





## Níveis de inclusão do trevo-branco em misturas de azevém-anual: características da forragem verde e da silagem

Inclusion levels of white clover in annual ryegrass mixtures: characteristics of fresh and ensiled material

Claiton Martins Alves<sup>1</sup> , Ricardo Biasiolo<sup>1</sup> , João Luiz Pratti Daniel<sup>2</sup> , Maria Isabel Martini<sup>1</sup> , Henrique M.N. Ribeiro Filho<sup>1</sup> 

1 Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, Santa Catarina, Brasil 

2 Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná, Brasil 

\*autor correspondente: henrique.ribeiro@udesc.br

Recebido: 03 de fevereiro de 2025. Aceito: 25 de agosto de 2025. Publicado: 24 de setembro de 2025. Editor: Rondineli P. Barbero

**Resumo:** As leguminosas podem contribuir para a redução no uso de adubação nitrogenada, com melhorias no valor alimentar da dieta. Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão de trevo-branco (*Trifolium repens*) em dietas à base de azevém-anual (*Lolium multiflorum*) na forragem e na silagem em dois estádios de desenvolvimento. Os tratamentos foram quatro níveis de adição de trevo-branco: 0, 200, 400 e 600 g/kg de MS, quando o azevém-anual se encontrava nos estádios vegetativo e em florescimento. A composição química não variou com o nível de inclusão do trevo quando o azevém estava em estágio vegetativo, mas os teores de proteína bruta aumentaram e os de FDN e FDA diminuíram com a inclusão da leguminosa no estágio de florescimento. A inclusão da leguminosa em mais de 400 g/kg de MS não contribuiu para a redução dos teores de fibra, tanto na forragem verde como ensilada. A densidade da silagem aumentou com a inclusão da leguminosa independentemente do estágio de desenvolvimento da gramínea, enquanto os valores de pH diminuíram no estágio de florescimento, sem influência do nível de inclusão do trevo. A estabilidade aeróbica se manteve em todos os tratamentos até sete dias após a abertura dos silos, mas os parâmetros de fermentação avaliados podem não ter sido suficientes para explicar esta resposta. A inclusão de 400 g/kg de MS de trevo-branco em dietas à base de azevém-anual no estágio de florescimento é uma prática que pode ser recomendada, inclusive para a confecção de silagem. Contudo, a ausência da determinação de ácidos orgânicos limita a interpretação dos resultados.

**Palavras-chave:** composição química, estabilidade aeróbica, *Lolium multiflorum*, silagem, *Trifolium repens*.

**Abstract:** Legumes can contribute to reducing the use of nitrogen fertilization, with improvements in the nutritional value of the diet. This study aimed to evaluate the effect of the inclusion of white clover in diets based on fresh ryegrass and for silage production at two developmental stages. The treatments consisted of four levels of white clover addition: 0, 200, 400, and 600 g/kg DM, when ryegrass was at the vegetative and flowering stages. The chemical composition did not vary with the level of white clover inclusion when annual ryegrass was in the vegetative stage, but crude protein levels increased, and NDF and ADF contents decreased with the inclusion of the legume when ryegrass was at the flowering stage. Including the legume at levels above 400 g/kg DM did not result in additional benefits for fiber reduction, both in fresh material and silage. The density of the ensiled material increased with legume inclusion regardless of the grass's developmental stage, while pH values decreased when the grass was at the flowering stage, regardless of



the level of clover inclusion. Aerobic stability was maintained across all treatments up to seven days after silo opening, but the fermentation parameters evaluated could not be sufficient to explain this result. The inclusion of 400 g/kg DM of white clover in ryegrass-based diets at the flowering stage is a practice that can be recommended, including for silage production. However, the absence of organic acid measurements constrains the interpretation of the results.

**Keywords:** aerobic stability, chemical composition, *Lolium multiflorum*, silage, *Trifolium repens*.

---

## 1. Introdução

As gramíneas forrageiras, via de regra, variam sua composição química e o valor nutritivo ao longo do ciclo de desenvolvimento, com aumentos nos teores de fibra e diminuição da digestibilidade e dos teores de proteína bruta (PB). Por outro lado, as leguminosas tendem a apresentar menor variação em seus valores energético e proteico ao longo do ciclo de desenvolvimento <sup>(1)</sup>. Essa menor variação ocorre, ao menos em parte, devido ao fato de as leguminosas possuírem menor espessura de parede celular em comparação às gramíneas <sup>(2)</sup>.

A utilização de leguminosas associadas a gramíneas, tanto na forma de forragem verde <sup>(3)</sup> como na composição de silagens <sup>(4,5)</sup>, pode significar melhoria do valor nutritivo da dieta, sobretudo no final do ciclo de desenvolvimento das gramíneas <sup>(6)</sup>. Entretanto, a extensiva degradação da PB durante o processo de ensilagem pode significar uma limitação à obtenção de silagens de qualidade a partir de plantas com elevado teor de PB, como é o caso das leguminosas <sup>(7)</sup>. Isso justifica a condução de trabalhos no sentido de ampliar o horizonte de conhecimento sobre o efeito da inclusão de leguminosas em misturas com gramíneas em diferentes estádios vegetativos.

Foi testada a hipótese que a inclusão do trevo-branco (*Trifolium repens*) em pastos de azevém-anual (*Lolium multiflorum*) pode melhorar a qualidade da forragem sem prejudicar a fermentação e a qualidade da silagem, sobretudo quando a gramínea está em estágio de desenvolvimento avançado. Objetivou-se determinar qual o melhor nível de inclusão de trevo-branco ao azevém-anual para que ocorram melhorias nos parâmetros qualitativos da forragem e da silagem.

## 2. Material e métodos

### 2.1 Tratamentos e ensilagem

O experimento foi conduzido Lages, SC (27°48'57"S, 50°19'31"O; 916 m acima do nível do mar). As forragens foram colhidas de duas áreas, uma cultivada com trevo-branco desde 2021 e a outra cultivada com azevém-anual no ano da avaliação (2022). Foram avaliados quatro níveis de inclusão de trevo-branco ao azevém-anual: 0, 200, 400 e 600 g/kg de MS.

As forragens foram colhidas com uma ceifadeira de forragem (Tarup®, modelo 501). O processo de murcha teve duração aproximada de 24 h, tempo necessário para atingir o teor de matéria seca desejado (300 g/kg de MS). A murcha foi conduzida em piso de concreto, sob exposição direta ao sol e ventilação natural, com temperatura média do ar de  $22 \pm 3$  °C e umidade relativa em torno de 65%. O teor de MS durante o processo de murcha foi monitorado por medição rápida, utilizando-se forno de micro-ondas. Antes da ensilagem, o material foi picado em forrageira estacionária (tamanho teórico de corte = 10 mm). Para determinação da composição química da forragem verde, foram coletadas quatro

amostras independentes por tratamento ( $n = 4$ ). Cada amostra foi formada por aproximadamente 500 g de forragem verde, a partir de 6 a 8 subamostras retiradas aleatoriamente do material picado. O restante da forragem recebeu o inoculante comercial (Biotrato®), na proporção de 10 mg/kg de forragem fresca. Para a ensilagem, foram utilizados baldes de aproximadamente 3,8 L, com 4 repetições por tratamento para a confecção dos microsilos. A compactação foi realizada com uma prensa manual e os microsilos permaneceram armazenados durante 100 dias em instalações protegidas, sob temperatura ambiente média de  $20 \pm 2$  °C, com ventilação natural e ausência de incidência direta de luz solar. Esse mesmo processo ocorreu em dois diferentes estádios de desenvolvimento do azevém-anual, vegetativo e florescimento, sendo as coletas realizadas nos dias 05/09/2022 e 09/11/2022. A altura média dos pastos foi de aproximadamente 25 cm no estágio vegetativo e 40 cm no florescimento.

## 2.2 Densidade e pH

A densidade foi determinada pela razão entre sua massa e o volume do microsilo. Para isso, foi mensurado individualmente o volume de cada microsilo pela adição de água a 20 °C, seu peso vazio e o peso da silagem. O pH foi determinado adicionando-se 100 mL de água destilada a 25 g de silagem fresca. Após homogeneização, a leitura foi realizada em pHmetro digital de bancada (Del Lab, DL-PH).

## 2.3 Estabilidade aeróbica

Para determinação da estabilidade aeróbica, a silagem foi alocada em caixas plásticas com capacidade de 50 L (4,3 kg de matéria fresca), as quais foram colocadas num estrado plástico a fim de impedir trocas de temperatura diretamente com o piso. Um data logger (HOBO Temp/RH/2 External Channel Data Logger) foi inserido no centro da massa de forragem programado para registrar a temperatura a cada 5 min, por um período de sete dias. A estabilidade aeróbica foi definida como o período até a temperatura da silagem se elevar 3 °C acima da temperatura ambiente <sup>(8)</sup>.

## 2.4 Análises laboratoriais

Para a pré-secagem as amostras foram levadas à estufa de ventilação forçada (65°C) por 72 horas. Após, foram moídas em moinho tipo Wiley, em peneira de 1 mm, e armazenadas em embalagens plásticas. O teor de MS foi determinado por secagem em estufa a 105 °C por, no mínimo, 16 h. O conteúdo de matéria mineral (MM) foi determinado por combustão a 550 °C durante 4 horas e o teor de matéria orgânica (MO) calculado por diferença ( $MO = 100 - MM$ ). A PB foi calculada a partir do nitrogênio total ( $PB = N \times 6,25$ ), quantificado pelo método de combustão de Dumas <sup>(9)</sup>, em analisador LECO® FP528. A fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada de acordo com Mertens <sup>(10)</sup>, exceto que as amostras foram pesadas em sacos de filtro e tratadas com detergente neutro usando um sistema ANKOM A220 (ANKOM Technology, NY, EUA). Esta análise incluiu uma  $\alpha$ -amilase estável ao calor e cinzas residuais, mas não incluiu sulfito de sódio. A fibra em detergente ácido (FDA) foi analisada de acordo com o Método 973.18 da AOAC <sup>(9)</sup>.

## 2.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o pacote lme4 do programa estatístico R, sendo examinada a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias. O modelo estatístico adotado foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + (T \times P)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

onde:

$Y_{ijk}$  = valor observado;

$\mu$  = média geral;

$T_i$  = efeito fixo do nível de inclusão da leguminosa ( $i = 0, 200, 400$  e  $600$  g/kg de MS);

$P_j$  = efeito fixo do período (estádios vegetativo e florescimento);

$(T \times P)_{ij}$  = interação entre nível de inclusão da leguminosa e período;

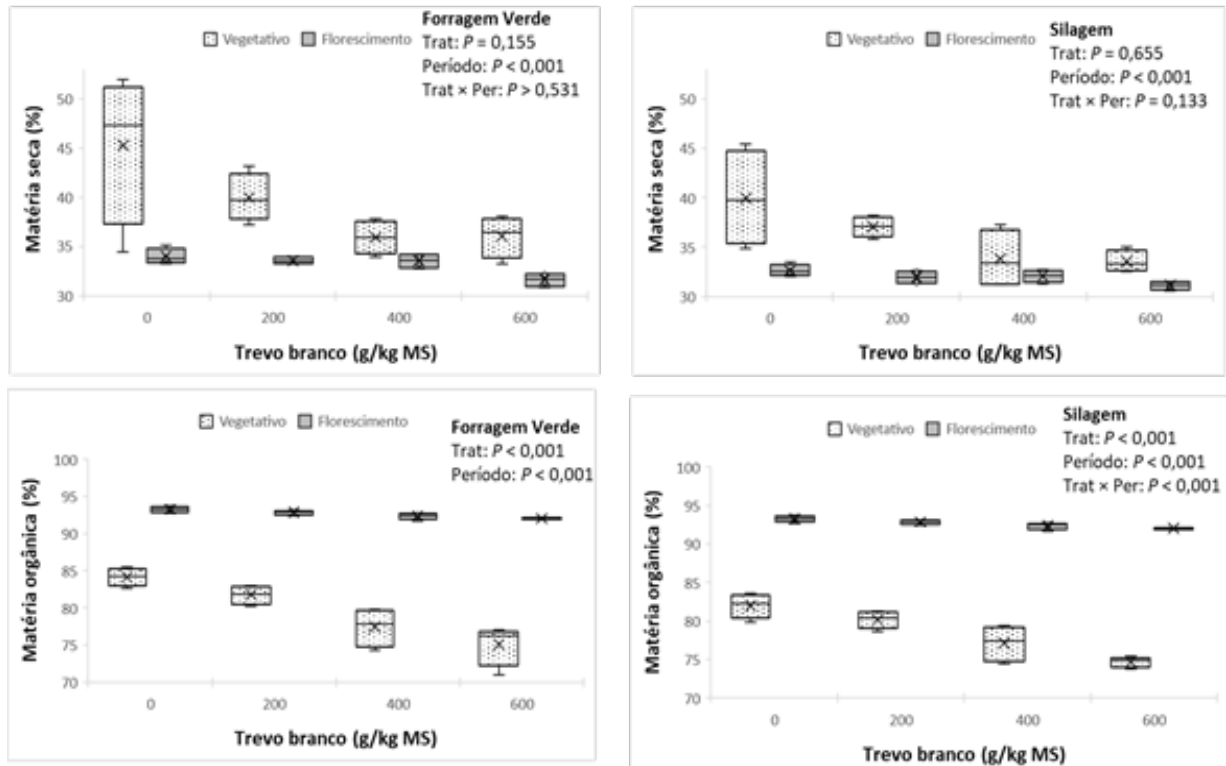
$\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório.

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando-se nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ). Não foram realizados ajustes de modelos de regressão, uma vez que os tratamentos foram definidos de forma categórica, não sendo de interesse testar resposta linear ou polinomial das variáveis em função da inclusão de leguminosa.

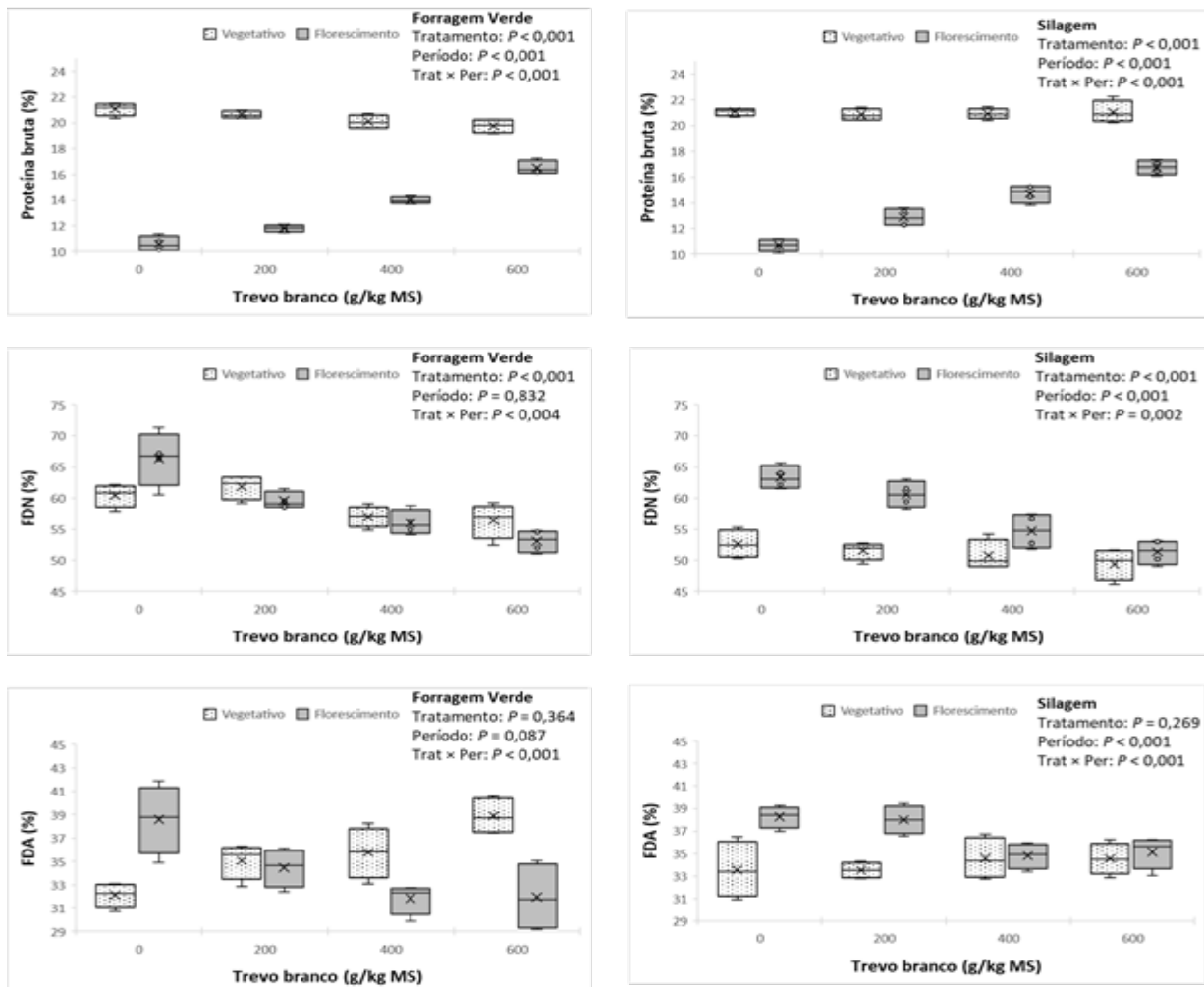
### 3. Resultados

O teor de MO reduziu de 840 para 750 g/kg de MS nas forragens verdes e de 820 para 747 g/kg de MS nas silagens à medida que aumentou a proporção de trevo-branco quando o azevém-anual se encontrava em estágio vegetativo (Figura 1). De outra forma, tanto para as forragens verdes como para a silagem cortados quando o azevém-anual estava em estágio de florescimento, os teores de MO não variaram com a inclusão da leguminosa (interação tratamento  $\times$  período:  $P < 0,001$ ), apresentando médias de 856 g/kg de 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 de MS) como na silagem (926 *versus* 785 g/kg de MS), independentemente do nível de inclusão do trevo.

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 de MS na forragem verde e de 210, 511 e 341 g/kg de MS na silagem (Figura 2). Entretanto, quando o azevém-anual estava no estágio de florescimento, os teores de PB na forragem verde aumentaram 60 g/kg de MS (106 *versus* 165 g/kg de MS) e os teores de FDN reduziram em 120 g/kg de MS (663 *versus* 531 g/kg de MS) à medida que aumentou o nível de inclusão de trevo-branco na mistura (interação tratamento  $\times$  período:  $P < 0,001$ ). Na silagem, a PB aumentou de forma idêntica (107 *versus* 167 g/kg de MS), enquanto a redução no teor de FDN foi na ordem de 20 g/kg de MS (633 *versus* 613 g/kg de MS) (interação tratamento  $\times$  período:  $P < 0,001$ ). 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, sem influência do tipo de forragem (verde ou ensilada) e do estágio de desenvolvimento (vegetativo ou em florescimento).

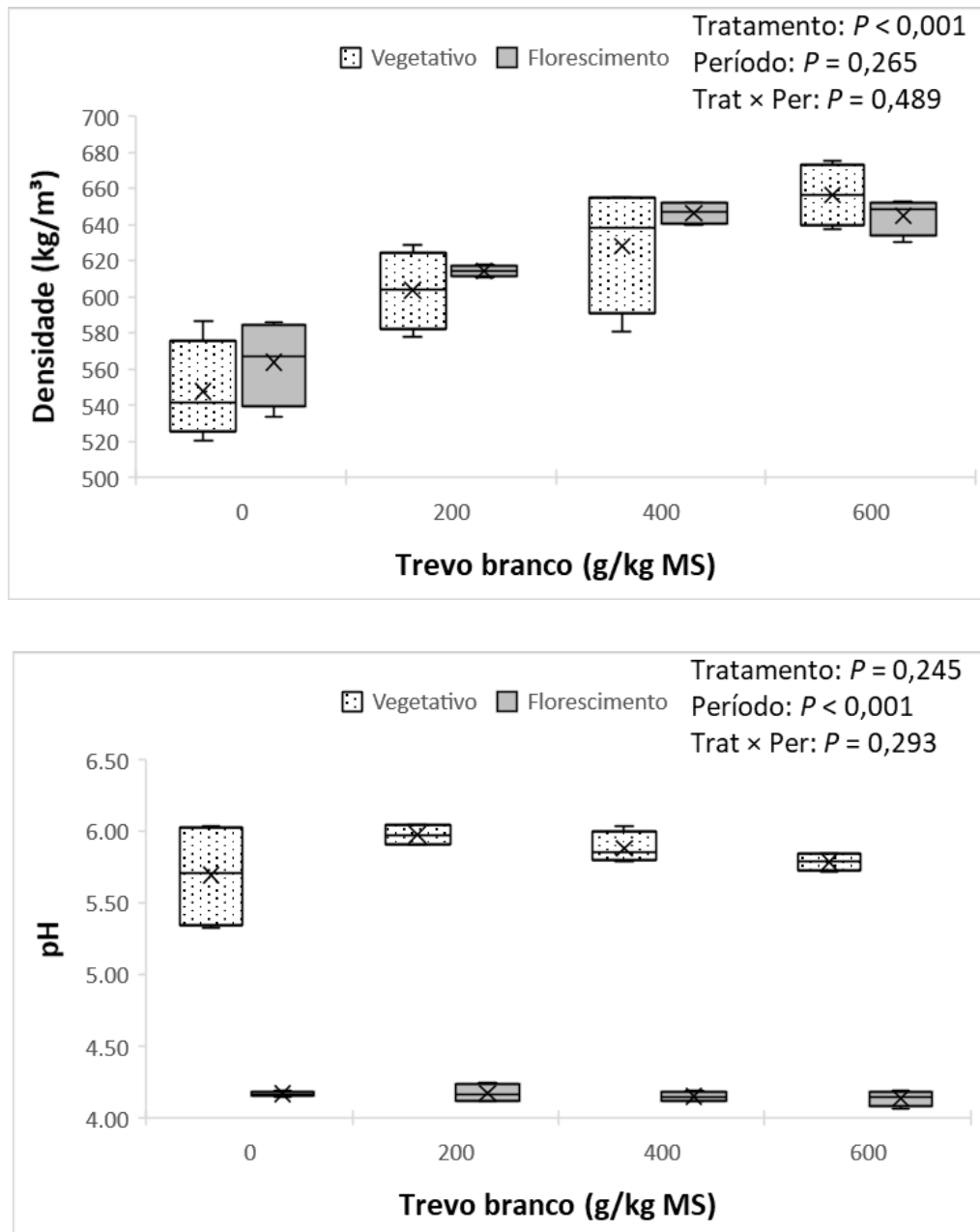


**Figura 1.** Efeito do nível de inclusão do trevo-branco em misturas com azevém-anual sobre as percentagens de MS e MO da forragem verde e ensilada em dois estádios de desenvolvimento.



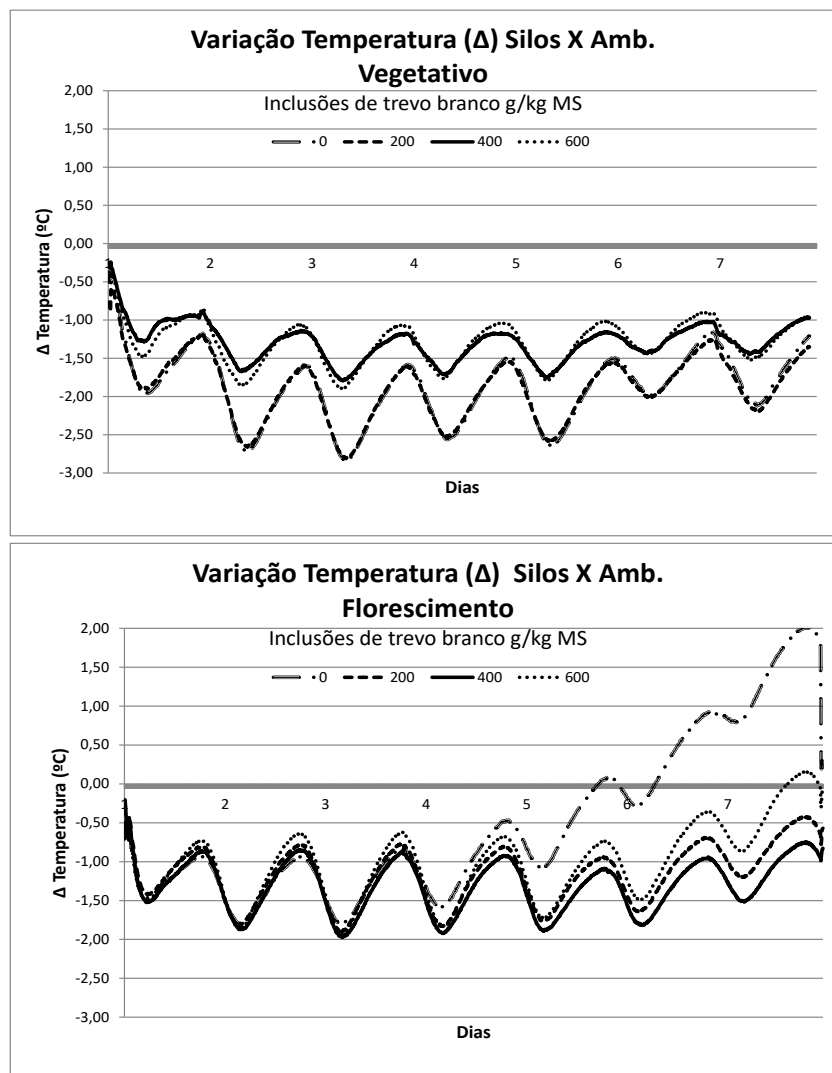
**Figura 2.** Efeito do nível de inclusão do trevo-branco em misturas com azevém-anual sobre as percentagens de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) da forragem verde e da silagem.

A densidade dos silos aumentou com a inclusão do trevo-branco ( $P < 0,001$ ), sem influência do estágio de desenvolvimento da gramínea (Figura 3). Entretanto, as respostas à inclusão do trevo-branco em níveis acima de 400 g/kg de MS não foram evidentes. Não houve efeito da inclusão do trevo-branco sobre o pH das silagens independentemente do estágio de desenvolvimento das gramíneas. O pH das silagens foi menor no florescimento (4,16) do que no estágio vegetativo (5,84;  $P < 0,001$ ).



**Figura 3.** Efeito do nível de inclusão do trevo-branco em misturas com azevém-anual sobre a densidade e o pH da forragem verde e ensilada.

A estabilidade aeróbica se manteve em todos os tratamentos até uma semana da abertura dos silos, com destaque para as silagens confeccionadas quando o azevém-anual estava em estágio vegetativo, independentemente do nível de inclusão da leguminosa (Figura 4). Ao final desse período os tratamentos com a gramínea em estágio de florescimento indicavam um leve aumento da temperatura, mas sem atingir o início do processo de deterioração aeróbica.



**Figura 4.** Efeito do nível de inclusão do trevo-branco em misturas com azevém-anual sobre a estabilidade aeróbica da silagem ( $\Delta$  temperatura = temperatura da massa após a abertura do silo – temperatura ambiente).

## 4. Discussão

### 4.1 Efeito da inclusão do trevo-branco sobre a composição química da forragem verde e da silagem

A elevação nos teores de PB e a redução nos teores de FDN com a inclusão do trevo -branco quando o azevém-anual estava em estágio de florescimento, e a inexistência de efeito no estágio vegetativo, confirmam parcialmente 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 nutritivo. Sabe-se que o azevém-anual em estágio vegetativo possui alto valor nutritivo, com teores de PB acima de 200 g/kg de MS e de FDN inferiores a 500 g/kg de MS <sup>(11)</sup>. À medida que avança seu estágio de desenvolvimento, os teores de PB diminuem e os de FDN aumentam, o que não ocorre com a mesma intensidade nas leguminosas, devido principalmente às menores variações no teor de FDN das misturas em comparação à gramínea pura <sup>(12)</sup>. Neste trabalho, os teores de PB da gramínea pura reduziram de 210 g/kg de MS para 110 g/kg de MS do estágio vegetativo para estágio de florescimento, e os teores de FDN aumentaram de 520 g/kg de MS para aproximadamente 650 g/kg de MS com o avanço do estágio de desenvolvimento. Em contrapartida, a diferença no teor de PB entre as silagens com 400 g/kg de MS de trevo-branco reduziu para 50 g/kg de MS nos diferentes estágios de desenvolvimento (200



vs. 150 g PB/kg de MS, nos estádios vegetativo e de florescimento, respectivamente). Nesse mesmo nível de inclusão da leguminosa os teores de fibra não variaram em função do estágio de desenvolvimento da gramínea, com média de 530 g FDN/kg de MS. Os teores de MS das silagens, tanto no estágio vegetativo (320 g/kg) quanto no estágio de florescimento (300 g/kg), enquadraram-se na faixa recomendada (300 a 350 g/kg) para favorecer a fermentação e minimizar perdas de nutrientes<sup>(13)</sup>. De forma complementar, os valores médios de FDN (511 e 576 g/kg de MS) também permaneceram dentro do intervalo ideal (500 a 600 g/kg de MS), o que contribui para equilibrar o potencial de consumo e a digestibilidade da silagem<sup>(14)</sup>.

A inexistência de efeito da inclusão do trevo-branco acima de 400 g/kg de MS sobre os teores de FDN e FDA, mostra que a contribuição na melhoria de qualidade com a inclusão da leguminosa chegou ao seu limiar. Estes resultados estão alinhados com os recentemente observados por Ebro *et al.*<sup>(15)</sup>, os quais mostraram que a inclusão de até 400 g/kg de MS de quatro diferentes espécies de leguminosas (*Sesbania sesban*, *Medicago sativa*, *Lablab purpureus* e *Vicia faba*) melhorou o valor nutritivo de silagens a base de duas diferentes gramíneas de clima tropical (*Cenchrus purpureus* e *Pennisetum pedicellatum*). No mesmo sentido, da Silva *et al.*<sup>(16)</sup> encontraram que a inclusão de 300 g/kg de MS de uma leguminosa forrageira (*Stylosanthes*) à silagem de milho melhorou o valor nutritivo da silagem sem comprometer seu perfil fermentativo.

#### 4.2 Efeito da inclusão do trevo-branco sobre a densidade, o pH da silagem e sua estabilidade aeróbica

O aumento da densidade da silagem à medida que aumentou o nível de inclusão do trevo-branco pode ser explicado pelo fato de as partículas do trevo-branco serem menos resistentes à quebra física, o que aumenta a eficiência no processo de picagem. Este resultado era relativamente esperado, uma vez que o efeito da redução do tamanho de partícula sobre o aumento da densidade da silagem é bem conhecido<sup>(17)</sup>.

Os menores valores de pH nos pastos em estágio de florescimento podem ser explicados pela presença do amido fermentável originado das sementes das gramíneas. Esses resultados concordam parcialmente com o observado por outros autores<sup>(18)</sup> em silagem de azevém-anual puro, quando os valores de pH reduziram de 4,3 no pasto cortado em estágio vegetativo para 3,7 no estágio de florescimento. No presente trabalho, os valores de pH se situaram entre 4,0 e 4,5 quando o azevém-anual estava no estágio de florescimento, mas atingiram valores acima de 5,5 no estágio vegetativo, sem influência do nível de inclusão da leguminosa. Embora a literatura aponte que silagens de gramíneas e de misturas gramínea-leguminosa devam apresentar pH ideal entre 4,0 e 4,5, sendo que estas últimas podem ter valores ligeiramente mais elevados devido à presença de leguminosas<sup>(7,19)</sup>, nossos resultados indicam que o teor de leguminosas não afetou significativamente o pH final das silagens. Os valores de pH observados nas silagens confeccionadas com o azevém-anual no estágio vegetativo estão acima do valor máximo preconizado de 4,5, o que inibiria o crescimento de microorganismos indesejáveis como clostrídios, enterobactérias e *Listeria*, e garantiria a qualidade do material no interior de silagens confeccionadas a base de pasto<sup>(20)</sup>. Estes achados demonstram que a qualidade da fermentação em silagens de azevém-anual puro ou com a adição de leguminosas no estágio vegetativo pode ser dependente da adição de ingredientes ricos em carboidratos solúveis, como já havia sido observado por outros autores em silagem de capim elefante<sup>(20)</sup>.



A manutenção da estabilidade aeróbica por no mínimo sete dias após a abertura dos micros silos em todos os tratamentos podem ser, ao menos parcialmente, explicadas pela densidade relativamente alta dos silos. Segundo Wilkinson & Davis <sup>(21)</sup>, maiores susceptibilidades à deterioração aeróbica após a abertura dos silos são observadas quando sua densidade é inferior a 210 kg MS/m<sup>3</sup>. No presente estudo, todos os tratamentos apresentaram valores médios de densidade acima de 540 kg MS/m<sup>3</sup>. Estes resultados estão alinhados com os observados por outros autores <sup>(22)</sup>, os quais observaram que micros silos de trevo-vermelho + azevém-perene na proporção de 1:1, com ou sem a adição de inoculantes, mantiveram sua estabilidade aeróbica por no mínimo 8 dias após a abertura.

Destaca-se, contudo, que os ácidos orgânicos como ácido láctico, ácido acético e ácido propiônico desempenham papel crucial no processo de fermentação das silagens. Eles ajudam a reduzir o pH, o que inibe o crescimento de microrganismos indesejáveis, como leveduras e fungos, melhorando assim a estabilidade aeróbica da silagem <sup>(23,24)</sup>. Além disso, o ácido butírico, advindo de fermentação indesejada a partir de clostrídios, pode inibir o desenvolvimento de fungos e aumentar a estabilidade aeróbica dos silos após a sua abertura <sup>(25)</sup>. No presente estudo, não foram determinadas as concentrações de ácidos orgânicos, o que caracteriza uma limitação do trabalho. Dessa forma, avaliações mais detalhadas do perfil fermentativo das silagens, incluindo medidas da produção de ácidos orgânicos, contendo as misturas avaliadas no presente estudo, seriam fortemente recomendadas na condução de trabalhos futuros.

## 5. Conclusão

A inclusão de até 400 g/kg de trevo-branco em dietas à base de azevém-anual, no estágio de florescimento, pode ser recomendada para uso tanto na forma verde como ensilada, considerando os parâmetros de qualidade de forragem. A ausência de dados sobre ácidos orgânicos constitui limitação, mas os resultados indicam que leguminosas podem contribuir para a melhoria da qualidade das silagens de azevém-anual em florescimento.

### Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

### Declaração de disponibilidade de dados

O conjunto completo de dados que suporta os resultados deste estudo está disponível mediante solicitação ao autor correspondente.

### Contribuições do autor

Conceitualização: H. M. N. Ribeiro-Filho. Análise formal: C. M. Alves e R. Biasiolo. Aquisição de financiamento: H. M. N. Ribeiro-Filho. Investigação: C. M. Alves, R. Biasiolo e M. I. Martini. Metodologia: C. M. Alves, R. Biasiolo, J. L. P. Daniel e M. I. Martini. Recursos: H. M. N. Ribeiro-Filho. Supervisão: H. M. N. Ribeiro-Filho. Validação: J. L. P. Daniel. Redação (rascunho original): C. M. Alves e R. Biasiolo. Redação (revisão & edição): J. L. P. Daniel e H. M. N. Ribeiro-Filho.

### Referências

1. Lagrange SP, Macadam JW, Villalba JJ. The Use of Temperate Tannin Containing Forage Legumes to Improve Sustainability in Forage–Livestock Production. *Agronomy*. 2021;11(11):2264. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy11112264>
2. Castro-Montoya JM, Dickhoefer U. The nutritional value of tropical legume forages fed to ruminants as affected by their growth habit and fed form: A systematic review. *Anim Feed Sci Technol*. 2020;269:114641. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114641>
3. Seibt DC, Olivo CJ, Alessio V, Sauter CP, Bratz VF, Aguirre PF. Forage mass and nutritional value of elephant grass intercropped with forage legumes1. *Rev Ceres*. 2021;68(5):429–40. doi: <https://doi.org/10.1590/0034-737X202168050008>

4. Htet MNS, Hai JB, Bo PT, Gong XW, Liu CJ, Dang K, et al. Evaluation of nutritive values through comparison of forage yield and silage quality of mono-cropped and intercropped maize-soybean harvested at two maturity stages. *Agriculture (Switzerland)*. 2021;11(5):720. doi: <https://doi.org/10.3390/agriculture11050452>
5. Ebro A, Aranguiz AA, Nemera F, Bijdevaate L, Addis H, Demise H, et al. Inclusion levels of tree and herbaceous legumes on nutritive quality of grass silage: results from on-farm trials. *Agrofor Syst*. 2024;98(1):103–13. doi: <https://doi.org/10.1007/s10457-023-00893-5>
6. DeBoer ML, Grev AM, Sheaffer CC, Wells MS, Martinson KL. Herbage mass, botanical composition, forage nutritive value, and preference of grass–legume pastures under horse grazing. *Crop Forage and Turfgrass Manage*. 2020;6(1):1-8. doi: <https://doi.org/10.1002/cft2.20032>
7. Fijałkowska M, Pysera B, Lipiński K, Strusińska D. Changes of nitrogen compounds during ensiling of high protein herbages - A review. *Ann Anim Sci*. 2015;15(2):289–305. doi: <https://doi.org/10.1515/aoas-2015-0008>
8. Moran JP, Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Owen TR. A comparison of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage. In: *Proceedings of the XI International Silage Conference*. Aberystwyth, UK; 1996. p. 162–3.
9. AOAC. *Official Methods of Analysis*. 21st ed. Latimer GW, editor. Rockville: AOAC; 2019.
10. Mertens DR. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *J AOAC Int*. 2002;85(6):1217–40. PMID: 12477183.
11. INRA. *INRA Feeding System for Ruminants*. Noizère P, Sauvant D, Delaby L, editors. Wageningen: Wageningen Academic Publishers; 2018. 640 p.
12. Dewhurst R, Delaby L, Moloney A, Boland T, Lewis E. Nutritive value of forage legumes used for grazing and silage Legume forages have an important position in ruminant production in Western. Vol. 48, *Ir J Agric Food Res*. 2009;48:167-187. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/20720367>
13. Pereira Maciel R, Neuman J, Neiva M, Oliveira RC, Lúcia De Araújo V, Nonato R, et al. Fermentative patterns and chemical composition of Elephant-Grass silages with cassava by-product. *Rev Cien Agron [Internet]*. 2008;39(1806-6690):1-142. ISSN 1806-6690. Disponível em: [www.ccarevista.ufc.br](http://www.ccarevista.ufc.br)
14. Ribeiro Junior GO, Velasco FO, Faria Júnior WG, Teixeira AM, Machado FS, Magalhães FA, et al. In situ degradation kinetics of *Andropogon gayanus* grass silages harvested at three stages of maturity. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2014;66(6):1883–90. doi: <https://doi.org/10.1590/1678-6780>
15. Ebro A, Aranguiz AA, Nemera F, Bijdevaate L, Addis H, Demise H, et al. Inclusion levels of tree and herbaceous legumes on nutritive quality of grass silage: results from on-farm trials. *Agrofor Syst [Internet]*. 2024 Jan 1 [cited 2025 Jan 20];98(1):103–13. doi: <https://doi.org/10.1007/s10457-023-00893-5>
16. da Silva LM, de Pinho Costa KA, e Silva JAG, Costa JVCP, Costa AC, da Costa Severiano E, et al. Fermentative profile and nutritive value of maize, legume and mixed silage. *Semin Cienc Agrar [Internet]*. 2023 Dec 14 [cited 2025 Jan 20];44(5):1909–26. doi: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2023v44n5p1909>
17. McDonald P, Herderson AR, Heron SJE. *Biochemistry of silage*. 2nd ed. 1991. 340.
18. Fluck AC, Schafhäuser Júnior J, Júnior HA, Costa OAD, Farias GD, Scheibler RB, et al. Chemical composition of annual ryegrass forage and silage for different drying times and phenological phases. *Arq Bras Med Vet Zootec [Internet]*. 2018 [cited 2025 Jan 21];70(6):1979–87. doi: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9981>
19. Chen L, Dong Z, Li J, Shao T. Ensiling characteristics, in vitro rumen fermentation, microbial communities and aerobic stability of low-dry matter silages produced with sweet sorghum and alfalfa mixtures. *J Sci Food Agric*. 2019;99(5):2140–51. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9406>
20. Ferrari Junior E, Paulino VT, Possenti RA, Lucenas TL. Additives in silage of paraísograss (*Pennisetum hybridum* cv. Paraíso). *Arch Zootec [Internet]*. 1975 [cited 2025 Jan 21];58(222):185–94. doi: <https://doi.org/10.4321/S0004-05922009000200003>
21. Wilkinson JM, Davies DR. The aerobic stability of silage: Key findings and recent developments. *Grass Forage Sci*. 2013;68(1):1–19. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2012.00891.x>
22. Jatkauskas J, Vrotniakienė V. The effects of silage inoculants on the fermentation and aerobic stability of legume-grass silage. *Zemdirbyste*. 2011;98(4):367–74. Disponível em: [https://zemdirbyste-agriculture.lt/98\(4\)tomas/98\\_4\\_tomas\\_str4.pdf](https://zemdirbyste-agriculture.lt/98(4)tomas/98_4_tomas_str4.pdf).
23. Vivekanand, Kumar M, Kumar V, Kushwaha R, Vaswani S, Kumar A, et al. Organic Acids as Silage Additive: Effects on Fermentation Dynamics and Aerobic Stability of Sorghum Silage and Performance of Growing Cattle. *Anim Nutr Feed Technol*. 2021;21(3):471–84. doi: <https://doi.org/10.5958/0974-181X.2021.00039.1>
24. Dai T, Dong D, Wang S, Zong C, Yin X, Xu G, et al. Assessment of organic acid salts on fermentation quality, aerobic stability, and in vitro rumen digestibility of total mixed ration silage. *Trop Anim Health Prod*. 2022;54(5). doi: <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03249-w>
25. Gomes ALM, Auerbach HU, Lazzari G, Moraes A, Nussio LG, Jobim CC, et al. Sodium nitrite-based additives improve the conservation and the nutritive value of guinea grass silage. *Anim Feed Sci Technol*. 2021;279. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115033>