

Inoculação microbiana da silagem pré-secada de alfafa sobre a digestibilidade aparente da dieta por vacas leiteiras

Vanessa Jaime de Almeida Magalhães* e Paulo Henrique Mazza Rodrigues

Departamento de Nutrição e Produção Animal, FMVZ/Universidade de São Paulo, Av. Duque de Caxias Norte, 225, 13.635-900, Pirassununga, São Paulo, Brasil. *Author for correspondence. e-mail: vjdamagalhaes@hotmail.com

RESUMO. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da inoculação microbiana da silagem pré-secada de alfafa sobre a digestibilidade aparente da dieta em 12 vacas leiteiras, multiparas, distribuídas em delineamento em reversão simples com sequência balanceada ("cross-over") com dois períodos sucessivos. As dietas experimentais continham 50% de concentrado e 50% de silagem pré-secada de alfafa (50,0% de MS e 16,5% de PB) controle ou inoculada com o produto Silobac® (*Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*). Cada período experimental teve duração de 21 dias, sendo os 5 últimos dias destinados à coleta de fezes. O inoculante aumentou a digestibilidade aparente da MS (inoculada = 81,7 vs. controle = 74,2%), PB (83,1 vs. 74,6%), EE (90,1 vs. 81,7%), ENN (84,1 vs. 78,7%), FB (74,8 vs. 61,9%), FDN (70,0 vs. 58,0%), FDA (75,2 vs. 63,9%), EB (82,4 vs. 74,7%) e o NDT (80,5 vs. 73,3%), em relação ao grupo controle. Porém não houve efeito do inoculante sobre o consumo MS digestível (14,5 vs. 13,3kg/animal/dia, ou 2,67 vs. 2,46% do PV) ou de NDT (14,3 vs. 13,2kg/animal/dia ou 2,63 vs. 2,43% do PV).

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

ABSTRACT. Microbial inoculation of alfalfa haylage on dairy cows apparent diet digestibility. The objective of this study was to evaluate the effects of microbially inoculated alfalfa haylage on apparent diet digestibility in twelve dairy cows. A cross-over design with two periods of sampling was used. Diets contained 50% of concentrate and 50% of alfalfa haylage (50.0% DM and 16.5% CP) control or microbially inoculated with Silobac® product (*Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*). Each experimental period extended for twenty-one days and the last five days were used for feces sampling. The inoculation increased the apparent digestibility of DM (inoculated = 81.7 vs. control = 74.2%), CP (83.1 vs. 74.6%), EE (90.1 vs. 81.7%), NFE (84.1 vs. 78.7%), CF (74.8 vs. 61.9%), NDF (70.0 vs. 58.0%), ADF (75.2 vs. 63.9%), GE (82.4 vs. 74.7%) and TDN (80.5 vs. 73.3%) compared to control. However, it neither influenced digestible DMI (14.5 vs. 13.3kg/animal/day or 2.67 vs. 2.46% of BW), nor TDN (14.3 vs. 13.2kg/animal/day or 2.63 vs. 2.43% of BW).

Key words: lactic acid bacteria, cattle, ensiling, *Medicago sativa*.

Introdução

A alfafa possui alto conteúdo proteico, baixo conteúdo de carboidratos solúveis e alto poder tampão, sendo menos apta a sofrer uma boa fermentação, podendo, com isso, sofrer maior proteólise durante o processo de ensilagem (McDonald *et al.*, 1991), mesmo com um desenvolvimento rápido e completo das condições anaeróbias (Polan *et al.*, 1998).

Durante a fermentação da silagem pode haver, portanto, o crescimento de muitos microorganismos indesejáveis, causando perdas de matéria seca, aquecimento e assim diminuindo a qualidade da silagem. Os inoculantes microbianos, que contém

bactérias ácido-láticas, auxiliam na preservação dos nutrientes, com a produção de ácido lático, causando rápida diminuição do pH, e sendo a ensilagem um meio anaeróbio, o crescimento destes microorganismos é interrompido (Muck, 2000).

Apesar de a inoculação da silagem de alfafa produzir efeitos variados (Bolsen *et al.*, 1989), melhoras na eficiência fermentativa com redução das perdas de matéria seca foram observadas, resultando em maior digestibilidade dos nutrientes (Rice *et al.*, 1990), com aumento no consumo de matéria seca, no ganho de peso diário e na eficiência alimentar (McAllister *et al.*, 1998).

Foram objetivos do presente estudo avaliar a influência da inoculação microbiana, com o produto Silobac®, sobre a digestibilidade aparente *in vivo* da dieta, contendo 50% de silagem pré-secada de alfafa, e o consumo de matéria seca digestível e nutrientes digestíveis totais por vacas leiteiras.

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 em dezembro de 2000, quando em estágio do meio do florescimento. Após colhida e pré-seca por 4 horas, a forragem foi acondicionada em fardos com aproximadamente 150 cm de altura e 150 cm de diâmetro (capacidade de 600kg), revestidos com película de PVC branca, correspondendo a uma compactação de aproximadamente 230kg de silagem/m³. Os silos foram divididos em 2 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 x 10⁵ unidades formadoras de colônia (*Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus*) por grama de forragem. Os silos foram mantidos fechados por 40 dias expostos às intempéries.

Para o ensaio de digestão aparente, foram utilizadas 12 vacas Holandesas, com 135 ± 16,4 dias de lactação, alojadas em baias individuais presas por corrente (sistema *tie-stall*). O delineamento experimental foi de reversão simples com sequência balanceada (*“cross-over”*) com dois períodos de coletas, e os tratamentos compostos pelas silagens controle ou inoculada na proporção 50% de concentrados e 50% de volumosos na dieta (Tabelas 1 e 2). A ração foi fornecida em duas refeições, às 8h e 16h, sendo a silagem oferecida juntamente com o concentrado, permitindo-se 15% de sobras. A tabela 2 mostra as rações utilizadas e os resultados das análises bromatológicas das mesmas.

O experimento teve duração total de 42 dias, sendo 21 dias para cada período, dos quais os primeiros 16 dias foram destinados à adaptação dos animais às dietas. Nos 5 últimos dias foram realizadas mensurações do consumo e coleta de fezes para avaliação da digestibilidade *in vivo*. Para comporem uma amostra final, alimentos e fezes foram amostrados 2 vezes ao dia, próximos às refeições, sendo a de fezes realizada diretamente do reto.

Tabela 1. Composição bromatológica das silagens pré-secadas de alfafa controle e inoculada (porcentagem com base na MS)

Silagem	MS	PB	EE	MM	FB	FDN	FDA	Ca	P
Controle	51,96	16,58	1,76	11,44	30,82	47,72	40,34	0,83	0,31
Inoculada	47,48	16,32	2,00	11,85	31,34	46,10	40,93	0,79	0,33

Tabela 2. Proporções de ingredientes utilizados e composição bromatológica das rações, com base na matéria seca

Ingredientes (%)	Tratamentos	
	Controle	Inoculada
Silagem de alfafa	50,0	-
Silagem de alfafa inoculada	-	50,0
Grãos de milho moído	40,5	40,5
Grãos de soja extrusados	7,5	7,5
Calcário calcítico	0,10	0,10
Sal branco (NaCl)	0,63	0,63
Mistura mineral ¹	1,21	1,21
	100,00	100,00
Composição		
MS (%)	65,4	61,7
PB (%)	15,8	15,7
Proteína degradável (%) ²	10,7	10,6
Proteína não-degradável (%) ²	5,1	5,1
FDA (%)	22,3	22,6
FDN (%)	28,8	28,0
EE (%)	2,7	2,8
Energia Líq. Lact. (Mcal/kg) ²	1,53	1,53
Ca (%)	0,70	0,70
P (%)	0,40	0,50

¹Composição por kg de mistura mineral: 180g Ca, 90g P, 20g Mg, 20g S, 100g Na, 3.000mg Zn, 1.000mg Cu, 1.250mg Mn, 2.000mg Fe, 200mg Co, 90mg I, 36mg Se, 900mg F (máximo); ²Estimado segundo NRC (2001)

A digestibilidade *in vivo* da matéria seca (MS) da dieta e suas frações, como 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 avaliadas através do marcador cinzas insolúveis em detergente ácido (CIDA), segundo metodologia utilizada por Carvalho *et al.* (1992). Segundo essa metodologia, a determinação de CIDA é realizada, quantificando-se as cinzas, após incineração das amostras tratadas pela solução de detergente ácido. A indigestibilidade da MS é obtida, dividindo-se a concentração do marcador na dieta pela sua concentração nas fezes e multiplicando-se por 100.

As análises bromatológicas de MS, PB, EE, FB, EB, matéria mineral (MM), de amido, de cálcio (Ca) e de fósforo (P) foram realizadas segundo AOAC (1980), e de FDN e FDA segundo Goering e Van Soest (1970). Para a análise de FDN, foi omitido o sulfato de sódio, mas adicionada a α -amilase.

Os resultados foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1998). Os dados foram submetidos à análise de variância através do PROC GLM (General Linear Models). O modelo estatístico separou como causas de variação, efeito de

tratamento e período. Foi utilizado o nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

Resultados e discussão

Os dados de digestibilidade aparente da matéria seca da dieta e suas frações, dos animais submetidos à silagem, ao controle e à inoculada encontram-se na Tabela 3. A adição de inoculante à silagem de alfafa aumentou a digestibilidade aparente da MS da dieta em 10,1%, PB em 11,4%, EE em 10,3%, ENN em 6,8%, FB em 21,0%, FDN em 20,8%, FDA em 17,7%, EB em 10,4% e o NDT em 9,8%.

Tabela 3. Digestibilidade aparente da MS da dieta e suas frações obtidas com silagens pré-secadas de alfafas tratadas ou não com inoculante¹

	Tratamentos ²		Média	CV	Prob.
	Controle	Inoculada			
MS	74,20 ^b	81,72 ^a	78,12	8,16	0,0005
PB	74,57 ^b	83,08 ^a	79,01	7,84	0,0001
EE	81,71 ^b	90,09 ^a	85,90	6,38	0,0006
ENN	78,70 ^b	84,09 ^a	81,52	7,14	0,0086
FB	61,86 ^b	74,83 ^a	68,34	14,80	0,0003
FDN	57,98 ^b	70,01 ^a	63,99	17,03	0,0025
FDA	63,85 ^b	75,17 ^a	69,51	13,42	0,0003
EB	74,69 ^b	82,43 ^a	78,73	8,10	0,0002
NDT	73,32 ^b	80,52 ^a	77,07	8,03	0,0006

¹MS: 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: coeficiente de variação (%); Prob.: probabilidades estatísticas; NS: não-significativo; ²Linhas com letras sobrescritas diferentes, diferem estatisticamente (5%)

Os resultados do presente experimento concordam com aqueles observados por Mader *et al.* (1985), que demonstraram aumento de 6,3% sobre a digestibilidade *in vitro* da MS da silagem de alfafa inoculada. Mayne (1990) observou aumento de 3,5% sobre a digestibilidade da MS em carneiros, ao adicionar inoculante microbiano (*L. plantarum*) em silagem de gramínea, e Mayne (1993), ao contrário, notou diminuição de 3,1% sobre a digestibilidade da MS em carneiros, mas não notificou efeito sobre a digestibilidade da MS em vacas leiteiras, ao inocular silagem de gramínea.

Entretanto, tais resultados discordam, em parte, dos encontrados 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 e FDN. Esses autores chamam a atenção para a necessidade de estudar as 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 negativas com gramíneas.

McAllister *et al.* (1998) não observaram efeitos dos inoculantes (*L. plantarum* mais *E. faecium* ou somente *L. plantarum*) sobre a digestibilidade da FDN e FDA, porém notaram que a inoculação com *L. plantarum* aumentou em 7,4% a digestibilidade da MS, comparado ao grupo controle ou à inoculação com *L. plantarum* mais *E. faecium*, em silagens de alfafa. Esses autores explicaram que o aumento da digestibilidade da fibra, como observado no presente estudo, não é resultado da ação enzimática dos inoculantes sobre a fibra, uma vez que a maioria dos microorganismos contidos nos inoculantes comerciais não produzem celulases e hemicelulases. Esse efeito pode ser resultado de fatores que alteram o consumo ou a suscetibilidade da digestão da fibra no rúmen.

Mir *et al.* (1995), ao trabalharem com silagens de alfafa com três teores de umidade (18, 45 e 60%) e inoculadas com *Lactobacillus plantarum*, durante 3 anos, não observaram efeito do inoculante sobre a digestibilidade da MS, FDN e FDA. Assim como Nadeau *et al.* (2000), verificaram, em silagens de alfafa ou gramínea com adição de celulase mais inoculante microbiano, que não houve alteração da digestibilidade da MS e FDN. Charmley *et al.* (1996) não encontraram efeito do inoculante (*L. casei*, *L. plantarum* e *S. lactis*) sobre a digestibilidade da MS, FDN e FDA, em silagens de gramínea ou trigo. Keady e Murphy (1997) relataram que o inoculante não alterou a digestibilidade da MS e FDN, em vacas leiteiras alimentadas com silagem de gramínea. Patterson *et al.* (1997), ao inocularem silagem de gramínea com *L. plantarum*, *S. faecium* e *P. acidilactici*, perceberam que não houve efeito sobre a digestibilidade da MS e FDA.

Entretanto, 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 confirmado resultados positivos sobre a digestibilidade, quando inocularam silagem de capim elefante.

Rodrigues *et al.* (2001a), estudando silagem de girassol inoculada (*L. plantarum* e *S. faecium*), sobre a digestibilidade total em carneiros, verificaram o aumento da digestibilidade do ENN e a diminuição da digestibilidade da FB e FDA, comparado ao grupo controle, mas nenhum efeito do inoculante sobre a digestibilidade total da MS, PB, EE, FDN, amido ou NDT. Rodrigues *et al.* (2001b, c, d) avaliando a inoculação (*L. plantarum* e *S. faecium*) da silagem de milho ou de capim-elefante e a adição de

inoculante (*L. plantarum*, *S. faecium*, *P. acidilactici*, amilase, hemicelulase e celulase) na silagem de sorgo, não observaram efeito sobre a digestibilidade da MS, PB, FB, FDA, FDN, amido ou NDT, notaram apenas uma tendência em diminuir a digestibilidade do EE nas silagens de sorgo e de milho, e em aumentar a digestibilidade do ENN na silagem de capim-elefante.

Rodrigues *et al.* (2001c), testando a digestibilidade total em carneiros alimentados com silagem de alfafa controle ou inoculada com *L. plantarum* e *P. pentosaceus*, notaram aumento da digestibilidade da MS, ENN, FDN, FDA, amido e NDT, comparado ao grupo controle, mas nenhum efeito sobre a PB, EE e FB.

Os dados de consumo da MS digestível e do NDT dos animais submetidos à silagem controle e inoculada encontram-se na Tabela 4. A adição de inoculante à silagem de alfafa não aumentou o consumo da MS digestível ou do NDT, independentemente da forma com que os dados foram expressos, em quilos/animal/dia ou em porcentagem do peso vivo.

Tabela 4. Consumo de matéria seca digestível e de NDT obtidos com silagens pré-secadas de alfafas tratadas ou não com inoculante¹

	Tratamentos		Média	CV	Prob.
	Controle	Inoculada			
CMSD	13,34	14,52	13,95	14,59	NS
CMSDPV	2,46	2,67	2,57	14,69	NS
CNDT	13,18	14,30	13,76	14,46	NS
CNDTPV	2,43	2,63	2,53	14,56	NS

¹CMSD: consumo de matéria seca digestível (kg/animal/dia), CMSDPV: consumo de matéria seca digestível em função do peso vivo (%); CNDT: consumo de nutrientes digestíveis totais (kg/animal/dia), CNDTPV: consumo de nutrientes digestíveis totais em função do peso vivo (%); CV: coeficiente de variação (%), Prob: probabilidades estatísticas, NS: não-significativo

Os dados do presente experimento concordam com os achados de Rodrigues *et al.* (2001b, c, d), os quais, ao avaliarem a inoculação das silagens de milho, de capim-elefante ou de sorgo, não observaram efeitos sobre o consumo de MS digestível ou de NDT. Entretanto, discordam de Rodrigues *et al.* (2001c) ao estudarem silagem de alfafa inoculada com *L. plantarum* e *P. pentosaceus*, uma vez que encontraram aumento no consumo de MS digestível ou de NDT, expressos em porcentagem do peso vivo, em carneiros.

Outros estudos também mostraram que a inoculação não alterou o consumo de MS (Kung *et al.*, 1984; Kent *et al.*, 1988; Stokes, 1992). Entretanto, McAllister *et al.* (1998) obtiveram aumento de 0,9% no consumo de MS, comparando silagem inoculada com *Lactobacillus plantarum* e *Enterococcus faecium*, em relação ao grupo controle. A revisão de Moran e Owen (1994) revelou aumento no consumo de MS

com a inoculação das silagens de alfafa, de milho ou de gramínea.

Mir *et al.* (1995) alertam para possíveis limitações ao fazer recomendações a respeito da eficiência da inoculação, baseando-se em experimentos de curta duração, uma vez que esses pesquisadores observaram aumento do consumo de silagens inoculadas de alfafa por novilhos durante um período do estudo, mas não em outros.

Pelo fato de a dieta, contendo silagem inoculada, apresentar maior digestibilidade, esperava-se diferença no consumo de MS digestível entre os tratamentos, fato que não foi comprovado neste experimento, possivelmente pelo fornecimento de uma dieta total aos animais. Nadeau *et al.* (2000) relataram que silagens altamente digestíveis estão associadas com o alto consumo, uma vez que melhora a digestão dos nutrientes, provocada por mudanças na estrutura física e química da fibra, resulta em maior utilização de nutrientes maior taxa de digestão e aumento no consumo (Kung e Muck, 1997).

Conclusão

A adição do inoculante Silobac® à silagem pré-secada de alfafa proporcionou maior digestibilidade de nutrientes da dieta como um todo, embora não tenha proporcionado maior consumo de matéria seca digestível ou de nutrientes digestíveis totais por vacas leiteiras.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos funcionários Everson Lázaro e Gilmar Botteon, pelo cuidado com os animais, e aos técnicos Ari de Castro, Gilson de Godoy e Simi Robassini, pela ajuda com as análises laboratoriais.

Referências

- AOAC-ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis*. 10. ed. Washington, D.C.: Association of Analytical Chemistry. 1980.
- BOLSEN, K. K *et al.* Effect of commercial inoculants on fermentation of 1987 and 1988. In: *Kansas Silage Crops*. Des Moines: Pioneer Hi-Bred Int., 1989. p. 1-19.
- CARVALHO, F. F. R. *et al.* Uso de indicadores internos para estimar a digestibilidade dos nutrientes de rações para cabras em lactação alimentadas "ad libitum". *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 270-278, 1992.
- CHARMLEY, E. *et al.* Effect of inoculation on silage quality and performance of steers fed grass and cereal silages either alone or in combination. *Can. J. Anim. Sci.*, Ottawa, v. 76, n. 4, p. 571-577, 1996.

- GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. *Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some applications*. Washington, DC.: ARS-USDA, 1970. (Agric. Handbook, n. 379).
- GUIM, A. *et al.* Efeito de inoculante microbiano sobre o consumo, degradação *in situ* e digestibilidade aparente de silagens de milho (*Zea mays* L.). *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 24, n. 6, p. 1045-1053, 1995a.
- GUIM, A. *et al.* Efeito de inoculante microbiano sobre consumo, degradação *in situ* e digestibilidade aparente das silagens de capim-elefante cv. Napier (*Pennisetum purpureum* Schum). *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 24, n. 6, p. 1054-1061, 1995b.
- KEADY, T. W. J.; MURPHY, J. J. The effects of treating low dry matter herbage with a bacterial inoculant or formic acid on the intake and performance of lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v. 64, n. 1, p. 25-36, 1997.
- KENT, B. A. *et al.* Effect of bacterial inoculant on alfalfa haylage: ensiling characteristics and milk production response when fed to dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 71, n. 9, p. 2457-2461, 1988.
- KUNG JUNIOR, L. *et al.* Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 67, n. 2, p. 299-306, 1984.
- KUNG JUNIOR, L.; MUCK, R. E. Animal response to silage additives. In: SILAGE: FIELD TO FEEDBUNK NORTH AMERICA CONFERENCE, 1997, Hershey. *Proceedings...* Hershey: NRAES, 1997. p. 200-210.
- MADER, T. L. *et al.* Effect of additive on alfalfa silage fermentation characteristics and feedlot performance of steers. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 68, n. 7, p. 1744-1747, 1985.
- MAYNE, C. S. An evaluation of an inoculant of *Lactobacillus plantarum* as an additive for grass silage for dairy cattle. *Anim. Prod.*, Neston, v. 51, n. 1, p. 1-13, 1990.
- MAYNE, C. S. The effect of formic acid, sulphuric acid and a bacterial inoculant on silage fermentation and the food intake and milk production of lactating dairy cows. *Anim. Prod.*, Neston, v. 56, n. 1, p. 29-42, 1993.
- McALLISTER, T. A. *et al.* Inoculants for alfalfa silage: effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot steers. *Livest. Prod. Sci.*, Amsterdam, v. 53, n. 2, p. 171-181, 1998.
- McDONALD, P. *et al.* *The biochemistry of silage*. 2. ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991.
- MIR, Z. *et al.* Effects of microbial inoculant and moisture content on preservation and quality of round baled alfalfa. *Can. J. Anim. Sci.*, Ottawa, v. 75, n. 1, p. 15-23, 1995.
- MORAN, J. P.; OWEN, T. R. The effects of Ecosyl treated silage on milk production by lactating cows. In: NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY, EVALUATION AND UTILIZATION, 1994, Lincoln. *Proceedings...* Lincoln: University of Nebraska, 1994. p. 126.
- MUCK, R. Inoculants for legume-grass silage. *Focus on Forage*, Wisconsin, v. 2, n. 3, 2000. Disponível em: <<http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/L&GInoc.pdf>>. Acesso em: 21 maio 2002.
- NADEAU, E. M. G. *et al.* Intake, digestibility and composition of orchardgrass and alfalfa silages treated with cellulase, inoculant, and formic acid fed to lambs. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v. 78, n. 11, p. 2980-2989, 2000.
- NRC-NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7.ed. Washington, DC: National Academy Press.
- PATTERSON, D. C. *et al.* An evaluation of an inoculant/enzyme preparation as an additive for grass silage for dairy cattle. *Grass Forage Sci.*, Oxford, v. 52, n. 3, p. 325-335, 1997.
- PHILLIP, L. E. *et al.* 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.*, Oxford, v. 45, n. 3, p. 337-344, 1990.
- POLAN, C. E. *et al.* Protein preservation and ruminal degradation of ensiled forage treated with heat, formic acid, ammonia, or microbial inoculant. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 81, n. 3, p. 765-776, 1998.
- RICE, D. W. *et al.* Effect of microbial inoculation on the digestibility of legume silages. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 73, p. 195, 1990. Supplement, 1.
- RODRIGUES, P. H. M. *et al.* Valor nutritivo de silagens inoculadas com bactérias ácido-láticas. 3. Inoculação da silagem de girassol. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: SBZ, 2001a. p. 915-916.
- RODRIGUES, P. H. M. *et al.* Valor nutritivo da silagem de capim-elefante cultivar Napier (*Pennisetum purpureum*, Schum) inoculada com bactérias ácido-láticas. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 23, n. 4, p. 809-813, 2001b.
- RODRIGUES, P. H. 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: SBZ, 2001c. p. 920-921.
- RODRIGUES, P. H. M. *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: SBZ, 2001d. p. 918-920.
- RODRIGUES, P. H. M. *et al.* Inoculação microbiana da alfafa para ensilagem sobre a digestibilidade aparente em carneiros. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 30, n. 6, p. 1925-1930, 2001e.
- SAS INSTITUTE. *SAS user's guide: statistics*. 7. ed. Cary, NC: SAS Institute, 1998.
- STOKES, M. R. Effects of an enzyme mixture, an inoculant, and their interaction on silage fermentation and dairy production. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 75, n. 3, p. 764-773, 1992.

Received on October 09, 2002.

Accepted on January 01, 2003.