

Inoculação Microbiana da Alfafa para Ensilagem sobre a Digestibilidade Aparente em Carneiros¹

Paulo Henrique Mazza Rodrigues², Stefano Juliano Tavares de Andrade²,
Luis Fernando Simões de Almeida³, Paula Marques Meyer⁴, Felix Ribeiro de Lima²,
Carlos de Sousa Lucci²

RESUMO - Foram objetivos do presente estudo avaliar os efeitos da inoculação microbiana da silagem de alfafa sobre a digestibilidade total em carneiros. Doze carneiros machos e castrados foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado e os tratamentos corresponderam a silagem pré-secada de alfafa (média de 35,7% de MS e 19,6% de PB) controle ou inoculada com o produto Silobac (*Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*). O experimento teve duração total de 21 dias, sendo os cinco últimos destinados à coleta de fezes e urina. A inoculação aumentou a digestibilidade total da MS (inoculado = 62,5% vs. controle = 59,5%), dos ENN (70,9% vs. 65,7%), da FDN (53,8% vs. 48,8%), da FDA (52,5% vs. 44,7%), do amido (84,0% vs. 80,2%), o NDT (59,5% vs. 56,7%) e o consumo de MS (2,82 vs. 2,48% do PV), mas não alterou a digestibilidade total da PB (73,9% vs. 73,2%), EE (50,7% vs. 54,3%), FB (47,1% vs. 43,9%) ou a retenção nitrogenada (3,27 vs. 2,86 g de N/animal/dia).

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

Microbial Inoculation of Alfalfa for Ensiling on Apparent Digestibility in Wethers

ABSTRACT - This study was conducted to evaluate the effects of microbially inoculated alfalfa silage on total digestibility in wethers. Twelve wethers were randomly assigned to two treatments: alfalfa haylage (35.7% DM and 19.6% CP, on average) control or microbially inoculated with Silobac product (*Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*). The experimental period extended for twenty-one days, the last five used for feces and urine collection. The inoculation increased total digestibility of DM (inoculated = 62.5% vs. control = 59.5%), NFE (70.9% vs. 65.7%), NDF (53.8% vs. 48.8%), ADF (52.5% vs. 44.7%), starch (84.0% vs. 80.2%), TDN (59.5% vs. 56.7%) and DM intake (2.82 vs. 2.48% of BW), but it did not influence total digestibility of CP (73.9% vs. 73.2%), EE (50.7% vs. 54.3%), CF (47.1% vs. 43.9%) or N retention (3.27 vs. 2.86 g of N/animal/day).

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

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 vêm sendo pesquisados visando contornar tais problemas, tal como o uso de inoculantes microbianos, os quais possuem a função de aumentar a população de bactérias lácticas no silo e, conseqüentemente, a produção de ácido láctico (CLEALE et al., 1990), resultando em rápido declínio

no pH, decréscimo nos níveis de acetato e butirato, bem como inibição da proteólise (KUNG et al., 1984).

Contudo, os efeitos da inoculação microbiana na silagem de alfafa são bastante variáveis (BOLSEN et al., 1989; MUCK e BOLSEN, 1991). Melhora das características fermentativas da silagem (GORDON, 1989; FREEDEN et al., 1991) e diminuição das perdas de matéria seca (RICE et al., 1990), observadas com a inoculação, nem sempre resultam em melhoria do valor nutricional, consumo voluntário ou desempenho animal (STOKES, 1992).

Foram objetivos do presente estudo avaliar a influência da inoculação microbiana sobre a digestibilidade aparente *in vivo* e consumo voluntário da silagem de alfafa por ovinos.

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

² Professor do Departamento de Nutrição e Produção Animal - FMVZ/USP, Av. Duque de Caxias Norte, 225 - CEP. 13630-000, Pirassununga-SP. E-mail: pmazza@usp.br

³ Bolsista de Iniciação Científica (FAPESP).

⁴ Aluna de Pós-Graduação da ESALQ/USP.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido nas dependências do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Campus de Pirassununga).

A cultura de alfafa foi cortada no dia 24/03/2000, quando em estágio do início para o meio do florescimento. Após colhido, pré-seco por 4 horas e picado em fragmentos de tamanho teórico médio de partícula de 0,9 cm, o material original foi pesado e acondicionado em 16 silos piloto, confeccionados a partir de bombonas plásticas com aproximadamente 90 cm de altura e 53 cm de diâmetro (capacidade de 200 litros), revestidas com sacos plásticos transparentes. 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, 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 (resultados não publicados).

Aproximadamente 100 kg de massa úmida foram colocados em cada silo, correspondendo a uma compactação de aproximadamente 500 kg de silagem/m³. Os silos foram mantidos fechados por 25 dias em local abrigado.

Para avaliação da digestibilidade aparente, foram utilizados 12 carneiros deslanados jovens, machos castrados, da raça Santa Inês, com peso vivo médio de 31,79 quilos (desvio-padrão de $\pm 1,18$) ao início do experimento. Os animais foram mantidos em gaiolas

metabólicas, providas de cocho e bebedouro individuais, sendo os mesmos arreados com bolsas coletoras. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com 6 repetições por tratamento.

As dietas foram compostas das silagens (Tabela 1), adicionadas de 5 g de sal branco (NaCl) e 5 g de suplemento mineral/animal/dia, fornecidas em duas refeições, às 8 e 16h. O consumo durante o período de coleta de fezes foi restrito a 80% do ocorrido *ad libitum* durante o período de adaptação. O suplemento mineral possuía a seguinte composição por kg de produto: 146 g de Ca, 90 g de P, 14 g de Mg, 15 g de S, 105 g de Na, 4.800 mg de Zn, 1.500 mg de Cu, 1200 mg de Mn, 2300 mg de Fe, 150 mg de Co, 180 mg de I, 18 mg de Se, 900 mg de F (máximo).

O experimento teve duração total de 21 dias, dos quais os primeiros 13 dias foram destinados à adaptação dos animais às dietas. Entre o 9º e 13º dia foi feita a mensuração do consumo, entre o 14º e 21º dia a restrição do consumo e entre o 17º e 21º dia a coleta de fezes, urina e ingredientes da dieta para avaliação da digestibilidade *in vivo* e retenção nitrogenada.

As coletas de fezes, obtidas das bolsas coletoras, foram realizadas uma vez ao dia. Após serem pesadas, uma amostragem de 10% foi realizada e acondicionada sob congelamento a -15°C, de forma a comporem uma amostra composta. A urina foi coletada diariamente em baldes plásticos contendo 50 mL de ácido clorídrico concentrado 1:1. Uma amostra referente a 5% do total produzido foi armazenada sob refrigeração (5°C) até o momento de realização das análises. As análises bromatológicas de MS, PB, EE, FB e MM foram realizadas segundo AOAC (1980) e de FDN e FDA segundo GOERING e VAN SOEST (1979). Para a análise de FDN foi omitido o sulfito de sódio, mas adicionada à α -amilase. A concentração de amido foi avaliada segundo PEREIRA e ROSSI (1995), procedendo-se à extração dos carboidratos solúveis segundo HENDRIX (1993).

Os resultados foram analisados por intermédio do

Tabela 1 - Composição bromatológica da silagem de alfafa controle e inoculada (porcentagem com base na MS)
Table 1 - Chemical composition of control and inoculated alfalfa silage (percentage as DM basis)

Silagem Silage	MS DM	PB CP	EE EE	MM Ash	FB CF	FDN NDF	FDA ADF	Amido Starch	Ca Ca	P P
Controle Control	36,22	20,05	2,37	7,60	27,71	52,04	38,47	2,44	1,20	0,50
Inoculada Inoculated	35,25	19,21	2,02	7,02	29,64	54,28	42,50	2,72	1,20	0,49

programa computacional Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 1985) e submetidos ao teste “t” (PROC TTEST do SAS). Adotou-se o nível de significância de 5%, exceto quando especificado.

Resultados e Discussão

Os dados de digestibilidade aparente da matéria seca da dieta e suas frações, bem como a retenção nitrogenada dos animais submetidos à silagem controle e inoculada, encontram-se na Tabela 2. A digestibilidade da silagem de alfafa, bem como o NDT, apresentaram valores compatíveis aos esperados para essa forrageira quando em estágio do início para o meio do florescimento (NRC, 1989), com valores de fibra também próximos ao esperado (Tabela 1). Mesmo com a ausência de suplementação

energética e protéica, observou-se que os animais apresentaram balanço nitrogenado positivo, com ganho de aproximadamente 3,0 gramas de nitrogênio/animal/dia, independentemente do tipo de silagem testada. A ausência de suplementação energética e protéica adotada no presente experimento teve como objetivo evitar diluição das possíveis respostas obtidas com o processo de inoculação microbiana.

A adição de inoculantes à silagem de alfafa aumentou a digestibilidade aparente da matéria seca ($P=0,0168$) em 5,0% (correspondente ao aumento de 3,0 unidades percentuais), dos extrativos não nitrogenados ($P=0,0022$) em 8,0% (correspondente a 5,3 unidades percentuais), da fibra em detergente neutro ($P=0,0090$) em 10,2% (correspondente a 5,0 unidades percentuais), da fibra em detergente ácido ($P=0,0015$) em 17,4% (correspondente a 7,8 unida-

Tabela 2 - Digestibilidade aparente da MS da dieta e suas frações, e retenção nitrogenada obtidas com silagens de alfafa tratadas com inoculantes¹

Table 2 - Apparent digestibility of DM of the diet and its nutrients, and nitrogen retention obtained with inoculated alfalfa silage

	Tratamentos ²		Média	CV	Prob.
	Controle	Inoculada			
	Control	Inoculated	Mean	CV	Prob.
MS (%)	59,52 ^b	62,52 ^a	61,02	3,82	0,0168
DM (%)					
PB (%)	73,18	73,89	73,53	2,26	NS
CP (%)					
EE (%)	54,27	50,74	52,50	10,11	NS
EE (%)					
ENN (%)	65,67 ^b	70,93 ^a	68,30	5,08	0,0022
NFE (%)					
FB (%)	43,90	47,14	45,52	8,75	NS
CF (%)					
FDN (%)	48,78 ^b	53,75 ^a	51,27	7,08	0,0090
NDF (%)					
FDA (%)	44,72 ^b	52,49 ^a	48,60	10,33	0,0015
ADF (%)					
Amido (%)	80,22 ^b	83,95 ^a	82,08	2,67	0,0001
Starch (%)					
NDT (%)	56,69 ^b	59,46 ^a	58,07	3,84	0,0225
TDN (%)					
RN (g)	2,86	3,27	3,07	24,04	NS
NR (g)					
RN (%)	17,80	21,96	19,88	24,68	NS
NR (%)					

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 (%), NDT: nutrientes digestíveis totais (%), RN(g): retenção nitrogenada (g de N/dia), RN(%): retenção nitrogenada (em porcentagem do N absorvido/dia), CV: coeficiente de variação (%), Prob.: probabilidades estatísticas, NS: não-significativo.

² Linhas com letras sobrescritas diferentes diferem pelo teste “t” (5%).

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 (%), TDN: total digestible nutrients (%), NR(g): nitrogen retention (g of N/day), NR(%): nitrogen retention (percentage of absorbed nitrogen/day), CV: coefficient of variation (%), Prob: statistical probability, NS: not significant.

² Rows with different letters differ by “t” test (5%).

des percentuais) e do amido ($P=0,0001$) em 4,6% (correspondente a 3,8 unidades percentuais), o que resultou em aumento dos nutrientes digestíveis totais ($P=0,0225$) em 4,9% (correspondente a 2,8 unidades percentuais). Não foram observados efeitos da inoculação sobre a digestibilidade aparente da proteína bruta, extrato etéreo, fibra bruta e retenção nitrogenada, fossem os dados dessa última variável expressos em gramas de N/dia ou em porcentagem do N absorvido.

Os resultados do presente experimento concordam com aqueles observados por MADER et al. (1985), que demonstraram aumento da digestibilidade *in vitro* da MS da silagem de alfafa inoculada, concordam com os observados por CROVETTO et al. (1999), que demonstraram aumento da digestibilidade aparente da MO de silagem de alfafa inoculada, e também com os obtidos por PHILLIP et al. (1990), os quais observaram efeitos dos inoculantes microbianos em aumentar a digestibilidade aparente da FDA, embora respostas estatisticamente significativas não tivessem sido observadas para a digestibilidade da MS, MO e FDN. Esses últimos autores chamam a atenção para a necessidade de estudar se possíveis diferenças no tipo da fibra entre gramíneas e leguminosas poderiam explicar diferentes respostas da digestibilidade da fibra à inoculação microbiana, uma vez que, segundo eles, é comum encontrar respostas positivas com leguminosas, mas negativas com gramíneas.

MATSUOKA et al. (1997) também observaram aumento da digestibilidade *in vitro* da hemicelulose de silagens inoculadas e explicaram que esse resultado era decorrente de uma diminuição da hidrólise da hemicelulose, por efeito da inoculação, durante a fermentação no silo. Já o tratamento com enzimas hidrolíticas aumentaria a hidrólise desta fração no silo, resultando em diminuição da sua digestibilidade *in vitro*.

McALLISTER et al. (1998) observaram aumentos da digestibilidade da MS e MO, mas não da digestibilidade da FDA ou FDN, de silagens inoculadas de alfafa. Esses autores explicaram que o 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 microorganismos contidos nos inoculantes comerciais não produzem celulasas e hemicelulasas. Entretanto, 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 do presente experimento parecem confirmar a proposta de que os efeitos sobre a fibra ocorreriam no silo, ao invés de ocorrerem no rúmen, uma vez que se observou tendência de aumento dos teores de FDA e FDN das silagens inoculadas (Tabela 1). Uma possível queda mais acentuada no pH, obtida com a inoculação, poderia inibir a degradação parcial da hemicelulose e possivelmente da celulose no silo, cuja degradação seria retomada, agora em maior extensão, no rúmen. Entretanto, não foram objetivos do presente experimento avaliar os efeitos da inoculação microbiana sobre a fermentação da silagem ainda no silo.

De forma contrária, MIR et al. (1995) observaram diminuição da digestibilidade da FDN ao inocular silagem de alfafa com alta umidade (30% de MS), mas não em silagem com média umidade (55% de MS), embora os resultados encontrados por esses pesquisadores variassem de ano a ano. O presente experimento demonstrou aumento da digestibilidade da FDN, mesmo a silagem apresentando umidade próxima a silagem de alta umidade produzida no experimento de MIR et al. (1995), onde a inoculação diminuiu a digestibilidade da fibra. Já para a silagem de milho, GUIM et al. (1995a) observaram que os inoculantes microbianos melhoram a digestibilidade da MS, PB, ENN, EB e o valor do NDT na silagem mais seca (37% de MS), mas não naquelas mais úmidas (25% de MS), embora os mesmos autores (GUIM et al., 1995b) não tivessem confirmados resultados positivos sobre a digestibilidade, quando inocularam silagem de capim elefante.

Mudanças no perfil de fermentação da silagem, com maior produção de ácido lático e, portanto, menores perdas de matéria seca, principalmente de carboidratos solúveis, poderiam explicar os efeitos da inoculação sobre a digestibilidade dos extrativos não nitrogenados e amido da silagem de alfafa.

Os resultados do presente experimento concordam também com aqueles observados por PHILLIP et al. (1990), os quais não observaram efeitos dos inoculantes microbianos em aumentar a retenção nitrogenada, embora esses pesquisadores também tenham observado melhora da digestibilidade aparente da FDA.

Os dados de consumo dos animais submetidos à silagem controle e inoculada encontram-se na Tabela 3. A adição de inoculantes à silagem de alfafa aumentou o consumo de matéria seca ($P=0,0211$) em 13,7%, de

Tabela 3 - Consumos de matéria seca, de matéria seca digestível e de nutrientes digestíveis totais obtidos com silagens de alfafa tratadas com inoculantes¹

Table 3 - Intakes of dry matter, digestible dry matter and total digestible nutrients obtained with inoculated alfalfa silage

	Tratamentos ²		Média	CV	Prob.
	Controle	Inoculada			
	Control	Inoculated	Mean	CV	Prob.
CMS (g/d)	864,30	830,74	847,52	9,15	NS
DMI (g/d)					
CMS (%PV)	2,48 ^b	2,82 ^a	2,65	10,21	0,0211
DMI (%BW)					
CMSD (g/d)	514,54	518,68	516,61	8,84	NS
DDMI (g/d)					
CMSD (%PV)	1,48 ^b	1,76 ^a	1,62	11,77	0,0025
DDMI (%BW)					
CNDT (g/d)	490,14	493,23	491,68	8,95	NS
TDNI (g/d)					
CNDT (%PV)	1,41 ^b	1,68 ^a	1,54	11,94	0,0088
TDNI (%BW)					

¹ CMS: consumo de matéria seca, CMSD: consumo de matéria seca digestível, CNDT: consumo de nutrientes digestíveis totais, expresso em g/animal/dia (g/d) ou porcentagem do peso vivo (%PV), CV: coeficiente de variação (%), Prob: probabilidades estatísticas, NS: não-significativo. DMI: dry matter intake, DDMI: digestible dry matter intake, TDNI: total digestible nutrients intake, expressed in g/animal/day (g/d) or percentage of body weight (%BW), CV: coefficient of variation (%), Prob: statistical probability. NS: not significant.

² Linhas com letras sobrescritas diferentes diferem pelo teste "t" (5%).

Rows with different letters differ by "t" test (5%).

matéria seca digestível (P=0,0025) em 18,9% e de nutrientes digestíveis totais (P=0,0088) em 19,1%, quando os dados foram expressos em porcentagem do peso vivo. De forma geral, o consumo de matéria seca, que em média foi de 2,7% do peso vivo, apresentou-se dentro do esperado, uma vez que a fermentação das silagens inoculadas ou não apresentou-se aparentemente normal, sem fermentações indesejáveis.

Semelhantemente ao observado nesta pesquisa, McALLISTER et al. (1998) também observaram efeitos dos inoculantes microbianos em aumentar o consumo de MS da silagem de alfafa por ovinos. Já MADER et al. (1985) e PHILLIP et al. (1990) não observaram resultados positivos da inoculação sobre o consumo de silagem de alfafa.

MIR et al. (1995) alertam para possíveis limitações, ao fazerem recomendações a respeito da eficiência da inoculação, com base em experimentos de curta duração, uma vez que observaram aumento do consumo de silagens inoculadas de alfafa por novilhos durante um período do estudo, mas não em outros.

Conclusões

É possível recomendar a utilização do inoculante Silobac para inoculação da alfafa para ensilagem, uma vez que silagens inoculadas proporcionaram maior disponibilidade de nutrientes e maior consumo de matéria seca.

Agradecimento

Aos funcionários Everson Lázaro e Gilmar Botteon, pelo cuidado com os animais, e aos técnicos Ari de Castro, Gilson de Godoy e Simi Robassini, pelas análises laboratoriais.

Referências Bibliográficas

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. 1980. *Official methods of analysis*. 10.ed. Washington, D.C.: Association of Analytical Chemistry. 1015p.
- BOLSEN, K.K., LAYTINI, A., HART, R.A. et al. 1989. *Effect of commercial inoculants on fermentation of 1987 and 1988. Kansas silage crops*. Des Moines: Pioneer Hi-Bred Int. p.1-19.
- CLEALE, R.M., FIRKINS, J.L., VAN DE BEEK, F. et al. 1990. Effect of inoculation of whole plant corn forage with *Pediococcus acidilactili* and *Lactobacillus xylosus* on

- preservation of silage and heifer growth. *J. Dairy Sci.*, 73(3):711-718.
- CROVETTO, G.M., BAVA, L., GALASSI, G. et al. 1999. Effects of moisture content and microbial inoculant on the nutritive value of lucerne silage. *Agricoltura Mediterranea*, 129(1):71-80.
- FREDEEN, A.H., McQUEEN, R.E., BROWING, D.A. 1991. Effects of enzymes and nutrients in a bacterial inoculant on quality of timothy or alfalfa silage and dairy cow performance. *Can. J. Anim. Sci.*, 71(3):781-791.
- GOERING, H.K., VAN SOEST, P.J. 1979. *Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some applications*. Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
- GORDON, F.J. 1989. A further study on the evaluation through lactating cattle of a bacterial inoculant as an additive for grass silage. *Grass Forage Sci.*, 44(3):353-357.
- GUIM, A., ANDRADE, P., MALHEIROS, E.B. 1995a. Efeito de inoculante microbiano sobre consumo, degradação *in situ* e digestibilidade aparente de silagens de milho (*Zea mays* L). *R. Soc. Bras. Zootec.*, 24(6):1045-1053.
- GUIM, A., RUGGIERI, A.C., ANDRADE, P. et al. 1995b. Efeito de inoculante microbiano sobre consumo, degradação *in situ* e digestibilidade aparente das silagens de capim-elefante cv. Napier (*Pennisetum purpureum* Schum). *R. Soc. Bras. Zootec.*, 24(6):1051-1061.
- HENDRIX, D.L. 1993. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Sci.*, 33(6):1306-1311.
- KUNG JR., L., GRIEVE, D.B., THOMAS, J.W. et al. 1984. Added ammonia or microbial inoculant for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *J. Dairy Sci.*, 67(2):299-306.
- MADER, T.L., BRITTON, R.A., KRAUSE, V.E. et al. 1985. Effects of additive on alfalfa silage fermentation characteristics and feedlot performance of steers. *J. Dairy Sci.*, 68(7):1744-1747.
- MATSUOKA, S., BRANDA, L.N., FUJITA, H. 1997. 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. *Anim. Sci. Tech.*, 68(7):661-667.
- McALLISTER, T.A., FENIUK, R., MIR, Z. et al. 1998. Inoculants for alfalfa silage: Effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot steers. *Livest. Prod. Sci.*, 53(2):171-181.
- MIR, Z., JAN, E.Z., ROBERTSON, J.A. et al. 1995. Effects of microbial inoculant and moisture content on preservation and quality of round baled alfalfa. *Can. J. Anim. Sci.*, 75(1):15-23.
- MUCK, R.E., BOLSEN, K.K. 1991. Silage preservation and silage additive products. Hay and silage management in North America, p.105.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1989. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 6.ed. Washington, DC: National Academy of Science. 157p.
- PEREIRA, J.R.A., ROSSI JR., P. 1995. *Manual prático de avaliação nutricional de alimentos*. Piracicaba: FEALQ. 25p.
- PHILLIP, L.E., UNDERHILL, L., GARINO, H. 1990. 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 Forage Sci.*, 45(3):337-344.
- RICE, D.W., SODERLUND, S.D., PHILLIP, I.E. et al. 1990. Effect of microbial inoculant on the digestibility of legume silages. *J. Dairy Sci.*, 73(1):195-213.
- SAS Institute Inc. *SAS user's guide: statistics*. rev.5.ed., SAS Inst., Cary, NC, 1985.
- STOKES, M.R. 1992. Effects of enzyme mixture, an inoculant, and their interaction on silage fermentation and dairy production. *J. Dairy Sci.*, 75(3):764-773.

Recebido em: 09/01/01

Aceito em: 08/06/01