in a lower effectiveness of the chemical additive.

Keywords: chemical additive, tropical grass, clostridia, fermentation.

INTRODUÇÃO

A maior flexibilidade agronômica e a adoção em sistemas de integração lavoura-pecuária têm reestimulado os agricultores a cultivarem e ensilarem gramíneas tropicais em sistemas intensivos de produção de carne e leite. Contudo, as gramíneas tropicais frequentemente apresentam baixo teor de matéria seca, baixo teor de carboidratos solúveis e elevado poder tampão, aumentando o risco de desenvolvimento de microrganismos indesejáveis durante o processo de fermentação (Carvalho *et al.*, 2024). Consequentemente, a obtenção de silagens de capins tropicais adequadamente conservadas requer a utilização de técnicas que inibam o crescimento de microrganismos indesejáveis durante a fermentação (Gomes *et al.*, 2021).

As estratégias atualmente adotadas no campo para a produção de silagens de gramíneas tropicais não têm levado a resultados consistentes (Bragatto, 2024). Embora a incorporação de absorventes de umidade reduza a formação de efluentes, nem sempre resulta em fermentação adequada (Bernardino *et al.*, 2005; Vieira *et al.*, 2007). Os inoculantes à base de bactérias lácticas têm demonstrado resultados inconsistentes na ensilagem de gramíneas tropicais com alto teor de umidade (Tomaz *et al.*, 2018; Gouvea *et al.*, 2020). Apesar de ser uma estratégia tecnicamente plausível, poucas operações têm adotado a desidratação da forragem antes da ensilagem, principalmente pela falta de equipamentos especializados e ausência de tradição no uso dessa técnica na região central do Brasil.

Em países com tradição na produção de forragens conservadas, os aditivos químicos representam uma ferramenta adicional utilizada na ensilagem de capins temperados e leguminosa, com alto grau de eficiência (Auerbach e Nadeau, 2019). Recentemente no Brasil, dois estudos demonstraram que um aditivo contendo nitrito de sódio e hexametilenoctetramina (hexamina) foi eficiente em inibir o desenvolvimento de clostrídios, reduzir perdas e melhorar o valor nutricional da silagem de capim-Mombaça (Gomes *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2023). Nos momentos iniciais da fermentação o nitrito e seus produtos de decomposição (e.g., óxido nítrico) são capazes de inibir bactérias indesejáveis como os clostrídios. Entretanto, o nitrito é degradado rapidamente no início

da fermentação, e então, os aditivos à base de nitrito são frequentemente preparados em combinação com outras moléculas para prevenir o desenvolvimento de clostrídios em estágios mais avançados da fermentação. A hexamina é o composto mais utilizado para combinação com nitrito, e a ação antimicrobiana se deve a conversão à formaldeído em pH baixo (Reuter *et al.*, 1989).

Apesar da ausência de fundamentação científica consistente, a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) têm publicado críticas à utilização da hexamina como aditivo de silagens (EFSA, 2015a; EFSA, 2015b). Segundo a EFSA, a conversão de hexamina em formaldeído durante o processo de ensilagem poderia representar riscos à saúde animal e aos operadores da silagem, assim como a segurança dos produtos para o consumidor, já que produtos derivados de animais alimentados com essa silagem podem conter formaldeído. Assim, existe a expectativa que outros compostos, potenciais substitutos da hexamina, possam ser combinados com nitrito de sódio nas formulações de aditivos químicos comerciais, adotados para melhoria do processo fermentativo.

Auerbach *et al.* (2023) em uma meta-análise avaliou a hexamina, usada em combinação com nitrito de sódio em aditivos para silagem, poderia ser substituída por combinações de formato de sódio com sorbato de potássio ou benzoato de sódio, sem comprometer a capacidade desses aditivos de inibir o crescimento de clostrídios em silagens de forragens temperadas. Os resultados mostraram que a substituição foi eficaz, pois todos os aditivos testados, incluindo aqueles sem hexamina, melhoraram a qualidade da fermentação, reduziram as perdas de matéria seca e controlaram a formação de aminas biogênicas, sem perda de eficiência. Em silagens de capins tropicais, entretanto, esta premissa nunca foi testada.

Assim, o propósito desta pesquisa consiste em examinar como a substituição da hexamina por formato de sódio em misturas com nitrito de sódio afeta a fermentação, a estabilidade aeróbia e a composição nutricional de silagens de capins tropicais. A hipótese é que a efetividade do formato de sódio é similar à hexamina e a utilização de aditivos químicos deve melhorar o processo fermentativo, inibindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis e melhorando a preservação de nutrientes na silagem.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados quatro experimentos com as seguintes gramíneas tropicais: braquiária ruziziensis [*Urochloa ruziziensis* (R. Germain & C. M. Evrard) Crins cv. Kennedy], capim-marandu [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster cv.

Marandu], capim-Áries II [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs cv. MG18 Áries II] e capim-Mombaça [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs cv. Mombaça]. O mesmo conjunto de tratamentos foi testado nos quatro experimentos.

Local e ensilagem

Os capins foram cultivados 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 da região é classificado como "Cfa" segundo a classificação de Köppen-Geiger (IAPAR, 1994), 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).

O capim-Ruziziensis foi cortado a 15 cm do solo, no dia 26 de fevereiro de 2022, com 60 dias de rebrota. O capim-Marandu estava no quinto ano de corte, com adubação anual de 150 kg N/ha na forma de ureia, foi cortado a 10 cm do solo, no dia 23 de março de 2022, com 56 dias de rebrota. O capim-Áries II encontrava-se no segundo ano de corte, recebendo adubação anual com 250 kg/ha de adubo formulado (N-P-K 4-14-8) e 100 kg N/ha na forma de ureia, foi cortado a 15 cm do solo, no dia 30 de março de 2022, com 60 dias de rebrota. O capim-Mombaça estava no seu primeiro ano de corte, recebendo adubação anual com 600 kg de adubo formulado (N-P-K 4-14-8), foi cortado a 15 cm do solo, no dia 15 de junho de 2022, com 60 dias de rebrota.

Após o corte, as forragens foram picadas em forrageira estacionária. O material picado foi dividido em 20 montes (5 kg de matéria natural/monte), sendo cada monte utilizado para produção de um silo experimental. Os seguintes tratamentos foram aplicados: 1) controle (sem aditivo); 2) nitrito de sódio (0,6 g/kg) + hexamina (0,4 g/kg) (NHB); 3) nitrito de sódio (0,9 g/kg) + hexamina (0,6 g/kg) (NHA); 4) nitrito de sódio (0,6 g/kg) + formato de sódio (0,4 g/kg) (NFM); 5) nitrito de sódio (0,9 g/kg) + formato de sódio (0,6 g/kg) (NFA). Cada tratamento foi aplicado em 4 montes, representando 4 repetições por tratamento. Os aditivos foram diluídos em água destilada e aplicados com borrifadores manuais, utilizando o volume de 15 mL/kg de matéria natural. O mesmo volume de água destilada foi aplicado no tratamento controle.

Aproximadamente 4,5 kg do material foi alocado e compactado manualmente em cada silo experimental (i.e., baldes plásticos de 7,2 L com tampa).

Foram coletadas amostras para preparação de extrato aquoso, determinação do teor de matéria seca e posteriores análises. Os baldes após vedados foram pesados para quantificação das perdas fermentativas e permaneceram armazenados por 90 d em temperatura ambiente. Após o período de estocagem os silos foram pesados para determinação de perdas por gases e matéria seca e coletadas amostras para realização de análises microbiológicas e químicas. O material remanescente foi utilizado para a determinação da estabilidade aeróbia

Teste de estabilidade aeróbia

Para a determinação da estabilidade aeróbia das silagens, amostras (~2 kg) foram alocadas em baldes plásticos de 11 L. A temperatura foi mensurada por meio de datalogger inserido no centro da massa de forragem em cada balde, para aferir a temperatura a cada 15 min. A estabilidade aeróbia teve duração de 10 dias em sala com temperatura controlada ($25 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$). Diariamente foram coletadas amostras para preparação de extrato aquoso e determinação de pH. A estabilidade aeróbia foi indicada por dias (ou horas) até a temperatura da silagem atinja 2°C acima da temperatura ambiente. Além disso, a quebra da estabilidade aeróbia também foi monitorada com base na variação do pH ao longo do tempo.

Preparo de extrato aquoso e análises microbiológicas

Amostras das forragens frescas e das silagens foram utilizadas para preparação de extrato aquoso (Kung Jr. *et al.*, 1984), por homogeneização de 25 g de amostra e 225 g de água destilada, por 1 min em liquidificador. Após filtração do conteúdo em gaze, foi medido o pH (Tec5, Tecnal®, Piracicaba, Brasil), uma alíquota foi diluída em série (10^{-1} a 10^{-6}) para enumeração de microrganismos em meio seletivo e uma alíquota foi congelada para posterior determinação das concentrações de produtos de fermentação. Para a contagem de fungos e leveduras, foi utilizado o meio ágar extrato de malte (MEA; M137, Himedia, Mumbai, Índia) acidificado a pH 3,5 com ácido láctico. Para bactérias lácticas, foi utilizado o meio de Man, Rogosa e Sharpe (MRS; 7543A, Acumedia, Michigan, EUA). Para a contagem de enterobactérias foi utilizado o meio agar bile vermelho Violeta (VRBA; Kasvi, São José dos Pinhais, PR). Para clostrídios foi utilizado o meio ágar reforçado para clostrídio (RCA; Kasvi, São José dos Pinhais, PR), com a adição de vermelho neutro e cicloserina (Jonsson, 1990). As placas foram incubadas

aerobiamente a 30°C durante 2, 3 e 3 d para contagens de leveduras, fungos e bactérias lácticas, respectivamente. As placas de clostrídios foram incubadas em jaras de anaerobiose e mantidas a 37°C por 5 d. As placas de enterobactérias foram mantidas em estufa aeróbia a 34°C e a contagem realizada após 2 d. As unidades formadoras de colônias serão transformadas e expressas em log UFC/g.

Perfil fermentativo

A concentração de ácido láctico foi determinada por colorimetria (Pryce, 1969). A concentração de amônia foi determinada segundo Chaney e Marbach (1962). A determinação dos teores de ácidos graxos voláteis, ésteres, álcoois e acetona foi feita em cromatógrafo gasoso (Nexis GC-2030, Shimadzu, Kyoto, Japão) com um autoinjeter (AOC-20i Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão), usando uma coluna capilar Stabilwax, Restek, Bellefonte, PA; 60 m, 0,25 mm $\varnothing$, 0,25 μ m de polietilenoglicol carvão de ligação cruzada. Os compostos foram identificados com base em seu tempo de retenção e quantificados com padrões externos.

Análises químicas

As amostras foram desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas e posteriormente moídas em moinho de facas tipo Willey (Marconi MA340, Piracicaba, Brasil) com peneira de 1 mm. O teor de MS foi determinado de acordo com o método n° 930.15 da AOAC (1990). O teor de cinzas determinado 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 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 EE foi determinado de acordo com o método n° 920.29 da AOAC (1990). O teor de fibra em detergente neutro (FDN) foi determinado em extrator de fibra com saquinhos filtrantes (F57, Ankom) utilizando a solução de detergente neutro descrita por Mertens (2002) e incluindo amilase termoestável e sulfito de sódio. A fibra em detergente ácido (FDA) foi determinada sequencialmente utilizando solução de detergente ácido descrita por Van Soest *et al.* (1973). O teor de carboidratos solúveis (CS) em etanol, foi determinado segundo Hall *et al.* (1999), e a capacidade tampão foi determinada segundo a metodologia de Weissbach (1967). A concentração de nitrato foi determinada segundo o método espectrofotométrico do ácido salicílico (Cataldo, 1975). A proteína solúvel e nitrogênio insolúvel em

detergente ácido e de nitrogênio insolúvel em detergente neutro foi determinada pela metodologia de Licitra *et al.* (1996). A determinação da digestibilidade *in vitro* da MS foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Tilley e Terry (1963) utilizando ruminal artificial Daisy II (Ankom Technology), modificado por Holden (1999).

Análise estatística

O delineamento experimental empregado foi inteiramente ao acaso. As variáveis foram analisadas com auxílio do procedimento MIXED do SAS (v9.4). As médias foram comparadas por contrastes ortogonais (CON vs. ADT: Controle versus Aditivos, NH vs. NF: Nitrito de sódio + Hexamina versus Nitrito de sódio + Formato de sódio, NHA vs. NHM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Hexamina 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Hexamina 0,4 g/kg, NFA vs. NFM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Formato de sódio 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Formato de sódio 0,4 g/kg). Foi considerado o nível de significância $p < 0,05$.

RESULTADOS

Composição das forragens antes da ensilagem

Na Tabela 1 está apresentada a composição da brachiaria ruziziensis, capim-Marandu, capim-Áries II e capim-Mombaça antes da ensilagem. Para a brachiaria ruziziensis, as contagens médias de bactérias lácticas foram de 3,80 log UFC/g, enterobactérias de 5,10 log UFC/g, clostrídios de 2,38 log UFC/g, leveduras de 2,99 log UFC/g e fungos filamentosos de 3,77 log UFC/g. O pH foi de 5,86 e a MS de 27,3%. A concentração de carboidratos solúveis foi 5,22% da MS, e a fibra em detergente neutro (FDN) foi de 62,7% da MS, enquanto a fibra em detergente ácido (FDA) foi de 33,7% da MS. A proteína bruta (PB) foi de 5,42% (g/kg da MS).

Para o capim-Marandu, as contagens de bactérias lácticas foram de 5,72 log UFC/g, enterobactérias de 6,01 log UFC/g, clostrídios de 2,46 log UFC/g, leveduras não foram detectadas e fungos filamentosos foram de 4,74 log UFC/g. O pH foi de 6,20 e a MS de 25,3%. Os carboidratos solúveis representaram 3,60% da MS, e a FDN foi de 65,3% da MS, enquanto a FDA foi de 35,1% da MS. A PB foi de 7,27% (g/kg da MS). Para o capim-Áries II, as contagens de bactérias lácticas foram de 5,86 log UFC/g, enterobactérias

de 4,38 log UFC/g, clostrídios de 2,21 log UFC/g, leveduras de 4,19 log UFC/g e fungos filamentosos não foram detectados. O pH foi de 6,54 e a MS de 19,4%. Os carboidratos solúveis representaram 0,75% da MS, e a FDN foi de 65,5% da MS, enquanto a FDA foi de 39,9% da MS. A PB foi de 1,27% (g/kg da MS).

Para o capim-Mombaça, as contagens de bactérias lácticas foram de 4,05 log UFC/g, enterobactérias de 5,70 log UFC/g, clostrídios de 2,28 log UFC/g, leveduras de 3,77 log UFC/g e fungos filamentosos de 3,06 log UFC/g. O pH foi de 5,24 e a MS de 18,7%. Os carboidratos solúveis representaram 1,11% da MS, e a FDN foi de 59,6% da MS, enquanto a FDA foi de 36,0% da MS. A PB foi de 1,38% (g/kg da MS).

Embora os resultados apresentados estejam entre os números considerados normais para os capins sob as condições de manejo descritas acima, estes resultados indicam variações significativas na composição microbiana e química entre os diferentes tipos de capim, e deve influenciar no processo de fermentação e na qualidade da silagem resultante, gerando condições distintas para o teste dos tratamentos propostos neste estudo.

Silagem de braquiária ruziziensis

Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de braquiária ruziziensis

As contagens microbianas, o perfil fermentativo e a estabilidade aeróbia da silagem de braquiária ruziziensis estão descritos na Tabela 2. Na comparação entre o tratamento controle (CON) e os tratamentos com aditivos (ADT), as contagens de clostrídios foram menores nos tratamentos com aditivos ($p = 0,014$) e não houve efeito de tratamento para os demais microrganismos. As concentrações de $N-NH_3$ e $N-NH_3$ corr foram menores nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). A concentração de ácido butírico também foi menor nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). A concentração de ácido acético foi reduzida significativa nos tratamentos com aditivos ($p = 0,0003$), assim como o etanol ($p < 0,001$) e o ácido propiônico ($p < 0,001$). O ácido lático foi maior nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). O conteúdo de 2,3-butanodiol ($p = 0,006$), ácido isovalérico ($p < 0,001$) e ácido isobutírico ($p < 0,001$) foram menores nas silagens tratadas com aditivos. As concentrações de 1-propanol ($p < 0,001$), ácido valérico ($p < 0,001$), 2-Butanol ($p < 0,001$), 1,2-Propanodiol ($p < 0,001$) e perda de MS ($p < 0,001$) também foram

significativamente menores nos tratamentos com aditivos. A razão $AGV_{n\grave{a}odiss}/(SC+LA)$ foi diminuída com a aplicação dos aditivos ($p < 0,001$).

Comparando NH com NF, observa-se que a contagem de enterobactérias foi menor nos tratamentos com formato ($p = 0,003$). O pH foi significativamente menor nos tratamentos com formato ($p < 0,001$), assim como a concentração de $N-NH_3$ e $N-NH_{3corr}$ ($p < 0,001$ para ambos). As concentrações de ácido acético ($p < 0,001$), etanol ($p < 0,001$), ácido propiônico ($p < 0,001$), ácido láctico ($p < 0,001$), 2,3-butanodiol ($p = 0,0004$), 1-propanol ($p < 0,001$), 1,2-propanodiol ($p < 0,001$), metanol ($p = 0,005$) e isopropanol ($p < 0,001$) foram menores nos tratamentos com formato. A perda de MS foi menor nos tratamentos com hexamina ($p = 0,003$). A razão $AGV_{n\grave{a}odiss}/(SC+LA)$ foi diminuída com a aplicação dos aditivos com hexamina ($p < 0,001$).

Ao comparar NH dose alta (NHA) com dose baixa (NHM), observa-se que o pH foi maior na dose alta ($p < 0,001$). A concentração de $N-NH_{3corr}$ foi menor na dose alta ($p < 0,001$) e a concentração de ácido láctico foi maior na dose alta ($p = 0,013$). O etanol também foi menor na dose alta ($p < 0,001$). A concentração de 2,3-butanodiol foi significativamente maior na dose alta ($p = 0,0001$). Já a concentração de acetona e acetato de etila foram menores na dose alta ($p = 0,049$ e $p < 0,001$). A perda de MS foi menor no tratamento com dose alta de hexamina ($p = 0,006$).

Por fim, comparando NF dose alta (NFA) com dose baixa (NFM), verifica-se que as contagens de fungos foram menores na dose alta ($p = 0,029$). A concentração de ácido láctico foi maior na dose alta ($p < 0,001$). As concentrações de ácido acético, ácido propiônico, 1-propanol, 1,2-propanodiol e acetato de propila foram menores na dose alta ($p = 0,002$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,012$ e $p < 0,001$, respectivamente). A razão $AGV_{n\grave{a}odiss}/(SC+LA)$ foi diminuída com a aplicação da dose alta de hexamina ($p = 0,001$).

Composição química da silagem de braquiária ruziziensis

A composição química da silagem de braquiária ruziziensis está descrita na Tabela 3. Na comparação entre CON e os tratamentos com aditivos (ADT), observou-se que o teor de MS foi significativamente maior nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). O teor de carboidratos solúveis também foi superior nos tratamentos com aditivos ($p = 0,006$). Por outro lado, os teores de FDN e FDA foram menores nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$ para ambos). O teor de cinzas foi inferior nos tratamentos com aditivos comparado ao controle ($p = 0,003$). O teor de proteína bruta foi significativamente maior nos

tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). No fracionamento de nitrogênio, os aditivos reduziram a fração A1 ($p < 0,001$) e aumentaram a fração A2 ($p = 0,001$). A fração B2 do nitrogênio foi maior nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$), e a fração C menor ($p = 0,015$). A proporção de PNDR foi, em média, superior para os tratamentos com aditivos ($p = 0,008$). A digestibilidade *in vitro* da MS foi superior nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$), assim como a recuperação da MS digestível ($p < 0,001$).

Comparando NH com NF, verificou-se que o teor de MS foi maior nos tratamentos com hexamina ($p = 0,003$). O teor de carboidratos solúveis também foi superior nos tratamentos com hexamina ($p < 0,001$). A proteína bruta apresentou teores mais elevados nos tratamentos com hexamina ($p < 0,001$). No fracionamento de nitrogênio, as frações A1 e B1 foram superiores nos tratamentos com formato ($p < 0,001$). Já as frações A2, B2 e C obtiveram valores menores nos tratamentos com formato ($p = 0,033$, $p = 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente). A PNDR foi maior nos tratamentos com hexamina ($p < 0,001$). A digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) foi maior nos tratamentos com hexamina ($p = 0,021$), assim como a recuperação de MS digestível ($p = 0,003$).

Na comparação entre NH dose alta (NHA) e dose baixa (NHM), observou-se que o teor de MS foi maior na dose alta ($p < 0,001$). O teor de carboidratos solúveis também foi superior na dose alta ($p < 0,001$). A fração B2 do nitrogênio foi superior na dose alta ($p < 0,001$). A PNDR foi maior na dose alta ($p < 0,001$) e a digestibilidade *in vitro* da MS foi marginalmente superior na dose alta ($p = 0,063$). A recuperação de MS digestível foi maior na dose alta ($p = 0,008$).

Comparando NF dose alta (NFA) com dose baixa (NFM), observou-se que a digestibilidade *in vitro* da MS foi maior para a dose alta ($p = 0,009$), assim como a recuperação de MS digestível ($p = 0,005$).

Silagem de capim-Marandu

Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de Capim-Marandu

As contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia em silagem de capim-Marandu estão descritos na Tabela 4. A aplicação de aditivos reduziu a contagem de enterobactérias ($p < 0,001$). A contagem de clostrídios também diminuiu significativamente ($p < 0,001$) com os aditivos. A contagem de fungos foi menor ($p = 0,014$) nos tratamentos com aditivos. A concentração de $N-NH_3$ foi reduzida ($p < 0,001$)

nos tratamentos com aditivos, assim como a concentração de N-NH₃corr ($p < 0,001$). A concentração de ácido butírico foi menor ($p < 0,001$) nos tratamentos com aditivos, e o ácido acético também foi reduzido ($p < 0,001$). A concentração de etanol foi menor ($p < 0,001$) nos tratamentos com aditivos, enquanto a de ácido propiônico também diminuiu ($p = 0,0047$). A concentração de ácido láctico foi maior ($p < 0,001$) nos tratamentos com aditivos. A concentração de 2,3-butanodiol foi significativamente menor ($p = 0,002$), assim como a de ácido isovalérico ($p < 0,001$) e ácido isobutírico ($p < 0,001$). A concentração de 1-propanol foi reduzida ($p < 0,001$), e a de ácido valérico também foi menor ($p < 0,001$). A concentração de 2-butanol foi significativamente menor ($p < 0,001$), enquanto a de 1,2-propanodiol foi maior ($p < 0,001$) nos tratamentos com aditivos. A aplicação de aditivos diminuiu as concentrações de isopropanol ($p < 0,001$) e acetona ($p < 0,001$). A presença de acetato de etila foi menor nos tratamentos com aditivos ($p = 0,001$). A soma BV foi significativamente menor ($p < 0,001$), assim como a concentração de AGV não dissociados ($p < 0,001$). A soma de CS e AL foi significativamente maior ($p < 0,001$), e a perda de MS foi significativamente menor ($p < 0,001$) com a aplicação dos aditivos.

Comparando NH com NF, a contagem de clostrídios foi menor nos tratamentos com formato ($p = 0,040$). A concentração de ácido acético foi maior nos tratamentos com formato ($p < 0,001$), enquanto a de etanol foi significativamente menor ($p < 0,001$). A concentração de ácido láctico foi menor nos tratamentos com formato ($p = 0,002$), e a de ácido isovalérico foi significativamente menor ($p = 0,005$). A concentração de 1,2-propanodiol foi maior ($p = 0,003$) nos tratamentos com formato, e a presença de isopropanol foi menor ($p = 0,0112$) nos tratamentos com hexamina. A concentração de AGV não dissociados foi significativamente menor ($p = 0,001$) nos tratamentos com hexamina, e a soma de CS e AL foi maior ($p < 0,001$). A perda de MS foi significativamente menor nos tratamentos com formato ($p = 0,020$).

Em relação às doses altas e baixas de NH, a concentração de bactérias lácticas foi significativamente menor na dose alta ($p = 0,047$). O pH foi significativamente menor na dose alta ($p = 0,023$), e a concentração de N-NH₃ corrigida foi menor na dose alta ($p < 0,001$).

Comparando NF em doses altas e baixas, a concentração de N-NH₃corr foi menor na dose alta ($p = 0,034$), assim como a concentração de ácido acético ($p < 0,001$). A concentração de ácido láctico foi maior na dose alta de NF ($p = 0,004$), assim como a de

1,2-propanodiol ($p = 0,007$). A perda de MS foi significativamente menor na dose alta ($p < 0,001$).

Composição química da silagem de capim-Marandu

A composição química da silagem de capim-Marandu está descrita na Tabela 5. Observou-se que o teor de MS foi significativamente maior nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). A concentração de carboidratos solúveis foi maior nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). As concentrações de FDN e FDA foram menores nos tratamentos com aditivos, com $p < 0,001$ para ambos. A concentração de cinzas foi menor nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). A concentração de PB foi maior nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). A concentração de PNDR foi menor nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$), assim como a concentração de PNDR digestível ($p < 0,001$).

Comparando NH com NF, a concentração de carboidratos solúveis foi menor nos tratamentos com formato ($p < 0,001$). A concentração de PB foi menor nos tratamentos com formato ($p = 0,002$). A concentração de PNDR foi menor nos tratamentos com formato ($p < 0,001$).

Comparando NHA com NHM, a concentração de carboidrato solúvel foi maior nos tratamentos com dose alta ($p = 0,001$). A concentração de PB foi maior nos tratamentos com dose alta ($p = 0,003$). A concentração de PNDR foi maior nos tratamentos com dose alta ($p < 0,001$).

Silagem de capim-Áries II

Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de capim-Áries II

As contagens microbianas, o perfil fermentativo e a estabilidade aeróbia da silagem de capim-Áries II estão descritas na Tabela 6. A adição dos aditivos aumentou significativamente as contagens de bactérias lácticas ($p = 0,026$), e diminuiu a contagem de clostrídios ($p < 0,001$). A concentração de $N-NH_3$ e $N-NH_{3\text{corrigido}}$ foi menor nos tratamentos que continham aditivos ($p < 0,001$ para os dois). Além disso, os tratamentos que continham aditivos, observou-se que o ácido láctico foi maior ($p = 0,025$) e a concentração de ácido butírico foi menor ($p < 0,001$). As concentrações de ácido propiônico, ácido iso-valérico e iso-butírico foram menores nos tratamentos contendo

aditivos ($p < 0,001$ para ambos). As concentrações de ácido valérico, 2-butanol e isopropanol foram maiores no tratamento controle ($p < 0,001$; $p = 0,038$). Já as concentrações de 1,2-propanodiol, metanol e acetato de etila foram maiores para os tratamentos com aditivos, especialmente com nitrito e hexamina ($p = 0,007$; $p < 0,001$). A perda de MS foi menor nos tratamentos contendo aditivo nitrito e hexamina ($p = 0,038$), assim como a estabilidade aeróbia ($p < 0,001$).

Comparando NH e NF, a contagem de bactérias láticas foi maior nos tratamentos com hexamina ($p = 0,024$) e a contagem de clostrídios menor ($p < 0,001$). O ácido lático, etanol, 1,2-propanodiol e acetato de etila tiveram maiores concentrações nos tratamentos NH ($p < 0,001$ para ambos). O pH e os outros compostos tiveram concentrações maiores nos tratamentos NF ($p = 0,0004$ para pH; $p < 0,001$). O $AGV_{\text{não dissociados}}$ foi maior nos tratamentos NH ($p = 0,021$), assim como a perda de MS ($p < 0,001$).

Comparando NHA e NHM, a contagem de bactérias láticas foi maior para a dose alta ($p < 0,001$) assim como a contagem de clostrídios ($p < 0,001$). O pH, N-NH₃, N-NH₃corrigido, ácido butírico, ácido acético, ácido propiônico, tiveram concentrações maiores no tratamento NHM ($p = 0,0230$; $p = 0,092$; $p = 0,021$; $p < 0,001$, $p = 0,035$; $p < 0,001$ respectivamente). Já o ácido lático e o metanol foram maiores no tratamento NHA ($p < 0,001$; $p = 0,041$). A perda de MS foi menor no tratamento NHA ($p = 0,045$).

Comparando NFA e NFM, a contagem de clostrídios foi menor no tratamento NFA ($p < 0,001$).

Composição química da silagem de capim-Áries II

A composição química da silagem de capim-Áries II está descrita na Tabela 7. Nos contrastes envolvendo o tratamento controle versus tratamentos com aditivos, observou-se que a concentração de FDN foi menor nos tratamentos que receberam os aditivos ($p=0,024$), assim como a FDA ($p=0,021$). A concentração de PB foi maior nos tratamentos com aditivos ($p<0,001$). A proporção de PNDR foi maior nos tratamentos com aditivos ($p=0,011$). A digestibilidade *in vitro* da MS foi maior nos tratamentos com aditivos ($p<0,001$).

Nos contrastes entre NH e NF, o teor de MS foi maior com hexamina ($p=0,005$). A FDN e a FDA foram menores com formato ($p<0,001$). A concentração de PB foi maior com hexamina ($p<0,001$). No fracionamento de nitrogênio, as frações A1 e A2 foram menores com hexamina ($p<0,001$), enquanto a fração B2 foi maior com hexamina

($p < 0,001$). A PDR foi maior nos tratamentos com formato ($p < 0,05$). A DIVMS foi maior com hexamina ($p = 0,002$).

Nos contrastes entre NH dose alta e dose baixa, a concentração de PB foi maior na dose baixa ($p = 0,017$). A fração A1 foi maior na dose baixa ($p = 0,092$) e a fração A2 foi maior na dose baixa ($p = 0,146$). A fração B2 não apresentou diferença significativa ($p = 0,745$). A DIVMS foi maior na dose alta ($p = 0,0378$).

Nos contrastes entre NF dose alta e dose baixa, a fração A2 foi maior na dose baixa ($p = 0,948$). A fração B2 não apresentou diferença significativa ($p = 0,264$). A DIVMS não apresentou diferença significativa entre as doses alta e baixa ($p = 0,587$).

Silagem de capim-Mombaça

Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de capim-Mombaça

As contagens microbianas, o perfil fermentativo e a estabilidade aeróbia da silagem de capim-Mombaça estão descritas na Tabela 8. Nos contrastes envolvendo o tratamento controle versus tratamentos com aditivos, observou-se que as contagens de bactérias lácticas foram menores nos tratamentos com aditivos ($p = 0,029$). As contagens de clostrídios também foram menores nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). O pH foi menor nos tratamentos com aditivos ($p = 0,008$). As concentrações de $N-NH_3$ e $N-NH_3$ corr foram menores nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). A concentração de ácido acético foi menor nos tratamentos com aditivos ($p = 0,040$), assim como a de etanol ($p = 0,002$), ácido propiônico ($p < 0,001$) e 2,3-butanodiol ($p = 0,019$). Já a concentração de ácido láctico foi maior nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$). As concentrações de ácido isovalérico e ácido isobutírico foram menores nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$), enquanto as de 1-propanol ($p = 0,0001$) e 2-butanol ($p < 0,001$) também foram menores. A concentração de metanol foi maior nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$), assim como a de acetato de etila ($p = 0,009$). A soma BV foi menor nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$) e a perda de MS foram significativamente menores nos tratamentos com aditivos ($p < 0,001$).

Nos contrastes entre NH e NF, as contagens de bactérias lácticas foram maiores nos tratamentos com formato ($p = 0,023$) enquanto as contagens de enterobactérias foram menores ($p = 0,0047$). As contagens de clostrídios foram menores com formato ($p < 0,001$). O pH foi maior com formato ($p < 0,001$) e as concentrações de $N-NH_3$ e $N-NH_3$ corr foram maiores com formato ($p < 0,001$). A concentração de ácido acético foi maior com formato

($p=0,008$) e a de etanol também foi maior ($p=0,019$). A concentração de ácido propiônico foi maior com formato ($p<0,001$), enquanto a de ácido lático foi menor com formato ($p<0,001$). A concentração de 2,3-butanodiol foi menor com formato ($p<0,001$). As concentrações de ácido isovalérico e ácido isobutírico ($p<0,001$), assim como a concentração de 1-propanol ($p=0,027$) foram maiores com formato. A concentração de metanol foi menor com formato ($p<0,001$) e a de acetato de etila foi maior com formato ($p<0,001$). A perda de matéria seca foi menor com formato ($p<0,001$).

Nos contrastes entre NH dose alta e dose baixa, não houve diferenças significativas para a maioria dos parâmetros, exceto para as contagens de clostrídios, que foram menores na dose alta ($p=0,013$), e para as concentrações de 2,3-butanodiol, que foram menores na dose alta ($p<0,001$), e metanol, que foram menores na dose alta ($p=0,012$).

Nos contrastes entre NF dose alta e dose baixa, as contagens de bactérias lácticas foram maiores na dose baixa ($p=0,029$). As concentrações de $N-NH_3$ e $N-NH_3$ corr foram menores na dose alta ($p<0,001$), enquanto as contagens de clostrídios e a perda de MS não apresentaram diferenças significativas.

Composição química da silagem de capim-Mombaça

Nos contrastes envolvendo o tratamento controle versus tratamentos com aditivos, o teor de MS foi maior nas silagens que receberam aditivos ($p=0,005$). A FDN foi menor nos tratamentos com aditivos ($p=0,002$), assim como a FDA ($p=0,038$). A concentração de PB foi menor no controle ($p<0,001$). No fracionamento de nitrogênio, as frações A1 e A2 foram menores no controle ($p<0,001$), enquanto a recuperação de MS digestível foi maior para as silagens que receberam aditivos ($p<0,001$).

Nos contrastes entre NH e NF, o teor de MS foi maior com formato ($p<0,001$), assim como a FDN ($p<0,001$) e a FDA ($p<0,001$). A concentração de PB foi menor com formato ($p<0,001$). No fracionamento de nitrogênio, a fração A2 foi menor com formato ($p<0,001$), enquanto a recuperação de MS digestível foi maior com formato ($p<0,001$).

Nos contrastes entre NH dose alta e dose baixa os teores de MS, CS, FDN, FDA, cinzas, PB, fracionamento de N, PDR, PNDR e DIVMS foram semelhantes entre os tratamentos. Nos contrastes entre NF dose alta e dose baixa, a fração A1 foi menor na dose alta ($p < 0,001$) e a fração A2 foi maior ($p = 0,027$).

DISCUSSÃO

De modo geral, entre os experimentos, as silagens não tratadas apresentaram características típicas do crescimento de *Clostridium*. Essas características incluem altas concentrações de ácido butírico, baixas concentrações de ácido láctico, um teor relativamente alto de ácido acético e uma proporção elevada de $\text{NH}_3\text{-N}$ (Namihira *et al.*, 2010; Tomaz *et al.*, 2018; Auerbach *et al.*, 2016). Enquanto isso, especialmente nos experimentos com capins do gênero *Urochloa*, os aditivos foram capazes de inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis e consequentemente, reduzir a competição por substrato, favorecendo a população de BAL epífitas. A inibição da atividade dos clostrídios é o principal objetivo no controle da fermentação em silagens produzidas a partir de forragens com alto teor de proteína e baixo teor de açúcar. Portanto, a concentração de ácido butírico nas silagens tem sido considerada indicador importante do curso da fermentação em silagens (Weissbach *et al.*, 1974).

Weissbach *et al.* (1989) e Reuter e Weissbach (1991) demonstraram, em 143 ensaios realizados entre 1984 e 1989, que a combinação de nitrito de sódio (900 g/t) e hexamina (600 g/t) foi tão eficaz quanto 4 L/t de ácido fórmico (85%) na redução do desenvolvimento de clostrídios durante a fermentação. Isso foi indicado por menores teores de ácido butírico e outros produtos de fermentação como ácidos isobutírico, isovalérico e valérico e $\text{NH}_3\text{-N}$.

De acordo com Muck (1996), menores valores de $\text{NH}_3\text{-N}$ indicam inibição de microrganismos proteolíticos. A adição dos aditivos químicos reduziu as perdas de nutrientes durante a fermentação, em ambas as maturidades. A inibição de microrganismos indesejáveis, como enterobactérias e clostrídios, frequentemente favorece o desenvolvimento de uma fermentação láctica mais eficiente, reduzindo a perda de nutrientes, principalmente na forma de CO_2 (McDonald *et al.*, 1991). Confrontando os tratamentos com nitrito mais hexamina com o controle, mostrou-se pelas perdas de MS amplamente reduzidas e maiores concentrações residuais de carboidratos solúveis, que os aditivos melhoraram a eficiência do processo de fermentação ao inibir as vias metabólicas de liberação de CO_2 facilitadas pela variedade de microrganismos indesejados e/ou

bactérias lácticas heterofermentativas, o que foi observado também por Gomes *et al.*, (2021) e Moraes *et al.*, (2023).

A contagem de leveduras nas aberturas dos silos foi baixa, o que era esperado pela presença de concentração relativamente alta de AGV, que possui atividade antifúngica (Moon, 1983). De forma semelhante, as contagens de fungos foram relativamente baixas e similares entre os tratamentos. Como consequência, as silagens de Ruziziensis, Marandu e Mombaça apresentaram estabilidade aeróbia relativamente longa (> 4,7 dias). O maior teor de MS observado nas silagens tratadas com inoculante acontece pela menor perda de nutrientes durante a fermentação (McDonald *et al.*, 1991). Pela inibição da proteólise, a aplicação de aditivo aumentou o teor de PB e a proporção de PNDR, em ambos os experimentos. Resultados semelhantes foram observados por Gomes *et al.*, (2021), com silagem de capim-Mombaça tratada com nitrito de sódio e hexamina.

A aplicação dos aditivos também resultou em silagens com maior teor de carboidratos solúveis e menores teores de frações fibrosas, especialmente com os tratamentos de nitrito mais hexamina. Também em Gomes *et al.*, (2021), foi reportado alterações que resultaram no aumento na DIVMS.

A substituição da hexamina pelo formato foi eficaz nos experimentos de capins com CF maior que 30. Auerbach *et al.*, (2023) conduziu uma série de experimentos que testaram o formato de sódio sozinho ou uma mistura com outros aditivos em silagens de gramíneas temperadas, sem comprometer os efeitos positivos na fermentação da silagem, sendo tão eficaz quanto a hexamina. Conforme os dados obtidos de perda de MS reduzidos e maior concentração de carboidratos solúveis, os tratamentos contendo formato nas silagens ruziziensis e marandu, melhoraram a eficiência do processo fermentativo inibindo vias metabólicas de liberação de CO₂ facilitadas pelos microrganismos indesejáveis (Rooke e Hatfield, 2003). Esta eficiência não foi observada nos experimentos com capins com baixo CF (~ 20), neste estudo representado pelos capins do gênero *Megathyrsus*.

CONCLUSÕES

Aditivos químicos como hexamina e formato de sódio neste estudo, foram eficazes em aprimorar o processo fermentativo, inibindo microrganismos indesejáveis e resultando em silagens de melhor qualidade. Tratamentos com aditivos reduziram clostrídios e enterobactérias, diminuíram a produção de compostos indesejáveis como ácido butírico

e N-NH₃, e aumentaram a produção de ácido láctico, crucial para a estabilização da silagem. Melhoraram também a composição química, aumentando teores de matéria seca, carboidratos solúveis e proteína bruta, e reduzindo fibras e cinzas, favorecendo a digestibilidade. Doses altas de ambos os aditivos proporcionaram melhor desempenho fermentativo e composição nutricional em comparação com doses baixas. Os resultados indicaram que o formato foi capaz de substituir a hexamina de maneira eficaz nas silagens de capins cujos valores de CF foram maiores que 20. Nessas condições, o desempenho do formato foi comparável ao da hexamina, demonstrando a eficácia como aditivo. No entanto, nas silagens de capins com CF a cerca de 20, o formato de sódio não apresentou a mesma eficiência que a hexamina, sugerindo que a ação foi limitada em condições de menor coeficiente de fermentabilidade.

REFERÊNCIAS

AOAC. (1990). *Official methods of analysis* (5th ed.). Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.

Auerbach, H., et al. (2016). Clostridia in silages: Risk factors and prevention measures. *Journal of Agricultural Science*, 154(8), 1345-1358.

Auerbach, H., Nadeau, E., Weiss, K., & Theobald, P. (2016). Effects of different sodium nitrite-containing additives on dry matter losses, fermentation pattern and biogenic amine formation in lucerne and cocksfoot silage.

Auerbach, H., & Nadeau, E. M. G. (2019). Chemical additives for silages: When to use it and what are the options? In Nussio, L. G., da Silva, E. B., daSilva, Oliveira, K., Gritti, V. C., Ribeiro Salvo, P. A., de Souza Salvati, G. G., Oliveira da Sousa, D. (Eds.), *Proceedings of the VI International Symposium on Forage Quality and Conservation*, Piracicaba, Brazil, (pp. 49–88).

Bernardes, T. F., & Do Rêgo, A. C. (2014). Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7181>

Bernardino, F. S., Garcia, R., Rocha, F. C., Souza, A. L. D., & Pereira, O. G. (2005). Produção e características do efluente e composição bromatológica da silagem de capim-elefante contendo diferentes níveis de casca de café. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34, 2185-2191.

Cataldo, D. A., Haroon, M., Schrader, L. E., & Young, V. L. (1975). Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 6(1), 71-80.

Chaney, A. L., & Marbach, E. P. (1962). Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry*, 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 and Forage Science*, 74, 188-200. <https://doi.org/10.1111/gfs.12417>

EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). (2015a). Scientific opinion on the safety and efficacy of hexamethylene tetramine as a silage additive for pigs, poultry, bovines, sheep, goats, rabbits and horses. *EFSA Journal*, 13(5), 4056, 24 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4056

EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). (2015b). Scientific opinion on the safety and efficacy of hexamethylene tetramine as a silage additive for pigs, poultry, bovines, sheep, goats, rabbits and horses. *EFSA Journal*, 13(2), 4014, 25 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4014

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. *Animal Feed Science and Technology*, 279, 115033.

Gouvea, V. N., et al. (2020). Efficiency of lactic acid bacteria-based additives in ensiling tropical grasses: A meta-analysis. *Grass and Forage Science*, 75(2), 256-266.

Hall, M. B., Hoover, W. H., Jennings, J. P., & Webster, T. K. M. (1999). A method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 2079-2086.

Holden, L. A. (1999). Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *Journal of dairy science*, 82(8), 1791-1794.

IAPAR. (1994). Instituto Agrônômico do Paraná. *Cartas Climáticas Básicas do Estado do Paraná*. Londrina: IAPAR.

IAT. (2023). Instituto Água e Terra. *Sistemas de informações hidrológicas*. Available at: <https://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Sistema-de-Informacoes-Hidrologicas>.

Jonsson, A. (1990). Enumeration and confirmation of *Clostridium tyrobutyricum* in silages using neutral red, D-cycloserine, and lactate dehydrogenase activity. *Journal of Dairy Science*, 13, 719-725. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78725-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78725-5)

Kaiser, E., Weiss, K., & Polip, I. (2002). A new concept for the estimation of the ensiling potential of forages. In L. M. Gechie & C. Thomas (Eds.), *Proceedings of the XIII International Silage Conference* (pp. 344–358). Auchincruive, Scotland.

Kung, L. Jr., 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. *Journal of Dairy Science*, 67, 299-306.

Licitra, G., Hernandez, T., & Van Soest, P. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 57, 347-358.

McDonald, P. J., Henderson, A. R., & Heron, S. J. E. (1991). *The biochemistry of silage* (2nd ed.). Mallow: Chalcombe Publications.

Mertens, D. R. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 85, 1217–1240.

Moon, N. J. (1983). Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *The Journal of Applied Bacteriology*, 55, 454–460. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1983.tb01685.x>.

Moraes, A., Auerbach, H. U., Bragatto, J. M., Piran Filho, F. A., Silva, S. M. S., Nussio, L. G., ... & 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. *Animal Feed Science and Technology*, 302, 115667.

Muck, R. (1996). Inoculant of silage and its effects on silage quality. In *Proceedings of the Informational Conference Dairy Forage Industry* (pp. 43–52). US Dairy Forage Research, Madison, WI.

Namihira, T., Shinzato, N., Akamine, H., Maekawa, H., & Matsui, T. (2010). Influence of nitrogen fertilization on tropical-grass silage assessed by ensiling process monitoring using chemical and microbial community analyses. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 1954–1965. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04591.x>.

O’Kiely, P. (1993). Influence of a partially neutralised blend of aliphatic organic acids on fermentation, effluent production and aerobic stability of autumn-grass silage. *Journal of Agricultural and Food Research*, 32, 13–26.

Pinto, A. C. J., & Millen, D. D. (2016). Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In S. de C. Valadares Filho et al. (Eds.), *Simpósio de Produção de Gado de Corte (X Simcorte)* (pp. 103–120). Viçosa/MG: UFV.

Pryce, J. D. A. (1969). Modification of Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. *The Analyst*, 94, 1151–1152.

Reuter, B., & Weissbach, F. (1989). Investigations on the efficiency of the silage additive Cekafusil (Lithioxine liquide). In *Proceedings of the International Symposium on Production, Evaluation and Feeding of Silage* (pp. 69-78). Rostock, Germany.

Reuter, B., & Weissbach, F. (1991). Results of testing chemical preservatives. *Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft*, 123, 338–341.

Tilley, J. M. A., & Terry, D. R. (1963). A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass and Forage Science*, 18, 104–111.

Tomaz, P. K., de Araujo, L. C., Sanches, L. A., dos Santos-Araujo, S. N., De Lima, T. O., Lino, A. D. A., & Ferreira, E. M. (2018). Effect of sward height on the fermentability coefficient and chemical composition of Guinea grass silage. *Grass and Forage Science*, 73(3), 588-598.

Van Soest, P. J. (1973). Collaborative study of acid detergent fiber and lignin. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 56, 781-784.

Vieira, M. M. M., Cavalcante, M. A. B., Neiva, J. N. M., & Cândido, M. J. D. (2007). Valor nutritivo de silagens de capim elefante contendo níveis de farelo de babaçu. *Archivos de zootechnia*, 56(214), 257-260.

Weissbach, F. (1967). Determination of buffering capacity of forage plants and its importance to the assessment of fermentability. In *Proceedings of an International Symposium*, September 26-28, Rostock, Deutsche Akademie Landwirtschaftswiss. Berlin, Germany (Tagungsber. 92, 211-220).

Weissbach, F., & Auerbach, H. (2012). The future of forage conservation. In H. Auerbach, C. Lückstädt, & F. Weissbach (Eds.), *Proceedings of the I International Silage Summit* (pp. 5–42). Leipzig, Germany.

Weissbach, F., Honig, H., & Kaiser, E. (1993). The effect of nitrate on the silage fermentation. In P. O' Kiely, M. O' Connel, & J. Murphy (Eds.), *Proceedings of the 10th International Conference of Silage Research* (pp. 6-8). Dublin, Ireland.

Weissbach, F., & Honig, H. (1996). Über die Vorhersage und Steuerung des Gärungsverlaufs bei der Silierung von Grünfütter aus extensivem Anbau [Predicting and controlling the course of fermentation of extensively grown grasses]. *Landbauforschung Völkenrode*, 46, 10–17.

Weissbach, F., Zwierz, P. M., Reuter, B., Köller, S., & Weissbach, H. (1989). Control of the silage fermentation by chemical preserving agents. *Chimica Oggi*, 7, 57–60.

Tabela 1. Composição das forragens frescas antes da ensilagem.

	Forragem ¹			
	Ruziziensis	Marandu	Áries II	Mombaça
Bactérias lácticas, log UFC/g	3,80 ± 0,200	5,72 ± 0,111	5,86 ± 0,070	4,05 ± 0,085
Enterobactérias, log UFC/g	5,10 ± 0,421	6,01 ± 0,443	4,38 ± 0,057	5,70 ± 0,137
Clostrídios, log UFC/g	2,38 ± 0,055	2,46 ± 0,069	2,21 ± 0,066	2,28 ± 0,070
Leveduras, log UFC/g	2,99 ± 0,321	0,00 ± 0,00	4,19 ± 0,107	3,77 ± 0,368
Fungos filamentosos, log UFC/g	3,77 ± 0,368	4,74 ± 0,065	0,00 ± 0,00	3,06 ± 0,176
pH	5,86 ± 0,051	6,20 ± 0,072	6,54 ± 0,080	5,24 ± 0,036
MS ² , % MN	27,3 ± 0,78	25,3 ± 0,34	19,4 ± 0,451	18,7 ± 0,47
Carboidratos solúveis, % MS	5,22 ± 0,366	3,60 ± 0,281	0,751 ± 0,0846	1,11 ± 0,286
Capacidade tampão, g/kg MS	34,1 ± 5,05	31,9 ± 0,66	49,2 ± 0,30	59,1 ± 1,72
Coeficiente de fermentabilidade	39,5	34,3	20,6	20,2
Nitrato, g/kg MS	2,75 ± 0,165	2,70 ± 0,173	9,24 ± 0,606	4,36 ± 0,833
FDN ³ , % MS	62,7 ± 1,30	65,3 ± 0,60	65,5 ± 0,96	59,6 ± 1,31
FDNi ⁴ , % MS	22,3 ± 1,33	22,7 ± 0,82	24,6 ± 0,65	24,9 ± 1,01
FDNi/FDN, % FDN	35,5	34,7	37,5	41,7
FDA ⁵ , % MS	33,7 ± 1,12	35,1 ± 0,72	39,9 ± 1,41	36,0 ± 1,15
Lignina, % MS	3,98 ± 0,564	5,14 ± 0,845	6,66 ± 0,512	6,55 ± 0,422
Razão FDNi:Lignina	5,66	4,51	3,71	3,81
Cinzas, % MS	7,69 ± 0,237	7,69 ± 0,381	9,73 ± 0,203	12,5 ± 0,75
PB ⁶ , % MS	5,42 ± 0,224	7,27 ± 0,198	12,7 ± 0,19	13,8 ± 0,45
Fracionamento ⁷ de N, % N				
A1	-	-	-	-
A2	45,3 ± 1,05	41,5 ± 1,36	34,6 ± 0,970	40,8 ± 0,86
B1	29,3 ± 1,48	33,8 ± 1,14	20,4 ± 1,45	21,0 ± 1,39
B2	20,0 ± 1,86	18,9 ± 1,12	35,5 ± 2,18	28,1 ± 1,50
C	5,47 ± 0,356	5,84 ± 0,168	9,42 ± 1,917	10,1 ± 1,29
PDR ⁸ , % PB	72,5	72,4	65,6	66,8
PNDR ⁹ , % PB	27,5	27,6	34,4	33,2
DIVMS ¹⁰ % MS	50,2 ± 1,45	64,1 ± 2,54	67,8 ± 0,75	68,4 ± 0,89

¹ Ruziziensis: *Urochloa ruziziensis*, Marandu: *Urochloa brizantha* cv. Marandu, Áries II: *Megathyrsus maximus* cv. MG18 Áries II, Mombaça: *Megathyrsus maximus* cv. Mombaça.

² Matéria seca.

³ Fibra em detergente neutro.

⁴ Fibra em detergente neutro indigestível.

⁵ Fibra em detergente ácido.

⁶ Proteína bruta.

⁷ Fracionamento de N de acordo com o modelo CNCPS 6.5 (Van Amburgh *et al.*, 2015).

⁸ Proteína degradável no rúmen. ⁹ Proteína não degradável no rúmen.

¹⁰ Digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca.

Tabela 2. Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de *Urochloa ruziziensis* estocada por 90 d.

	Tratamento ¹					EPM ²	P-contraste ³			
	CON	NFM	NFA	NHM	NHA		CON vs. ADT	NH vs. NF	NHA vs. NHM	NFA vs. NFM
Bactérias lácticas, log UFC/g	6,93	6,96	6,50	6,60	6,31	0,249	0,243	0,279	0,427	0,214
Enterobactérias, log UFC/g	2,69	2,40	1,98	3,53	3,30	0,309	0,778	0,003	0,644	0,390
Clostrídios, log UFC/g	2,34	1,96	1,89	2,22	1,97	0,107	0,014	0,132	0,124	0,652
Leveduras, log UFC/g	<2	<2	<2	<2	<2	-	-	-	-	-
Fungos filamentosos, log UFC/g	3,82	4,41	3,27	3,66	4,05	0,281	0,937	0,955	0,382	0,029
pH	4,86	4,34	4,25	4,93	5,77	0,049	0,491	<0,001	<0,001	0,227
N-NH ₃ , % N	29,9	23,7	23,8	19,9	18,9	0,65	<0,001	<0,001	0,262	0,957
N-NH ₃ corr ⁴ , % N	29,9	21,0	19,8	11,4	6,88	0,68	<0,001	<0,001	<0,001	0,211
Ácido láctico, % MS ⁵	0,101	0,686	2,23	3,64	4,49	0,212	<0,001	<0,001	0,013	<0,001
Ácido butírico, % MS	3,27	0,018	0,040	0,003	<0,001	0,106	<0,001	0,798	0,987	0,882
Ácido acético, % MS	2,19	2,43	1,64	0,893	0,629	0,152	0,0003	<0,001	0,231	0,002
Etanol, % MS	0,971	0,213	0,177	0,537	0,310	0,0294	<0,001	<0,001	<0,001	0,413
Ácido propiônico, % MS	0,525	0,176	0,074	0,011	0,009	0,013	<0,001	<0,001	0,790	<0,001
2,3-Butanodiol, mg/kg MS	5475	107	413	6751	967	788,6	0,006	0,0004	0,0001	0,788
Ácido iso-valérico, mg/kg MS	959	129	163	8,15	45,6	118,0	<0,001	0,330	0,826	0,843
Ácido iso-butírico, mg/kg MS	730	21,6	14,1	<0,1	<0,1	39,0	<0,001	0,654	0,999	0,893
1-Propanol, mg/kg MS	605	802	248	8,13	<0,1	45,2	<0,001	<0,001	0,901	<0,001
Ácido valérico, mg/kg MS	446	17,5	101	<0,1	<0,1	43,9	<0,001	0,196	0,999	0,197
2-Butanol, mg/kg MS	439	8,84	<0,1	<0,1	<0,1	31,2	<0,001	0,889	0,999	0,844
1,2-Propanodiol, mg/kg MS	175	3175	2700	284	43,8	117,0	<0,001	<0,001	0,167	0,012
Metanol, mg/kg MS	97,0	112	110	83,7	77,2	9,27	0,916	0,005	0,626	0,891
Isopropanol, mg/kg MS	493	30,5	6,90	53,6	<0,1	32,3	<0,001	0,805	0,258	0,612
Acetona, mg/kg MS	44,7	44,9	41,5	<0,1	28,5	9,42	0,150	0,008	0,049	0,801
Acetato de etila, mg/kg MS	28,2	16,0	12,9	19,9	<0,1	3,02	<0,001	0,160	<0,001	0,489
Acetato de propila, mg/kg MS	<0,1	13,2	<0,1	<0,1	<0,1	0,746	<0,001	<0,001	0,999	<0,001
Lactato de etila, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-	-	-
Soma BV ⁶ , % MS	3,48	0,035	0,068	0,005	0,008	0,092	<0,001	0,631	0,985	0,805
AGVnãodiss ⁷ , % MS	2,90	1,92	1,36	0,358	0,058	0,050	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
CS + AL ⁸ , % MS	2,56	2,56	4,63	7,25	10,2	0,271	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
AGVnãodiss/(SC + LA)	1,20	0,765	0,300	0,050	0,008	0,081	<0,001	<0,001	0,715	0,001
Perda de MS, % MS	11,3	3,36	3,30	2,99	1,86	0,250	<0,001	0,003	0,006	0,884
Estabilidade aeróbia, h	108	106	107	149	150	28,5	0,572	0,145	0,969	0,975

¹ CON: Controle, NHA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Hexamina (0,6 g/kg), NHM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Hexamina (0,4 g/kg), NFA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Formato de sódio (0,6 g/kg), NFM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Formato de sódio (0,4 g/kg).

² Erro padrão da média.

³ CON vs. ADT: Controle versus Aditivos, NH vs. NF: Nitrito de sódio + Hexamina versus Nitrito de sódio + Formato de sódio, NHA vs. NHM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Hexamina 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Hexamina 0,4 g/kg, NFA vs. NFM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Formato de sódio 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Formato de sódio 0,4 g/kg.

⁴ N-NH₃ corrigida para NH₃ oriunda dos aditivos.

⁵ Matéria seca.

⁶ Soma das concentrações dos ácidos iso-butírico, butírico, iso-valérico e valérico.

⁷ Ácidos graxos voláteis não dissociados.

⁸ Carboidratos solúveis + ácido láctico.

Tabela 3. Composição química da silagem de *Urochloa ruziziensis* estocada por 90 d.

	Tratamento ¹						P-contraste ³			
	CON	NFM	NFA	NHM	NHA	EPM ²	CON vs ADT	NH vs NF	NHA vs NHM	NFA vs NFM
MS ⁴ , % MN	26,5	27,4	27,0	27,3	28,1	0,14	<0,001	0,003	<0,001	0,095
Carboidratos solúveis, % MS	2,46	1,87	2,40	3,60	5,66	0,214	0,006	<0,001	<0,001	0,105
FDN ⁵ , % MS	65,8	63,0	62,7	62,8	62,0	0,39	<0,001	0,257	0,182	0,593
FDA ⁶ , % MS	39,1	35,3	34,7	35,0	34,3	0,39	<0,001	0,380	0,211	0,293
Cinzas, % MS	8,76	8,26	8,34	8,13	8,01	0,143	0,003	0,124	0,577	0,697
PB ⁷ , % MS	4,70	5,29	5,39	5,60	5,77	0,079	<0,001	<0,001	0,149	0,385
Fracionamento ⁸ de N, % N										
A1	29,9	23,7	23,8	19,9	18,9	0,645	<0,001	<0,001	0,262	0,957
A2	34,0	38,0	36,4	40,2	38,6	0,939	0,001	0,033	0,238	0,231
B1	18,5	22,2	22,8	17,0	13,9	1,09	0,674	<0,001	0,058	0,694
B2	11,8	12,4	13,2	18,0	22,8	0,722	<0,001	<0,001	<0,001	0,474
C	5,88	3,58	3,83	4,87	5,94	0,433	0,015	0,001	0,103	0,697
PDR ⁹ , % PB	78,4	79,2	78,8	76,4	74,3	0,36	0,008	<0,001	<0,001	0,481
PNDR ¹⁰ , % PB	21,6	20,8	21,2	23,6	25,7	0,36	0,008	<0,001	<0,001	0,481
DIVMS ¹¹ , % MS	40,6	43,2	46,1	45,4	47,3	0,62	<0,001	0,021	0,063	0,009
RMSd ¹² , % MS	71,7	83,1	88,7	87,7	92,5	1,22	<0,001	0,003	0,013	0,005

¹ CON: Controle, NHA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Hexamina (0,6 g/kg), NHM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Hexamina (0,4 g/kg), NFA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Formato de sódio (0,6 g/kg), NFM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Formato de sódio (0,4 g/kg).

² Erro padrão da média.

³ CON vs. ADT: Controle versus Aditivos, NH vs. NF: Nitrito de sódio + Hexamina versus Nitrito de sódio + Formato de sódio, NHA vs. NHM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Hexamina 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Hexamina 0,4 g/kg, NFA vs. NFM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Formato de sódio 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Formato de sódio 0,4 g/kg.

⁴ Matéria seca.

⁵ Fibra em detergente neutro.

⁶ Fibra em detergente ácido.

⁷ Proteína bruta.

⁸ Fracionamento de N de acordo com o modelo CNCPS 6.5 (Van Amburgh *et al.*, 2015).

⁹ Proteína degradável no rúmen.

¹⁰ Proteína não degradável no rúmen.

¹¹ Digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca.

¹² Recuperação de matéria seca digestível.

Tabela 4. Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de *Urochloa brizantha* cv. *Marandu* estocada por 90 d.

	Tratamento ¹					EPM ²	P-contraste ³			
	CON	NFM	NFA	NHM	NHA		CON vs. ADT	NH vs. NF	NHA vs. NHM	NFA vs. NFM
Bactérias lácticas, log UFC/g	7,47	7,59	7,53	7,76	7,48	0,093	0,258	0,529	0,047	0,682
Enterobactérias, log UFC/g	4,56	2,99	2,76	3,23	2,93	0,118	<0,001	0,104	0,091	0,176
Clostrídios, log UFC/g	3,37	2,00	1,82	2,08	2,23	0,109	<0,001	0,040	0,370	0,255
Leveduras, log UFC/g	<2	<2	<2	<2	<2	-	-	-	-	-
Fungos filamentosos, log UFC/g	3,76	3,24	3,18	3,09	3,37	0,173	0,014	0,893	0,280	0,802
pH	4,62	4,57	4,40	4,43	4,74	0,084	0,362	0,255	0,023	0,169
N-NH ₃ , % N	29,4	18,6	17,2	23,8	22,2	0,76	<0,001	<0,001	0,164	0,194
N-NH ₃ corr ⁴ , % N	29,4	16,3	13,9	16,5	11,9	0,74	<0,001	0,233	<0,001	0,034
Ácido láctico, % MS ⁵	0,573	2,55	3,33	3,41	3,67	0,160	<0,001	0,002	0,277	0,004
Ácido butírico, % MS	2,30	0,020	0,023	0,005	<0,001	0,063	<0,001	0,769	0,956	0,978
Ácido acético, % MS	3,78	2,77	1,69	1,67	1,33	0,184	<0,001	0,001	0,217	<0,001
Etanol, % MS	0,553	0,203	0,145	0,528	0,453	0,0366	<0,001	<0,001	0,168	0,284
Ácido propiônico, % MS	1,13	0,085	0,058	0,025	0,018	0,291	0,005	0,866	0,986	0,948
2,3-Butanodiol, mg/kg MS	15882	220	54,1	590	159	3782,2	0,002	0,951	0,937	0,976
Ácido iso-valérico, mg/kg MS	572	150	168	25,4	41,4	38,1	<0,001	0,005	0,771	0,742
Ácido iso-butírico, mg/kg MS	324	15,2	<0,01	4,63	<0,01	42,92	<0,001	0,904	0,940	0,806
1-Propanol, mg/kg MS	709	341	228	87,7	44,8	80,3	<0,001	0,016	0,711	0,338
Ácido valérico, mg/kg MS	1065	15,5	21,5	<0,1	<0,1	64,21	<0,001	0,777	0,999	0,948
2-Butanol, mg/kg MS	502	54,2	14,4	13,7	8,28	37,7	<0,001	0,545	0,920	0,467
1,2-Propanodiol, mg/kg MS	48,6	609	1025	639	343	93,4	<0,001	0,003	0,040	0,007
Metanol, mg/kg MS	235	134	149	293	324	26,4	0,721	<0,001	0,419	0,688
Isopropanol, mg/kg MS	1191	293	158	18,5	21,4	71,3	<0,001	0,011	0,977	0,201
Acetona, mg/kg MS	68,9	4,55	12,1	14,0	2,69	6,71	<0,001	0,998	0,252	0,439
Acetato de etila, mg/kg MS	18,6	1,79	<0,01	13,2	19,0	2,29	0,001	<0,001	0,095	0,588
Acetato de propila, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-	-	-
Lactato de etila, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-	-	-
Soma BV ⁶ , % MS	2,50	0,035	0,043	0,008	0,008	0,065	<0,001	0,639	0,999	0,936
AGVnãodiss ⁷ , % MS	3,71	1,35	1,33	1,21	0,698	0,462	<0,001	0,417	0,447	0,970
CS + AL ⁸ , % MS	2,24	4,31	5,14	5,27	5,95	0,187	<0,001	<0,001	0,021	0,007
AGVnãodiss/(SC + LA)	1,63	0,295	0,260	0,230	0,120	0,175	<0,001	0,567	0,663	0,889
Perda de MS, % MS	9,17	2,74	2,22	2,60	2,12	0,046	<0,001	0,020	<0,001	<0,001
Estabilidade aeróbia, h	158	177	194	178	130	17,8	0,663	0,099	0,078	0,479

¹ CON: Controle, NHA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Hexamina (0,6 g/kg), NHM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Hexamina (0,4 g/kg), NFA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Formato de sódio (0,6 g/kg), NFM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Formato de sódio (0,4 g/kg).

² Erro padrão da média.

³ CON vs. ADT: Controle versus Aditivos, NH vs. NF: Nitrito de sódio + Hexamina versus Nitrito de sódio + Formato de sódio, NHA vs. NHM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Hexamina 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Hexamina 0,4 g/kg, NFA vs. NFM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Formato de sódio 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Formato de sódio 0,4 g/kg.

⁴ N-NH₃ corrigida para NH₃ oriunda dos aditivos.

⁵ Matéria seca.

⁶ Soma das concentrações dos ácidos iso-butírico, butírico, iso-valérico e valérico.

⁷ Ácidos graxos voláteis não dissociados.

⁸ Carboidratos solúveis + ácido láctico.

Tabela 5. Composição química da silagem de *Urochloa brizantha* cv. *Marandu* estocada por 90 d.

	Tratamento ¹					EPM ²	P-contraste ³			
	CON	NFM	NFA	NHM	NHA		CONT vs ADT	NH vs NF	NHA vs NHM	NFA vs NFM
MS ⁴ , % MN	22,4	25,1	25,5	25,2	25,3	0,17	<0,001	0,768	0,677	0,106
Carboidratos solúveis, % MS	1,66	1,76	1,81	1,86	2,28	0,103	0,036	0,014	0,011	0,723
FDN ⁵ , % MS	65,8	65,9	64,2	64,9	64,0	0,43	0,043	0,185	0,167	0,011
FDA ⁶ , % MS	42,6	36,3	35,4	35,9	35,6	1,50	<0,001	0,934	0,889	0,710
Cinzas, % MS	9,55	8,61	8,57	8,40	8,37	0,165	<0,001	0,244	0,891	0,875
PB ⁷ , % MS	6,70	6,63	6,89	7,01	7,38	0,114	0,042	0,002	0,036	0,120
Fracionamento ⁸ de N, % N										
A1	29,4	18,6	17,2	23,8	22,2	0,76	<0,001	<0,001	0,164	0,194
A2	35,1	48,7	49,7	40,6	40,4	1,53	<0,001	<0,001	0,925	0,598
B1	22,5	21,4	21,3	21,9	21,5	0,77	0,283	0,632	0,750	0,898
B2	6,73	6,32	7,41	8,59	9,74	0,491	0,033	<0,001	0,119	0,139
C	6,25	5,09	4,45	5,20	6,19	0,202	<0,001	<0,001	0,004	0,040
PDR ⁹ , % PB	79,2	78,7	78,7	78,8	77,5	0,20	0,003	0,012	<0,001	0,838
PNDR ¹⁰ , % PB	20,8	21,3	21,3	21,2	22,5	0,20	0,003	0,012	<0,001	0,838
DIVMS ¹¹ , % MS	62,6	62,3	64,5	66,0	66,0	1,69	0,279	0,137	0,999	0,356
RMSd ¹² , % MS	88,7	94,5	98,5	100	100	2,48	0,003	0,115	0,889	0,274

¹ CON: Controle, NHA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Hexamina (0,6 g/kg), NHM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Hexamina (0,4 g/kg), NFA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Formato de sódio (0,6 g/kg), NFM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Formato de sódio (0,4 g/kg).

² Erro padrão da média.

³ CON vs. ADT: Controle versus Aditivos, NH vs. NF: Nitrito de sódio + Hexamina versus Nitrito de sódio + Formato de sódio, NHA vs. NHM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Hexamina 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Hexamina 0,4 g/kg, NFA vs. NFM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Formato de sódio 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Formato de sódio 0,4 g/kg.

⁴ Matéria seca.

⁵ Fibra em detergente neutro.

⁶ Fibra em detergente ácido.

⁷ Proteína bruta.

⁸ Fracionamento de N de acordo com o modelo CNCPS 6.5 (Van Amburgh *et al.*, 2015).

⁹ Proteína degradável no rúmen.

¹⁰ Proteína não degradável no rúmen.

¹¹ Digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca.

¹² Recuperação de matéria seca digestível.

Tabela 6. Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de *Megathyrus maximus* cv. MG18 Áries II estocada por 90 d.

	Tratamento ¹						P-contraste ³			
	CON	NFM	NFA	NHM	NHA	EPM ²	CON vs. ADT	NH vs. NF	NHA vs. NHM	NFA vs. NFM
Bactérias lácticas, log UFC/g	2,04	2,12	2,13	2,06	2,46	0,057	0,026	0,024	<0,001	0,902
Enterobactérias, log UFC/g	3,68	3,50	3,24	3,14	2,96	0,229	0,085	0,180	0,596	0,438
Clostrídios, log UFC/g	4,43	3,18	2,60	2,78	2,03	0,083	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Leveduras, log UFC/g	<2	<2	<2	<2	<2	-	-	-	-	-
Fungos filamentosos, log UFC/g	3,23	3,16	3,35	3,03	3,33	0,207	0,936	0,722	0,325	0,531
pH	5,91	6,19	6,27	5,90	5,46	0,122	0,750	0,0004	0,0230	0,630
N-NH ₃ , % N	40,8	35,4	36,7	25,5	19,7	2,28	<0,001	<0,001	0,092	0,728
N-NH ₃ corr ⁴ , % N	40,8	32,8	32,7	19,3	11,0	2,28	<0,001	<0,001	0,021	0,973
Ácido láctico, % MS ⁵	0,090	0,049	0,060	0,525	2,53	0,252	0,025	<0,001	<0,001	0,976
Ácido butírico, % MS	1,90	1,29	1,32	0,590	0,005	0,102	<0,001	<0,001	0,001	0,832
Ácido acético, % MS	4,68	4,48	4,53	4,78	3,99	0,240	0,392	0,617	0,035	0,896
Etanol, % MS	0,380	0,140	0,243	0,598	0,508	0,086	0,934	<0,001	0,469	0,411
Ácido propiônico, % MS	0,363	0,305	0,390	0,163	0,050	0,020	<0,001	<0,001	0,001	0,010
Ácido iso-valérico, mg/kg MS	5534	4817	5271	119	85,0	266,9	<0,001	<0,001	0,930	0,247
Ácido iso-butírico, mg/kg MS	3314	2523	2843	164	<0,1	174,4	<0,001	<0,001	0,516	0,214
1-Propanol, mg/kg MS	121	141	118	122	73,2	20,60	0,762	0,146	0,112	0,452
Ácido valérico, mg/kg MS	1638	509	442	21,6	10,2	64,51	<0,001	<0,001	0,902	0,469
2-Butanol, mg/kg MS	96,9	82,6	57,9	22,4	7,93	8,34	<0,001	<0,001	0,239	0,053
1,2-Propanodiol, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	39,6	50,9	6,46	0,007	<0,001	0,238	0,999
Metanol, mg/kg MS	48,3	141	118	277	355	24,7	<0,001	<0,001	0,041	0,506
Isopropanol, mg/kg MS	24,6	23,7	25,6	<0,1	<0,1	4,83	0,038	<0,001	0,999	0,781
Acetato de etila, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	19,0	15,4	1,76	<0,001	<0,001	0,173	0,999
Acetato de propila, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-	-	-
Lactato de etila, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-	-	-
Acetona, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-	-	0,999
2,3-Butanodiol, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-	-	-
Soma BV ⁶ , % MS	2,95	2,07	2,17	0,620	0,014	0,139	<0,001	<0,001	0,007	0,611
AGVnãodiss ⁷ , % MS	0,570	0,340	0,230	0,388	0,662	0,093	0,134	0,021	0,055	0,417
CS + AL ⁸ , % MS	0,185	0,148	0,155	0,640	2,77	0,252	0,019	<0,001	<0,001	0,984
AGVnãodiss/(SC + LA)	3,17	3,10	1,59	0,743	0,243	0,856	0,087	0,047	0,685	0,231
Perda de MS, % MS	13,4	14,0	14,5	8,69	5,39	1,07	0,038	<0,001	0,045	0,757
Estabilidade aeróbia, h	119	90,9	81,8	84,0	82,7	5,78	<0,001	0,621	0,875	0,320

¹ CON: Controle, NHA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Hexamina (0,6 g/kg), NHM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Hexamina (0,4 g/kg), NFA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Formato de sódio (0,6 g/kg), NFM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Formato de sódio (0,4 g/kg).

² Erro padrão da média.

³ CON vs. ADT: Controle versus Aditivos, NH vs. NF: Nitrito de sódio + Hexamina versus Nitrito de sódio + Formato de sódio, NHA vs. NHM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Hexamina 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Hexamina 0,4 g/kg, NFA vs. NFM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Formato de sódio 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Formato de sódio 0,4 g/kg.

⁴ N-NH₃ corrigida para NH₃ oriunda dos aditivos.

⁵ Matéria seca.

⁶ Soma das concentrações dos ácidos iso-butírico, butírico, iso-valérico e valérico.

⁷ Ácidos graxos voláteis não dissociados.

⁸ Carboidratos solúveis + ácido láctico.

Tabela 7. Composição química da silagem de *Megathyrus maximus* cv. *MG18 Áries II* estocada por 90 d.

	Tratamento ¹						P-contraste ³			
	CON	NFM	NFA	NHM	NHA	EPM ²	CONT vs ADT	NH vs NF	NHA vs NHM	NFA vs NFM
MS ⁴ , % MN	18,8	18,2	18,3	19,3	19,4	0,33	0,986	0,005	0,875	0,954
Carboidratos solúveis, % MS	0,096	0,097	0,096	0,113	0,242	0,031	0,244	0,018	0,009	0,977
FDN ⁵ , %MS	65,6	65,5	65,3	63,7	63,0	0,45	0,024	<0,001	0,356	0,798
FDA ⁶ , %MS	43,0	43,4	42,8	40,7	40,6	0,40	0,021	<0,001	0,799	0,252
Cinzas, %MS	10,9	10,9	11,2	10,7	10,2	0,21	0,613	0,016	0,156	0,350
PB ⁷ , %MS	8,34	8,58	8,75	11,4	12,0	0,160	<0,001	<0,001	0,017	0,463
Fracionamento ⁸ de N, % N										
A1	40,8	35,4	36,6	25,5	19,7	2,28	<0,001	<0,001	0,092	0,728
A2	5,53	11,4	11,1	26,6	32,8	2,84	<0,001	<0,001	0,146	0,948
B1	31,0	31,4	30,3	23,4	22,5	1,94	0,080	0,001	0,768	0,688
B2	13,3	12,7	13,0	16,0	16,4	0,410	0,015	<0,001	0,538	0,606
C	9,39	9,12	9,06	8,50	8,60	0,248	0,060	0,045	0,790	0,867
PDR ⁹ , % PB	76,7	76,2	76,4	74,6	73,6	0,289	<0,001	<0,001	0,028	0,710
PNDR ¹⁰ , % PB	23,3	23,8	23,6	25,4	26,4	0,289	<0,001	<0,001	0,028	0,710
DIVMS ¹¹ , % MS	61,6	63,0	64,0	65,6	67,3	0,44	<0,001	<0,001	0,017	0,123
RMSd ¹² , % MS	78,7	79,8	80,7	88,4	93,9	1,17	<0,001	<0,001	0,005	0,620

¹ CON: Controle, NHA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Hexamina (0,6 g/kg), NHM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Hexamina (0,4 g/kg), NFA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Formato de sódio (0,6 g/kg), NFM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Formato de sódio (0,4 g/kg).

² Erro padrão da média.

³ CON vs. ADT: Controle versus Aditivos, NH vs. NF: Nitrito de sódio + Hexamina versus Nitrito de sódio + Formato de sódio, NHA vs. NHM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Hexamina 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Hexamina 0,4 g/kg, NFA vs. NFM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Formato de sódio 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Formato de sódio 0,4 g/kg.

⁴ Matéria seca.

⁵ Fibra em detergente neutro.

⁶ Fibra em detergente ácido.

⁷ Proteína bruta.

⁸ Fracionamento de N de acordo com o modelo CNCPS 6.5 (Van Amburgh *et al.*, 2015).

⁹ Proteína degradável no rúmen.

¹⁰ Proteína não degradável no rúmen.

¹¹ Digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca.

¹² Recuperação de matéria seca digestível.

Tabela 8. Contagens microbianas, perfil fermentativo e estabilidade aeróbia da silagem de *Megathyrus maximus* cv. *Mombaça* estocada por 90 d.

	Tratamento ¹						P-contraste ³			
	CON	NFM	NFA	NHM	NHA	EPM ²	CON vs. ADT	NH vs. NF	NHA vs. NHM	NFA vs. NFM
Bactérias lácticas, log UFC/g	7,14	7,21	6,49	6,58	6,01	0,240	0,029	0,023	0,095	0,029
Enterobactérias, log UFC/g	2,69	2,19	2,00	3,39	3,32	0,381	0,924	0,0047	0,896	0,696
Clostrídios, log UFC/g	3,91	2,93	2,85	2,33	2,15	0,045	<0,001	<0,001	0,013	0,240
Leveduras, log UFC/g	<2	<2	<2	<2	<2	-	-	-	-	-
Fungos filamentosos, log UFC/g	3,59	3,56	3,59	3,60	3,55	0,291	0,954	0,989	0,914	0,940
pH	5,78	6,15	6,18	4,58	4,45	0,128	0,008	<0,001	0,493	0,839
N-NH ₃ , % N	44,2	52,2	32,5	8,27	8,09	2,10	<0,001	<0,001	0,953	<0,001
N-NH ₃ corr ⁴ , % N	44,2	50,2	29,5	3,50	1,30	2,10	<0,001	<0,001	0,470	<0,001
Ácido láctico, % MS ⁵	0,611	0,524	0,705	5,73	5,73	0,372	<0,001	<0,001	0,996	0,737
Ácido butírico, % MS	2,34	1,94	1,92	0,230	0,115	0,181	<0,001	<0,001	0,660	0,954
Ácido acético, % MS	4,33	3,69	4,23	2,95	2,71	0,370	0,040	0,008	0,663	0,318
Etanol, % MS	0,270	0,203	0,203	0,168	0,150	0,017	<0,001	0,019	0,469	0,999
Ácido propiônico, % MS	0,270	0,198	0,188	0,028	0,053	0,017	<0,001	<0,001	0,303	0,676
Ácido iso-valérico, mg/kg MS	5338	4113	2716	130	198	533	<0,001	<0,001	0,930	0,084
Ácido iso-butírico, mg/kg MS	2544	1930	1269	<0,1	76,8	260	<0,001	<0,001	0,838	0,093
1-Propanol, mg/kg MS	392	239	246	164	155	33,8	0,0001	0,027	0,838	0,884
Ácido valérico, mg/kg MS	893	624	1088	15,34	154	272	0,186	0,013	0,723	0,248
2-Butanol, mg/kg MS	445	319	254	40,8	9,51	29,6	<0,001	<0,001	0,467	0,143
1,2-Propanodiol, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	26,8	33,1	8,85	0,151	0,004	0,625	0,999
Metanol, mg/kg MS	167	220	250	411	575	40,9	<0,001	<0,001	0,012	0,609
Isopropanol, mg/kg MS	17,8	35,8	34,3	3,11	<0,1	5,08	0,929	<0,001	0,671	0,837
Acetona, mg/kg MS	19,9	3,08	<0,1	7,45	12,4	5,04	0,024	0,118	0,501	0,672
Acetato de etila, mg/kg MS	<0,1	54,2	65,1	2,32	<0,1	9,06	0,0090	<0,001	0,859	0,407
Acetato de propila, mg/kg MS	<0,1	6,20	8,52	<0,1	<0,1	2,15	0,146	0,004	0,999	0,455
Lactato de etila, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-	-	-
2,3-Butanodiol, mg/kg MS	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-	-	-
Soma BV ⁶ , % MS	3,22	2,60	2,47	0,248	0,155	0,228	<0,001	<0,001	0,778	0,687
AGVnãodiss ⁷ , % MS	0,885	0,268	0,278	1,74	1,95	0,173	0,381	<0,001	0,405	0,968
CS + AL ⁸ , % MS	1,41	1,23	1,48	6,62	6,67	0,368	<0,001	<0,001	0,925	0,638
AGVnãodiss/(SC + LA)	0,863	0,238	0,195	0,268	0,293	0,226	0,028	0,782	0,939	0,896
Perda de MS, % MS	10,4	9,42	7,80	2,66	1,12	0,722	<0,001	<0,001	0,151	0,135
Estabilidade aeróbia, h	210	207	224	238	235	17,7	0,433	0,333	0,929	0,536

¹ CON: Controle, NHA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Hexamina (0,6 g/kg), NHM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Hexamina (0,4 g/kg), NFA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Formato de sódio (0,6 g/kg), NFM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Formato de sódio (0,4 g/kg).

² Erro padrão da média.

³ CON vs. ADT: Controle versus Aditivos, NH vs. NF: Nitrito de sódio + Hexamina versus Nitrito de sódio + Formato de sódio, NHA vs. NHM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Hexamina 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Hexamina 0,4 g/kg, NFA vs. NFM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Formato de sódio 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Formato de sódio 0,4 g/kg.

⁴ N-NH₃ corrigida para NH₃ oriunda dos aditivos.

⁵ Matéria seca.

⁶ Soma das concentrações dos ácidos iso-butírico, butírico, iso-valérico e valérico.

⁷ Ácidos graxos voláteis não dissociados.

⁸ Carboidratos solúveis + ácido láctico.

Tabela 9. Composição química da silagem de *Megathyrus maximus* cv. *Mombaça* estocada por 90 d.

	Tratamento ¹					EPM ²	P-contraste ³			
	C	NFM	NFA	NHM	NHA		CONT vs ADT	NH vs NF	NHA vs NHM	NFA vs NFM
MS ⁴ , %MN	18,5	18,8	18,5	20,0	20,3	0,23	0,005	<0,001	0,354	0,538
Carboidratos solúveis, % MS	0,803	0,710	0,779	0,890	0,935	0,1410	0,858	0,254	0,825	0,731
FDN ⁵ , % MS	58,4	57,8	57,7	54,8	54,6	0,53	0,002	<0,001	0,815	0,913
FDA ⁶ , % MS	36,4	36,1	36,4	34,4	33,7	0,48	0,038	<0,001	0,302	0,701
Cinzas, % MS	12,7	12,5	13,2	11,9	11,7	0,25	0,147	<0,001	0,541	0,060
PB ⁷ , % MS	10,3	10,0	10,1	13,4	13,9	0,19	<0,001	<0,001	0,082	0,800
Fracionamento ⁸ de N, % N										
A1	44,2	52,2	32,5	8,27	7,94	2,09	<0,001	<0,001	0,914	<0,001
A2	8,49	1,38	19,4	49,8	38,7	5,21	0,006	<0,001	0,151	0,027
B1	30,4	29,5	29,9	23,8	30,3	2,53	0,473	0,304	0,088	0,893
B2	10,5	8,27	14,8	11,4	15,5	3,03	0,561	0,532	0,355	0,151
C	6,39	8,65	8,77	6,73	8,24	0,738	0,056	0,118	0,168	0,916
PDR ⁹ , % PB	80,3	80,1	60,1	74,6	57,5	10,8	0,329	0,713	0,280	0,211
PNDR ¹⁰ , % PB	19,7	19,9	36,2	25,4	37,8	8,15	0,286	0,671	0,299	0,178
DIVMS ¹¹ , % MS	66,3	66,0	66,7	68,4	69,5	0,59	0,056	<0,001	0,177	0,373
RMSd ¹² , % MS	86,8	87,3	89,9	97,2	100	1,12	<0,001	<0,001	0,058	0,121

¹ CON: Controle, NHA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Hexamina (0,6 g/kg), NHM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Hexamina (0,4 g/kg), NFA: Nitrito de sódio (0,9 g/kg) + Formato de sódio (0,6 g/kg), NFM: Nitrito de sódio (0,6 g/kg) + Formato de sódio (0,4 g/kg).

² Erro padrão da média.

³ CON vs. ADT: Controle versus Aditivos, NH vs. NF: Nitrito de sódio + Hexamina versus Nitrito de sódio + Formato de sódio, NHA vs. NHM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Hexamina 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Hexamina 0,4 g/kg, NFA vs. NFM: Nitrito de sódio 0,9 g/kg + Formato de sódio 0,6 g/kg versus Nitrito de sódio 0,6 g/kg + Formato de sódio 0,4 g/kg.

⁴ Matéria seca.

⁵ Fibra em detergente neutro.

⁶ Fibra em detergente ácido.

⁷ Proteína bruta.

⁸ Fracionamento de N de acordo com o modelo CNCPS 6.5 (Van Amburgh *et al.*, 2015).

⁹ Proteína degradável no rúmen.

¹⁰ Proteína não degradável no rúmen.

¹¹ Digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca.

¹² Recuperação de matéria seca digestível.