

Porcentagens de Saponinas e Taninos em Vinte e Oito Cultivares de Alfafa (*Medicago sativa* L.) em Duas Épocas de Corte - Botucatu - SP¹

Maria Eunice de Queiroz Vieira², Ciniro Costa³, Antônio Carlos Silveira⁴, Mário De Beni Arrigoni⁵

RESUMO - O objetivo do estudo foi determinar os conteúdos de saponinas, taninos e a solubilidade da proteína (SP) de 28 cultivares de alfafa: Crioula, Monarca, BR 4, Alto Great, MH 4, SW 9210 A, 5929, BR 1, EL Grande, 5715, MH 15, Valley Plus, BR 2, Rio, SW 8210, Maricopa, ICI 990, 5888, P 30, Alfa-200, WL 516, SW 8112 A, BR 3, Florida 77, Araucana, Falcon, Semit 921 e Sutter. O material analisado foi obtido do 10^o e 14^o corte, respectivamente; em 08/12/97 e 16/04/98, de um experimento desenvolvido na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu. Amostras de cada cultivar foram colhidas, pesadas e secas em estufa a 52°C. As saponinas foram extraídas com solvente hidrofílico e lipofílico e o conteúdo foi calculado pela equação $y=0,8121x-1,4759$, $R^2 = 1,00$. A extração dos taninos totais e condensados foi efetuada por meio de ultra-som (12 min), sendo os taninos totais determinados pela equação: $y=44,978 + 0,5644$ com $R^2=0,9977$ e os condensados, multiplicando-se a absorvância por 78,26 dividido pelo teor de matéria seca. A SP foi determinada pelo método de KOH, de acordo com a seguinte fórmula: $SP (\%) = \text{proteína solúvel} \times 100/\text{proteína bruta}$ da amostra. Os teores de saponinas, taninos totais e condensados e a solubilidade da proteína não diferiram ($P>0,05$) entre as cultivares. Houve efeito ($P<0,05$) da época de corte apenas sobre o teor de taninos totais. Os teores médios de saponinas de 1,00% aliados à baixa solubilidade média da proteína bruta (34,11%) não se constituem em fatores limitantes para uso dos cultivares de alfafa estudadas.

Palavras-chave: conteúdo, época do ano, taninos condensados, ultra-som

Saponins and Tannins in Twenty-Eight Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Cultivates Grown in Botucatu - SP

ABSTRACT - The experiment was carried out to evaluate saponins and tannins contents, the proteins solubility (PS) of 28 alfalfa cultivates: Crioula, Monarca, BR 4, Alto Great, MH 4, SW 9210 A, 5929, BR 1, El Grande, 5715, MH 15, Valley Plus, BR 2, Rio, SW 8210, Maricopa, ICI 990, 5888, P 30, Alfa-200, WL 516, SW 8112 A, BR 3, Florida 77, Araucana, Falcon, Semit 921 and Sutter. The analyzed material came from the 10th and 14th harvests (which occurred on 12/08/97 and 04/16/98, respectively) from an experiment conducted at the College of veterinary medicine and Animal Science, UNESP, Botucatu. Samples from each cultivate were weighed and oven-dried at 52°C. Saponins were extracted with a hydrophilic and lipophilic solvent, and their content was calculated by means of the following equation: $y = 0.8121x - 1.4759$ ($R^2 = 1.00$). Total and condensed tannins were ultrasound-extracted for 12 min. Total tannin content was calculated by means of the following equation: $y = 44.978 + 0.5644$ ($R^2 = 0.9977$); condensed tannin content was determined by multiplying the absorbency by 78.26 and dividing it by the dry matter content. PS was determined through the KOH method, using the following formula: $PS (\%) = (100) (\text{soluble protein}) / \text{crude protein}$. No differences were detected ($P>0.05$) among cultivates in saponin content, total tannin and condensed content of PS. Harvest time effect was observed ($P<0.05$) in total tannin content only. The low average saponin content (1.0%) and protein solubility (34.11%) do not constitute a limiting factor for the use of the above alfalfa cultivars.

Key Words: content, condensed tannins, harvest time, ultrasound

Introdução

Em virtude do seu excelente valor forrageiro, a alfafa tem sido usada das mais diversas maneiras nas distintas regiões do mundo. Comumente é usada em regime de corte e conservada sob a forma de feno ou

silagem, embora na Argentina, que detém o segundo lugar em área de alfafa cultivada no mundo, o pastejo é a forma mais comum de utilização (Carnier, citado por GIAVENO, 1996).

O menor uso da alfafa sob pastejo tem sido atribuído aos riscos de timpanismo, baixa persistência

¹ Parte da tese de Doutorado da primeira autora.

² Universidade Federal Rural de Pernambuco - Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n. - Dois Irmãos - CEP 52171-900 - Recife-PE, Pós-Graduanda de Zootecnia - FMVZ/UNESP - Botucatu, SP. E-mail: mariaeunicev@bol.com.br

³ Professor Assistente Doutor do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal - FMVZ/UNESP - Caixa Postal 560 - CEP 18618-000 - Botucatu - SP. E-mail: secdmna@fca.net.br

⁴ Professor Titular do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal - FMVZ/UNESP - Caixa Postal 560 - CEP 18618-000 - Botucatu - SP. E-mail: secdmna@fca.net.br

⁵ Professor Assistente Doutor do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal - FMVZ/UNESP - Caixa Postal 560 - CEP 18618-000 - Botucatu - SP. E-mail: secdmna@fca.net.br

da cultura e elevadas perdas de forragem (ENGUITA, 1993). Entretanto, a ocorrência de timpanismo de animais em pastejo depende do tipo de animal, do ambiente em que a alfafa se desenvolve, bem como da cultivar (GIAVENO, 1996).

As saponinas são consideradas as principais substâncias antinutricionais encontradas na alfafa causadoras de timpanismo, sendo que 16% da variação total de saponinas na alfafa é atribuída a diferenças entre cultivares (HANSON et al., 1973).

As saponinas são normalmente triterpenóides glicosídicos constituídos de aglicona (sapogenol) ligada a uma ou mais unidades de açúcar. O ácido medicagênico, hideragenina, ácido zênico e sayasapogenol A e B são os principais componentes da parte aérea da alfafa (PRICE et al., 1988).

A maneira mais eficiente e segura para evitar o timpanismo nos ruminantes é a utilização de pastagens consorciadas de alfafa com gramíneas forrageiras (SAIBRO, 1985), como é o caso das áreas de pastejo de alfafa na Argentina (Hijano, citado por GIAVENO, 1996). Tal prática, entretanto, torna-se inviável nas condições de clima tropical devido a incompatibilidades fisiológicas entre as duas espécies forrageiras (NASCIMENTO JR., 1986).

Outra opção que pode contornar o problema de timpanismo consiste no uso de cultivares de alfafa com teor de taninos suficiente para diminuir a solubilidade da proteína (WEINER, 1998). Jones et al., citados por GIAVENO (1996), estudando as propriedades espumantes das proteínas solúveis, concluíram que estas são as responsáveis pela estabilização da espuma como resultante da sua desnaturalização superficial.

Como a alfafa apresenta um alto conteúdo de proteína, extensivamente degradada no rúmen (NRC, 1989), estudos sugerem a necessidade de diminuir a quantidade de proteína solúvel no líquido ruminal, através de trabalho de melhoramento para obter cultivares de alfafa com baixa concentração de proteína solúvel (GIAVENO, 1996).

Com a possibilidade do uso da alfafa sob pastejo (VILELA et al., 1994) e, com isso, maior risco de ocorrência de timpanismo, o presente estudo foi conduzido para determinar os conteúdos de saponinas e taninos, bem como a solubilidade da proteína de 28 cultivares de alfafa. Com isso, espera-se obter o conhecimento para orientação do melhor uso da alfafa nos sistemas de produção animal.

Material e Métodos

O presente trabalho foi desenvolvido em Botucatu-SP, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, localizada na latitude 22° 52' S e longitude 48°27', com 854 m de altitude. O clima da região é classificado como do tipo Cfa ou subtropical úmido, com verões quentes e geados pouco frequentes. Os dados de precipitação, temperatura, umidade relativa e radiação solar, registrado durante o período experimental (Tabela 1) foram coletados pelo Posto Meteorológico do Departamento de Ciências Ambientais da Faculdade de Ciências Agrônomicas Unesp Campus de Botucatu, distando aproximadamente, 2 km da área experimental.

O material utilizado foi obtido do 10^o e 14^o cortes, em um experimento de competição de 28 cultivares de alfafa: Crioula, Monarca, BR 4, Alto Great, MH 4, SW 9210 A, 5929, BR 1, EL Grande, 5715, MH 15, Valley Plus, BR 2, Rio, SW 8210, Maricopa, ICI 990, 5888, P 30, Alfa-200, WL 516, SW 8112 A, BR 3, Florida 77, Araucana, Falcon, Semit 921 e Sutter. O delineamento experimental foi o em blocos casualizados, com três repetições.

Quando cada cultivar apresentou cerca de 10 a 20% de florescimento, foram colhidas amostras de forragem, de aproximadamente 300 g, secas em estufa com circulação de ar forçada a 50°C por 72 horas. Após a secagem, o material moído foi passado em peneira de 40 mesh, armazenadas em sacos plásticos identificados e vedados para as análises de saponinas, taninos e solubilidade da proteína.

A extração saponinas seguiu o método desenvolvido por MATOS (1988), que usa o solvente hidrofílico (etanol com 30% de água), solvente lipofílico (éter etílico ou clorofórmio). Porém foi modificado quanto à quantificação do teor de saponinas, para tal, utilizou-se como padrão saponinas da Quillaja Bark-SIGMA, S-4521, Lot 107H7842. O conteúdo de saponinas na amostra foi calculado pela equação linear $y = 0,8121x - 1,4759$ e $R^2 = 1,00$; onde x é o peso (mg) do resíduo no tubo oriundo de 5 g de amostra e y o teor de saponinas na amostra.

Para a determinação dos taninos totais e condensados foram pesados 200 g de amostra finamente moída e passadas em peneira 40 mesh transferidos para tubo de ensaio de 15 mL. Adicionaram-se 10 mL do solvente no tubo e este foi submetido ao banho frio (gelo + água) e posteriormente a ultra-som por quatro minutos. Deixou-se o tubo mais

Tabela 1 - Temperaturas máxima, mínima e média (°C), umidade relativa (%), precipitação pluvial (mm) e radiação solar (cal/cm²/d) mensais, correspondentes ao período experimental

Table 1 - Monthly maximum, minimum, and mean temperatures (°C), relative moisture (%), rainfall (mm) and solar radiation in the experimental period

Ano Year	Jan. Jan.	Fev. Feb.	Mar. Mar.	Abr. Apr.	Mai. May	Jun. Jun.	Jul. Jul.	Ago. Aug.	Set. Sep.	Out. Oct.	Nov. Nov.	Dez. Dec.
Temperatura máxima Maximum temperature												
1997	27,2	28,9	27,5	26,1	24,7	21,1	23,6	25,2	27,2	26,4	27,9	29,9
1998	29,7	28,4	28,2	25,6	22,5	21,3	23,2	24,5	24,9	24,9	27,5	28,0
Temperatura mínima Minimum temperature												
1997	19,3	19,5	18,0	16,3	14,4	13,1	14,0	14,6	16,5	17,0	18,8	19,6
1998	20,6	20,2	20,0	17,6	14,5	12,5	13,5	15,7	15,7	16,0	16,8	18,9
Temperatura média Mean temperature												
1997	22,2	23,1	21,9	20,4	17,8	15,9	18,0	19,1	20,7	20,7	22,6	23,5
1998	24,4	23,3	23,0	20,8	17,5	16,0	17,4	19,2	19,1	19,0	21,1	22,7
Umidade relativa Relative moisture												
1997	85	79	68	68	72	75	64	57	64	71	76	77
1998	76	84	81	79	76	74	71	75	76	82	73	79
Precipitação Rainfall												
1997	485,0	204,1	92,4	26,9	94,2	132,7	22,8	14,6	127,4	102,1	214,1	166,2
1998	67,6	345,2	184,0	64,9	135,0	13,0	15,1	55,8	113,2	176,3	30,1	290,3
Radiação solar Solar radiation												
1997	456,2	508,8	519,3	463,7	408,1	293,7	382,8	434,9	457,7	477,5	492,2	525,0
1998	479,9	411,9	467,0	412,0	333,5	333,4	345,7	325,9	344,2	384,6	482,8	432,7

amostra a esfriar, sendo esta operação repetida por mais três vezes, até um total de 12 minutos. Após centrifugação do conteúdo a 1900 rpm por 20 minutos, o sobrenadante coletado foi conservado em gelo. Para a determinação dos taninos totais foram tomados 0,5 mL da amostra, as quais foram colocadas em tubos de ensaio e, em seguida, adicionadas águas destiladas até completar 1,0 mL. No extrato diluído foi adicionado 0,5 mL do reagente de Folin Ciocalteu 1 N e 2,50 mL da solução de carbonato de sódio (20 g de carbonato de sódio dissolvidos em 150 mL de água destilada e completando em seguida para 200 mL). Os tubos foram agitados e deixados em repouso por 40 minutos. O teor de taninos totais foi obtido em curva padrão de ácido tânico (PVP; da sigma - P6755), sendo determinado pela equação: $y = 44,978 + 0,5644x$, com $R^2 = 0,9977$.

Para determinação da porcentagem de taninos condensados relativos aos taninos totais, colocou-se em um tubo de ensaio 0,5 mL do extrato de taninos e

sobre este foram adicionados 3 mL do reagente de butanol -HCl e 0,1 mL do reagente férrico. Em seguida, após agitação rápida os tubos, com uma bola de gude na boca, foram levados a um bloco aquecedor a 100°C por uma hora. Passado o tempo, foram resfriados e submetidos a leitura em absorvância de 550 nm. O teor de taninos condensados na amostra foi obtido multiplicando-se a absorvância por 78,26 divididos pelo teor de matéria seca da amostra, como equivalente em leucocianidina.

A solubilidade da proteína foi determinada pelo procedimento descrito previamente por ARABA e DALE (1990), usando KOH (g/v; 0,036 N). A proteína solúvel foi calculada multiplicando o valor do nitrogênio obtido na destilação por 6,25, e a solubilidade da proteína (SP), como a porcentagem da proteína da amostra, calculada pela seguinte fórmula: $SP (\%) = \text{Proteína solúvel} \times 100 / \text{proteína bruta da amostra}$.

A análise estatística para os dados dos teores de

saponinas e taninos totais foi em esquema fatorial (28x3x2), sendo 28 cultivares, três repetições e duas épocas de corte e a porcentagem de taninos condensados relativa aos taninos totais por bloco casualizado com três repetições, conforme System SAS (1985).

Resultados e Discussão

Constam da Tabela 2 os resultados dos teores de saponinas na matéria seca da alfafa. A análise estatística não revelou efeito de cultivar, bem como de épocas de corte.

Tabela 2 - Teor médio de saponinas (%) de 28 cultivares de alfafa em duas épocas de corte

Table 2 - Average saponins contents of 28 alfalfa cultivars of in two cut seasons

Cultivar	Datas de corte		Média Mean
	08/12/97	16/04/98	
Crioula	2,13	1,44	1,78 ^a
Monarca	0,77	1,92	1,35 ^a
BR4	1,09	0,66	0,88 ^a
Alto	0,83	0,65	0,74 ^a
MH 4	0,76	1,01	0,89 ^a
SW 9210	0,54	0,94	0,74 ^a
5929 A	1,39	0,87	1,40 ^a
BR 1	0,31	0,88	0,60 ^a
ElGrande	1,11	0,60	0,86 ^a
5715	0,92	0,58	0,75 ^a
MH 15	1,02	1,57	1,30 ^a
Valley Plus	1,19	1,00	1,10 ^a
BR 2	1,26	0,91	1,08 ^a
Rio	1,45	1,12	1,29 ^a
SW 8210	1,27	0,87	1,07 ^a
Maricopa	0,20	0,97	0,58 ^a
ICI990	1,16	0,72	0,94 ^a
5888	0,53	1,29	0,91 ^a
P 30	0,70	1,50	1,10 ^a
Alfa 200	1,97	0,91	1,44 ^a
WL 516	0,92	0,56	0,74 ^a
SW 8112 A	1,49	0,47	0,98 ^a
BR 3	0,52	1,32	0,92 ^a
Florida 77	1,23	0,73	0,98 ^a
Araucana	1,08	0,96	1,02 ^a
Falcon	1,61	0,44	1,02 ^a
Semit 921	1,23	0,43	0,83 ^a
Sutter	0,73	0,83	0,78 ^a
Média	1,05 ^A	0,95 ^A	1,00

CV%=7,59

Médias, na linha/columna, seguidas de letras maiúsculas/minúsculas distintas, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

Means, within a row/column, followed by different capital/small letters are different ($P < 0,05$) by Tukey test.

O maior teor em valor absoluto foi verificado para a cultivar Crioula com 1, 78% e a de menor valor médio, 0,58%, para Maricopa. Estes valores foram considerados intermediário de acordo com a classificação de PETERSEN e WANG (1971), que, avaliando o efeito da seleção de seis variedades de alfafa quanto ao conteúdo de saponinas, constataram que o conteúdo médio para cultivares de baixo teor foi 0,87% comparado a 2,05% em cultivares de alto teor. Entretanto, PEDERSEN et al. (1973) consideraram as cultivares de alfafa com teor 3,14% alto e 0,34% baixo.

Valores menores aos encontrados nesta pesquisa foram verificados no trabalho de LIVIGSTON et al. (1979), que, estudando o efeito do pH na distribuição das saponinas biologicamente ativas durante a preparação para os PHLCs em dois processos diferentes (PRO-XAN e LPC completo), consideraram de baixo teor a cultivar Lahontan com 0,13%.

Os teores de taninos totais e taninos condensados encontram-se na Tabela 3.

Não foi detectada diferença estatística entre os cultivares. Considerando a importância nutricional dos taninos em baixo teor, quanto a minimização da ocorrência de timpanismo pela proteólise ao nível do rúmen, os teores encontrados nessa pesquisa são inferiores a 2 a 3%, considerados por WAGHORN e JONES. (1990), como níveis suficientes para proteger a proteína da proteólise no rúmen.

O teor de taninos condensado em relação aos taninos totais não apresentou diferença ($P > 0,05$) entre cultivares. Vale salientar que, em valor absoluto, as cultivares BR 2 e Alto apresentaram maior valor, 25,49 e 24,76%, respectivamente, enquanto a SW 8112 (7,03%) e Araucana (7,61%), o menor, as demais cultivares apresentaram valores intermediários. O alto coeficiente de variação (25,33%) pode justificar a ausência das diferenças entre as cultivares para essa variável. A cultivar P 30 apresentou maior teor de taninos condensados (0,19%), que na amostra que pode ser considerado baixo, quando comparado aos resultados obtidos por JACKSON e BARRY (1996), entre 0,02 e 0,25%.

A importância do conhecimento do tipo de tanino quanto a estrutura química é fundamental, em estudos com taninos principalmente da mesma planta. Valores de taninos registrados nessa pesquisa são contrários às afirmações de SAKAR et al. (1976), que não encontraram taninos condensados em cultivares de alfafa, como também de MARSAHALL et

Tabela 3 - Médias de taninos totais (TT) % na MS em duas épocas de corte, taninos condensados (TC) como % dos taninos totais de 28 cultivares de alfafa

Table 3 - Averages of total tannins (% in the DM), condensed tannins (% of the total tannins) of 28 cultivates of alfalfa in two cut seasons

Cultivar	Datas de corte			Média (TT) Mean
	Dates of cut			
	08/12/97	16/04/98	TC	
	TT	TT	TC	
Crioula	0,59	0,76	14,85 ^a	0,65 ^a
Monarca	0,66	0,74	20,22 ^a	0,70 ^a
BR4	0,69	0,59	18,23 ^a	0,64 ^a
Alto	0,68	0,63	24,76 ^a	0,66 ^a
MH 4	0,51	0,67	12,35 ^a	0,59 ^a
SW 9210	0,58	0,76	12,83 ^a	0,67 ^a
5929 A	0,64	0,84	13,76 ^a	0,74 ^a
BR1	0,56	0,78	15,32 ^a	0,66 ^a
El Grande	0,80	0,89	10,50 ^a	0,95 ^a
5715	0,80	0,83	12,70 ^a	0,81 ^a
MH 15	0,68	0,93	18,52 ^a	0,80 ^a
Valley Plus	0,68	0,87	13,52 ^a	0,78 ^a
BR2	0,67	0,76	25,49 ^a	0,72 ^a
Rio	0,78	0,74	13,15 ^a	0,76 ^a
SW 8210	0,74	0,83	20,97 ^a	0,79 ^a
Maricopa	0,53	0,88	14,41 ^a	0,70 ^a
ICI990	0,58	0,85	19,58 ^a	0,72 ^a
5888	0,57	0,91	8,17 ^a	0,74 ^a
P 30	0,69	0,93	20,67 ^a	0,81 ^a
Alfa 200	0,67	0,93	14,30 ^a	0,80 ^a
WL 516	0,54	0,87	12,35 ^a	0,71 ^a
SW 8112 A	0,73	0,91	7,03 ^a	0,82 ^a
BR3	0,64	0,81	20,51 ^a	0,73 ^a
Florida 77	0,69	0,87	11,05 ^a	0,78 ^a
Araucana	0,57	0,91	7,61 ^a	0,74 ^a
Falcon	0,64	0,81	15,32 ^a	0,73 ^a
Semit 921	0,49	0,71	12,65 ^a	0,60
Sutter	0,60	0,94	14,02 ^a	0,77 ^a
Média	0,64 ^B	0,82 ^A		

CV%=25,33

Médias, na linha/coluna, seguidas de letras maiúsculas/minúsculas distintas, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

Means, within a row/column, followed by different capital/small letters are different ($P < 0,05$) by Tukey test.

al. (1981), que baseado em experimento conduzido com 557 acessos anuais e perenes de *Medicago sativa* verificaram que genótipos que produzem taninos em suas folhas são muito raros ou inexistentes.

HOWARTH (1988) não encontrou presença de taninos condensados no cultivar Panonia e MESSEMAN et al. (1996), estudando a concentração de taninos em cultivares de alfafa, Red clover e a cultivar Leo de "Birdsfood trefoil", também não encontraram conteúdo de tanino em alfafa. Essas

diferenças nos resultados podem estar relacionadas com os métodos de extração e/ou processamento das amostras antes da análise. REED (1994) afirmou que o maior problema nas análises de taninos é o processamento de secagem das amostras que diminuem a extração e a indisponibilidade de padrões apropriados, importantes para determinação da quantidade de taninos na amostra.

JACSON e BARRY. (1996) executando um experimento com o objetivo de confirmar algumas concentrações baixas de taninos condensados anteriormente obtidos por colorimetria, verificaram que as folhas de alfafa apresentaram 4,20 g de tanino/kg de MS pelo método de extração com vanilina-HCL, porém, não detectado pelo método Butanol-HCl. Os mesmos autores nesse estudo classificaram os níveis de taninos condensados, como baixo quando variaram de 0,2 a 2,5; médio variando de 2,5 a 10,0 e alto quando variaram de 10,0 a 50,0 g/kg MS. Todas as espécies envolvidas no estudo (*Digitaria sanguinalis*, *Lolium perenne*, *Trifolium pretence*, *Chicorium intybus*, *Medicago sativa*, *Plantago lanceolata*), apresentaram taninos condensados (0,2 a 2,5 g/kg MS).

Neste trabalho, a época de corte da alfafa apresentou efeito significativo sobre a média geral do teor de taninos totais. O corte em 16/04/98 apresentou, significativamente, maior valor (0,82%) que a época de corte de 08/12/1997. Na literatura consultada não foram encontrados trabalhos sobre o efeito das condições climáticas sobre os teores de taninos.

Considerando que os taninos apresentam propriedades de quelação e que formam complexos estáveis com as proteínas especialmente em pH de 4,0 a 6,5 (JONES e MANGAN, 1977), esse composto apresenta efeito importante sobre a solubilidade da proteína. A média geral de 34,11% obtida neste trabalho foi inferior àquela encontrada no NRC (1989), em que a solubilidade da proteína bruta estimada para a alfafa é de 70%.

Em várias publicações sobre tanino em plantas forrageiras, é notória a preocupação dos pesquisadores em observar o efeito dos taninos condensados sobre a solubilidade da proteína, ora verificando efeitos positivos, como no controle de formação de espuma no rúmen e conseqüentemente o controle do timpanismo, além da redução da degradação da proteína no rúmen (by pass) para aumentar a absorção no intestino delgado, ora medindo os efeitos negativos como a formação de complexos, diminuindo, assim, a disponibilidade da proteína para o animal.

Quanto à solubilidade da proteína (Tabela 4), não houve efeito ($P>0,05$) da cultivar e da época de corte. Os valores médios encontram-se entre 38,07% para a cultivar SW 8210 e 30,27% para a cultivar BR 1. Poucos trabalhos publicados contêm valores da solubilidade da proteína da alfafa. Esses resultados são superiores aos obtidos por GUTEK et al. (1974), tanto em relação às folhas (23,49%) quanto aos caules (14,15%).

Embora neste trabalho não tenha sido detectada diferença entre as épocas de corte, fatores como a distribuição da proteína nas partes da planta, hora do dia, atividade fotossintética e estação (inverno e verão) afetam a solubilidade da proteína (GUTEK et al., 1974).

Tabela 4 - Solubilidade da proteína bruta (%) de 28 cultivares de alfafa em duas épocas de corte

Table 4 - Crude protein solubility (CP%) of 28 cultivars of alfalfa in two cut seasons

Cultivar	08/12/97	16/04/98	Média Mean
Crioula	31,97	40,44	36,21 ^a
Monarca	29,69	38,07	33,88 ^a
BR4	32,44	32,14	32,30 ^a
Alto	33,17	34,51	33,84 ^a
MH 4	30,56	36,14	33,35 ^a
SW 9210	35,97	35,95	35,96 ^a
5929 A	31,46	31,31	31,38 ^a
BR 1	29,78	30,77	30,27 ^a
El Grande	29,88	35,73	32,80 ^a
5715	32,40	32,97	32,68 ^a
MH 15	37,34	34,70	36,02 ^a
Valley Plus	29,77	36,91	33,34 ^a
BR 2	38,80	30,68	34,74 ^a
Rio	34,20	33,23	33,72 ^a
SW 8210	35,53	40,60	38,07 ^a
Maricopa	35,09	33,36	34,22 ^a
ICI 990	32,53	36,38	34,45 ^a
5888	33,91	32,99	33,45 ^a
P 30	36,97	34,63	35,80 ^a
Alfa 200	34,99	37,61	36,30 ^a
WL 516	34,83	31,60	33,21 ^a
SW 8112 A	33,11	38,37	35,74 ^a
BR 3	35,41	34,35	34,88 ^a
Florida 77	34,83	32,14	33,48 ^a
Araucana	35,14	33,67	34,40 ^a
Falcon	33,42	31,30	32,36 ^a
Semit 921	33,49	35,95	34,72 ^a
Sutter	34,82	32,02	33,41 ^a
Média	33,63 ^A	34,59 ^A	34,11 ^a
Mean			

CV%= 12,76.

Médias, na linha/coluna, seguidas de letras maiúsculas/minúsculas distintas, são diferentes ($P<0,05$) pelo teste Tukey.

Means, within a row/column, followed by different capital/small letters are different ($P<0,05$) by Tukey test.

Não foi observada correlação entre os teores de taninos totais e taninos condensados sobre a solubilidade da proteína, possivelmente devida ao baixo valor de taninos encontrados nas cultivares.

Segundo WEIMER (1998), várias estratégias estão disponíveis para reduzir a proteólise ruminal. Uma delas é o tratamento pelo calor ou químico dos alimentos (particularmente soja e outros suplementos protéicos) para aumentar sua resistência à proteólise enzimática (BRODERICK et al., 1991). Os autores afirmaram ainda, que um método alternativo pode ser o uso de alimentos ou forrageiras ricas em taninos, fazendo com que estes formem complexos com as proteases, inibindo sua atividade. Assim é que, BRODERICK e ALBRECHT (1997) relataram que parte da degradabilidade ruminal da proteína de espécies de leguminosas forrageiras está associada com a presença de taninos.

WEIMER (1998) afirmou que a redução da solubilidade da proteína no rúmen tem importância também ecológica, pois as reduções das perdas líquidas de proteína em dietas que apresentam alta degradabilidade são expansivas ao animal. Além disso, o nitrogênio (N) protéico, a uréia, e a amônia são eliminados pela urina e fezes, sendo o maior contribuinte para a poluição em área intensiva de exploração animal.

Conclusões

Os teores de saponinas encontrados variaram de 1,78 a 0,78%. Aliados à baixa solubilidade da proteína bruta, que variou de 36,21 a 33,41% (com média 34,81%), não se constituem em fatores limitantes para o uso dos cultivares de alfafa estudados para uso na alimentação animal.

A alfafa exhibe cultivares com teores de taninos totais que sofrem alterações com a época do ano, tendo sido observados teores variando de 0,49% a 0,80% no corte realizado em 08/12/1997 e de 0,59% a 0,94% no corte relativo a 16/04/98. No entanto, esses teores de taninos totais não modificaram a solubilidade da proteína bruta.

Referências Bibliográficas

- ARABA, M., DALE, N.M. 1990. Evaluation of protein solubility as an indicator of under-processing of soybean meal. *Poult. Sci.*, 69:1749-1752.
- BRODERICK, G.A., WALLACE, R.J., ORSKOU, E.R. 1991. Control of rate and extent of protein degradation. In: TSUDA,

- T., SASAKI, Y., KAWASHIMA (Eds.) *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. 9.ed. Proceedings of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology. New York: Academic Press. p.541-592.
- BRODERICK, G.A., ALBRECHT, K.A. Ruminal in vitro degradation of protein in tannin-free and tannin-containing forage legumes species. *Crop Sci.*, 37:1884-1891.
- ENGUITA, J.D. 1993. Respuesta al pastoreo de ocho cultivares de alfalfa. *Invest. Agr. Prod. Sand. Anim*, 83(3):223-231.
- FAO. Quantification of tannins en tree foliage. In: A laboratory mfor the FAO/IAEA Co-ordinated research project on "Use of Nuclear and Related Techniques to Develop Simple Tannin Assays for predicting and Improvement the safety and efficiency of Feeding Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage". Roma, s.d. 28p.
- GIAVENO, C.D. 1996. *Comparacion de dos ciclos de selección en desarrollo de problacions de alfalfa (Medicago Sativa L.) com menor potencial empastador*. Dissertação INTA-V.N.R. (Magister Scientiae em Mejoramento genético Vegetal) E E A INTA, Pergamino.
- GUTEK L.H., GOPLEN, B.P., HOWARTH, R.E. et al. 1974. Variation of soluble proteins in alfalfa, sanfoin and birdsfoot trfoil. *Crop Sci.*, 14:495-99.
- HANSON, C.H.M. PEDERSEN, B., BERRANY, M.E. et al. 1973. The saponins in alfalfa cutivars. In: MATCHES, A.G. (Ed.) *Antiquality components of forage*. Madison. p.33-52.
- HOWARTH, R.E. 1988. Antiquality factors and nonnutritive chemicals components. In: HANSON, D.K.Y., HILL, R.R. (Eds.) *Alfafa and alfafa improvement*. p.493-514.
- JACSON, F.S., BARRY T.N. 1996. The extractable and bound condensed tannin content of leaves from tropical tree, shrub and forage legumes. 71:103-110.
- JONES, W.T., MANGAM, J.L. 1977. Complexes of the tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) with fraction 1 leaf protein and with sumaxillary mucoprotein and their reversal by polyethylene glycol and pH. *J. Sci. Food Agric.*, 28:126-136.
- LIVINGSTON, A.L., KNUCKLES, B.E., ENWARDS, R.H. et al. 1979. Distribution of saponin in alfalfa protein recovery systems. *J. Agric. Food Chem.*, 27(2):362-364.
- MARSAHALL, D.R., BROVÉ, P., GRACE, F. et al. 1981. Tannins in pasture legumes perennial *Medicago* species. *Aust. J. Agric. & Husb.*, 21(108):55-58.
- MESSEMAN, M.A., WEISS, W.P., ALBRECHT, K.A. 1996. In situ disappearance of individual proteins and nitrogen from legume forages containing varying amounts of tannins. *J. Dairy Sci.*, 79:1430-1435.
- MATOS, F.J. 1988. *Introdução a fitoquímica experimental*. Fortaleza: Eufe. Coleção CIÊNCIA. 125p.
- NASCIMENTO JÚNIOR, D. Leguminosas-espécies disponíveis, fixação de nitrogênio e problemas fisiológicas para o manejo de consorciação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PASTAGENS E SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 8, 1986, Piracicaba - SP. *Anais...* Piracicaba: FEALQ, 1986. p.389-411.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1989. *Nutrientes requirements of dairy cattle*. Washington: National Academy of Science. 147p.
- PEDERSEN, M.W., WANG, L.C. 1971. Modification of saponin Content of Alfalfa Through selection. *Crop. Sci.*, 11:833-835.
- PEDERSEN, M.W., BERRANG, B., WALL, M.E. et al. 1973. Modification of. Saponin characteristics of. Alfalfa ley Selection. *Crop. Sci.*, 13:731 -734,
- PRICE, M.L., EAGLES, J., FENWICK, G.R. 1988. Saponin composition of 13 varieties of legume seed using fast atom bombardment mass spectrometry. *J. Sci. Food Agric.*, 42:183-193.
- REED, J.D. 1994. Nutritional toxicology in tannins related polyphenols in forage legumes. *J. Anim. Sci.* 73:1515-1528.
- SAKAR, S.K., HOWARTH, R.E., GOPLEN, B.P. 1976. Condensed tannins in herbaceous legumes. *Crop Sci.*, 16: 543-546.
- SILVA, D.J. 1990. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. Viçosa: UFV. 166p.
- VILELA, D., CÓSER, A.C., PIRES, M.F.A. et al. 1994. Comparação de um sistema de pastejo rotativo em alfafa (*Medicago sativa* L.) com sistema de confinamento para vacas de leite. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.*, 2:69-84
- WEIMER, P.J. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. *J. Anim. Sci.*, 76:3114-3122.
- WAGORN, G.C., JONES, W.T. 1990. Bloat in cattle 46. Potential of docb (*Rumex obtusifolius*) as a n ant bloat agent for cattle. *N. Z. J. Agric. Res.*, 32(2):227-35.

Recebido em: 09/10/00

Aceito em: 29/05/01