

## Silagem de Alfafa Colhida no Início do Florescimento e Submetida ao Emurhecimento e à Ação de Aditivos Biológicos<sup>1</sup>

Luis Henrique Rangrab<sup>2</sup>, Paulo Roberto Frenzel Mühlbach<sup>3</sup>, Jorge Luiz Berto<sup>4</sup>

**RESUMO** - A alfafa (*Medicago sativa* L.) foi segada no verão com 40 dias de rebrote no estágio de início de florescimento (26,3% MS; 18,94% PB; 8,9% de carboidratos solúveis na MS; e 43,35 meqOH<sup>-</sup>/100 g de MS de poder tampão). Parte do material foi ensilada fresca (26,30% MS) e parte, emurhecida por 20 horas (44,12% MS). Ambas as silagens, emurhecidas e não-emurhecidas, foram submetidas a quatro tratamentos, Controle, Enzimas, Lactobacilos e Lactobacilos mais Enzimas, e ensiladas em silos de laboratório (3,6L), com quatro repetições por tratamento, por um período de 60 dias. O emurhecimento propiciou silagens de melhor qualidade com menor pH, maior relação ácido láctico/ácido acético, menores níveis de N amoniacal (N - NH<sub>3</sub>) e menor solubilização das frações nitrogenadas, com maior teor de carboidratos solúveis residuais. A ação dos aditivos na silagem de alfafa não-emurhecida determinou valores mais baixos de pH e N-NH<sub>3</sub> nos tratamentos com Enzimas e Lactobacilos mais Enzimas, quando comparados com o tratamento Lactobacilos, mas que não diferiram do Controle. Em ambas as silagens fresca e emurhecida, houve diminuição do nível de FDN no tratamento Lactobacilos mais Enzimas.

Palavras-chave: emurhecimento, enzimas, lactobacilos, silagem de alfafa

## Alfafa Silage Harvest at the Early Flowering Stage and Submitted to Wilt and Action of Biological Additives

**ABSTRACT** - A 40 days alfalfa (*Medicago sativa*) regrowth was harvested in the summer at the early flowering stage with (26.3% DM, 18.94% CP, 8.90% DM soluble carbohydrates and 43.35 meq OH<sup>-</sup>/100 g DM buffering capacity). Part of the material was direct cut ensiled (26.3% DM) and part was wilted for 20 hours (44.12% DM). Both silages, either wilted or not, were assigned to four treatments: Control, Enzymes, Inoculate and Inoculate plus Enzymes and were ensiled in laboratory silos (3.6 L), with four replicates, per treatment, per a period 60 days. Wilting provided silages of better quality with lower pH, higher lactic acid/ acetic acid ratio, lower N-NH<sub>3</sub> and lower solubilization of the nitrogen fraction, with higher residual soluble carbohydrates content. The direct cut alfalfa silages additive action provided lower pH and N-NH<sub>3</sub> in the treatments with Enzymes and Inoculate plus enzymes when compared to the treatment with Inoculate, however when compared to the treatment with Inoculate, but did not differ from Control. In both silages (direct cut and wilted), there was a decrease in the NDF contents in the Inoculates plus Enzymes treatment.

Key Words: alfalfa silage, enzymes, inoculate, wilting

### Introdução

Em alguns sistemas de produção, a qualidade do volumoso disponível para os rebanhos tem limitado o desempenho animal. Devido a esta situação, tem ocorrido aumento na demanda por informações sobre alimentos volumosos de maior valor nutritivo, capazes de atender às necessidades nutricionais de animais de alto potencial genético ou de categorias de maiores exigências nutricionais e reduzir os custos de produção, diminuindo a necessidade de suplementação com concentrados.

A alfafa (*Medicago sativa* L.) destaca-se das demais forrageiras pela qualidade nutricional, produ-

tividade, palatabilidade, digestibilidade e capacidade de fixação de nitrogênio (BARNES et al., 1988). A utilização da alfafa pode ser feita nas formas de feno, silagem, pastejo ou forragem fresca ofertada aos animais no cocho (BOTREL e ALVIM, 1994). A conservação da alfafa na forma de silagem permite utilização mais racional, sob vários aspectos: econômico, por apresentar menores perdas de matéria seca; nutricional, pela menor perda de nutrientes durante a conservação; e de manejo, por favorecer o fornecimento em dietas totalmente misturadas.

A alfafa no estágio de início de florescimento apresenta as melhores características nutricionais, contudo, a maior limitação na utilização da alfafa

<sup>1</sup> Parte da dissertação de Mestrado do primeiro autor-Pesquisa financiada pela FAPERGS.

<sup>2</sup> Méd. Vet., M. Sc., UFRGS. E.mail: rangrab@unoesc.rct-rc.br

<sup>3</sup> Prof. Adj. UFRGS, bolsista do CNPq. E.mail: muelbach@orion.ufrgs.br

<sup>4</sup> Méd. Vet., M. Sc., UNIJUI. E.mail: jlberto@unijui.tche.br

refere-se à degradação da proteína em nível ruminal e ao seu aproveitamento pelo animal, quando da sua conservação como silagem (PICHARD e RYBERT, 1993). Outros fatores que contribuem para a dificuldade de conservação da alfafa na forma de silagem são relativos à baixa concentração de matéria seca e ao elevado teor de proteína e de matéria mineral no momento do corte que a caracterizam como forrageira de difícil ensilagem, pois apresenta elevada capacidade tamponante (MELVIN, 1965; MUCK e WALGENBACH, 1985) e baixos níveis de carboidratos solúveis (MELVIN, 1965).

Nesse sentido, o uso de aditivos biológicos (enzimas e lactobacilos) e o emurchecimento têm sido propostos como formas de oportunizar melhores resultados no processo fermentativo de silagens. Vários experimentos utilizando inoculantes microbianos têm demonstrado efeitos positivos na qualidade de silagens, evidenciados por diminuição da proteólise inicial, aumento da taxa de declínio de pH, redução do pH final, aumento da produção de ácido láctico e diminuição do nitrogênio não-protéico (NNP) solúvel, o que assegura melhor qualidade fermentativa (JONES et al., 1992). Experimentos analisando o efeito da adição de enzimas em silagens de alfafa têm apresentado resultados semelhantes, alguns porém com incremento do NNP solúvel (HRISTOV, 1993). A utilização conjunta de lactobacilos e enzimas (celulase, hemicelulase, pectinase etc.) têm apresentado resultados controversos; alguns autores citam efeitos positivos nos parâmetros fermentativos (WOOLFORD, 1984; SHEPERD et al., 1995) e outros indicam a possibilidade de ações antagônicas (STOKES, 1992). Outros trabalhos têm constatado pouco efeito de inoculantes microbianos e aditivos enzimáticos sobre a eficiência da fermentação de silagens de alfafa (WHITE et al. 1990), sugerindo que a inoculação com bactérias formadoras de ácido láctico somente seria efetiva quando suplementada com carboidratos solúveis ou ainda com aumento dos níveis de MS (VALINOTTI e PICHARD, 1993). O emurchecimento exerce efeito de concentração de substrato, que, juntamente com aumento do potencial osmótico, dificulta o desenvolvimento de bactérias, principalmente dos clostrídios proteolíticos, que são mais sensíveis e permitem a dominância de bactérias lácticas homofermentativas, o que possibilita rápido declínio do pH e menor extensão da fermentação (WOOLFORD, 1984). Por outro lado, o emurchecimento demasiado pode propiciar o desen-

volvimento de fungos e aquecimento do material no silo com efeitos deletérios na qualidade do processo fermentativo e do alimento (WOOLFORD, 1984).

Considerando-se as potencialidades da alfafa, suas vantagens e limitações para ensilagem e procurando viabilizar e melhorar as condições para o processo fermentativo, foi objetivo deste trabalho verificar o efeito do emurchecimento e do uso de aditivos biológicos na qualidade da silagem produzida.

### Material e Métodos

O segundo corte de um cultivo de alfafa com 40 dias de rebrote, feito em área cedida pela Cooperativa Agrícola Mista General Osório (COTRIBA), no município de Ibirubá-RS, foi empregado para a realização do experimento. A alfafa foi cortada com segadeira de disco no estágio de início de florescimento. Após o corte, o material foi separado em duas porções semelhantes: a primeira foi imediatamente recolhida e picada com ensiladeira (tamanho de partícula entre 1 e 1,5 cm) e a segunda permaneceu a campo por 20 horas para emurchecimento. Após a picagem, cada material foi totalmente homogeneizado, pesado e subdividido em quatro porções iguais, com a finalidade de receber a aplicação dos tratamentos. A primeira porção de ambos materiais (fresco e emurchecido) foi ensilada, sem adição de aditivos, para compor o tratamento controle. A segunda porção foi tratada com aditivo enzimático, na forma de pó, Allzyme-ALLTECH (complexo enzimático de celulases, hemicelulases, pentosanases e amilases), aplicando-se dose de 500 gramas por tonelada de material fresco ou emurchecido. A terceira porção foi tratada com o inoculante 1174-PIONEER (com  $9 \times 10^7$  UFC/g de *Lactobacillus plantarum* e *Streptococcus faecium*), sendo a dose aplicada de 1,1 g de produto diluído em 2 litros de água destilada por tonelada de material fresco ou emurchecido. A quarta porção foi tratada com o inoculante Sill-All-ALLTECH (com  $2 \times 10^{10}$  UFC/g de *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus faecium* e *Pediococcus acidilactici*, além de complexo enzimático com celulases, hemicelulases, pentosanases e amilase), sendo aplicada a dose de 10 g de produto diluído em 2 litros de água destilada por tonelada de material fresco ou emurchecido. As doses aplicadas seguiram as recomendações dos fabricantes. Dessa forma, os tratamentos ficaram assim constituídos: C - sem inoculante (controle), E - com Enzimas, L - com Lactobacilos e LE - com

Lactobacilos mais Enzimas.

O aditivo enzimático foi aplicado manualmente sobre a forragem, enquanto os outros dois inoculantes foram aspergidos sobre a forragem com o auxílio de uma bomba de aspersão manual. O material foi constantemente revolvido durante a aplicação dos aditivos e, para evitar a contaminação entre os tratamentos, foi utilizada uma lona plástica individual, bem como uma bomba de aspersão, para cada um dos tratamentos. Para a ensilagem do material, foram utilizados, como silos experimentais, 32 baldes plásticos de 19 cm de altura e 17,5 cm de diâmetro, com capacidade para 3,6 litros. Os silos foram compactados em camadas de 3 a 5 cm, procurando manter padrão homogêneo de compactação entre os tratamentos, sendo então fechados com tampas, identificados, hermeticamente vedados com fita adesiva e realizada pequena incisão para drenagem de eventual efluente.

As amostragens do material original foram tomadas logo após a picagem da alfafa, fresca ou emurhecida, no momento em que o material foi totalmente homogeneizado e pesado. Nesse momento, foram retiradas duas amostras de aproximadamente 700 g, as quais foram conservadas em baixa temperatura (5°C) e logo após congeladas (-14°C) até o processamento laboratorial.

As amostragens das silagens foram feitas no final do período de fermentação, que teve duração de 60 dias. Na coleta das amostras, foram desprezados os 5 cm da porção superior e inferior dos silos. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, vedadas, identificadas e congeladas (-14°C).

Para determinação de laboratório, as amostras de alfafa, fresca e emurhecida, tomadas logo após a picagem, foram processadas em liqüidificador antes de ocorrer o descongelamento. Após este procedimento, o material foi homogeneizado e sub-amostrado. Duas sub-amostras foram empregadas na determinação do poder tampão (PT), segundo a técnica descrita por PLAYNE e McDONALD (1966). Uma sub-amostra de 250 g foi seca em estufa de ar forçado a 55°C até peso constante (72 h) e moída em moinho tipo Willey com peneira de crivo de 1,0 mm. Neste material, foram efetuadas determinações de matéria seca (MS), a 105°C, matéria mineral (MM) e nitrogênio total (PB), pelos métodos descritos pela ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC (1995). Ainda neste material, foram determinados o teor de glicídios solúveis (CHOSol), como descrito por DUBOIS et al. (1956), e as concentrações de fibra em detergente neutro

(FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em detergente ácido (LDA), segundo método descrito por GOERING e VAN SOEST (1970). As frações nitrogenadas, nitrogênio insolúvel em solução tampão (Ninsol), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), foram estimadas segundo as técnicas descritas por KRISHNAMOORTHY et al. (1982).

As amostras de silagens congeladas a -14°C também foram processadas em liqüidificador, homogeneizadas e sub-amostradas. As análises realizadas foram: MS por destilação com tolueno e PB, segundo os métodos descritos pela AOAC (1995); pH, medido em potenciômetro, a partir de um extrato de silagem obtido do filtrado de 50 g de silagem, após ter sido triturada em liqüidificador e misturado com 200 mL de água destilada; CHOSol, como descrito por DUBOIS et al. (1956); FDN, FDA e LDA, medidos segundo método descrito por GOERING e VAN SOEST (1970); as frações nitrogênio insolúvel em solução tampão (Ninsol), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), segundo as técnicas descritas por KRISHNAMOORTHY et al. (1982); nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), medido segundo o método de VOIGT e STEGER (1976); e os teores de ácidos graxos voláteis (AGV) e ácido láctico, medidos por cromatografia gasosa em extrato aquoso de silagens, conforme método descrito por BÖTTCHER (1982).

Foi empregado um delineamento completamente ao acaso com arranjo fatorial, composto por dois fatores, umidade (emurhecido e não-emurhecido) e aditivos (controle, enzimas, lactobacilos e lactobacilos mais enzimas), totalizando oito tratamentos, cada um com quatro repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey. As análises foram executadas pelo Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores - SANEST (ZONTA e ALMEIDA, 1985).

## Resultados e Discussão

### *Características químico-bromatológicas da alfafa fresca ou submetida ao efeito de emurhecimento*

Os níveis de MS e CHOSol e o PT são elementos importantes no processo fermentativo (MELVIN, 1965; WOOLFORD, 1984) e apresentam alterações, devido ao emurhecimento. O conteúdo de MS no material fresco foi superior a 25% (Tabela 1), considerado, por WOOLFORD (1984), como nível mínimo

para se obterem silagens com fermentação de qualidade. Contudo, a baixa concentração de CHOsol e o elevado PT caracterizam a alfafa fresca como uma forragem de difícil conservação, pelo processo de ensilagem, o que foi observado também em avaliações feitas por MELVIN (1965) e JONES et al. (1992).

O emurchecimento determinou, além do aumento no teor de matéria seca, diminuição de aproximadamente 20% na concentração de carboidratos solúveis (CHOsol) na MS e aumento de aproximadamente 25% no poder tampão (PT) (Tabela 1). Contudo, o aumento na concentração da MS, principalmente da porção solúvel, aumenta a tensão osmótica do meio, o que irá contribuir para condição favorável ao processo fermentativo de boa qualidade (KUNG JR. et al., 1984; JONES et al., 1992).

Na fração fibrosa, não houve alteração, à exceção da fração hemicelulose, que apresentou teor, aproximadamente, 11% inferior ao da alfafa fresca.

O teor de proteína bruta (PB) foi semelhante entre as alfafas fresca e emurchecida (Tabela 1), mesmo considerando certa perda de folhas observada durante o processo de emurchecimento. As frações de nitrogênio insolúvel (N-insol) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) não indicaram alterações marcantes (Tabela 1). Já a fração nitrogê-

nio insolúvel em detergente neutro (NIDN) foi aproximadamente 27% inferior na alfafa emurchecida, quando comparada com a alfafa fresca (Tabela 1), o que poderia ser explicado pela ação de enzimas endógenas no período inicial do emurchecimento.

#### *Efeitos sobre a composição químico-bromatológica das silagens de alfafa*

A reduzida produção de efluente constatada somente nos primeiros dias de fermentação das silagens frescas não afetou os teores de MS, PB, NIDA, lignina (Tabela 2) e celulose (Tabela 4) das silagens, quando comparadas com os valores do material original (Tabela 1), o que ocorreu em função de o teor de MS no material fresco ter sido próximo a 30%, considerado por WOOLFORD (1984) como limite para a produção de efluentes em silagens. Os valores similares de NIDA refletem a inexistência de formação de complexos de Maillard nas silagens emurchecidas em comparação às frescas (YU e THOMAS, 1976). Por outro lado, os teores de CHOsol, N-insol, NIDN, FDN e hemicelulose nas silagens foram inferiores aos do material original, indicando a ocorrência de hidrólise destas frações durante o processo fermentativo, também observado por PITT (1990) e PICHARD e RYBERT (1993).

Tabela 1 - Composição químico-bromatológica da alfafa fresca ou submetida ao efeito de emurchecimento

Table 1 - Chemical composition of direct cut or wilted alfalfa

Fração <sup>1</sup> Fraction <sup>1</sup>	Alfafa fresca Direct cut	Alfafa emurchecida Wilted
MS % (% DM)	26,30	44,12
CHOsol (%MS) (WSC % DM)	8,90	7,07
PT (meq de base/100 g de MS) (BC)	43,35	54,05
	-----% MS (% DM)-----	
Matéria orgânica (Organic matter)	88,12	88,99
Matéria mineral (MM)	11,88	11,01
FDN (NDF)	45,99	44,17
FDA (ADF)	35,96	35,24
Lignina (Lignin)	6,96	7,05
Celulose (Cellulose)	26,72	26,64
Hemicelulose (Hemicellulose)	10,03	8,93
Proteína bruta (Crude protein)	18,94	19,01
	-----% N total (% total N)-----	
N-insol. (insoluble N)	62,51	65,86
NIDN (NDIN)	23,81	17,31
NIDA (ADIN)	8,34	8,15

<sup>1</sup> MS - matéria seca, CHOsol - carboidratos solúveis, PT - poder tampão, FDN - fibra insolúvel em solução detergente neutra, FDA - fibra insolúvel em solução detergente ácida, N-insol - nitrogênio insolúvel, NIDN - nitrogênio insolúvel em solução detergente neutra, NIDA - nitrogênio insolúvel em solução detergente ácida.

<sup>1</sup> DM - dry matter, WSC - water soluble carbohydrates, BC - buffering capacity, NDF - neutral detergent fiber, ADF - acid detergent fiber, N-insol - insoluble nitrogen, NDIN - neutral detergent insoluble nitrogen, ADIN - acid detergent insoluble nitrogen.

Tabela 2 - Efeito da umidade sobre a composição químico-bromatológica das silagens de alfafa

Table 2 - Effect of the moisture on chemical composition of alfalfa silages

Fração <sup>1</sup> Fraction	Fresca Direct cut	Emurhecida Wilted	CV (%)
MS (%) DM	25,91 <sup>b</sup>	44,18 <sup>a</sup>	3,62
	----- % MS (%DM) -----		
Hemicelulose (Hemicellulose)	5,92 <sup>a</sup>	6,04 <sup>a</sup>	27,96
Lignina (Lignin)	7,21 <sup>a</sup>	7,23 <sup>a</sup>	4,38
CHOsol (WSC)	0,83 <sup>b</sup>	1,31 <sup>a</sup>	9,78
PB (CP)	19,31 <sup>a</sup>	18,88 <sup>a</sup>	3,23
	----- % N total (%total N) -----		
N-insol. (Insol N)	36,48 <sup>b</sup>	47,42 <sup>a</sup>	5,10
NIDN (NDIN)	10,10 <sup>b</sup>	13,06 <sup>a</sup>	6,53
NIDA (ADIN)	7,58 <sup>a</sup>	7,51 <sup>a</sup>	7,96

<sup>1</sup> MS - matéria seca, CHOsol - carboidratos solúveis, PB - proteína bruta, N-insol - nitrogênio insolúvel, NIDN - nitrogênio insolúvel em solução detergente neutra, NIDA - nitrogênio insolúvel em solução detergente ácida.

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem ( $P > 0,01$ ) pelo teste Tukey.

<sup>1</sup> DM - dry matter, WSC - water soluble carbohydrates, CP - crude protein, N-insol - insoluble nitrogen, NDIN - neutral detergent insoluble nitrogen, ADIN - acid detergent insoluble nitrogen.

Means with same letter do not differ by Tukey test ( $P > 0.01$ ).

O emurhecimento, além de aumentar o teor de MS, determinou maior concentração de CHOsol residuais ( $P < 0,01$ ) e maior preservação das frações N-insol e NIDN ( $P < 0,01$ ) nas silagens (Tabela 2). Os teores de N-insolúvel em solução tampão nas silagens foram, aproximadamente, 40 e 28% inferiores em relação aos materiais fresco e emurhecido, respectivamente. A solubilização do NIDN das silagens em relação ao material original foi 57 e 25%, respectivamente, nas silagens fresca e emurhecida. Outros trabalhos confirmam a diminuição da proteólise, com o aumento do teor de MS (MUCK, 1987; JONES et al., 1992; e PICHARD e RYBERT, 1993). A fração NIDA e os conteúdos de hemicelulose e lignina das silagens não foram afetados pelo emurhecimento (Tabela 2).

Os teores médios de FDN das silagens frescas e emurhecidas (Tabela 3) foram, aproximadamente, 10% inferiores ao dos materiais de origem (Tabela 1). O aditivo LE resultou no menor conteúdo de FDN e foi diferente dos tratamentos C e L ( $P < 0,01$ ); já o tratamento E não apresentou diferença dos demais. A solubilização do NIDN nas silagens C, E, L e LE foi de, aproximadamente, 43% em relação ao material original. Nenhum dos aditivos utilizados resultou em menor solubilização de NIDN em relação ao tratamento C. Contudo, o aditivo E apresentou maior solubilização da fração NIDN que os tratamentos L e LE ( $P < 0,05$ ), prova-

velmente devido à degradação da fração FDN causada por enzimas fibrolíticas ou pela ação de proteases presentes no complexo enzimático. Entretanto, ocorreu também diminuição nos teores de FDN no tratamento LE, sem decréscimo correspondente na fração NIDN, o que parece indicar que as enzimas presentes nestes produtos apresentam sítios de ação diferenciados na degradação da parede celular (Tabela 3).

Em relação às variáveis FDA e celulose, houve efeito da interação entre os fatores umidade e aditivos (Tabela 4), sendo que nas silagens emurhecidas os aditivos não apresentaram efeito, mas nas silagens de alfafa fresca os tratamentos LE e E apresentaram concentrações inferiores ao L ( $P < 0,05$ ), não diferindo, porém, do C. O tratamento L apresentou maior concentração de FDA e celulose nas silagens frescas em relação às emurhecidas ( $P < 0,05$ ), bem como menor hidrólise da parede celular em comparação aos tratamentos LE e E nas silagens frescas, demonstrando atividade enzimática menos intensa, provavelmente, associada à inexistência de enzimas fibrolíticas no aditivo.

Nas silagens emurhecidas, as condições do meio não favoreceram a ação dos aditivos sobre essas variáveis, mas possibilitaram fermentação adequada (Tabela 5), o que também foi observado por KUNG JR. et al. (1984) e GARCIA et al. (1989).

Tabela 3 - Efeito de aditivos sobre a composição químico-bromatológica das silagens de alfafa

Table 3 - Effect of the additive on chemical composition of alfalfa silages

Fração <sup>1</sup> Fraction <sup>1</sup>	C	E	L	LE	CV %
	----- % MS (% DM) -----				
FDN (NDF)	40,85 <sup>a</sup>	40,16 <sup>ab</sup>	41,45 <sup>a</sup>	38,72 <sup>b</sup>	3,82
	----- % N total (% total N) -----				
NIDN (NDIN)	11,32 <sup>ab</sup>	10,78 <sup>b</sup>	12,28 <sup>a</sup>	11,93 <sup>a</sup>	6,53

<sup>1</sup> FDN - fibra insolúvel em solução detergente neutra, NIDN - nitrogênio insolúvel em solução detergente neutra.

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem (P>0,01) pelo teste Tukey.

C - controle, E - enzimas, L - lactobacilos e LE - lactobacilos mais enzimas

<sup>1</sup> NDF - neutral detergent fiber, NDIN - neutral detergent insoluble nitrogen

Means with same letter do not differ by Tukey test (P>.01).

C - Control silage, E - silage with enzymes, L - silage with bacterial inoculant, LE - silage with inoculant plus enzymes

Tabela 4 - Efeito da interação dos fatores umidade e aditivos sobre a composição químico-bromatológica das silagens de alfafa

Table 4 - Interaction effects of moisture and additives factors on chemical composition of alfalfa silages

Fração <sup>1</sup> Fraction <sup>1</sup>	Fresco Direct cut				Emurhecido Wilted				CV%
	C	E	L	LE	C	E	L	LE	
	----- % MS (% DM) -----								
FDA	34,66 <sup>aAB</sup>	33,47 <sup>aA</sup>	36,49 <sup>bB</sup>	33,22 <sup>aA</sup>	33,99 <sup>aA</sup>	33,93 <sup>aA</sup>	34,20 <sup>aA</sup>	34,58 <sup>aA</sup>	3,15
ADF	----- % MS (% DM) -----								
Celulose	25,41 <sup>aAB</sup>	24,60 <sup>aA</sup>	27,00 <sup>bB</sup>	24,38 <sup>aA</sup>	25,22 <sup>aA</sup>	25,42 <sup>aA</sup>	25,51 <sup>aA</sup>	25,60 <sup>aA</sup>	3,36
Cellulose	----- % MS (% DM) -----								

<sup>1</sup> FDA - fibra insolúvel em solução detergente ácida.

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem (P>0,05) pelo teste Tukey, sendo letras maiúsculas para o fator aditivos dentro do fator umidade e letras minúsculas para o fator umidade dentro do fator aditivos.

C - controle, E - enzimas, L - lactobacilos e LE - lactobacilos mais enzimas.

<sup>1</sup> ADF - acid detergent fiber.

Means followed by the same letter do not differ by Tukey test (P>.05) with capital letters for the additive factor with moisture factor and small letters for the moisture factor within additives.

C - Control silage, E - silage with enzymes, L - silage with bacterial inoculant, LE - silage with inoculant plus enzymes.

### Efeitos sobre a qualidade fermentativa das silagens de alfafa

A qualidade das silagens pode ser avaliada pelo pH e pelos produtos finais de fermentação, como ácidos orgânicos e proporção de N-NH<sub>3</sub>. O emurhecimento da alfafa determinou maior proporção de ácido láctico em relação ao ácido acético (Tabela 5). Não foi constatado efeito, devido aos aditivos sobre a produção de ácidos de fermentação. Apesar de não serem apresentados, os teores de ácido butírico encontrados nas silagens frescas foram inferiores a 0,01% da MS, apresentando pequena participação na concentração de ácidos totais (P<0,01), demonstrando a ausência de fermentação clostrídica nas silagens produzidas. Houve interação dos fatores umidade e aditivos em relação às variá-

veis pH e N-NH<sub>3</sub> (Tabela 6). O pH das silagens emurhecidas não apresentou diferença entre os aditivos utilizados e foi sempre inferior ao das silagens frescas (P<0,05). Por outro lado, nas silagens frescas, ocorreu efeito nos tratamentos E e LE, que apresentaram menor pH que o L (P<0,05), sem diferirem, contudo, do tratamento controle. A proporção de N-NH<sub>3</sub> em relação ao N total também foi menor nas silagens emurhecidas (P<0,05). Por outro lado, nas silagens frescas, o tratamento E determinou menor produção de N-NH<sub>3</sub> (P<0,05), quando comparado aos tratamentos L e C, mas sem apresentar diferenças em relação a LE.

Os resultados obtidos neste experimento indicam que o emurhecimento da alfafa produziu silagens com melhor qualidade fermentativa, caracterizada pela melhor relação entre os ácidos láctico e acético,

Tabela 5 - Efeito do fator umidade sobre a composição dos ácidos de fermentação das silagens de alfafa

Table 5 - Effect of moisture factor on fermentation acids composition of alfalfa silages

Fração <i>Fraction</i>	Fresca <i>Direct cut</i>	Emurchecida <i>Wilted</i>	CV (%)
	-----% MS (% DM)-----		
Ácidos totais ( <i>Total acids</i> )	6,90 <sup>a</sup>	7,15 <sup>a</sup>	33,24
Ácido láctico ( <i>Lactic acids</i> )	2,39 <sup>b</sup>	5,05 <sup>a</sup>	47,29
Ácido acético ( <i>Aceticacids</i> )	4,42 <sup>a</sup>	2,08 <sup>b</sup>	30,37
Lat./Acet. ( <i>Lact./Acetic.</i> )	0,63 <sup>b</sup>	2,37 <sup>a</sup>	36,76

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem ( $P>0,01$ ) pelo teste Tukey.

Means with same letter do not differ by Tukey test ( $P>.01$ ).

Tabela 6 - Efeito da interação dos fatores umidade e aditivos sobre a qualidade fermentativa das silagens de alfafa

Table 6 - Interaction effects of moisture and additives factors on fermentation quality of alfalfa silages

Fração <i>Fraction</i>	Fresco <i>Direct cut</i>				Emurchecido <i>Wilted</i>				CV%
	C	E	L	LE	C	E	L	LE	
pH	4,74 <sup>bAB</sup>	4,67 <sup>bA</sup>	4,81 <sup>bB</sup>	4,71 <sup>bA</sup>	4,60 <sup>aA</sup>	4,57 <sup>aA</sup>	4,57 <sup>aA</sup>	4,60 <sup>aA</sup>	1,00
	-----% N total (% total N)-----								
N-NH <sub>3</sub>	11,03 <sup>bB</sup>	8,31 <sup>bA</sup>	11,90 <sup>bB</sup>	9,73 <sup>bAB</sup>	6,68 <sup>aA</sup>	5,56 <sup>aA</sup>	5,30 <sup>aA</sup>	5,26 <sup>aA</sup>	15,52

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem ( $P>0,05$ ) pelo teste Tukey, sendo letras maiúsculas para o fator aditivos dentro do fator umidade e letras minúsculas para o fator umidade dentro do fator aditivos.

C - controle, E - enzimas, L - lactobacilos e LE - lactobacilos mais enzimas

Means followed by the same letter do not differ by Tukey test ( $P>.05$ ), being capital letters for the additive factors with in moisture factor and small letters for the moisture factor within the additive factor.

C - Control silage, E - silage with enzymes, L - silage with bacterial inoculant, LE - silage with inoculant plus enzymes

por menor pH, menor proporção de N-NH<sub>3</sub> e maior concentração de CHOsol residuais. Estes resultados vêm de encontro aos obtidos por KUNG JR. et al. (1984) e GARCIA et al. (1989), exceto pela maior concentração de ácido láctico nas silagens, com maior teor de MS do presente estudo. Os resultados de vários experimentos com silagens de alfafa têm demonstrado que o emurchecimento diminui a extensão da fermentação, produzindo silagens com menores teores de ácido láctico e AGV totais, maior pH final de estabilização (KUNG JR. et al., 1984; GARCIA et al., 1989; e JONES et al., 1992), além de proporcionar maior presença de CHOsol residuais (KUNG JR. et al., 1984) e, em muitos casos, aumentar a proporção de ácido láctico em relação ao acético (GARCIA et al., 1989). Da mesma forma, KUNG JR. et al. (1984) e GARCIA et al. (1989) encontraram menor produção de N-NH<sub>3</sub> em silagens de alfafa emurchecidas. As silagens frescas apresentaram limitação da fermentação, com baixa produção de ácido láctico, provavelmente devido à escassez de substrato (2,34% de CHOsol na matéria fresca), sem, contudo, resultar em fermentação clostrídica, o que pode estar associado à concentração de MS. Por outro lado, nas

silagens emurchecidas, a disponibilidade de substrato parece não ter sido limitante e as condições de fermentação foram adequadas em todos os tratamentos, resultando inclusive em pH final inferior ao das silagens frescas, o que normalmente não tende a ocorrer com material emurchecido. Esta constatação também foi feita por PITT et al. (1985), que consideraram a alfafa ensilada com alto teor de MS como um material que dificilmente apresenta limitações de substrato. Nas silagens frescas, em que as condições para fermentação foram mais limitadas, devido à baixa diponibilidade de substrato, somente o tratamento E apresentou teor relativo de N-NH<sub>3</sub> inferior às silagens C e L, sem diferir, contudo, do LE. Este resultado indica maior capacidade de produzir substrato adicional para a fermentação, por intemédio da hidrólise da fração celulose da parede celular (Tabela 4), também caracterizado pelo menor pH observado neste tratamento. Os resultados observados com o tratamento L sugerem a ocorrência de rápido declínio de pH, seguido de reversão do processo fermentativo, pela falta de substrato disponível, para atingir a estabilização da fermentação, como observado por UMANÃ et al. (1991).

### Conclusões

O emurhecimento da alfafa melhorou a qualidade bromatológica e fermentativa da silagem.

O aditivo LE (lactobacilos mais enzimas) melhorou a qualidade bromatológica das silagens frescas e emurhecidas, diminuindo em ambas o teor de FDN.

O uso do aditivo E melhorou a qualidade fermentativa das silagens frescas, diminuindo a proporção de N-NH<sub>3</sub>.

O uso de aditivos não melhorou a qualidade fermentativa nas silagens emurhecidas, com relação às variáveis estudadas.

### Referências Bibliográficas

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 16.ed. Washington: AOAC. 2000p.
- BARNES, D.K., GOPLIN, B.P., BAYLOR, J.E. 1988. Highlights in the United States and Canada. In: ALFALFA and alfalfa improvement. Madison, American Society of Agronomy. p.1-24.
- BOTREL, M. de, A., ALVIM, M. J. Avaliações preliminares de alfafa, na região da Zona da Mata de Minas Gerais. In: WORKSHOP SOBRE O POTENCIAL FORRAGEIRO DE ALFALFA (*Medicago sativa L.*) NOS TRÓPICOS, 1994, Juiz de Fora. *Anais ... Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL*, 1994. p.37-45.
- BÖTTCHER, W. 1982. Gas-chromatographische Analytik von Milchsäure und flüchtigen Fettsäuren und Alkoholen in wässriger Lösung. *Archiv für Tierernährung*, 32(4):287-304.
- DUBOIS, M., GILLES, M., HAMILTON, J.K. et al. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3):350-356.
- GARCIA, A. D., OLSON, W. G., OTTERBY, D. E. et al. 1989. Effects of temperature, moisture, and aeration on fermentation of alfalfa silage. *J. Dairy Sci.*, 72(1):137-143.
- GOERING, H.K., VAN SOEST, P.J. 1970. *Forage fiber analyses: apparatus, reagents, procedures and some applications*. Washington: USDA, ARS (Agriculture Handbook, 379).
- HRISTOV, A.N. 1993. Effect of a commercial enzyme preparation on silage fermentation and protein degradability. *Anim. Feed Sci. and Techn.*, 34:273-282.
- JONES, B.A., SATTER, L.D., MUCK, R.E. 1992. Influence of bacterial inoculant and substrate addition to lucerne ensiled at different dry matter contents. *Grass and Forage Sci.*, 47:19-27.
- KRISHNAMOORTHY, U., MUSCATO, T.V., SNIFFEN, C.J. et al. 1982. Nitrogenous fractions in feedstuffs. *J. Dairy Sci.*, 65(2):217-225.
- KUNG JR., L., GRIEVE, D.B., THOMAS, J.W. et al. 1984. Added ammonia or microbial inocula for fermentation and compounds of alfalfa ensiled at various percents dry matter. *J. Dairy Sci.*, 67(2):299-306.
- KUNG JR., L., SATTER, L.D., JONES, B.A. et al. 1987. Microbial inoculation of low moisture alfalfa silage. *J. Dairy Sci.*, 70(10):2069-2077.
- MELVIN, J.F. 1965. Variations in the carbohydrate content of lucerne and the effect on ensilage. *Austr. J. Agric. Res.*, 16:951-959.
- MUCK, R.E. 1987. Dry matter level effect on alfalfa silage quality. I. Nitrogen transformations. *Transactions of the ASAE*, 30:7-14.
- MUCK, R.E., WALGENBACH, R. 1985. Variation in alfalfa buffering capacity. American Society of Agricultural Engineers-Paper N° 85-1535. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI. USA.
- PLAYNE, M.J.C., McDONALD, P. 1966. The buffering constituents of herbage and of silage. *J. Sci. Food Agric.*, 17:262-268.
- PICHARD, G., RYBERT, G. 1993. Degradacion de las proteínas en el proceso de ensilaje. *Ciencia e Investigación Agraria*, 20(2):402-429.
- PITT, R.E. 1990. A model of cellulase and amylase aditives in silage. *J. Dairy Sci.*, 73(7):1788-1799.
- PITT, R.E., MUCK, R.E., LEIBENSPERGER, R.Y. 1985. A quantitative model of the ensilage process in lactate silage. *Grass and Forage Sci.*, 40(3):279-303.
- SHEPERD, A.C., MASLANKA, M., QUINN, D. et al. 1995. Additives containing bacteria and enzymes for alfalfa silage. *J. Dairy Sci.*, 78(3):565-572.
- STOKES, M.R. 1992. Effects of an enzyme mixture, an inoculant, and their interaction on silage fermentation and dairy production. *J. Dairy Sci.*, 75:764-773.
- VALINOTTI, P., PICHARD, D. 1993. Efecto de la inoculacion bacteriana sobre la fermentacion del ensilaje de alfafa fresca suplementada con carbohidratos solubles. *Ciencia e Investigación Agraria*, Santiago do Chile, 2:38. Abstract.
- VOIGT, J., STEGER, H. 1976. Zur Quantitativen Bestimmung von Ammoniak, Harnstoff und Ketokoerpern biologischen Material. *Archiv für Tierernaehrung*, 17(4-5):289-293.
- WHITE, J.S., BOLSEN, K.K., HART, R.A. 1990. Effect of inoculant and enzyme additives on preservation and nutritive value of alfafa silage. *J. Anim. Sci.*, 68:579.
- WOOLFORD, M.K. 1984. *The silage fermentation*. New York, Marcel Dekker. p.23-132.
- ZONTA, E.P., ALMEIDA, A. *Sistema de análise estatística para microcomputadores*. Pelotas: SANEST, 1985.
- YU, Y., THOMAS, J.W. 1976. Estimation of the extent of heat damage in alfalfa haylage by laboratory measurement. *J. Anim. Sci.*, 42:766-774.

**Recebido em:** 30/06/98

**Aceito em:** 24/09/99