

Inoculação Microbiana da Alfafa para Silagem sobre a Digestibilidade Total e Ruminal em Bovinos¹

Silvio Manginelli², Vanessa Jaime de Almeida Magalhães², Paulo Henrique Mazza Rodrigues³

RESUMO - Doze vacas (640 kg de PV) não-gestantes e não-lactantes foram distribuídas em um delineamento em blocos, em que os tratamentos corresponderam à silagem pré-secada de alfafa (60,0% de MS e 19,5% de PB) controle ou inoculada com o produto Silobac® (*Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*), com o objetivo de avaliar os efeitos da inoculação microbiana da silagem de alfafa sobre a digestibilidade total e ruminal em bovinos. A dieta experimental continha 50% de silagem de alfafa e 50% de concentrados, com base na matéria seca. O experimento teve duração total de 21 dias, sendo os dez últimos destinados à administração do marcador óxido crômio e os cinco últimos destinados à coleta de fezes e incubação dos sacos de náilon. A inoculação da silagem de alfafa não alterou a digestibilidade total da MS (inoculada = 70,0% vs. controle = 71,2%), PB (72,3% vs. 73,0%), EE (77,0% vs. 76,8%), FDN (61,2% vs. 55,9%), FDA (66,8% vs. 61,8%), EB (72,5% vs. 73,7%) ou NDT (70,6% vs. 71,8%) da dieta. Também não alterou o consumo de MS digestível (12,2 vs. 11,4 kg/animal/dia ou 1,7% vs. 1,8% do PV) ou o consumo de NDT (12,4 vs. 11,4 kg/animal/dia ou 1,8% vs. 1,8% do PV). Entretanto, a inoculação diminuiu a degradabilidade efetiva da MS da silagem de alfafa para taxas de passagem de 2%/h (61,2% vs. 65,1%), 5%/h (54,1% vs. 58,6%) e 8%/h (50,0% vs. 54,4%), bem como reduziu a degradabilidade efetiva da PB da Alfafa para taxas de passagem de 2%/h (84,8% vs. 86,8%) e 5%/h (79,9% vs. 82,5%).

Palavras-chave: bactérias lácticas, bovinos, digestão, ensilagem, *Medicago sativa*

Microbial Inoculation of Alfalfa for Silage on Ruminal and Total Digestibility in Bovines

ABSTRACT - Twelve non pregnant dry cows (640 kg LW) were assigned to a randomized block design, provided that the treatments were alfalfa haylage (60.0% DM and 19.5% CP) control or inoculated with Silobac® product (*Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*), with the objective to evaluate the effects of microbial inoculation of alfalfa silage on ruminal and total digestibility in bovinos. Experimental diet was composing by 50% of alfalfa silage and 50% of concentrate as dry matter basis. The experimental period had duration of 21 days, the last ten was used for chromic oxide addition and the last five was used for feces sampling and nylon bags incubation. Inoculation of Alfalfa silage did not influence the total digestibility of DM (inoculated = 70.0% vs. control = 71.2%), CP (72.3% vs. 73.0%), EE (77.0% vs. 76.8%), NDF (61.2% vs. 55.9%), ADF (66.8% vs. 61.8%), GE (72.5% vs. 73.7%) or TDN (70.6% vs. 71.8%) of diet. Also, did not influence digestible DM intake (12.2 vs. 11.4 kg/anim./day or 1.7% vs. 1.8% LW) or TDN intake (12.4 vs. 11.4 kg/anim./day or 1.8% vs. 1.8% LW). However, inoculation decreased the effective degradability of alfalfa silage DM for passage rate of 2%/h (61.2% vs. 65.1%), 5%/h (54.1% vs. 58.6%) and 8%/h (50.0% vs. 54.4%), and effective degradability of alfalfa silage CP for passage rate of 2%/h (84.8% vs. 86.8%) and 5%/h (79.9% vs. 82.5%).

Key Words: bovinos, digestion, ensiling, lactic acid bacteria, *Medicago sativa*

Introdução

Embora apresente alto valor nutritivo, a alfafa possui características indesejáveis para o adequado processo de fermentação, como alta umidade no momento do corte, alto poder tampão, baixos teores de carboidratos solúveis, alto teor protéico e caule tubular e oco, que impede a completa retirada do ar no momento da ensilagem (McAllister et al., 1998).

Diversos procedimentos têm sido pesquisados visando contornar esses problemas, como o uso de

inoculantes microbianos, que possuem a função de aumentar a população de bactérias lácticas no silo e, conseqüentemente, a produção de ácido láctico (Cleale et al., 1990; Cai et al., 1999a, b; Nadeau et al., 2000), resultando em rápido declínio no pH, decréscimo nos níveis de acetato e butirato, bem como inibição da proteólise (Kung Jr. et al., 1984).

Contudo, os efeitos da inoculação microbiana na silagem de alfafa são bastante variáveis (Bolsen et al., 1989; Muck & Bolsen, 1991). Melhora das características fermentativas da silagem (Gordon, 1989;

¹ Projeto financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

² Mestre em Nutrição Animal – Departamento de Nutrição e Produção Animal – FMVZ/USP.

³ Professor do Departamento de Nutrição e Produção Animal – FMVZ/USP, Av. Duque de Caxias Norte, 225 - CEP: 13635-900, Pirassununga, SP. E-mail: pmazza@usp.br

Fredeen et al., 1991) e diminuição das perdas de matéria seca (MS) (Rice et al., 1990), observadas com a inoculação, nem sempre resultaram em melhoria do valor nutricional, consumo voluntário ou desempenho animal (Stokes, 1992). Whiter & Kung Jr. (2001) mostraram que a inoculação microbiana na forma líquida é mais eficiente que na forma seca para aumentar a fermentação da silagem de alfafa com alto teor de MS.

Rangrab et al. (2000) concluíram que o emurchecimento da alfafa com o uso de aditivos melhora a qualidade bromatológica e fermentativa da silagem, diminuindo o teor das fibras insolúveis em solução detergente. Segundo Rodrigues et al. (2001a), mudanças no perfil de fermentação da silagem, com maior produção de ácido lático e, portanto, menores perdas de MS, principalmente de carboidratos solúveis, poderiam explicar os efeitos da inoculação sobre a digestibilidade dos extrativos não nitrogenados (ENN) da silagem de alfafa.

Objetivou-se, neste estudo, avaliar a influência da inoculação microbiana sobre a digestibilidade total e ruminal da silagem de alfafa em bovinos.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no Campus Administrativo de Pirassununga – SP.

A cultura de alfafa foi cortada em dezembro de 2000, em estágio do meio do florescimento. Após colhido e pré-seco por quatro horas, o material original foi pesado e acondicionado em fardos cilíndricos com aproximadamente 150 cm de altura e 150 cm de diâmetro (capacidade de 600 kg), amarrados com condoalhas e revestidos com película de PVC branca. Os silos foram divididos em dois tratamentos, um controle e outro com adição do inoculante comercial Silobac® (Chr. Hansen Indústria e Comércio Ltda.), segundo as recomendações do fabricante. De acordo com essas recomendações, o produto fornece $1,0 \times 10^5$ unidades formadoras de colônia (*Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*) por grama de forragem. O inoculante comercial Silobac® foi escolhido em função de melhores resultados obtidos (diminuição da concentração de ácido acético e das perdas de matéria seca) ao avaliar os inoculantes Sil-All® (Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.), Pioneer 1174® (Pioneer Sementes Ltda.) e Silobac® em ensaios fermentativos

com cultura de alfafa ensilada em silos experimentais (dados submetidos para publicação).

Aproximadamente 600 kg de massa úmida foram colocados em cada silo, correspondendo a uma compactação de aproximadamente 230 kg de silagem/m³. Os silos foram mantidos fechados por 100 dias e expostos às intempéries.

Para o ensaio de digestão ruminal e total, foram utilizadas 12 fêmeas bovinas mestiças Holandês-Zebu (peso vivo inicial de aproximadamente 640 kg), não-lactantes e não-gestantes, portadoras de cãnuas ruminais. O estábulo possuía baias individuais, com cochos de cimento, bebedouros automáticos, piso emborrachado e ventiladores de teto. Utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados (Pimentel Gomes, 1985), formados em função do peso vivo dos animais, em que os tratamentos foram compostos pelas silagens controle ou inoculada, na proporção de 50% de mistura de concentrados e 50% de silagem na dieta (Tabela 1), com base na MS. A ração foi fornecida em duas refeições (8 e 16h), sendo a silagem oferecida juntamente com o concentrado, permitindo-se 15% de sobras.

As rações utilizadas e os resultados das análises bromatológicas consta na Tabela 1 e os dados de composição bromatológica das silagens avaliadas, na Tabela 2.

O período experimental constitui-se de 21 dias, sendo os dez primeiros destinados à adaptação dos animais às dietas. Entre o 11º e 21º dia, foi feita a adaptação ao marcador e a coleta de amostras para avaliação da digestibilidade *in vivo* e do 17º ao 20º dia, a incubação dos sacos para avaliação da degradabilidade *in situ*.

A digestibilidade *in vivo* da MS da dieta e suas frações – proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), extrativos não-nitrogenados (ENN), fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e energia bruta (EB) – foram estimadas por intermédio do marcador externo óxido crômico (Bateman, 1970). Os animais receberam o óxido crômico, via cânula ruminal, na dosagem de 15,0 g por animal e por dia, sendo as administrações realizadas duas vezes ao dia (7,5 g de marcador/dose), no momento das refeições, e através de envelopes confeccionados em papel absorvente.

O ensaio de digestibilidade foi constituído de duas fases, compreendidas entre os dias 11 e 21, sendo uma fase de adaptação ao marcador e outra de coleta de fezes, com duração de cinco dias cada, assegurando-se excreção homogênea do óxido crômico. Para a com-

Tabela 1 - Proporções de ingredientes utilizados e composição bromatológica das rações, com base na matéria seca

Tabela 1 - *Ingredients and chemical composition of the diets, in DM basis*

Ingrediente (%) <i>Ingredient (%)</i>	Tratamento <i>Treatment</i>	
	Controle <i>Control</i>	Inoculada <i>Inoculated</i>
Silagem de alfafa <i>Alfalfa haylage</i>	50,00	-
Silagem de alfafa inoculada <i>Inoculated alfalfa haylage</i>	-	50,00
Grãos de milho moído <i>Grounded corn</i>	40,56	40,56
Grãos de soja extrusados <i>Extruded whole soy bean</i>	7,50	7,50
Calcário calcítico <i>Limestone</i>	0,10	0,10
Sal comum (NaCl) <i>Salt (NaCl)</i>	0,63	0,63
Mistura mineral ¹ <i>Mineral mixture</i>	1,21	1,21
Total	100,00	100,00
Composição bromatológica <i>Chemical composition</i>		
MS (%) <i>DM (%)</i>	68,60	73,30
PB (%) <i>CP (%)</i>	17,30	17,40
Proteína degradável (%) ² <i>Rumen degradable protein (%)</i>	11,80	11,80
Proteína não-degradável (%) ² <i>Rumen undegradable protein (%)</i>	5,50	5,50
FDN (%) <i>NDF (%)</i>	27,90	30,20
FDA (%) <i>ADF (%)</i>	22,30	22,10
EE (%) <i>EE (%)</i>	2,70	2,70
Energia líq. lact. (Mcal/kg) ² <i>NE_L (Mcal/kg)</i>	1,53	1,53
Ca (%)	0,59	0,62
P (%)	0,50	0,54

¹ Composição por kg de mistura mineral: 180 g Ca, 90 g P, 20 g Mg, 20 g S, 100 g Na, 3.000 mg Zn, 1.000 mg Cu, 1.250 mg Mn, 2.000 mg Fe, 200 mg Co, 90 mg I, 36 mg Se, 900 mg F (máximo).

¹ *Composition per kg of mineral mixture: 180 g Ca, 90 g P, 20 g Mg, 20 g S, 100 g Na, 3.000 mg Zn, 1.000 mg Cu, 1.250 mg Mn, 2.000 mg Fe, 200 mg Co, 90 mg I, 36 mg Se, 900 mg F (maximum).*

² Estimado segundo NRC (2001).

² *Estimated by NRC (2001).*

posição de uma amostra composta, procedeu-se à amostragem de alimentos (200 g por alimento e por coleta) e fezes (200 g/animal/coleta), duas vezes ao dia, próximo às refeições (8 e 16 h), sendo a amostra de fezes coletada diretamente do reto.

Tabela 2 - Composição bromatológica da silagem de alfafa controle e inoculada (porcentagem com base na MS)

Tabela 2 - *Chemical composition of control and inoculated alfalfa silages (DM basis)*

Silagem <i>Silage</i>	MS <i>DM</i>	PB <i>CP</i>	EE <i>EE</i>	MM <i>Ash</i>	FDN <i>NDF</i>	FDA <i>ADF</i>
Controle <i>Control</i>	56,20	19,51	1,77	13,49	45,82	40,39
Inoculada <i>Inoculated</i>	62,64	19,60	1,69	11,64	50,51	39,94

A concentração do óxido crômico foi determinada por colorimetria através de sua reação com a σ -difenilcarbazida, segundo Graner (1972). As análises bromatológicas de MS, PB, EE, FB, matéria mineral (MM), cálcio e fósforo foram realizadas segundo AOAC (1980) e as de FDN e FDA, conforme Goering & Van Soest (1970). Para a análise de FDN, foi omitido o sulfito de sódio, mas adicionada a α -amilase (enzima número A3306, da Sigma Chemical Co.), segundo procedimento B descrito por Van Soest et al. (1991).

As degradabilidades da MS, PB e FDN da silagem de alfafa controle ou inoculada foram medidas por intermédio da técnica *in situ* (Mehrez & Ørskov, 1977) de sacos de náilon (10,0 x 19,0 cm), que abrigaram aproximadamente 6 gramas das silagens de alfafa previamente secas em estufa de ventilação forçada a 65°C, por 72 horas, e moídas através de peneiras de 5 mm.

Os sacos foram incubados no rúmen por 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas, retirados deste órgão e imediatamente lavados manualmente em água corrente até que o líquido eliminado pela lavagem fluísse incolor, sendo então colocados em estufa a 65°C por 72 horas, para posteriores pesagem e análises bromatológicas. O desaparecimento em tempo zero (0) foi obtido mergulhando-se os sacos em béquer (capacidade de 2.000 mL) contendo água à temperatura de 39°C, durante dez minutos. Após este procedimento, que não foi realizado sob agitação, os sacos foram lavados como descrito anteriormente. As análises bromatológicas de PB e FDN foram avaliadas segundo metodologia já descrita.

Os dados de degradabilidade, calculados pela diferença de pesagens dos sacos de náilon antes e após a incubação, foram ajustados segundo a equação $p = a + b(1 - e^{-ct})$ (Ørskov & McDonald, 1979), em que p é quantidade degradada ao tempo (t);

Tabela 3 - Digestibilidade total da MS da dieta e suas frações obtidas com silagens de alfafa controle ou inoculada¹

Table 3 - DM total digestibility of the diet and its nutrients obtained with control or inoculated alfalfa silage

	Tratamento		Média	CV	Prob.
	Controle	Inoculada			
	Control	Inoculated	Mean	CV	Prob.
MS (%)	71,19	69,98	70,59	5,08	NS
DM (%)					
PB (%)	72,98	72,31	72,65	4,39	NS
CP (%)					
EE (%)	76,83	77,03	76,93	6,05	NS
EE (%)					
FDN (%)	55,93	61,21	58,57	8,83	NS
NDF (%)					
FDA (%)	61,75	66,78	64,26	6,96	NS
ADF (%)					
EB (%)	73,69	72,50	73,09	3,81	NS
GE (%)					
NDT (%)	71,84	70,56	71,20	4,47	NS
TDN (%)					

¹ MS: digestibilidade da matéria seca (%), PB: proteína bruta (%), EE: extrato etéreo (%), ENN: extrativos não-nitrogenados (%), FB: fibra bruta (%), FDN: fibra em detergente neutro (%), FDA: fibra em detergente ácido (%), EB: energia bruta (%), NDT: nutrientes digestíveis totais (%), CV: coeficientes de variação (%), Prob.: probabilidades estatísticas para a análise de variância, NS: não-significativo.

¹ DM: dry matter digestibility (%), CP: crude protein (%), EE: ether extract (%), NFE: nitrogen-free extract (%), CF: crude fiber (%), NDF: neutral detergent fiber (%), ADF: acid detergent fiber (%), GE: gross energy (%), TDN: total digestible nutrients (%), CV: coefficient of variation (%), Prob: statistical probability for analysis of variance, NS: not significant.

a, fração rapidamente solúvel; *b*, fração potencialmente degradável; e *c*, taxa de degradação na qual a fração descrita por *b* será degradada por hora. As constantes *a*, *b* e *c* da equação exponencial foram utilizadas para calcular a degradabilidade potencial (*a + b*) e a degradabilidade efetiva (*De*), por intermédio da seguinte fórmula (AFRC, 1992):

$$De = a + (b \times c) / c + k$$

em que *k* representa a taxa de saída do rúmen por hora, sendo utilizadas taxas iguais a 2, 5 e 8%/h.

Os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 1985). Os dados foram submetidos à análise de variância, por intermédio do PROC GLM (General Linear Models). O modelo estatístico separou como fontes de variação o efeito de tratamento sobre a silagem e o efeito de blocos formados em função do peso vivo dos animais.

Resultados e Discussão

Os dados de digestibilidade total da MS da dieta (e suas frações) dos animais recebendo ração com silagem controle ou inoculada encontram-se na Tabela 3 e os de degradabilidade ruminal da MS, PB e FDN, nas Tabelas 4, 5 e 6, respectivamente.

Os valores de fibra da silagem de alfafa apresentaram valores compatíveis aos esperados para essa forrageira, quando em estágio de meio do florescimento (Tabela 2). O NRC (1989) descreve valores de FDN, FDA e FB iguais a 46,0; 35,0 e 26,0%, enquanto os encontrados no presente experimento situaram-se entre 45,8 e 50,5%, 39,9 e 40,4% e 27,2 e 27,54%, respectivamente.

A adição de inoculante à silagem de alfafa não alterou a digestibilidade total da MS, bem como das demais frações e o NDT. Os resultados observados no presente trabalho concordam com os apontados por Phillip et al. (1990), que não observaram efeitos sobre a digestibilidade da MS, MO e FDN da silagem de alfafa inoculada com bactérias ácido-láticas.

Phillip et al. (1990) observaram efeitos dos inoculantes microbianos em aumentar a digestibilidade da FDA da alfafa, embora respostas significativas não tivessem sido observadas para a digestibilidade da FDN. De modo contrário, os dados de degradabilidade efetiva da MS foram reduzidos no presente experimento. Observou-se queda de 3,89 a 4,46 unidades percentuais, dependendo da taxa de passagem estudada, na degradabilidade efetiva da MS com a inoculação. Para a degradabilidade efetiva da FDN, a queda com a inoculação variou entre 3,75 e 4,70 unidades percentuais, embora esta fosse significativa apenas a 10% de significância.

Rice et al. (1990) postularam que a melhora na digestibilidade de silagens inoculadas era explicada pelo melhor padrão de fermentação e redução das perdas de MS. Fredeen et al. (1991) confirmaram pequena melhora na qualidade da silagem de alfafa com a inoculação, ao passo que Rangrab et al. (2000) concluíram que o emurchecimento da alfafa associado ao uso de aditivo melhorou a qualidade bromatológica e fermentativa da silagem.

Phillip et al. (1990) despertaram para a necessidade de estudos sobre possíveis diferenças no tipo da fibra entre gramíneas e leguminosas que poderiam explicar diferentes respostas da digestibilidade da fibra à inoculação microbiana, uma vez que é comum encontrar respostas positivas com leguminosas, mas

Tabela 4 - Parâmetros de degradabilidade ruminal da MS da alfafa obtidos com silagens de alfafa controle ou inoculada¹

Table 4 - Ruminal degradability parameters of DM of alfalfa obtained with control or inoculated alfalfa silage

	Tratamento		Média	CV	Prob.
	Controle	Inoculada			
	Control	Inoculated	Mean	CV	Prob.
<i>a</i>	35,03a	33,96b	34,49	2,59	0,0482
<i>b</i>	37,00	35,86	36,43	2,90	0,0806
<i>c</i>	0,0909	0,0665	0,0787	29,37	0,0982
De (2%/h)	65,12a	61,23b	63,17	3,87	0,0027
Ed (2%/h)					
De (5%/h)	58,61a	54,12b	56,36	5,47	0,0106
Ed (5%/h)					
De (8%/h)	54,44a	49,98b	52,21	6,06	0,0154
Ed (8%/h)					
Dp	72,03a	69,82b	70,92	1,92	0,0010
Pd					

¹*a, b, c* referem-se aos parâmetros de Ørskov & McDonald (1979); De, à degradabilidade efetiva para taxas de passagem iguais a 2, 5 e 8%/h; Dp, à degradabilidade potencial; CV, aos coeficientes de variação (%); Prob., a probabilidades estatísticas para a análise de variância. NS: não-significativo.

a, b, c refer to parameters of Ørskov & McDonald (1979), Ed = effective degradability to passage rate equal to 2, 5 and 8%/h, Pd = potential degradability, CV: coefficient of variation (%), Prob: statistical probability for analysis of variance, NS: not significant.

²Linhas com letras sobrescritas diferentes diferem estatisticamente (P<0,05).

Rows with different letters differ statistically (P<.05).

negativas com gramíneas. As diferentes características de ligação entre a lignina com a celulose ou hemicelulose, observadas entre essas forrageiras, poderiam explicar as diferenças encontradas por Phillip et al. (1990). Entretanto, a afirmação desses autores não se comprovou neste trabalho, uma vez que nenhuma resposta positiva foi observada com a inoculação da silagem desta leguminosa.

Matsuoka et al. (1997) também observaram aumento da digestibilidade *in vitro* da hemicelulose de silagens de gramíneas inoculadas, em decorrência de diminuição da hidrólise da hemicelulose, por efeito da inoculação, ainda durante a fermentação no silo. Segundo esta teoria, a hemicelulose menos hidrolisada no silo estaria mais apta a sofrer o processo de digestão quando presente no trato digestivo dos animais. Esta teoria não é incompatível com os resultados de Cai & Ohmomo (1995), em que o tratamento combinado de bactéria e celulase na silagem de alfafa aumentaria a hidrólise da fibra ainda no silo, resultando em diminuição da sua digestibilidade *in vitro*. Esses autores também mostraram que a inoculação da silagem

Tabela 5 - Parâmetros de degradabilidade ruminal da PB da alfafa obtidos com silagens de alfafa controle ou inoculada¹

Table 5 - Ruminal degradability parameters of CP of alfalfa obtained with control or inoculated alfalfa silage

	Tratamento		Média	CV	Prob.
	Controle	Inoculada			
	Control	Inoculated	Mean	CV	Prob.
<i>a</i>	61,98	62,56	62,27	0,918	0,0814
<i>b</i>	28,84a	27,40b	28,12	3,23	0,0026
<i>c</i>	0,1280	0,0900	0,1090	33,20	0,0921
De (2%/h)	86,76a	84,77b	85,76	1,71	0,0208
Ed (2%/h)					
De (5%/h)	82,48a	79,92b	81,20	2,55	0,0438
Ed (5%/h)					
De (8%/h)	79,48	76,84	78,16	2,88	0,0594
Ed (8%/h)					
Dp	90,82a	89,96b	90,39	0,674	0,0114
Pd					

¹*a, b, c* referem-se aos parâmetros de Ørskov & McDonald (1979); De, à degradabilidade efetiva para taxas de passagem iguais a 2, 5 e 8%/h; Dp, à degradabilidade potencial; CV, aos coeficientes de variação (%); Prob., a probabilidades estatísticas para a análise de variância. NS: não-significativo.

a, b, c refer to parameters of Ørskov & McDonald (1979), Ed = effective degradability to passage rate equal to 2, 5 and 8%/h, Pd = potential degradability, CV: coefficient of variation (%), Prob: statistical probability for analysis of variance, NS: not significant.

²Linhas com letras sobrescritas diferentes diferem estatisticamente (P<0,05).

Rows with different letters differ statistically (P<.05).

Tabela 6 - Parâmetros de degradabilidade ruminal da FDN da alfafa obtidos com silagens de alfafa controle ou inoculada¹

Table 6 - Ruminal degradability parameters of NDF of alfalfa obtained with control or inoculated alfalfa silage

	Tratamento		Média	CV	Prob.
	Controle	Inoculada			
	Control	Inoculated	Mean	CV	Prob.
<i>a</i>	13,34	11,73	12,54	13,51	NS
<i>b</i>	39,00	41,51	40,25	9,17	NS
<i>c</i>	0,0625	0,0431	0,0528	40,89	NS
De (2%/h)	42,38	38,63	40,50	7,72	0,0516
Ed (2%/h)					
De (5%/h)	34,48	29,78	32,13	12,49	0,0604
Ed (5%/h)					
De (8%/h)	30,00	25,41	27,71	14,27	0,0628
Ed (8%/h)					
Dp	52,24	53,24	52,79	6,12	NS
Pd					

¹*a, b, c* referem-se aos parâmetros de Ørskov & McDonald (1979); De, à degradabilidade efetiva para taxas de passagem iguais a 2, 5 e 8%/h; Dp, à degradabilidade potencial; CV, aos coeficientes de variação (%); Prob., a probabilidades estatísticas para a análise de variância. NS: não-significativo.

a, b, c refer to parameters of Ørskov & McDonald (1979), Ed = effective degradability to passage rate equal to 2, 5 and 8%/h, Pd = potential degradability, CV: coefficient of variation (%), Prob: statistical probability for analysis of variance, NS: not significant.

não melhora a qualidade da fermentação, mas promove inibição da produção de gases e perda de MS.

McAllister et al. (1998) observaram aumentos da digestibilidade da MS e MO, mas não da digestibilidade da FDA ou FDN de silagens de alfafa inoculadas. Este aumento da digestibilidade da fibra, observado com a inoculação em alguns estudos, não é resultado da ação enzimática dos inoculantes sobre a fibra, uma vez que a maioria dos microrganismos contidos nos inoculantes comerciais não produz celulases e hemicelulases. Contrariamente, o aumento da digestibilidade da fibra é resultado de fatores que alteram o consumo ou a suscetibilidade da digestão da fibra no rúmen.

Os resultados observados parecem não confirmar as hipóteses que explicam diferenças na digestibilidade e/ou degradabilidade da fibra, sobretudo FDN, em função da suscetibilidade da fibra remanescente após hidrólise parcial no silo, entendendo-se por suscetibilidade o conjunto de características das ligações químicas entre as diferentes frações que compõem a fibra. Esta hipótese pode ser descartada neste trabalho, uma vez que a maior concentração de FDN encontrada na silagem inoculada (50,5%) em relação à silagem controle (45,8%), provavelmente em função da maior preservação da hemicelulose (Tabela 1), uma vez que as concentrações de FDA foram semelhantes (39,9% vs 40,4%), não foi acompanhada de maior digestibilidade total ou degradabilidade ruminal destas frações quando presentes no trato digestivo dos animais.

Embora não fosse objetivo específico, neste trabalho, estudar o perfil de fermentação e a composição bromatológica das silagens, a princípio seria mais lógico explicar os resultados obtidos a partir de alterações na fermentação dos carboidratos solúveis, em vez de efeitos dos inoculantes microbianos sobre a suscetibilidade da fibra. O aumento nas perdas de matéria seca, principalmente dos carboidratos solúveis, evidenciado pelas maiores concentrações de FDN na silagem inoculada, poderia indicar menor disponibilidade de açúcares para serem fermentados no rúmen, explicando a diminuição da degradabilidade efetiva da MS. Entretanto, a ausência de diferenças nas concentrações de FDA entre as silagens produzidas e as menores concentrações de matéria mineral na silagem inoculada não permitiu comprovar esta proposta.

Foram observados efeitos da inoculação sobre a degradabilidade ruminal da MS da silagem, apesar de o mesmo efeito não ter se manifestado sobre a

digestibilidade no trato total, o que pode ter ocorrido, provavelmente, em função da diluição da silagem de alfafa com os outros ingredientes da dieta.

Mir et al. (1995) observaram diminuição da digestibilidade da FDN, ao inocularem silagem de alfafa com alta umidade (30% de MS), mas não em silagem com baixa umidade (55% de MS), embora os resultados tivessem variado entre os anos. Neste trabalho, constatou-se diminuição da degradabilidade da FDN, embora a silagem tenha apresentado umidade próxima à silagem de baixa umidade produzida no experimento de Mir et al. (1995), em que a inoculação não alterou a digestibilidade da fibra.

Apesar da redução observada (1,99 e 2,46 unidades percentuais), dependendo da taxa de passagem estudada, para a degradabilidade efetiva da PB com a inoculação, nenhum efeito foi observado para a digestibilidade total da PB, bem como de outras frações (EE, ENN, EB) e do NDT. Guim et al. (1995a) observaram que os inoculantes microbianos melhoram a digestibilidade da MS, PB, ENN, EB e o valor do NDT na silagem de milho mais seca (37% de MS), mas não naquelas mais úmidas (25% de MS). Entretanto, os mesmos autores (Guim et al., 1995b) não confirmaram resultados positivos sobre a digestibilidade, quando inocularam silagem de capim-elefante.

Os dados de consumo dos animais submetidos à silagem controle e inoculada encontram-se na Tabela 7.

Adição de inoculante à silagem de alfafa não aumentou o consumo de MS digestível ou de NDT, mesmo que os dados fossem expressos em kg/animal/dia ou em porcentagem do peso vivo.

Os dados estão de acordo com os observados por Rodrigues et al. (2001b, c, d), que avaliaram a inoculação das silagens de milho, de capim-elefante ou de sorgo e não observaram efeitos sobre o consumo de MS digestível ou de NDT. Também são confirmados por Mader et al. (1985) e Phillip et al. (1990), que não observaram resultados positivos da inoculação sobre o consumo de silagem de alfafa. Keady & Murphy (1996) observaram que a inoculação da silagem de gramínea não alterou o consumo de MS por vacas leiteiras, enquanto Keady & Steen (1996) notaram ausência de efeito da inoculação sobre o consumo de MS, ao inocularem silagem de gramínea imediatamente antes do fornecimento aos animais.

No entanto, Rodrigues et al. (2001a) observaram aumento no consumo de MS digestível ou de NDT, expressos em porcentagem do peso vivo, em carneiros alimentados com silagem de alfafa inoculada com

Tabela 7 - Consumo de MS digestível e de NDT obtidos com dietas contendo silagens de alfafa controle ou inoculada¹

Table 7 - Digestible DM intake and TDN intake obtained with diets containing control or inoculated alfalfa silage

	Tratamento		Média	CV	Prob.
	Controle	Inoculada			
	Control	Inoculated	Mean	CV	Prob.
CMSD (kg/d)	11,39	12,18	11,79	17,02	NS
DDMI (kg/d)					
CMSD (%PV)	1,76	1,74	1,75	12,78	NS
DDMI (%BW)					
CNDT (kg/d)	11,40	12,38	11,89	14,05	NS
TDNI (kg/d)					
CNDT (%PV)	1,78	1,75	1,77	12,72	NS
TDNI (%BW)					

¹CMSD: consumo de matéria seca digestível, expresso em kg/animal/dia (kg/d) e em porcentagem do peso vivo (%PV); CNDT: consumo de nutrientes digestíveis totais, expresso em kg/animal/dia (kg/d) e em porcentagem do peso vivo (%PV); CV: coeficiente de variação (%); Prob.: probabilidades estatísticas para a análise de variância; NS: não-significativo.

¹DDMI: digestible dry matter intake, expressed in kg/animal/day (kg/d) and percentage of body weight (%BW); TDNI: total digestible nutrients intake, expressed in kg/animal/day (kg/d) and percentage of body weight (%BW); CV: coefficient of variation (%); Prob: statistical probability; NS: not significant.

L. plantarum e *P. pentosaceus*, quando comparado com a silagem controle. McAllister et al. (1998) também notaram efeitos dos inoculantes microbianos em aumentar o consumo de MS da silagem de alfafa por ovinos, assim como mostram os dados observados por Petit & Flipot (1990), que observaram efeito da inoculação da silagem de alfafa e gramínea, em aumentar o consumo de MS por carneiros, e Sharp et al. (1994), os quais observaram aumento no consumo de MS por novilhas, com a adição de inoculante em silagem de gramínea.

Conclusões

A utilização do inoculante Silobac® para ensilagem da alfafa não se mostrou eficiente, uma vez que silagens inoculadas não proporcionaram maior aproveitamento ou consumo de nutrientes.

Agradecimento

Aos funcionários Everson Lázaro e Gilmar Botteon, pela ajuda com a coleta de amostras, e aos técnicos Ari de Castro, Gilson de Godoy e Simi Robassini, pela ajuda com as análises laboratoriais.

Literatura Citada

- ASSOCIATION OF FOOD AND AGRICULTURE COUNCIL - AFRC. Technical Committee on Responses to Nutrients. Report N.9. Nutritive requirements of ruminants animals: protein. **Nutrition Abstracts and Reviews**, v.62, n.12, p.787-835, 1992.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 10.ed. Washington, D.C.: Association of Analytical Chemistry. 1980. 1015p.
- BATEMAN, J. **Nutricion Animal** - Manual de Métodos Analíticos. México: Herrero Hermanos, 1970. p.405-449.
- BOLSEN, K.K.; LAYTINI, A.; HART, R.A. et al. Effect of commercial inoculants on fermentation of 1987 and 1988. **Kansas Silage Crops**. Des Moines: Pioneer Hi-Bred Int., 1989. p.1-19.
- CAI, Y.; KUMAI, S.; OGAWA, M. et al. Characterization and identification of *Pediococcus* species isolated from forage crops and their application for silage preparation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.7, p.2901-2906, 1999a.
- CAI, Y.; KUMAI, S.; ZHANG, J.G. et al. Comparative studies of lactobacilli and enterococci associated with forage crops as silage inoculants. **Journal of Animal Science**, v.70, n.4, p.188-194, 1999b.
- CAI, Y.; OHMOMO, S. Effect of lactic acid bacteria and cellulase on the changes in microflora during fermentation, gas production and dry matter loss in silage. **Animal Science and Technology**, v.66, n.11, p.941-948, 1995.
- CLEALE, R.M.; FIRKINS, J.L.; VAN DER BEEK, F. et al. Effect of inoculation of whole plant corn forage with *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus xylosum* on preservation of silage and heifer growth. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.3, p.711-718, 1990.
- FREDEEN, A.H.; McQUEEN, R.E.; BROWNING, D.A. Effects of enzymes and nutrients in a bacterial inoculant on quality of timothy or alfalfa silage and dairy cow performance. **Canadian Journal of Animal Science**, v.71, n.3, p.781-791, 1991.
- GOERING, H.K.; Van SOEST, P.J. **Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some applications**. Washington, DC.: ARS-USDA, 1970. (Agriculture Handbook, 379)
- GORDON, F.J. An evaluation through lactating cattle of a bacterial inoculant as an additive for grass silage. **Grass and Forage Sciences**, v.44, n.2, p.169-179, 1989.
- GRANER, C.A.F. **Determinação do crômio pelo método colorimétrico da s-difenilcarbazida**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1972. 112p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, 1972.
- GUIM, A.; ANDRADE, P.; MALHEIROS, E.B. Efeito de inoculante microbiano sobre o consumo, degradação *in situ* e digestibilidade aparente de silagens de milho (*Zea mays* L). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.6, p.1045-1053, 1995a.
- GUIM, A.; RUGGIERI, A.C.; ANDRADE, P. et al. Efeito de inoculante microbiano sobre consumo, degradação *in situ* e digestibilidade aparente das silagens de capim-elefante cv. Napier (*Pennisetum purpureum* Schum). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.6, p.1054-1061, 1995b.
- KEDDY, T.W.J.; MURPHY, J.J. Effects of inoculant treatment on ryegrass silage fermentation, digestibility, rumen fermentation, intake and performance of lactating dairy cattle. **Grass and Forage Sciences**, v.51, n.3, p.232-241, 1996.

- KEADY, T.W.J.; STEEN, R.W.J. Effects of applying a bacterial inoculant to silage immediately before feeding on silage intake, digestibility, degradability and rumen volatile fatty acid concentrations in growing beef cattle. **Grass and Forage Sciences**, v.51, n.2, p.155-162, 1996.
- KUNG JR., L.; GRIEVE, D.B.; THOMAS, J.W. et al. Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of Alfalfa ensiled at various percents of dry matter. **Journal of Dairy Science**, v.67, n.2, p.299-306, 1984.
- MADER, T.L.; BRITTON, R.A.; KRAUSE, V.E. et al. Effect of additive on alfalfa silage fermentation characteristics and feedlot performance of steers. **Journal of Dairy Science**, v.68, n.7, p.1744-1747, 1985.
- MATSUOKA, S.; BRANDA, L.N.; FUJITA, H. Breakdown of structural carbohydrates during the ensiling process of grasses treated with *Lactobacillus* inoculant and cellulase preparation and the subsequent effects on their *in vitro* digestibility. **Animal Technology**, v.68, n.7, p.661-667, 1997.
- McALLISTER, T.A.; FENIUK, R.; MIR, Z. et al. Inoculants for alfalfa silage: effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot steers. **Livestock and Production Sciences**, v.53, n.2, p.171-181, 1998.
- MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, v.88, n.6, p.645-650, 1977.
- MIR, Z.; JAN, E.Z.; ROBERTSON, J.A. et al. Effects of microbial inoculant and moisture content on preservation and quality of round baled alfalfa. **Canadian Journal of Animal Science**, v.75, n.1, p.15-23, 1995.
- MUCK, R.E.; BOLSEN, K.K. Silage preservation and silage additive products. **Hay and Silage Management in North America**, p.105, 1991.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6.ed. Washington, D.C.: Nacional Academy of Science, 1989. 157p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381p.
- NADEAU, E.M.G.; BUXTON, D.R.; RUSSEL, J.R. et al. Enzyme, bacterial inoculant, and formic acid effects on silage composition of Orchardgrass and alfalfa. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.7, p.1487-1502, 2000.
- ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v.92, n.4, p.499-503, 1979.
- PETIT, H.V.; FLIPOT, P.M. Intake, duodenal flow, and ruminal characteristics of long or short chopped alfalfa-timothy silage with or without inoculant. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.11, p.3165-3171, 1990.
- PHILLIP, L.E.; UNDERHILL, L.; GARINO, H. Effects of treating lucerne with an inoculum of lactic acid bacteria or formic acid upon chemical changes during fermentation, and upon the nutritive value of the silage for lambs. **Grass and Forage Sciences**, v.45, n.3, p.337-344, 1990.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1985. 467p.
- RANGRAB, L.H.; MUHLBACH, P.R.F.; BERTO, J.L. Silagem de alfafa colhida no início do florescimento e submetida ao emurchecimento e a ação de aditivos biológicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.349-356, 2000.
- RICE, D.W.; SODERLUND, S.D.; PHILLIP, I.E. et al. Effect of microbial inoculation on the digestibility of legume silages. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.195, 1990. (Supplement 1).
- RODRIGUES, P.H.M.; ANDRADE, S.J.T.; ALMEIDA, L.F.S. et al. Inoculação microbiana da alfafa para ensilagem sobre a digestibilidade aparente em carneiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1925-1930, 2001a.
- RODRIGUES, P.H.M.; ANDRADE, S.J.T.; FERNANDES, T. et al. Valor nutritivo da silagem de capim-elefante cultivar Napier (*Pennisetum purpureum*, Schum) inoculada com bactérias ácido-láticas. **Acta Scientiarum**, v.23, n.4, p.809-813, 2001b.
- RODRIGUES, P.H.M.; ANDRADE, S.J.T.; RUZANTE, J.M. et al. Valor nutritivo de silagens inoculadas com bactérias ácido-láticas. 1. Inoculação da silagem de milho. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001c. p.920-921.
- RODRIGUES, P.H.M.; SENATORE, A.L.; LUCCI, C.S. et al. Valor nutritivo de silagens inoculadas com bactérias ácido-láticas. 2. Inoculação da silagem de sorgo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001d. p. 918-920.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. **SAS user's guide: statistics**. 5.ed. Cary: 1985.
- SHARP, R.; HOOPER, P.G.; ARMSTRONG, D.G. The digestion of grass silages produced using inoculants of lactic acid bacteria. **Grass and Forage Sciences**, v.49, n.1, p.42-53, 1994.
- STOKES, M.R. Effects of an enzyme mixture, an inoculant, and their interaction on silage fermentation and dairy production. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.3, p.764-773, 1992.
- Van SOET, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- WHITER, A. G.; KUNG JR., L. The effect of a dry or liquid application of *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the fermentation of Alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.10, p.2195-2202, 2001.

Recebido em: 16/05/03

Aceito em: 27/12/04