

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – PPGCA**

CLAITON MARTINS ALVES

**NÍVEIS DE INCLUSÃO DO TREVO BRANCO EM MISTURAS COM AZEVÉM ANUAL
EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO: CARACTERÍSTICAS DO
MATERIAL VERDE E ENSILADO**

**LAGES
2024**

CLAITON MARTINS ALVES

**NÍVEIS DE INCLUSÃO DO TREVO BRANCO EM MISTURAS COM AZEVÉM ANUAL
EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO: CARACTERÍSTICAS DO
MATERIAL VERDE E ENSILADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal.
Orientador: Prof. Dr. Henrique M.N.R Filho

LAGES

2024

A base de tudo que nos tange e sustenta como alicerce, a família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me proporcionar saúde e disposição para enfrentar mais um desafio em minha vida. Meu orientador por ser firme e aceitar conduzir o meu trabalho de pesquisa. Aos professores do curso da Universidade do Estado de Santa Catarina – Udesc pela excelência da qualidade técnica de cada um.

Aos meus pais, Maria Cecília e Elizeu, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando ao longo de toda a minha trajetória. Sou grato à minha família pelo apoio que sempre me deram durante toda a minha vida.

Aos meus filhos, Vitor 7 anos e Luiza 2 anos, pois apesar de serem pequenos sempre me apoiaram de certa forma. Minha esposa por nunca ter me deixado esmorecer e sempre com uma força e determinação única me estimulou a dar o melhor, sob quaisquer situações. A vocês agradeço por tudo.

Aos colegas que nunca mediram esforços para me ajudar e por toda a cumplicidade e amizade que construímos no decorrer dessa jornada.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota”. (Theodore Roosevelt).

RESUMO

A introdução de leguminosas nos sistemas de produção animal pode contribuir para a redução no uso de adubação nitrogenada, com melhorias no valor alimentar da dieta. Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão progressiva de trevo-branco em dietas a base de azevém verde ou para a confecção de silagem em dois estádios de desenvolvimento. Os tratamentos testados foram quatro níveis de adição de trevo-branco: 0, 200 400 e 600 g/kg MS, quando o azevém se encontrava nos estádios vegetativo e em florescimento. Em cada um dos tratamentos, quatro baldes com volume de aproximadamente 3,8 litros foram utilizados para a confecção de micro silos. Os cortes das forragens foram realizados nos dias 05/09/2022 (estádio vegetativo) e 09/11/2022 (estádio de florescimento). Os teores de PB, FDN e FDA não variaram com o nível de inclusão do trevo branco quando o azevém anual se encontrava em estágio vegetativo, mas os teores de PB aumentaram e os de FDN e FDA diminuíram com a inclusão da leguminosa quando o azevém se encontrava em estágio de florescimento (interação nível da leguminosa × estágio de desenvolvimento: $P < 0,01$). A inclusão da leguminosa em mais de 400 g/kg MS não representou vantagens adicionais para a redução dos teores de fibra, tanto no material verde como no ensilado. A densidade do material ensilado aumentou ($P < 0,01$) com a inclusão da leguminosa independente do estágio de desenvolvimento da gramínea, enquanto os valores de pH diminuíram ($P < 0,01$) quando a gramínea estava em estágio de florescimento, independente do nível de inclusão do trevo. A inclusão de 400 g/kg MS de trevo branco em dietas a base de azevém no estágio de florescimento é uma prática pode ser fortemente recomendada, sobretudo para a confecção de silagem.

Palavras chave: consumo, digestibilidade, *Lolium multiflorum*, silagem, *Trifolium repens*

ABSTRACT

Legumes may contribute to decrease the use of nitrogen fertilizer, with improvements in feed value of ruminant's diets. The aim of this work was to assess the effect of progressive inclusion of white clover in ryegrass-based diets fresh or for silage, at two growth stages. The treatments were four levels of white clover addition: 0, 200, 400 and 600 g/kg DM, when the ryegrass was in the vegetative and reproductive stage. In each treatment, four buckets with a volume of approximately 3.8 liters were used to create micro silos. Forage cuts were carried out on September 5 (vegetative stage) and November 09, 2022 (reproductive stage). The CP, NDF and ADF contents did not change with the level of white clover inclusion when the annual ryegrass was in the vegetative stage, but the CP content increased and those of NDF and ADF decreased with the inclusion of the legume when the ryegrass was in the reproductive stage (interaction legume level \times growth stage: $P < 0.01$). However, the inclusion of legumes at more than 400 g/kg DM did not contribute to additional advantages in reducing fiber content, both in the fresh material and in the ensiled forage. The density of the ensiled forage increased ($P < 0.01$) with the inclusion of the legume regardless of the growth stage of the grass, while the pH values decreased ($P < 0.01$) when the grass was in the reproductive stage, regardless of the white clover inclusion level. The inclusion of 400 g/kg DM of white clover in ryegrass-based diets at the final of the growth cycle of ryegrass is a practice that can be strongly recommended, especially for making silage.

Keywords: intake, digestibility, *Lolium multiflorum*, silage, *Trifolium repens*

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Área de pastagens de azevém no dia do corte, vegetativo 05/09/2022 e no florescimento 09/11/2022. 24
- Figura 2:** Efeito do nível de inclusão do trevo branco em misturas com azevém anual sobre os teores de MS e MO do forragem verde e ensilado. 27
- Figura 3:** Efeito do nível de inclusão do trevo branco em misturas com azevém anual sobre os teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) do forragem verde e ensilado. 29
- Figura 4:** Efeito do nível de inclusão do trevo branco em misturas com azevém anual sobre a densidade e o pH do material verde e ensilado. 30
- Figura 5:** Efeito do nível de inclusão do trevo branco em misturas com azevém anual sobre a estabilidade aeróbica do material ensilado. 31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração típica de produtos de fermentação em silagens. 21

Tabela 2. Efeito da inclusão de trevo branco em pastos de azevém perene na produção e composição do leite. 33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------|--|
| CAV | Centro de Ciências Agroveterinárias |
| FDA | Fibra em detergente ácido |
| FDN | Fibra em detergente neutro |
| L | Litros |
| MM | Matéria mineral |
| MO | Matéria orgânica |
| MS | Matéria seca |
| N | Nitrogênio |
| PB | Proteína bruta |
| SC | Santa Catarina |
| UDESC | Universidade do Estado de Santa Catarina |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|--------------------|---------------|
| μ | Micra |
| % | Porcento |
| $^{\circ}\text{C}$ | Graus Celsius |
| Ca | Cálcio |
| \square | Menor que |
| \square | Maior que |
| Δ | Delta |

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1. | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 3. | OBJETIVOS | 23 |
| 3.1 | OBJETIVO GERAL..... | 23 |
| 3.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 23 |
| 4. | HIPÓTESES | 23 |
| 5. | MATERIAIS E MÉTODOS | 24 |
| 5.1 | ENSILAGEM E TRATAMENTOS..... | 24 |
| 5.2 | ANÁLISES QUÍMICAS | 25 |
| 5.3 | DENSIDADE | 25 |
| 5.4 | ENSAIO DE ESTABILIDADE AERÓBICA | 25 |
| 5.5 | ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 25 |
| 6. | RESULTADOS..... | 27 |
| 7. | DISCUSSÃO | 32 |
| 7.1 | EFEITO DA INCLUSÃO DO TREVO BRANCO SOBRE A COMPOSIÇÃO QUMICA DA FORRAGEM VERDE E DO MATERIAL ENSILADO..... | 32 |
| 7.2 | EFEITO DA INCLUSÃO DO TREVO BRANCO SOBRE A DENSIDADE E O pH DO MATERIAL ENSILADO. | 33 |
| 7.3 | MATERIAL ENSILADO <i>VERSUS</i> FORRAGEM VERDE | 34 |
| 8. | CONCLUSÕES | 34 |
| 9. | REFERÊNCIAS..... | 36 |

1. INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira possui atualmente o maior rebanho mundial, e tem reconhecimento devido ao fato de que a alimentação dos animais tem sua base na utilização de pastagens. Por possuir uma vasta extensão territorial, o País possui diferentes climas e relevos. Isto causa a necessidade de uso de diferentes tipos de forrageiras, devendo-se achar as mais adaptadas a cada região.

Existem linhas de estudo que priorizam a produção de carne e leite provenientes de bovinos criados a pasto, convergindo assim as origens como base alimentar sem depredar ou aumentar áreas de pastagens, seguindo o conceito de produzir com intensificação sustentável. Estudos conduzidos por empresas de pesquisa, como EMBRAPA e EPAGRI em sistemas agrosilviopastoris, objetivando a sustentabilidade em atividade agrícola, têm demonstrado a possibilidade de se proporcionar a colheita de material forrageiro disponível em alguns sistemas de plantio de pomares, seja ele de maçã, pêsego ou ameixa, o que proporciona disponibilidade de alimento para a produção animal no denominado “vazio forrageiro” em ambientes de clima temperado, com o uso de técnicas de conservação de alimento, ou até mesmo em sistemas de lavoura pecuária onde a oferta no determinado momento foi superior a demanda, podemos usar como matéria prima para uma situação de falta de alimento.

O uso de bactérias fermentativas, técnica milenar de conservação de alimentos, através do processo de ensilagem possibilita a conservação do material a um baixo custo, sendo uma premissa a qualidade do material ensilado ser semelhante ao seu produto final, ou seja, silagem com as características bromatológicas semelhantes da forragem verde. Usar esta técnica aliado com a oferta de massa verde em sistemas agrícolas consorciada com leguminosa para agregarmos qualidade em diferentes estágios vegetativos da gramínea nos proporciona ofertar forragem a base pasto no vazio forrageiro, ou seja, dieta a base de forragem durante o ano todo com planejamento agropecuário.

As gramíneas, normalmente apresentam composição química que não atende as exigências de animais de alto potencial de desempenho em todo seu estágio vegetativo. Ao longo do estágio vegetativo o valor nutritivo é via de regra inferior ao final de ciclo, quando aumentam os teores de fibra e diminui o teor de proteína. De outra forma, as leguminosas forrageiras tendem a apresentar menor variação em seus valores energético e proteico ao longo do ciclo de desenvolvimento. Esse

aumento qualitativo ocorre, ao menos em parte, devido ao fato das leguminosa possuírem menor espessura de parede celular em comparação às gramíneas de um modo geral.

Dessa forma, o uso de leguminosas na composição de silagens juntamente com gramíneas pode significar melhoria do valor nutritivo da dieta, sobretudo no final ciclo de desenvolvimento destas plantas. Entretanto o poder tamponante de leguminosas como o trevo branco, pode significar uma limitação à obtenção de silagens de qualidade a partir de misturas de gramíneas forrageiras com leguminosas. Isso justifica a condução de trabalhos no sentido de ampliar o horizonte de conhecimento sobre o efeito da inclusão de leguminosas em silagens de gramíneas em diferentes etagios vegetativos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A produção de forragem é caracterizada por uma distribuição desuniforme ao longo dos meses com períodos de máxima produtividade e outros de vazio forrageiro. Assim, conservar a forragem produzida em excesso durante os meses de maior taxa de acúmulo torna-se uma alternativa para alimentação dos animais nos meses em que a produção é quase inexistente, seja ela por frio ou seca. A silagem de capim é uma alternativa para as culturas anuais quando se tem uma oferta acima da demanda, logo podemos ensilar esta produção em excesso, tendo como vantagem as características de cultura perene, baixo risco agrônômico, possibilidade de manutenção de elevadas taxas de lotação na propriedade e por permitir flexibilidade em termos de manejo de colheita e direcionamento para diferentes categorias de animais dentro do rebanho (CORRÊA & POTT, 2001).

No entanto, é necessário considerar que o fornecimento concomitante de duas forragens, sendo uma gramínea e outra leguminosa, pode apresentar diferentes respostas sobre o valor alimentar dessa mistura (NIDERKORN; BAUMONT, 2009). Isso ocorre porque a interação entre as diferentes espécies de forragem pode modificar os processos metabólicos, principalmente no rúmen. Como consequência, a digestibilidade e o consumo podem apresentar variações em função dos efeitos associativos positivos ou negativos, aumentando ou diminuindo a resposta dessas variáveis em relação ao valor médio calculado para as forragens em separado (REITER et al., 2013).

Nos ruminantes, cerca de 80% das exigências proteicas são supridas a partir da proteína microbiana quando esta é sintetizada em quantidades suficientes no rúmen, ressaltando a importância da otimização de sua síntese a partir da dieta. A produção de proteína microbiana é influenciada pela proporção de N no alimento que é solúvel e degradável no rúmen em adição à disponibilidade de energia, enquanto que a disponibilidade de proteína para absorção pós ruminal é influenciada pela proporção do N que é resistente à degradação ruminal mais a proteína microbiana (BROWN; PITMAN, 1991). Quando o teor de proteína degradável no rúmen das forragens é alto superando a quantidade requerida pelos microrganismos, e/ou a quantidade de energia para a síntese microbiana é limitada pela baixa qualidade ou velocidade de degradação dos carboidratos, podem ocorrer perdas ruminais de nitrogênio e assim diminuir a quantidade de nitrogênio retido pelos animais (NIDERKORN; BAUMONT, 2009). Geralmente, o N de gramíneas tropicais é de lenta degradação e solubilização no rúmen, podendo limitar o pool de N disponível para síntese de proteína microbiana. Com a

inclusão de leguminosas na dieta é possível adicionar N solúvel e degradável a dieta, otimizando a oferta de N aos microrganismos ruminais.

Harris et al., (1998) descrevem que a população microbiana é maior no rúmen de animais recebendo leguminosas, sendo que os microrganismos tem uma atividade 25% superior do que quando a dieta é composta exclusivamente por gramíneas. Além desse fato, com a maior taxa de passagem da digesta pelo rúmen, comum em dietas contendo leguminosas, a estimativa do N potencialmente degradado no rúmen que escapa da degradação é maior (BROWN; PITMAN, 1991). Da mesma forma, a maioria das gramíneas, as quais possuem baixa degradabilidade ruminal da fração de proteína, devem ter um fluxo maior de proteína não degradada no rúmen e com isso, mais proteína dietética sofrerá digestão enzimática no abomaso e intestino delgado (KHAMSEKHIEW et al., 2001). Entretanto, os efeitos da introdução de leguminosas não podem ser generalizados, pois a variação que ocorre nas interações entre diferentes espécies forrageiras é grande (BHATTI et al., 2008).

Um dos primeiros processos de fermentação na história foi a produção de um queijo de forma acidental, meados do ano 10.000 a.C., o leite era transportado em recipientes feitos com tecidos do estômago de animais, durante o transporte, sofrendo a ação do calor, propiciou-se a fermentação pelas bactérias naturalmente presentes nesses tecidos. Sociologicamente, a fermentação é uma das maiores descobertas da humanidade que permitiu o avanço de diversas civilizações. A fermentação se ampliou e ganhou corpo sendo uma das formas mais baratas de conservar alimentos, comparando com a conservação através do uso do frio como câmaras frias as quais consomem uma grande quantidade de energia gerando assim um impacto econômico e ambiental.

A produção de uma silagem de qualidade irá depender de fatores como o teor de umidade, trituração da forragem, quantidade de carboidratos solúveis e poder tampão no momento do corte (McDONALD et al., 1991). O poder tampão de uma forrageira consiste em sua capacidade de resistir a alterações de pH. Uma boa parte das propriedades tamponantes das forragens pode ser atribuída aos ânions, que são os sais ácidos orgânicos, ortofosfatos, sulfatos, nitratos e cloretos (ÁVILA et al., 2006). Em quantidade, os ácidos mais importantes que as gramíneas possuem são o málico, o cítrico e o quinico. A razão entre carboidratos solúveis e poder tampão é fundamental no processo da ensilagem, tanto que quando essa razão diminui, aumento mínimo no teor de MS é requerido para evitar fermentações indesejáveis no interior do silo (VILELA, 1997). Esses parâmetros influem, de maneira decisiva, na natureza da fermentação e no valor alimentício da forragem conservada (NUSSIO et al., 2002). Por exemplo,

materiais com alta capacidade tampão, dificultam abaixamento do pH da massa ensilada e a produção de microrganismos benéficos são dificultados (PEREIRA et al., 2008).

O processamento físico como triturar a forragem de 1 a 4 vezes aumentou a densidade da silagem e a fermentação melhorou favoravelmente (SAMARASINGHE, 2018). O teor de umidade, quando elevado propicia condições para desenvolvimento de clostrídios, culminando em fermentação butírica e proteólise excessiva, com evidente queda no valor nutritivo do volumoso conservado (FERRARI JÚNIOR & LAVEZZO, 2001).

O processo de produção de uma silagem, seja ela de forragem ou grãos, pode ser dividido em quatro fases distintas (BARNETT, 1954): fase aeróbica, ocorre consumo do oxigênio que não foi expulso pela compactação; fase anaeróbica, onde os microrganismos anaeróbicos começam a crescer formando ácido acético + etanol + ácido láctico + CO₂, decorrentes da fermentação das hexoses (glicose e frutose) e pentoses (xilose e ribose), baixando o pH do ambiente; fase de estabilização, onde os baixos valores de pH inibem o crescimento da população de bactérias indesejáveis, interrompendo assim os processos de fermentação e iniciando assim a estabilidade da silagem que se prolongará até que o silo seja aberto, fase da retirada. Quanto mais rápido se completar o processo fermentativo, mais nutrientes (peptídeos e aminoácidos) serão preservados, melhorando o valor nutritivo da silagem (PEREIRA et al., 2008). Contudo, mesmo atendendo as exigências para um bom processo fermentativo algumas perdas são inevitáveis.

Durante o processo de ensilagem a degradação proteica por enzimas das plantas e a ação de bactérias transformam proteína verdadeira em nitrogênio não proteico (NNP) (RODRIGUEZ et al., 1998). Esta transformação resulta em uma silagem com grande parte de seu N na forma de amônia. Além disso, a produção de grandes quantidades de N-solúvel altera o curso da fermentação da silagem, uma vez que os aminoácidos básicos, aminas e N-amoniacal, produtos da hidrólise proteica, podem retardar a queda do pH e interferir na qualidade da silagem produzida. Autores que estudaram a transformação de proteína a NNP durante a ensilagem, observaram que no trevo a proteólise da massa ensilada era menor que nos demais tipos de forragens (PAPADOPOULOS e MCKERSIE, 1983). Assim, para o sucesso da silagem de trevo processos como a pré-secagem (emurchamento) do material e o uso de inoculante apropriado são extremamente importantes por favorecerem a fermentação e a qualidade da silagem (DARDNI, 2010). Estudos que determinaram o tempo e as condições de pré-secagem até o momento da ensilagem mostram que uma pré-secagem excessiva pode levar a uma grande perda de nutrientes, bem como a quebra e perda de folhas muito

secas durante o processo de ensilagem. A condição de pré-secagem, com secagem 100% na sombra ou totalmente ao sol, não influenciou na qualidade do material (OWENS et al., 1998).

A inclusão de aditivos é uma ferramenta estudada e avaliada sua efetividade, seja ela composta por bactérias vivas ou por antimicrobianos que vai além do ganho no perfil fermentativo e microbiológico das silagens, com o seu uso ocorre a mitigação de COV (componentes orgânicos voláteis) da silagem onde esses aditivos químicos inibem leveduras e têm o potencial de reduzir pela metade essa emissão. A utilização de aditivos é uma ferramenta estratégica na gestão da produção de silagem (AUERBACH E NADEAU, 2019). De acordo com Kaiser, (1999) existem cinco principais classes de aditivos para silagem que são: 1- Estimulantes de fermentação, a) carboidratos fermentáveis, fontes de açúcar como melaço, sacarose, glicose, polpa cítrica, polpa de abacaxi, polpa de beterraba b) Enzimas como celulases, hemicelulases, amilases c) Inoculantes como bactérias do ácido láctico (LAB), 2- Inibidores de fermentação (ácidos, formaldeído etc.), 3- Inibidores de deterioração aeróbica (bactérias lácticas, ácido propiônico etc.), 4- Nutrientes (ureia, amônia etc.) e 5- Absorventes (cevada, palha etc.). Embora os aditivos biológicos sejam os mais utilizados no mercado mundial de silagens, os aditivos químicos desempenham papel importante em certas regiões, especialmente na Europa (AUERBACH & NADEAU, 2019). Há grande variedade de produtos químicos disponíveis que são usados como aditivos de silagem, e, estes geralmente são classificados de acordo com seus efeitos inibitórios nos microrganismos alvo para melhorar a fermentação ou aumentar a estabilidade aeróbia (AUERBACH & NADEAU, 2019). A principal ação dos aditivos químicos melhoradores de fermentação em silagens é por meio da supressão ou inibição de microrganismos indesejáveis, como clostrídios, enterobactérias e *Listeria* (McDonald et al., 1991). Do ponto de vista histórico, o ácido fórmico tem sido o aditivo químico mais importante para melhorar a fermentação, e estudos foram publicados sobre os efeitos positivos na fermentação e no desempenho animal (BRODERICK et al., 2007). Porém devido a sua característica corrosiva em metais, na pele e nos olhos, o tamponamento parcial com amônia ou sódio tornou-se popular, e frequentemente os aditivos à base de ácido fórmico tamponado contêm outros produtos químicos, por exemplo, ácidos propiônico e benzoico (Auerbach e Nadeau, 2019), para melhorar seu desempenho e mitigar efeitos indesejáveis.

O inoculante (Biotrato®) pertence no grupo de estimulantes de fermentação, que contém 7 tipos de bactérias lácticas, mais 8% de enzimas celulolíticas. Os inoculantes microbianos e as preparações enzimáticas são considerados produtos naturais que são seguros de manusear, não corrosivos para as máquinas, não causam problemas

ambientais e a sua utilização expandiu-se notavelmente nas últimas décadas (YITBAREK; TAMIR, 2014). Talvez nenhuma outra área do manejo da silagem tenha recebido tanta atenção entre pesquisadores e produtores pecuários como os inoculantes bacterianos (BOLSEN, 1996).

Os processos fermentativos entre as bactérias lácticas na maioria das vezes são diferentes entre si pelo açúcar a ser utilizado como substrato e seus diferentes produtos de sua produção. Oliveira (1995) verificou que na fermentação láctica utilizando *L. curvatus* a sacarose não foi a fonte de carbono mais adequada. Desta maneira, substratos ricos em sacarose necessitam de tratamento prévio (ácido ou enzimático) em função da baixa atividade de invertase desse microrganismo. A inoculação de silagem com uma das espécies LAB homofermentativas mais comumente usadas, *Lactobacillus plantarum*, tem sido amplamente relatada por reduzir rapidamente o pH, inibir o crescimento microbiano patogênico e preservar proteínas vegetais (BAI et al., 2021). Contudo o ácido láctico é o produto de fermentação mais abundante e é produzido primariamente por bactérias lácticas, homo ou heterofermentativas (McDONALD et al., 1991). Na fermentação homoláctica, o ácido láctico é o único produto final e as bactérias extraem 2 ATP por mol de hexose, além da geração de calor. Sendo assim, toda matéria e quase toda energia bruta são preservadas. Como o ácido láctico é um ácido mais forte (pka 3,8) que os outros ácidos produzidos durante a fermentação (e.g. ácido acético pka 4,8), quantidades menores de ácido láctico são necessárias para acidificar e preservar a massa sob anaerobiose, poupando nutrientes utilizáveis pelos microrganismos ruminais e pelo animal (DANIEL, 2019). Logo, é desejável que o ácido láctico seja o principal produto de fermentação. Em silagens bem preservadas, o ácido láctico deve representar ao menos 2/3 da soma de produtos de fermentação (KUNG et al., 2018).

Diversos microrganismos podem produzir ácido acético, incluindo bactérias lácticas heterofermentativas, enterobactérias, clostrídios, bacillus e bactérias do ácido acético (McDONALD et al., 1991). Acido acético não menos importante que o ácido láctico sendo o segundo mais abundante e uma de suas contribuições é preservar as silagens após sua abertura, ou seja, expostas ao oxigênio, sendo responsável por garantir a qualidade por mais alguns dias.

A estabilidade aeróbia pode ser conceituada como a resistência da massa de silagem à deterioração após a abertura do silo, ou seja, a velocidade com que essa silagem se deteriora após exposição ao ar, sendo considerada a perda da estabilidade quando a temperatura da mesma ultrapassa em 2°C acima à temperatura ambiente (Kung Junior, et al., 2003). Esse aumento da temperatura está relacionado ao metabolismo de microrganismos que degradam ácido láctico e

açúcares residuais da silagem, produzindo dióxido de carbono e água (MUCK, 2013). Em uma metanálise avaliando o efeito do *L. buchneri*, Kleinschmit & Kung Junior (2006) observaram um incremento de 1% nas perdas de MS para silagens inoculadas com *L. buchneri* com dose acima de 5 ufc.g-1 matéria natural em relação a silagem controle. Apesar disso, os benefícios promovidos pelo *L. buchneri* através da melhoria na estabilidade aeróbia da silagem após abertura do silo, compensariam o aumento nas perdas ocorridas durante a fermentação (BORREANI,etal.,2018), visto que os microrganismos aeróbios são a maior fonte de perdas na produção de silagem (WOOLFORD, 1990)

A enzima amilase é útil para degradar o amido em açúcares, ja as celulolíticas ou xilanases degradam as paredes celulares em açúcares. Os açúcares liberados pelas enzimas aumentam o crescimento de bactérias da silagem e, em alguns casos, as enzimas que degradam as fibras também aumentam a digestibilidade da forragem. Essas enzimas geralmente são mais eficazes em alimentos com baixo teor de lignina. Melhorias na fermentação da silagem e diminuições no conteúdo de fibra parecem mais pronunciadas em silagens de cereais e gramíneas imaturas principalmente de estação fria do que em gramíneas maduras, onde a hidrólise da parede celular seria mais difícil devido ao aumento da lignificação. As enzimas melhoraram a fermentação, estimulando a produção de ácido, diminuindo o pH e diminuindo o N de amônia.

Como resultado da fermentação das silagens podemos sintetizar e descrever as principais características, forragem e seus resultados de acordo com a matéria seca de cada forragem no momento da ensilagem, como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração típica de produtos de fermentação em silagens

| Item | Leguminosa <30-35% MS | Leguminosa 45-55% MS | Gramínea | Milho planta inteira 30-40% MS | Milho grão úmido 70-75% MS |
|----------------------------------|--------------------------|-------------------------|----------|--------------------------------------|----------------------------------|
| pH | 4,3-4,5 | 4,7-5,0 | 4,3-4,7 | 3,7-4,0 | 4,0-4,5 |
| Ácido láctico (% MS) | 2-3 | 0,5-2,0 | 1-3 | 1-3 | <0,5 |
| Ácido acético (% MS) | 2-3 | 0,5-2,0 | 1-3 | 1-3 | <0,5 |
| Ácido propiónico (% MS) | <0,5 | <0,1 | <0,1 | <0,1 | <0,1 |
| Ácido butírico (% MS) | <0,5 | 0 | <0,5-1,0 | 0 | 0 |
| Etanol (% MS) | 0,5-1,0 | 0,5 | 0,5-1,0 | 1-3 | 0,2-2,0 |
| N-NH ₃ (% N total) | 10-15 | <12 | 8-12 | 5-7 | <10 |

Fonte: Kung et al. (2018)

Mais do que 40 desses compostos volatilizam prontamente quando a silagem é exposta ao ar. Os COV contribuem para a má qualidade do ar em algumas áreas, participando de reações que produzem poluentes secundários nocivos, incluindo o ozônio. Medidas e cálculos recentes sugerem que o COV da silagem contribui significativamente para a emissão o COV antropogênico total e a má qualidade do ar resultante em algumas áreas (MITLOEHNER et al., 2009).

O trevo branco também possui uma alta capacidade de tamponamento devido ao seu alto teor de proteína (MUCK; O'KIELY; WILSON, 1991), junto a isso há um baixo teor de açúcar solúveis em água, tornando a uma cultura difícil fermentação (MCDONALD et al., 1991). O teor de carboidratos solúveis (açúcares solúveis) das plantas forrageiras destinadas ao processo de ensilagem, é um dos pontos fundamentais para que os processos fermentativos se deem de maneira eficiente (Vilela, 1997), uma vez que o carboidrato solúvel é o principal substrato para as bactérias ácido lácticas produzirem ácidos, e conseqüentemente promover a redução do pH e conservar o material ensilado (BOLSEN, 1995). Os principais carboidratos solúveis presentes em culturas forrageiras são a frutose, glicose, sacarose e frutanas (Woolford, 1984). Uma má fermentação tem uma relação direta a um aumento na degradação de proteínas durante a ensilagem (WINTERS; FYCHAN; JONES, 2001). A inclusão e o nível de forragem que complementem esses teores de açúcar solúveis em água para contribuir um bom padrão de fermentação da silagem.

Contudo vários estudos demonstraram o alto valor nutritivo da silagem de trevo branco (CASTLE et al., 1983; WEIGAND et al., 1994; AULDIST *et al.*, 1999; DEWHURST *et al.*, 2003) o que refletiu em um aumento nos índices produtivos. Lee *et al.*, 2003 trabalhando com novilhos de corte, observaram um aumento de no consumo de 51% matéria seca (MS) quando adicionado silagem de trevo branco (40%) do que somente quando os animais recebiam somente dieta basal de silagem de azevém perene. Dewhurst et al., 2003 constataram um aumento na produção de leite em 4 kg/dia quando a dieta continha 50% de silagem de trevo branco comparado a dieta somente com silagem de gramínea.

3. HIPÓTESES

- Níveis moderados de inclusão do trevo-branco em pastos de azevém são suficientes para melhorar a qualidade nutricional da forragem.
- A melhoria qualitativa advinda da inclusão da leguminosa é maior quando a gramínea estiver em estágio de desenvolvimento avançado, porém se manterá no final do processo de silagem.
- A mistura do trevo branco com o azevém não prejudica a fermentação e a qualidade do material ensilado.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Inclusão progressiva de trevo-branco (*Trifolium repens*) em dietas a base de azevém (*Lolium multiflorum*) verde ou para a confecção de silagem nos estádios vegetativo ou em florescimento como alternativa de melhorar a qualidade em material verde e/ou preservado.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da inclusão do trevo em dietas a base de azevém sobre a composição química do material verde e ensilado
- Avaliar o efeito da inclusão do trevo branco em pastos de azevém sobre parâmetros fermentativos do material ensilado.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 ENSILAGEM E TRATAMENTOS

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Lages (EEL) pertencente a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina - (Epagri), no município de Lages, SC. O material foi coletado de duas áreas sendo a de trevo branco implantada no ano de 2021 e de azevém diplóide (*Lolium multiflorum*), implantada no ano de 2022. As forragens foram colhidas com uma ceifadeira de forragem Taarup® modelo 501. Após, todo o material foi alojado em piso de concreto para o processo de murcha e perda de água, tendo como alvo 30% de MS, o material também foi picado em forrageira estacionária (tamanho teórico de corte = 10 mm).

Os tratamentos testados foram quatro níveis de adição de trevo-branco: 0, 200, 400 e 600 g/kg MS. Foram utilizados baldes de aproximadamente 3,8 L de volume com 4 repetições por tratamento para a confecção de micro silos. Esse mesmo processo ocorreu em 2 diferentes estágios do azevém, vegetativo e florescimento, sendo as coletas realizadas nos dias 05/09/2022 e 09/11/2022, altura média total 24,9 cm e 43,2 cm, respectivamente.

Figura 1: Área de pastagens de azevém no dia do corte, vegetativo 05/09/2022 e no florescimento 09/11/2022.



Ao material ensilado, foi adicionado o inoculante comercial (Biotrato®) com o auxílio de uma bomba costal, o qual foi armazenado nos micro silos, onde foi compactado com uma prensa manual e fechado com as tampas e fitas adesivas. Esse material permaneceu ensilado por um período de 100 dias em local abrigado.

5.2 ANÁLISES QUÍMICAS

Amostras pré e pós ensilagem foram homogeneizadas e pesadas (200g) totalizando 64. Para a determinação do teor de matéria parcialmente seca as amostras foram levadas à de ventilação forçada (65°C) por 72 horas. Após foram moídas em moinho tipo Wiley, em peneira de 1mm, e armazenadas em embalagens plásticas. O teor de MS total das amostras foi determinado por secagem em estufa a 105 °C durante pelo menos 16 h. O conteúdo de cinzas (matéria mineral) foi determinado por combustão a 550 °C durante 3h. A proteína bruta foi calculada a partir do teor de nitrogênio total quantificado pelo método de Dumas (1983). Os componentes da parede celular (FDN e FDA) foram analisados segundo Van Soest (1967).

5.3 DENSIDADE

A prensagem do material foi manual, a fim de mensurar possíveis diferenças pela compactação. Para isso, foi mensurado individualmente o volume de cada balde pela adição de água a 20°C para determinar o volume, seu peso vazio e com o material ensilado. De acordo com JOBIM et al. (2007), a massa específica é definida como a razão entre a massa de uma quantidade da substância e o volume por ela ocupado.

5.4 ENSAIO DE ESTABILIDADE AERÓBICA

Para determinação da estabilidade aeróbia, a silagem remanescente foi alocado em caixas plásticas com capacidade de 50 L (4,3 kg de matéria fresca) alocadas em um estrado plástico afim de impedir trocas de calor diretamente com o piso, com um data logger (HOBO Temp/RH/2 External Channel Data Logger) no centro da massa de forragem programado para registrar a temperatura a cada 5 min. O ensaio de estabilidade aeróbia teve duração de 7 dias em sala com temperatura ambiente. A estabilidade aeróbia foi calculada como o tempo, em horas, para que as silagens, após a abertura do silo, apresentassem temperatura 2°C mais elevada que a temperatura ambiente (KUNG Jr. et al., 2000).

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

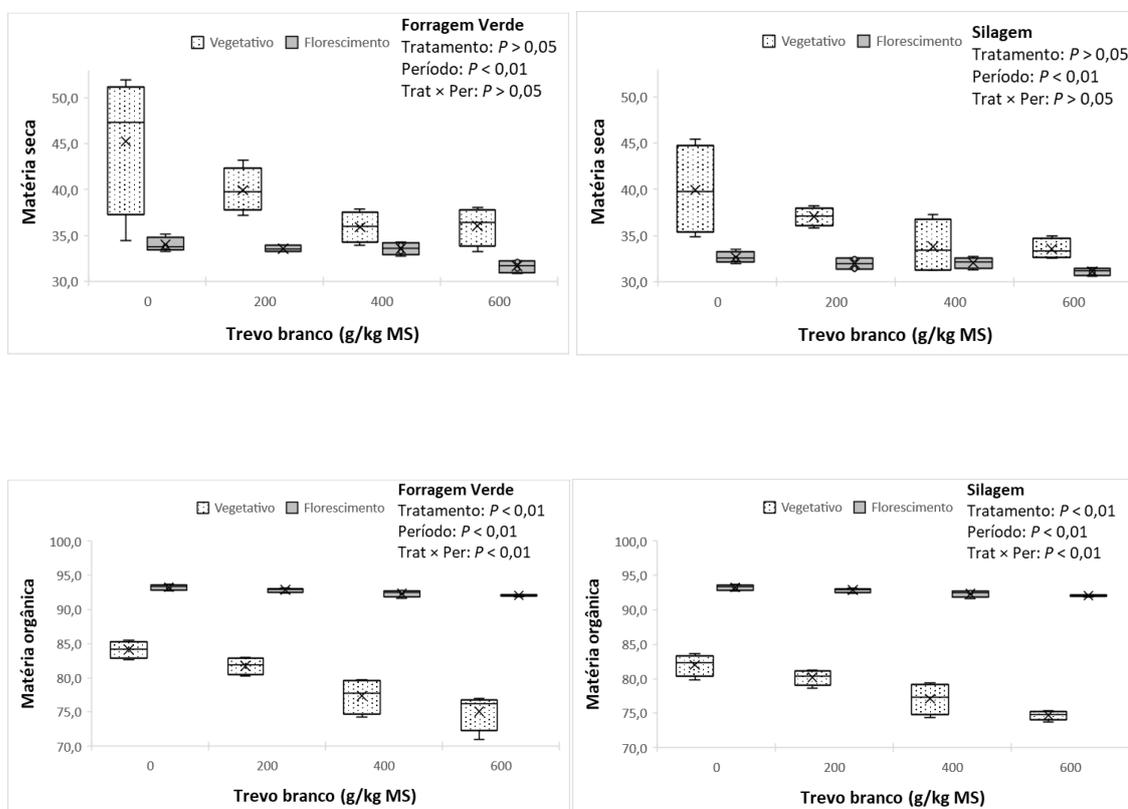
Os dados foram submetidos à análise de variância considerando os feitos do nível de inclusão de trevo, do estágio de desenvolvimento da gramínea e da interação nível

de trevo ´ estágio de desenvolvimento. Valores de $P < 0,05$ foram considerados diferentes significativamente. Valores entre 0,05 e 0,10 foram considerados como tendência.

6. RESULTADOS

O teor de MO reduziu de 840 para 750 g/kg MS nas forragens verdes e de 820 para 747 g/kg MS no material ensilado à medida que aumentou a proporção de trevo branco quando o azevém se encontrava em estágio vegetativo (Figura 2). De outra forma, tanto para as forragens verdes como para o material ensilado cortados quando o azevém estava em estágio de florescimento, os teores de MO não variaram com a inclusão da leguminosa (interação tratamento × período: $P < 0,01$), apresentando médias de 856 g/kg MS. O teor médio de MO foi superior no estágio de florescimento em comparação ao estágio vegetativo tanto nas forragens verdes (915 *versus* 796 g/kg MS) como no material ensilado (926 *versus* 785 g/kg MS), independentemente do nível de inclusão do trevo.

Figura 2: Efeito do nível de inclusão do trevo branco em misturas com azevém anual sobre as porcentagens de MS e MO da forragem verde e ensilada.



Os teores de PB, FDN e FDA não variaram com o nível de inclusão do trevo branco quando o azevém anual se encontrava em estágio vegetativo, apresentando, respectivamente, médias de 204, 589 e 355 g/kg MS na forragem verde e de 210, 511 e 341 g/kg MS no material ensilado (Figura 3). Entretanto, quando o azevém estava no estágio de florescimento, os teores de PB na forragem verde aumentaram 60 g/kg MS (106 *versus* 165 g/kg MS) e os teores de FDN reduziram em 120 g/kg MS (663 *versus* 531 g/kg MS) à medida que aumentou o nível de inclusão de trevo branco na mistura (interação tratamento \times período: $P < 0,01$). No material ensilado, o aumento no teor de PB foi de idêntico à forragem verde (107 *versus* 167 g/kg MS) e a redução no teor de FDN foi na ordem de 20 g/kg MS (633 *versus* 613 g/kg MS) (interação tratamento \times período: $P < 0,01$). Os teores de FDN e FDA foram semelhantes nos tratamentos com a introdução de trevo branco nas proporções de 400 e 600 g/kg de MS, independente do tipo de forragem (verde ou ensilada) e do estágio de desenvolvimento (vegetativo ou em florescimento).

A densidade dos silos aumentou com a inclusão do trevo branco ($P < 0,01$) em aproximadamente 60 kg/m³, independente do estágio de desenvolvimento da gramínea (Figura 4). Entretanto, as repostas à inclusão do trevo branco em níveis acima de 400 g/kg MS não foram evidentes. Não houve efeito da inclusão do trevo branco sobre o pH das silagens independente do estágio de desenvolvimento das gramíneas. O pH das silagens reduziu (-1,68) quando a gramínea estava em estágio de florescimento comparado às silagens quando a gramínea estava em estágio vegetativo ($P < 0,01$), com médias de 5,84 e 4,16, respectivamente.

Figura 3: Efeito do nível de inclusão do trevo branco em misturas com azevém anual sobre as porcentagens de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) da forragem verde e do material ensilado.

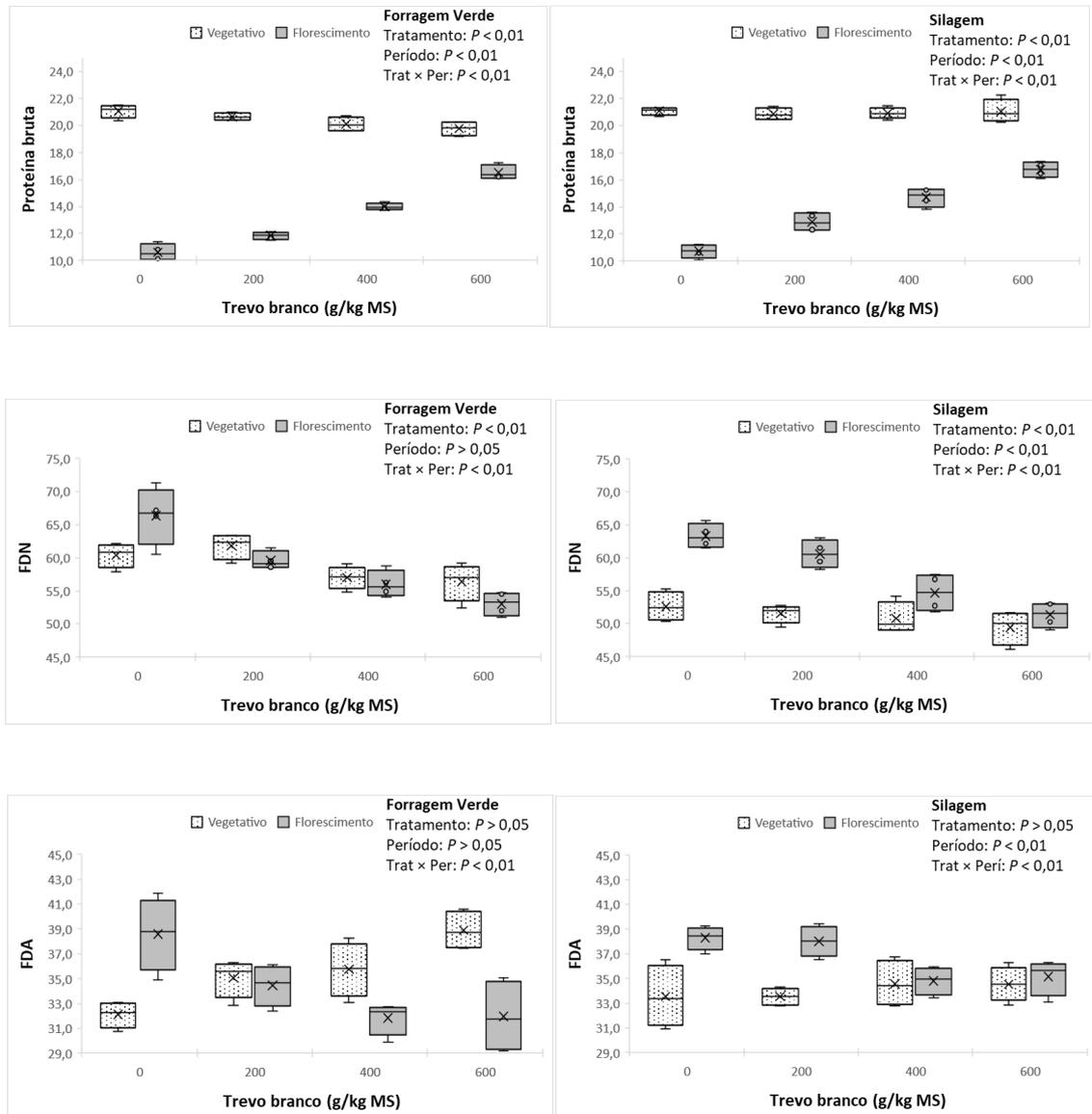


Figura 4: Efeito do nível de inclusão do trevo branco em misturas com azevém anual sobre a densidade e o pH do material verde e ensilado.

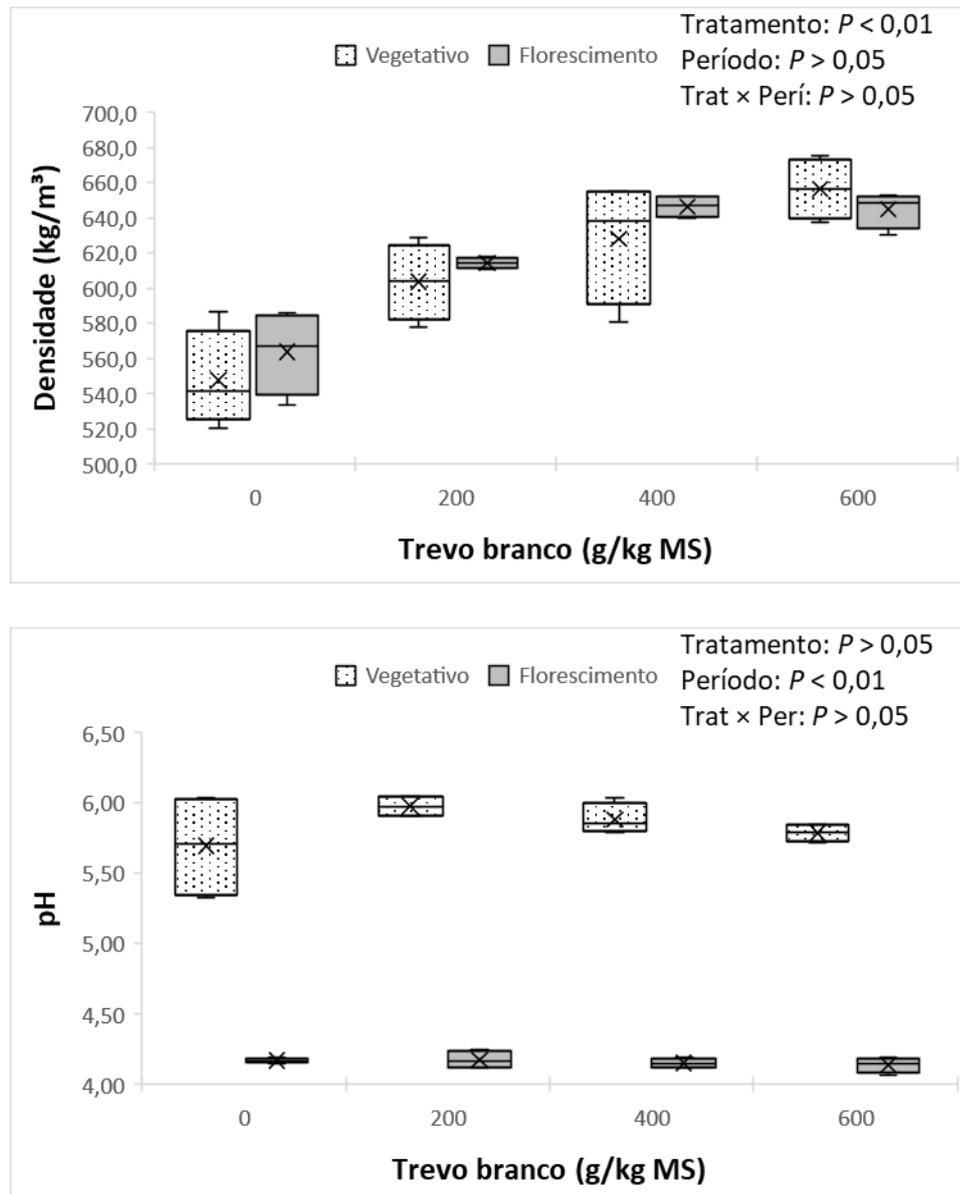
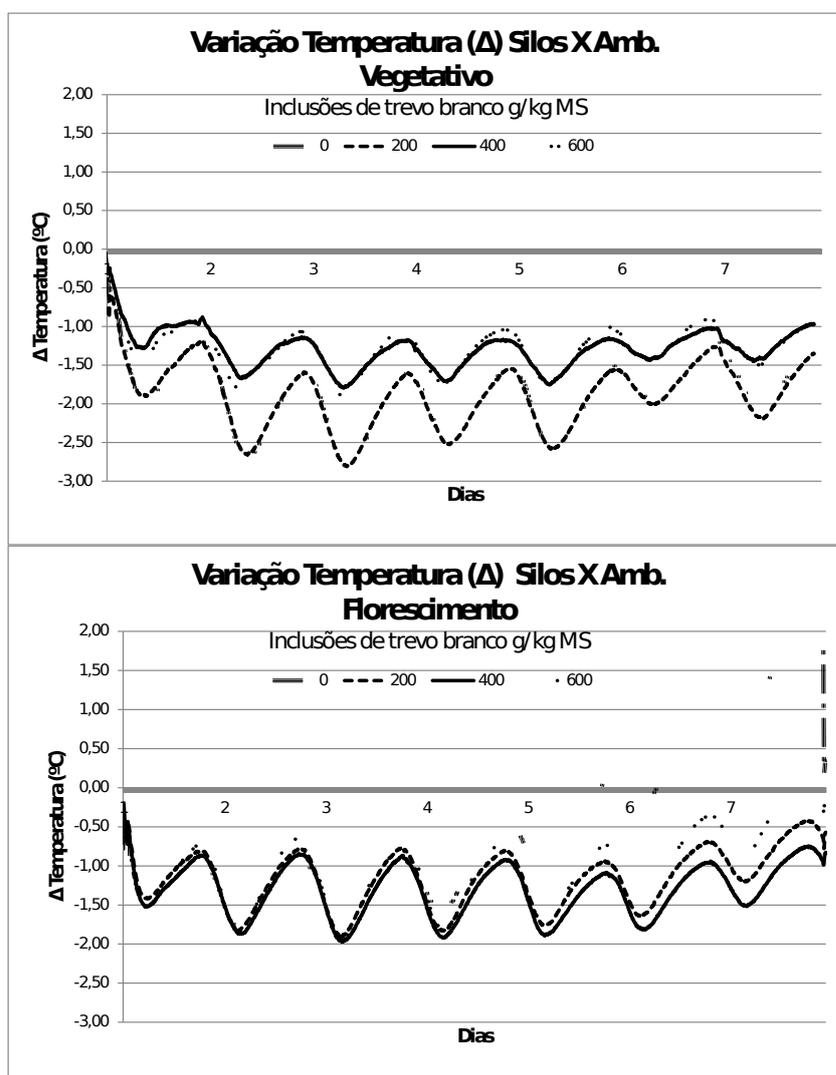


Figura 5: Efeito do nível de inclusão do trevo branco em misturas com azevém anual sobre a estabilidade aeróbica do material ensilado.



7. DISCUSSÃO

7.1 EFEITO DA INCLUSÃO DO TREVO BRANCO SOBRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FORRAGEM VERDE E DO MATERIAL ENSILADO

A redução nos teores MO à medida que aumentou o nível de inclusão do trevo, quando o azevém se encontrava em estágio vegetativo pode ser ao menos parcialmente explicada pois, plantas jovens possuem parede celular menos espessa e maior conteúdo intracelular. Com a maturidade, se tem uma maior proporção de colmos nas forragens utilizadas e há aumento da produção de matéria seca por unidade de área, havendo, porém, diminuição do valor nutritivo do azevém devido a alterações na estrutura das plantas (COSTA et al., 2013; SKONIESKI et al., 2011).

A elevação nos teores de PB e a redução nos teores de FDN com a inclusão do trevo branco quando o azevém estava em estágio reprodutivo, e a inexistência de efeito quando o azevém estava no estágio vegetativo confirmam a hipótese principal do trabalho, uma vez que a inclusão da leguminosa evidenciou ser menos importante na melhoria da composição química quando se utiliza gramíneas com bom valor nutricional. O azevém em seu estágio vegetativo possui alto valor nutritivo, a PB por exemplo pode representar em torno de 20% da MS, com menos de 40% de FDN e 22% de FDA, (FLUCK, 2018). Quando temos um azevém em estágio fenológico mais avançado se evidencia a inferioridade de qualidade que a partir de inclusões sequenciais de leguminosa esta diferença é mitigada. Esta melhoria se dá, entre outras razões, em função do aumento da produção de proteína total (KRAFT e PETERS, 1997; BALL et al., 2001). Animais em pastejo somente com azevém comparado com azevém e trevo tem seus índices zootécnicos melhorados como evidenciado na Tabela 2.

Tabela 2. Efeito da inclusão de trevo branco em pastos de azevém perene na produção e composição do leite.

| | Estudo X Tipo de Pastejo | | | |
|-----------------------------|---------------------------|--------------|------------------------|--------------|
| | Phillips and James (1998) | | Phillips et al. (2000) | |
| | AZP Puro | TB Misturado | AZP Puro | TB Misturado |
| Taxa de Lotação (Vaca/ha) | 4,54 | 3,85 | 2,9 | 2,1 |
| Tempo de Pastejo (min/dia) | 518 | 545 | 371 | 386 |
| Produção de Leite (kg/vaca) | 18,9 | 22,1 | 11,5 | 13,0 |
| Gordura leite (g/kg) | 37 | 34,6 | 43,1 | 42,2 |
| Proteína Leite (g/kg) | 33,1 | 33,4 | 36,1 | 38,4 |

AZP: Azevém Perene; TB: Trevo Branco
Fonte: Dewhurst et al. (2019)

A inexistência de efeito da inclusão do trevo branco acima de 400 g/kg de MS sobre os teores de FDN e FDA, mostram que a contribuição na melhoria de qualidade com a inclusão no trabalho chegou ao seu limiar. Esta melhora foi observada por outros autores, mas não sendo evidenciado uma quantidade específica. Leguminosas podem contribuir para a melhoria do valor nutritivo da dieta em relação à pastagem constituída somente de gramíneas (MACHADO et al., 2005) e devido aos seus menores teores de fibra (MINSON, 1990). Segundo Reis et al. (2001), os teores de FDN das gramíneas são, frequentemente, duas vezes superior aos teores de FDN das leguminosas.

7.2 EFEITO DA INCLUSÃO DO TREVO BRANCO SOBRE A DENSIDADE E O pH DO MATERIAL ENSILADO

O aumento da densidade do material ensilado à medida que aumentou o nível de inclusão do trevo branco pode ser explicado pelas partículas físicas do trevo branco serem menores, tendo uma melhor eficiência no processo de trituração consequentemente aumento da densidade do material. O processamento físico das forragens aumentou a densidade da silagem e afetou a qualidade da fermentação devido à trituração (Samarasinghe et al 2018).

Os menores valores de pH nos pastos em estágio de florescimento podem ser explicados pela presença do amido fermentável originado das sementes das gramíneas onde contém uma maior concentração de carboidratos solúveis, sendo o substrato para as bactérias lácticas realizarem a redução do pH da silagem e assim impedir o surgimento de bactérias indesejáveis como clostrídios, enterobactérias e *Listeria*. É controverso até que ponto o amido é um substrato disponível para bactérias lácticas. Jones (1988) utilizou 100% e 90% de amido de cevada e aveia, respectivamente, adicionados na ensilagem de azevém, atribuindo uma fermentação melhorada ao substrato disponível a partir de 3% a 4% de carboidratos solúveis ou de frações como β -glucano contida nos cereais e não à hidrólise do amido (YITBAREK; TAMIR, 2014). Resultados de pH em silagem somente de azevém em diferentes estágios fenológicos foi de: pH 4,33 no estágio vegetativo com emurchamento e pH 3,71 no florescimento (FLUCK, 2018) *versus* estágio vegetativo pH 5,7 e no florescimento pH 4,17 no corrente trabalho. Segundo Nussio et al. (2001), este deve estar entre 3,6 \square 4,5, pois valores nessa faixa são responsáveis pela inibição do crescimento de microrganismos anaeróbicos indesejáveis, como os do gênero *Clostridium* spp.

7.3 MATERIAL ENSILADO *VERSUS* FORRAGEM VERDE

A similaridade nos parâmetros de composição química entre a forragem verde e o material ensilado, independentemente do nível de inclusão do trevo e do estágio de desenvolvimento mostram a eficiência do método de conservação depende de fatores como o uso de técnicas de emurchamento adequadas atrelados a um inoculante apropriado, seguindo o que é necessário para ter uma silagem de qualidade. A boa densidade do material ensilado permite que seja retirado do máximo de oxigênio para se ter um ambiente em anaerobiose o quanto antes e assim iniciar o processo fermentativo para sua conservação.

Em trabalho realizado somente com azevém, Fluck et al., (2018) puderam observar que a silagem apresentou composição química semelhante à observada na massa verde de azevém, demonstrando a eficiência do método para forragens verdes. A confecção da silagem em estádios mais avançados é aconselhada quando se busca maior quantidade de biomassa ensilada, porém esta será de menor qualidade, porém, no presente estudo, a inclusão de leguminosa a partir de 400g/kg MS foi suficiente para manter os padrões de qualidade da forragem tanto no florescimento como silagem.

8. CONCLUSÕES

A inclusão de 400 g/kg MS de trevo branco em dietas a base de azevém no estágio de florescimento pode ser recomendada para a melhoria da qualidade da forragem tanto na forma verde como ensilada.

Confinamentos brasileiros normalmente adotam níveis de PB que variam de 11 a 15%, com valores médios de 13,6% PB (Pinto e Millen, 2018), baseado no fato de que níveis mais altos de PB estimulam o consumo e estão relacionados a elevados ganho de peso (Véras et al., 2007).

A ensilagem da leguminosa junto com a gramínea não alterou os parâmetros de fermentação da silagem avaliados, evidenciando a possibilidade de adoção desta prática nos sistemas produtivos, sobretudo no final do ciclo de crescimento do azevém.

9. REFERÊNCIAS

- ÁVILA, C. L. D. S., PINTO, J. C., TAVARES, V. B., SANTOS, Í. P. A. D. 2006. Avaliação dos conteúdos de carboidratos solúveis do capim-tanzânia ensilado com aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35, 3, 648–654.
- 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, in: Rajčáková, L. (Ed.), *Proceedings of the 17th International Conference Silage Conservation*, Horny Smokovec, Slovakia, 117–118.
- AULDIST, D. E. *et al.* Utilisation of white clover silage fed alone or with maize silage by lactating dairy cows. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, [s. l.], v. 39, n. 3, p. 237, 1999. Available at: <https://doi.org/10.1071/EA98029>
- BAI, Z. DING, W. KE, D. XU, M. WANG, W. HUANG, Y. ZHANG, F. LIU, X. GUO
Different lactic acid bacteria and their combinations regulated the fermentation process of ensiled alfalfa: ensiling characteristics, dynamics of bacterial community and their functional shifts *Microb. Biotechnol.*, 14 (2021), p. 1171, [10.1111/1751-7915.13785](https://doi.org/10.1111/1751-7915.13785)
- BALL D. *et al.* Understanding Forage Quality. American Farm Bureau Federation, p. 17, 2001.
- BHATTI, S. A. *et al.* Effect of intake level and alfalfa substitution for grass hay on ruminal kinetics of fiber digestion and particle passage in beef cattle. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 86, n. 1, p. 134–145, 2008. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas.2006-693>
- BOLSEN, K.K., ASHBELL, G., WILKINSON, J.M. 1995. Silage additives. In: WALLACE, J., CHESSON, A. (Ed.) *Biotechnology in animal feeds and animal feeding*. New York: VCH Weinheim. p.33-54.
- BOLSEN, K.K., BONILLA, D.R., HUCK, G.L., YOUNG, M.A., HART-THAKUR, R.A. and JOYEAUX, A. (1996) Effect of a Propionic Acid Bacterial Inoculant on Fermentation and Aerobic Stability of Whole-Plant Corn Silage. *Journal of Animal Science*, 74, 274.

BRODERICK, G. A., BRITO, A. F., COLMENERO, J. J. O. 2007. Effects of feeding formate-treated alfalfa silage or red clover silage on the production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 1378-1391. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71624-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71624-7).

Borreani, G., Tabacco, E., Schmidt, R.J., Holmes, B.J., & Muck, R.E. (2018). Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3952-3979. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>

BROWN, W. F.; PITMAN, W. D. **Concentration and degradation of nitrogen and fibre fractions in selected tropical grasses and legumes.** [S. l.: s. n.], 1991.

CORRÊA, L.D.A., POTT, E.B. 2001. Silagem de capim, in: Embrapa Pecuária Sudeste-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: Simpósio de Forrageiras e Pastagens 2, Lavras, MG. Anais... Lavras: UFLA, 255-271.

DANIEL, João Luiz Pratti. Produtos de fermentação em forragens conservadas para vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO E NUTRIÇÃO DE GADO DE LEITE, 1., 2019, Uberlândia. **Anais [...]**. Uberlândia: Ufu, 2019. v. 1, p. 0-3.

DARDNI. **Red clover.** Department agriculture Rural Development North Ireland. 2010.

DEWHURST, R. J., et al. "Nutritive Value of Forage Legumes Used for Grazing and Silage." *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, vol. 48, no. 2, 2009, pp. 167–87. *JSTOR*, <http://www.jstor.org/stable/20720367>. Accessed 9 Jan. 2024.

DEWHURST, R. J. *et al.* Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 86, n. 8, p. 2598–2611, 2003. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73855-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73855-7)

FERRARI JÚNIOR, E., LAVEZZO, W. 2001. Qualidade da silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) emurchecido ou acrescido de farelo de mandioca. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30, 1424–1431.

FLUCK, A.C.; SCHAFHÄUSER JÚNIOR, J.; ALFAYA JÚNIOR, H.; COSTA, O.A.D.; FARIAS, G.D.; SCHEIBLER, R.B.; RIZZO, F.A.; MANFRON, J.A.s.; FIOREZE, V.I.; RÖSLER, D.C.. Composição química da forragem e do ensilado de azevém anual em

função de diferentes tempos de secagem e estádios fenológicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S.L.], v. 70, n. 6, p. 1979-1987, dez. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9981>.

JOBIM, C.C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.101-119, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v36s0/13.pdf>>. Acesso em: 31 mar. 2011. doi: 10.1590/S1516-35982007001000013.

JONES, D.J.H. (1988) The Effect of Cereal Incorporation on the Fermentation of Spring and Autumn-Cut Silages in Laboratory Silos. *Grass and Forage Science*, 43, 167-172. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2494.1988.tb01884.x>

KAISER, A.G. (1999) *Silage Additives*. Department of Primary Industries, Wagga Wagga Agricultural Institute, Wagga Wagga, NSW.

KHAMSEKHIEW, B. et al. **Ruminal and Intestinal Digestibility of Some Tropical Legume Forages**. [S. l.: s. n.], 2001. Available at: <https://doi.org/10.5713/ajas.2001.321>

KLEINSCHMIT, D.H., & KUNG JUNIOR, L. (2006). A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 4005-4013. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72444-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72444-4) [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72444-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72444-4)

KRAFT S.; R.; PETERS, M. Tropical legumes in agricultural production and resource management: an overview. *Giessener Beiträge zur Entwicklungsforschung*, v. 24, p. 1-17, 1997.

KUNG JR., L. Aditivos microbianos e químicos para silagem: Efeitos na fermentação e resposta animal. In: WORKSHOP SOBRE MILHO PARA SILAGEM, 2., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2001. p.53-74.

HARRIS, S. L. et al. Effects of white clover content in the diet on herbage intake, milk production and milk composition of New Zealand dairy cows housed indoors. **Journal of**

Dairy Research, [s. l.], v. 65, n. 3, p. 389–400, 1998. Available at: <https://doi.org/10.1017/S0022029998002969>

LEE, M. R. F. *et al.* The effect of clover silages on long chain fatty acid rumen transformations and digestion in beef steers. **Animal Science**, [s. l.], v. 76, n. 3, p. 491–501, 2003. Available at: <https://doi.org/10.1017/s1357729800058719>

MACHADO, A.N. *et al.* Estabelecimento e produção de amendoim-forrageiro em campo natural de planossolo, sob diferentes níveis de fósforo e potássio. *Revista Brasileira Agrociência*, v. 11, n. 4, p. 461-466, 2005.

MCDONALD, P.J., HENDERSON, A.R., HERON, S.J.E. 1991. The biochemistry of silage. 2.ed. Mallow: Chalcombe Publications, 340.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feed with refluxing in beakers or crucibles.pdf. **AOAC international**, [s. l.], v. 85, n. November, p. 25, 2002.

MINSON, D.J. Forage in ruminant nutrition. San Diego: Academic Press, 1990. 483p.

MITLOEHNER, F. M., I. L. MALKINA, A. KUMAR, AND P. G. GREEN. 2009. Volatile organic compounds emitted from dairy silages and other feeds. Pgs. 15-26 in Proc. 15th International Silage Conference. Madison, WI.

MUCK, R.; O'KIELY, P.; WILSON, R. Buffering capacity in permanent pasture grasses. **Irish journal of agricultural research**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 129–141, 1991.

MUCK, R. E.; KUNG, L.; COLLINS, M. Silage Production. *In*: FORAGES. [S. l.]: Wiley, 2020. v. II, p. 767–787. Available at: <https://doi.org/10.1002/9781119436669.ch42>

MUCK, R.; O'KIELY, P.; WILSON, R. Buffering capacity in permanent pasture grasses. **Irish journal of agricultural research**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 129–141, 1991.

Muck, R. (2013). Recent advances in silage microbiology. *Agricultural and Food Science*, 22(1), 3-15. <https://doi.org/10.23986/afsci.6718>

NIDERKORN, V.; BAUMONT, R. Associative effects between forages on feed intake and digestion in ruminants. **Animal**, [s. l.], v. 3, p. 951, 2009. Available at:

<https://doi.org/10.1017/S1751731109004261>

NUSSIO, L.G.; ZOPOLLATTO, M.; MOURA, J.C. Metodologia de avaliação e aditivos. WORKSHOP SOBRE MILHO PARA SILAGEM, 2., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 2001.

NUSSIO, L.G., PAZIANI, S.F., NUSSIO, C.M.B. 2002. Ensilagem de capins tropicais. Anais.. Recife: [s.n.].

OLIVEIRA, A. S. Desenvolvimento de Inoculante para Fermentação Lática de Silagens: utilização de Resíduos Agroindustriais. Londrina, 1995. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

OWENS, V. N.; ALBRECHT, K. A.; MUCK, R. E. Protein degradation and ensiling characteristics of red clover and alfalfa wilted under varying levels of shade. **Canadian Journal of plant science**, p. 209-222, 1998.

PEREIRA, R. G. DE A. et al. Processos de ensilagem e plantas a ensilar. Embrapa Rondônia, 2008. 13 p.

Pinto, A. C., & Millen, D. D. (2018). Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. *Canadian Journal of Animal Science*, 99(2), 392-407.

REITER, G. *et al.* Impact of landscape fragmentation on a specialised woodland bat, *Rhinolophus hipposideros*. **Mammalian Biology**, [s. l.], v. 78, n. 4, p. 283–289, 2013. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2012.11.003>

ROOKE, J. A.; HATFIELD, R. D. Biochemistry of ensiling. **Silage Science and Technology**, [s. l.], p. 95–139, 2015. Available at: <https://doi.org/10.2134/agronmonogr42.c3>

WEISS, W. P.; CHAMBERLAIN, D. G.; HUNT, C. W. Feeding silages. **Silage Science and Technology**, [s. l.], n. 42, p. 469–504, 2015. Available at: <https://doi.org/10.2134/agronmonogr42.c10>

SAMARASINGHE, M. B.. Effect of shredding on silage density and the fermentation characteristics. *In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE*, 18., 2018, Bonn, Germany. **International Silage Conference** [...]. Bonn, Germany: K. Gerlach and K.-H. Südekum, 2018. p. 490,

TONETTO, C.J. Avaliação de genótipos de azevém diploide e tetraploide com manejos distintos de corte visando duplo propósito. Universidade Federal de Santa Maria, programa de pós-graduação em agronomia. Santa Maria, RS, Brasil. Disponível em: http://cascavel.ufsm.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=2614. Visualizado em 02 de junho de 2015.

Véras, R. M. L.; Valadares Filho, S. C.; Valadares, R. F. D.; Rennó, L. N.; Paulino, P. V. R.; Souza, M. A. Balanço de compostos nitrogenados e estimativa das exigências de proteína de manutenção de bovinos Nelore de três condições sexuais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36:1212-1217, 2007.

VILELA, D. 1997. Utilização do capim-elefante na forma de forragem conservada. In: Carvalho M.M., Alvim, M.J., Xavier, D.F. et al. (Eds.) *Capim-elefante: produção e utilização*. Brasília: EMBRAPA-SPI. 113–160.

WEISS, W. P.; CHAMBERLAIN, D. G.; HUNT, C. W. Feeding silages. **Silage Science and Technology**, [s. l.], n. 42, p. 469–504, 2015. Available at: <https://doi.org/10.2134/agronmonogr42.c10>

WINTERS, A. L.; FYCHAN, R.; JONES, R. Effect of formic acid and a bacterial inoculant on the amino acid composition of grass silage and on animal performance.

WINTERS, A. L.; FYCHAN, R.; JONES, R. Effect of formic acid and a bacterial inoculant on the amino acid composition of grass silage and on animal performance.

WOOLFORD, M.K. 1984. *The silage fermentation*. New York: Marcel Dekker. 350.

WOOLFORD, M.K. (1990). The detrimental effects of air on silage. *Journal of Applied Bacteriology*, 68(2), 101-116. Retrieved from <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2672.1990.tb02554.x>

YITBAREK, Melkamu Bezabih; TAMIR, Birhan. Silage Additives: review. **Open Journal Of Applied Sciences**, [S.L.], v. 04, n. 05, p. 258-274, 2014. Scientific Research Publishing, Inc.. <http://dx.doi.org/10.4236/ojapps.2014.45026>.