

LUIZ GUSTAVO NUSSIO
Professor do Departamento de Produção Animal - ESALQ/USP

RICARDO PEREIRA MANZANO
Aluno de Doutoramento do Departamento de Produção Animal
- ESALQ/USP

Valor Nutritivo e Conservação

I. INTRODUÇÃO

A alfafa (*Medicago sativa* sp.) vem sendo extensivamente estudada e a ênfase no seu valor nutritivo tem merecido especial atenção por parte da comunidade científica. A busca por revisões abrangentes, nesse assunto, é normalmente infrutífera porque da grande diversidade de subáreas específicas de investigação sobre essa forrageira. A breve revisão apresentada a seguir tem como objetivos apresentar algumas evoluções na sistemática de avaliação do valor nutritivo dessas plantas, inovações no processo de conservação e práticas de manejo com ele relacionadas. Para a composição deste trabalho, foram acessadas revisões específicas que representam contribuições fundamentais na compreensão de sistemas de produção baseados em alfafa (BRODERICK, 1995; ALLEN e BECK, 1996; MUCK et al., 1996; DAVIES et al., 1998; HATFIELD e MUCK, 1999).

II. CONSERVAÇÃO

A forma de conservação da alfafa foi avaliada por HRISTOV et al. (1998), comparando feno e silagem. Segundo os autores, a fermentação ruminal observada para as dietas à base de feno foi superior à da silagem de alfafa. Esse fato foi explicado pela comparação de parâmetros ruminais e atividade enzimática (Tabela 1), bem como pela cinética da fração nitrogenada (Tabela 2), avaliada mediante o emprego de ^{15}N na adubação da alfafa.

Tabela 1. pH ruminal, atividade enzimática e concentração de ACV em vacas alimentadas com dietas à base de feno ou silagem de alfata.

Parâmetro	Feno	Dieta Silagem	EPM	Contrastes***		
				Dieta	Atividade/Acid. D x A	D x A
PH	6,33	6,58	0,078	0,034	—	—
ADP*				0,946	0,000	0,737
CMCase	42,1	44,1	2,05			
Xilanase	173,1	155,1	15,30			
β-glucanase	93,4	105,4	10,50			
Amilase	23,0	24,6	0,25			
AR**	3,5	3,6	0,25			
ACV				0,353	0,000	0,976
Acético	87,1	83,6	4,15			
Propiónico	24,5	21,0	1,19			
Butírico	14,6	13,2	0,81			
Valérico	2,0	2,1	0,10			
Total	131,6	123,8	6,20			
C ₂ :C ₃	3,6	4,1	0,19			

* ADP = Atividade de Degradação de Polissacáideos (nmol/LAR/ml/min); D= Dieta;

A= Atividade de Ácido; DxR= interação

** AR = Ácidos Redutores (nmol/L)

*** Valores de P; EPM = erro padrão da média.
Fonte: HRISTOV et al., (1998).**Tabela 2.** Áreas absolutas e relativas abaixo das curvas de frações nitrogenadas enriquecidas com ¹⁵N provenientes de vacas alimentadas com feno e silagem de alfata contendo

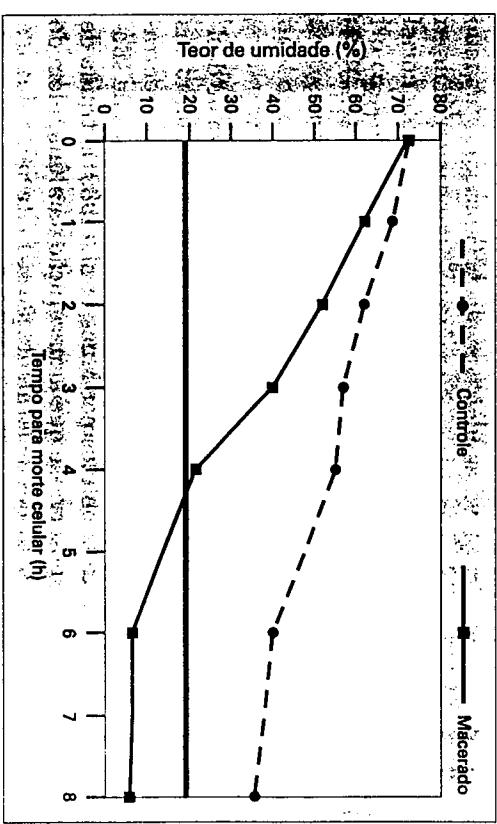
Parâmetro	Feno	Média	EPM	Silagem	
				Média	EPM
N ruminal total		6,115	0,632	1,924	0,002
N bacteriano rúmen		6,490	0,390	2,124	0,151
N protozoário rúmen		5,452	0,441	1,299	0,055
N urinário		5,710	0,440	1,822	0,115
N fecal		5,373	0,020	1,357	0,135
N-FDA fecal		4,165	0,079	0,887	0,076
N-FDN fecal		4,665	0,048	1,184	0,083
Válvula P		0,030		0,000	

Valores expressos como % do N ruminal total	Feno	Silagem	Contrastes		
			Valor P	Dieta	Pool D x P
N bacteriano rúmen	1,079	1,104	0,047	0,005	0,683
N protozoário rúmen	0,909	0,675			
N urinário	0,951	0,947			
N fecal	0,889	0,705			
N-FDA fecal	0,690	0,461			
N-FDN fecal	0,772	0,615			

Fonte: HRISTOV et al. (1998).

Os dados relacionados na Tabela 2 demonstram a maior disponibilidade de nitrogênio do feno de alfata aos microrganismos ruminais, comparada à disponibilidade do nitrogênio da silagem. Segundo McDONALD et al. (1991), a atividade enzimática das plantas forrageiras pode cessar ou sofrer grande redução, quando a forragem sofre desidratação ou tem o pH reduzido. Provavelmente, o período de ação das enzimas proteolíticas da planta foi maior sobre a forragem que sofreu desidratação, causando maior proteólise, elevando os teores de proteína solúvel do feno em relação aos teores dessa fração na alfata ensilada.

Para aumentar a taxa de desidratação da alfata visando a redução do tempo de secagem no campo, a maceração surge como alternativa (KRAUS, 1997; ORLOFF et al., 1997). Esse processo consiste no condicionamento mecânico da forragem, que aumenta a taxa de desidratação por rompimento da cutícula cerosa e ruptura da haste, permitindo que a água evapore da planta, sem ter de se difundir através da epiderme (HINTZ et al., 1999). A perda de umidade da alfata macerada pode ocorrer de forma muito rápida em condições ambientais favoráveis, atingindo valores como 20% de umidade (Figura 1) em menos de cinco horas após a ceifa (KRAUS, 1997; HINTZ et al., 1999).

**Figura 1.** Taxa de desidratação para leiras de alfata com e sem maceração da forragem ceifada.

Como resultado do processo de maceração, HINTZ et al. (1999) apontam melhora na densidade da alfafa, nas características de ensilagem, utilização da forragem e desempenho animal. Em relação à qualidade da forragem, a maceração aumentou a taxa de digestão *in vitro* da fibra em detergente neutro (FDN) 0,032.h⁻¹ de para 0,089.h⁻¹, quando comparada ao controle. Cálculos baseados nesses dados determinaram que 95% do FDN potencialmente digestível da alfafa macerada seria digerido após 33,5 horas, comparadas às 94,2 horas necessárias para a alfafa não macerada. HINTZ et al. (1999) concluíram que a maior taxa de desaparecimento ruminal do FDN da alfafa seca (IMS), por reduzir as limitações físicas de enchimento. Nos dados obtidos por Koegel et al. (1992), citados por KRAUS (1997), apresentados na Tabela 3, podemos observar os efeitos discutidos anteriormente. Observando-se a Tabela, fica evidente o aumento nas taxas de digestão da fração FDN e na ingestão de matéria seca por ovinos alimentados com feno de alfafa macerado e não macerado.

Tabela 3. Ensaio de digestibilidade com ovinos recebendo feno de alfafa macerado e não macerado (controle).

	Controle	Macerado	% Diferença
Experimento 1			
IMS, kg.dia ⁻¹	1,15 ^b	1,22 ^a	6,1
Digestibilidade Aparente FDN, %	43,0 ^d	48,5 ^c	12,8
Experimento 2			
IMS, kg.dia ⁻¹	1,22	1,28	4,9
Digestibilidade Aparente FDN, %	35,3 ^d	41,6 ^c	17,8

^{a,b} Médias nas linhas com letras diferentes diferem ($p<0,10$).

Fonte: Koegel et al. (1998) citados por KRAUS (1997).

Outro benefício da maceração é que, com a rápida taxa de desidratação conferida à forragem, há redução no tempo de atuação das enzimas proteolíticas, conferindo à alfafa macerada menor concentração de nitrogênio não protéico. Na Tabela 4, contendo dados de ensilagem de alfafa pré-seca obtidos por Muck et al. (1989) extraída de HINTZ et al. (1999), observa-se que a maceração da alfafa, além de promover melhores condições de fermentação ao material, reduziu a proporção de nitrogênio não protéico em relação ao nitrogênio total, quando comparada à silagem de alfafa pré-seca que não sofreu condicionamento. Esse menor teor de nitrogênio não protéico pode

ser explicado pelas melhores condições de desidratação impostas pela maceração, bem como pelas melhores condições de fermentação que a maceração propiciou à alfafa durante o processo de ensilagem.

Tabela 4. Características da silagem de alfafa pré-seca confeccionada com alfafa macerada e alfafa não macerada.

	Alfafa seca	Alfafa macerada	Alfafa controle
Bactérias láticas (ufc/g)	56,2	58,1	58,1
pH	4,82 ^b	4,68	2,38 ^b
Nitrogênio total, % MS	2,82	2,81	5,66
NNP, % NT ^a	40,5 ^b	6,17 ^c	50,83 ^c
Ácido láctico, % MS			1,13 ^c

^aNNP, % NT = Nitrogênio não protéico como % do nitrogênio total.

^{b,c}Médias acompanhadas de letras diferentes diferem entre si ($p<0,05$).
Fonte: Muck et al. (1989) citados por HINTZ et al. (1999).

Valores de pH inferiores a 4 são necessários para a redução da atividade das enzimas proteolíticas (MCDONALD et al., 1991). O conteúdo de matéria seca afeta a quantidade de substrato requerido para a fermentação, pois afeta o pH no qual cessa a atividade das bactérias láticas (RUGGIERI, 1995). Silagens mais secas apresentam pH final maior, indicando que ocorreu menor extensão da fermentação quando comparadas às silagens úmidas, evidenciando que o substrato requerido para uma completa fermentação é negativamente correlacionado com o conteúdo de matéria seca da cultura (MUCK, 1988). No caso dos aditivos ricos em carboidratos, os dados da literatura (RUGGIERI, 1995) mostram que, devido aos aumentos dos carboidratos solúveis e do conteúdo de ácido láctico, e à diminuição do pH final de estabilidade da silagem, a fração de proteína verdadeira em geral é preservada. O uso de açúcares (glucose e frutose) como aditivos, por SEALE et al. (1986) em alfafa ensilada, garantiu a esse material menor pH, maior teor de nitrogênio protéico, menor nitrogênio amoniacal, bem como maior quantidade de bactérias láticas e menor quantidade de coliformes.

Durante a pré-secação das plantas, é comum a ocorrência da hidrólise parcial da fração protéica. Assim, durante um período de pré-secação de 3 dias, mais de 20% do N protéico, em azevém, foi convertido em nitrogênio não protéico. A taxa de conversão depende, portanto, da velocidade de secagem. Por outro lado, quando a cultura é ensilada diretamente após a colheita das plantas, ocorre extensiva

proteólise durante os primeiros dias de estocagem. Nas primeiras 12 a 24 horas após a ensilagem, o conteúdo de nitrogênio não protéico da forragem pode aumentar de menos de 20% para mais de 40% do nitrogênio total (MUCK, 1988). No caso da alfafa, o nitrogênio não protéico corresponde a de 20 a 30% do nitrogênio total e, após a ensilagem, esse nitrogênio não protéico pode passar a representar 40 a 85% do N total (RUGGIERI, 1995). Durante a desidratação, a taxa de autólise das proteínas das forragens é controlada pelo acesso dessas proteínas pelas proteases. Entretanto tanto quanto uma planta pode respirar na presença de oxigênio, as membranas das organelas das células vegetais permanecem intactas, restringindo a proteólise. O oxigênio na massa ensilada é reduzido rapidamente após a ensilagem e as membranas das organelas são desintegradas, expondo suas proteínas e levando a aumento na autólise celular (BRODERICK, 1995).

MUCK (1987), medindo o efeito do aumento do conteúdo de MS (17, 27, 64 e 73% MS) sobre a fermentação e transformações do nitrogênio na silagem de alfafa, verificou que o aumento da matéria seca da silagem diminuiu a concentração final de nitrogênio não protéico, aminoácidos livres e amônia, bem como a taxa inicial de proteólise após a ensilagem do material.

Observa-se, desses dados que, apesar de um aumento no tempo de secagem da alfafa no campo propiciar maiores alterações na fração protéica das plantas, o maior teor de matéria seca atingido com a pré-seagem da forragem poderá ter efeito compensatório durante a fermentação do material após a ensilagem.

A extensiva degradação da proteína da alfafa no rúmen reduz a utilização da proteína pelos animais ruminantes (Broderick, 1985, citado por YANG et al., 1993). O aquecimento de alimentos concentrados, como o farelo de soja, o grão de soja integral e do farelo de algodão tem garantido menor disponibilidade de nitrogênio no rúmen e aumentado o desempenho animal (YANG et al., 1993). A substituição da proteína do farelo de soja por proteína de alfafa processada com aquecimento parece reduzir a degradação ruminal e aumentar a absorção intestinal de aminoácidos (PRICE et al., 1988). Entretanto o superaquecimento de alimentos pode causar um efeito contrário, reduzindo a disponibilidade de proteína e de carboidratos para os animais (VAN SOEST, 1994).

Dessa forma, YANG et al. (1993) estudaram formas de tratamento térmico sobre a degradabilidade ruminal *in vitro* da proteína da

alfafa, bem como a proporção do nitrogênio total retido na fração nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), para determinar o efeito do superaquecimento. Esses autores observaram que o aquecimento moderado do feno de alfafa reduz a degradação da proteína e melhora a utilização dessa fração pelos animais. Os melhores resultados de escape líquido de proteína do rúmen (escape total menos fração da proteína bruta na forma de NIDA) foram obtidos quando o feno de alfafa foi tratado por 120 minutos a 150°C e 60 minutos a 160°C, com ventilação forçada de ar seco, e quando o feno de alfafa foi submetido a aquecimento por vapor de 30 a 120 minutos a 100°C ou por 15 minutos a 110 ou 120°C.

Na mesma linha de pesquisa, BRODERICK et al. (1993) observaram aumento no escape líquido de proteína do rúmen (escape total menos fração da proteína bruta na forma de NIDA) estimado *in vitro*, quando trataram o feno de alfafa com vapor por 47 minutos a uma temperatura variando entre 100 e 110°C. Nesse mesmo trabalho, os autores estudaram o fornecimento do feno de alfafa tratado por aquecimento a vacas em lactação em dois experimentos. No experimento 1, os fardos tratados ou controle (sem aquecimento) foram utilizados como volumoso único na proporção de 81% da matéria seca. As vacas que consumiram o feno aquecido tiveram sua produção de leite, proteína, lactose e sólidos não gordurosos diminuída, além de apresentarem menor digestibilidade da matéria seca e do nitrogênio, e menores concentrações ruminais de amônia e ácidos graxos voláteis. Entretanto, no segundo experimento conduzido por esses autores, a substituição do feno de alfafa e da silagem de alfafa, em 24% da matéria seca da dieta, por feno de alfafa aquecido com vapor por 47 minutos, em uma temperatura de 100 a 110°C, aumentou a ingestão de matéria seca, a produção de leite e a produção dos componentes do leite (gordura, proteína e lactose), quando a redução do conteúdo energético ocasionado pelo aquecimento do feno foi compensada por aumento no fornecimento de alimentos concentrados. Além disso, a produção de leite de vacas recebendo dieta com 17% de PB contendo feno de alfafa tratado com vapor foi semelhante à produção de leite de vacas alimentadas com silagem de alfafa e farelo de soja contendo 23% de PB, o que evidencia a maior eficiência de utilização da proteína da dieta contendo o feno de alfafa aquecido com vapor.

Outra forma de diminuição da degradação da proteína é a extensão. Esse tratamento produz um aquecimento moderado (< 100°C), que pode evitar a formação de NIDA, protegendo a proteína dos ve-

getais da proteólise ruminal (TSOPITO et al. 1998). Assim, TSOPITO et al., (1998) reidrataram o feno de alfafa a 30% de umidade, procederam a uma moagem e subsequente extrusão. Os autores observaram que a extrusão da alfafa diminuiu as taxas e a extensão de degradação da proteína da alfafa, sem aumentar a fração indisponível (NIDA).

III. PERFIL DA FRAÇÃO NITROGENADA E CONTROLE DA PROTEÓLISE

A forragem produzida em sistemas baseados em alfafa apresenta, entre outras características, um elevado nível de compostos nitrogenados. Essa fração pode estar presente na forma de proteína, como também de nitrogênio não protéico (NNP), o qual normalmente prevalece em forragens com elevado valor nutritivo. Em ruminantes, a fração proteína pode ser representada pela proteína degradável no rúmen, atendendo à exigência dos microrganismos; e a fração não degradável que escapa da ação dos microrganismos, chegando intacta ao intestino. A fração NNP é caracterizada por conter oligopeptídeos, aminoácidos livres e compostos contendo amônia. O conhecimento dos processos biológicos que determinam a proteólise é relativamente restrito; entretanto, é reconhecida a maior extensão da proteólise na silagem durante a fermentação no silo, quando comparada à produção de feno da mesma forragem. De acordo com BRODERICK (1995), a redução na taxa e na extensão da degradabilidade da proteína, redução da proteólise e da formação de NNP no silo poderiam levar a um maior valor nutritivo na alfafa, traduzido em geral por acréscimos na síntese de proteína microbiana no rúmen.

A distribuição das proteínas nas folhas das forragens está summarizada na Tabela 5 de Mangan (1982), extraída de BRODERICK (1995). Aproximadamente 66% do total de proteínas presentes na porção de folhas está na forma de ribulose-1,5-bifosfato carboxilase (Rubisco), que representa a proteína da fração 1 mais e das proteínas da fração 2, representando outras proteínas enzimáticas. Outros 30% das proteínas das plantas forrageiras são encontrados nas membranas das células vegetais das plantas, sendo estas: proteínas associadas com os ácidos nucleicos da planta e a fração de extensinas, representando uma porção diminuta dessas proteínas, associadas com a estrutura de microfibrilas da parede celular.

É pouco provável que qualquer dessas proteínas possa ser adulterada sem alterar o sistema metabólico ou a genética da planta. A alternativa mais promissora seria adicionar compostos exógenos para

reduzir a proteólise autolítica ou microbiana, uma vez que as tentativas de modificar as proteínas funcionais das plantas vêm apresentando resultados erráticos (BRODERICK, 1995).

Tabela 5. Distribuição de proteínas intactas nas folhas das forragens.

Fração proteica	Proporção*
Rubisco (proteína da fração 1)	32,4(0)%
Proteínas da fração 2	~25%
Proteínas Tilacóide (Prot. da membrana)	~25%
Proteínas da Mitocôndria	< 5%
Nucleoproteínas	1-2%
Extensina	"baixa"

* Proporções de proteínas intactas. Aminoácidos livres e outros compostos nitrogenados de baixo peso molecular representam 10 a 20% do total de nitrogênio contido nas plantas. Fonte: Mangan (1982), citado por BRODERICK (1995).

As principais proteínas da forragem representadas pela Rubisco e as proteínas da fração 2 não sobrevivem à autólise durante a seca-gem a campo e durante a ensilagem (BRODERICK, 1995). A taxa de desaparecimento da Rubisco é muito elevada, sendo essa proteína completamente degradada em dois dias (Figura 2) após a ensilagem da alfafa (FAIRBAIRN et al. 1988).

Como a maior quantidade de proteínas presentes nas forragens está na forma enzimática, em especial a Rubisco, esforços foram concentrados na avaliação das quantidades residuais dessa proteína após a ensilagem de forragens com aditivos que visam um rápido abaixamento do pH para que a proteólise na massa ensilada fosse reduzida ao mínimo. DAVIES et al. (1998) observaram que silagens confecionadas com forragens contendo baixos níveis de carboidratos solúveis apresentaram qualidade inferior àquelas contendo níveis superiores de carboidratos solúveis, traduzida por baixos níveis de Rubisco e elevados níveis de amônia, independentemente dos tratamentos impostos (controle, aditivo microbiano *Lactobacillus plantarum* e ácido fórmico). Nas silagens contendo baixos níveis de carboidratos solúveis, os tratamentos não foram eficazes em promover diferenças estatisticamente significativas quanto à composição química das silagens. Em oposição, nas silagens com concentrações superiores de carboidratos solúveis na matéria seca, o uso de inoculante bacteriano (*Lactobacillus plantarum*) reduziu o nível de amônia e assegurou maior quantidade de Rubisco residual em relação ao tratamento controle, após noventa dias de ensilagem (Tabela 6).

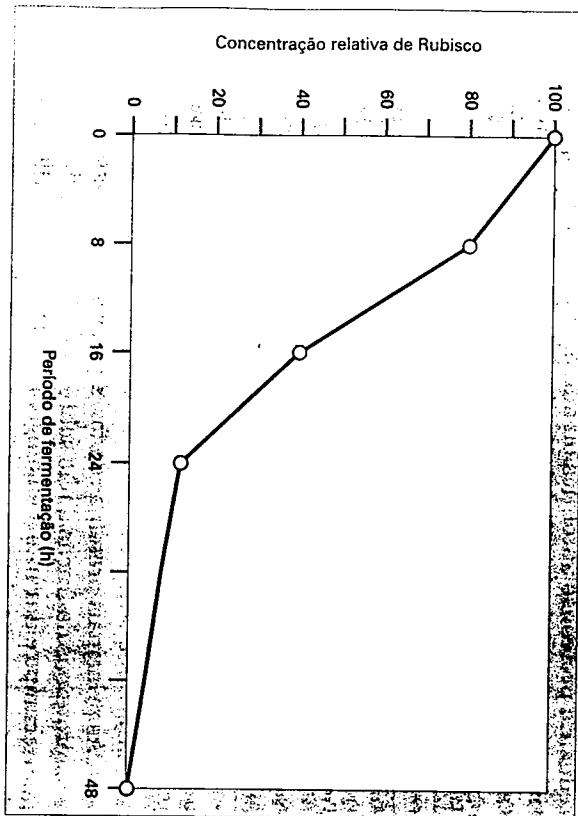


Figura 2. Diminuição da concentração de ribulose 1,5-bifosfato carboxilase em alfafa ensilada durante a fermentação.

Tabela 6. Alterações na composição química de silagens 90 dias após a ensilagem, confeccionadas com forragem contendo alto nível de carboidrato solúvel (ANCS) e com forragem contendo baixo nível de carboidrato solúvel (BNCS) sem aditivos (SA), com inoculante bacteriano *Lactobacillus plantarum* (IB) e ácido fórmico (AF).

Composição	ANCS			BNCS		
	SA	IB	AF	SA	IB	AF
pH	3,66 ^a	3,43 ^c	3,52 ^b	5,04	5,19	4,45
MS, g/kg MV**	177,7 ^a	180,0 ^a	181,7 ^a	124,6	122,2	132,5
AC. láctico, g/kg de MS	103,56 ^a	135,75 ^a	93,85 ^a	55,55	54,60	81,80
AC. acético, g/kg de MS	28,40 ^a	14,14 ^b	ND ^c	63,09	70,82	68,10
AC. láctico:AC. acético	3,85 ^a	9,14 ^c	ND ^c	0,85	0,76	1,89
AC. butírico, g/kg de MS	ND	ND	ND	25,62	ND	ND
N total, g/kg de MS	19,18 ^{ab}	18,07 ^{bc}	19,69 ^a	36,66	36,17	38,44
N amoniacal, g/kg N total	54,38 ^a	18,45 ^b	54,73 ^a	260,45	305,82	72,13
RUBISCO, % da Rubisco na forragem	51 ^b	62 ^a	53 ^a	47	44	47

* ND = não detectado

** MV = matéria verde

Fonte: Adaptado de DAVIES et al. (1998).

Segundo KUNG JR. e MUCK (1997), a explicação para o fato é que a utilização de inoculantes em forragens com níveis adequados de carboidratos solúveis promoveria um rápido abaixamento do pH, o que reduziria a ação proteolítica das enzimas das plantas forrageiras, diminuindo as quantidades de amônia, aminoácidos livres e amônias na massa ensilada. O pH da silagem inoculada confeccionada com forragem contendo alto nível de carboidrato solúvel no experimento realizado por DAVIES et al. (1998) foi reduzido de 6,18 para 3,60, do primeiro para o quarto dia após a ensilagem, enquanto na silagem com baixo nível de carboidrato esse declínio de pH foi menos intenso, de 5,45 para 3,89, no mesmo período.

Dessa forma, fica evidente que a concentração dos carboidratos solúveis nas plantas forrageiras é importante, ao contribuirem como substratos à fermentação lática, para que esta assegure um rápido abaixamento do pH, o que garantiria a produção de silagens superiores. PUTNAM et al. (1998) observaram que a alteração na concentração de carboidratos ao longo do dia foi próxima de 4 a 5 pontos percentuais na matéria seca da alfafa, podendo interferir na concentração energética da forragem, uma vez que as concentrações de minerais, proteína bruta, FDN e FDA não foram alteradas no período de 24 horas, levando por conseguinte, à alteração na concentração desses componentes na matéria seca. Desse modo, ao final da tarde, as porções representadas pela parede celular, proteína e minerais estariam diluídas na planta, representando menor concentração e, à noite, consequentemente mais concentradas, havendo menor concentração de carboidratos solúveis. Os dados relatados pela Pioneer Hi-Breed International sobre avaliação qualitativa de áreas de produção de feno de alfafa, sob diferentes regimes de horários de enfardamento, apresentados na Tabela 7, confirmam a hipótese de superioridade do corte e enfardamento noturno.

Tabela 7. Valor nutritivo de feno de alfafa enfardado em diferentes horários, em clima semi-árido.

Parâmetro	Horário de enfardamento		
	15:30	19:00	21:30
NDT, %	64,1	68,5	68,9
VAR*, PB, %	130,2	151,6	165,3

* VAR = Valor Alimentício Relativo.

Fonte: Paul Meyer, Pioneer Hi-Breed International Inc.

Essa variação diurna na concentração de carboidratos solúveis pode direcionar o manejo de corte da alfafa, favorecendo cortes após a metade do dia para obtenção de forragem com nível de carboidrato solúvel maior, o que provavelmente iria favorecer o processo de fermentação no início do processo de ensilagem.

As características da silagem de alfafa foram estudadas por MUUCK e HINTZ (1996), que trabalharam com oito genótipos oriundos de cultivares padrão e outros obtidos por meio de “cruzamentos” para a produção de alfafa de alta qualidade. Os resultados sugerem que os esforços para obtenção de genótipos de alfafa de alta qualidade não interferiram nas características da fração nitrogenada da silagem com eles confeccionada, indicando que o cruzamento desses materiais não foi eficaz em alterar as taxas de proteólise no material ensilado.

O estudo da proteólise em silagens de trevo vermelho e alfafa foi conduzido por JONES et al. (1995), que observaram que a proteólise que ocorreu nas silagens de trevo foi inferior à observada nas silagens de alfafa. Um detalhado estudo foi conduzido por esses autores, para determinar se houve diferença entre os tipos de proteínas, ou se as diferenças poderiam ser detectadas entre as proteases. Não foi encontrada diferença entre os tipos de proteínas e proteases presentes nas duas leguminosas. Além disso, o trevo vermelho não contém tanino, como é o caso de outras leguminosas, substância capaz de ligar-se e prevenir a degradação de proteínas. Entretanto, o trevo vermelho contém duas substâncias que não são encontradas em grandes quantidades na alfafa: fenóis solúveis de baixo peso molecular e uma enzima “especial”, chamada polifenol oxidase (PPO) (HATFIELD, 1996). HATFIELD e MUUCK (1999) observaram uma queda na atividade proteolítica dos caldos celulares de trevo vermelho e de alfafa misturados com o de trevo vermelho, em relação à atividade proteolítica observada para extrato de alfafa (Figura 3). Esses autores acreditam que a redução da proteólise deveu-se à presença da enzima polifenol oxidase e de polifenóis solúveis, fato também corroborado por HATFIELD (1996).

Apesar da forte evidência de que a PPO e a presença de polifenóis solúveis são responsáveis pela baixa degradação da proteína no trevo vermelho, o mecanismo específico ainda não foi estabelecido. O mais provável é que o mecanismo de inibição da proteólise pela PPO é a ligação direta das *o*-quinonas produzidas pela PPO às proteases (HATFIELD, 1996). A elucidação do mecanismo da ação da enzima, juntamente com a modificação de plantas que possam adquirir genes

produtores de PPO é uma frente promissora da pesquisa que visa a inibição da proteólise na alfafa conservada.

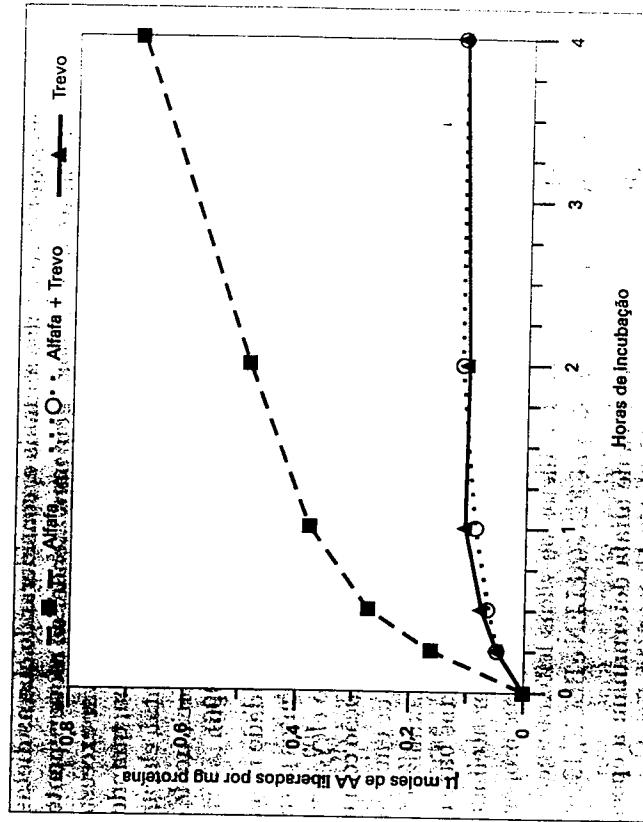


Figura 3. Atividade proteolítica em extratos exclusivos de trevo vermelho, de alfafa e de uma mistura de trevo vermelho mais alfafa 1:1 (v.v.). Reações foram em tampão fosfato, usando proteína do tipo 1 (isolada da alfafa) como substrato.

4. AVALIAÇÃO DO VALOR NUTRITIVO DA ALFAFA

A qualidade da forragem é um tema complexo e um tanto quanto difícil de ser definido precisamente, especialmente para ruminantes.

A função primária das forragens nas dietas de ruminantes é prover energia, proteína e fibra efetiva necessária para manter a saúde e criar um ecossistema microbiano desejável no rúmen. A alfafa imatura apresenta maior digestibilidade, maior conteúdo protéico e, em geral, proporciona níveis de fibra insuficientes em dietas contendo níveis elevados de grãos. Dietas contendo alfafa imatura caracterizam-se por apresentar densidade energética menor que aquelas dietas contendo alfafa com moderados níveis de fibra, em virtude de o

balanceamento de nutrientes sugerir baixos níveis de grãos a serem adicionados, no sentido de manter os níveis de fibra requeridos. Além disso, a alfafa imatura apresenta elevada concentração de proteína, superior ao requerimento dos animais e, considerando que as dietas devem conter altos níveis de forragem para atender ao requerimento de fibra mínimo na dieta de bovinos leiteiros, é comum haver excesso de proteína fornecida aos animais. Esse excesso de proteína, quando excretado pelos animais, pode causar contaminação ambiental, elevar o gasto energético do animal para excretá-lo e pode interferir no desempenho reprodutivo dos animais (ALLEN e BECK, 1996).

Por outro lado, a alfafa colhida em estádio de maturidade mais avançado requer o uso de grandes quantidades de suplementos para atender às exigências energéticas e protéicas, geralmente elevando o custo da ração. A digestibilidade da fibra também sofre redução com o avanço da maturidade, possivelmente reduzindo a ingestão de energia e o desempenho do animal (ALLEN e BECK, 1996). Para maximizar o desempenho e minimizar o custo de suplementação de dietas baseadas em alfafa como volumoso, essa leguminosa deveria ser aceifada quando atingisse um conteúdo mínimo de parede celular, que proporcione um nível de fibra adequado às dietas de vacas leiteiras, geralmente quando a planta atinge 40 a 45% de FDN (ALLEN e BECK, 1996).

Atualmente, muitos produtores de alfafa determinam a época de corte por meio do uso de calendários e/ou de avaliações no campo. O principal problema da colheita da alfafa, baseada em calendários, é que as condições ambientais existentes durante o crescimento da planta podem modificar-se e, dessa forma, provocar grandes variações na maturidade do material na época do corte. Avaliações visuais das áreas de produção para estimar a maturidade da alfafa são pouco precisas. Outra forma de mensurar o valor nutritivo do material para decidir sobre a ceifa é o uso de análises bromatológicas antes do corte por meio de técnicas e métodos convencionais ou do uso da espectro-metria infravermelha (NIRS). Entretanto, para a obtenção dos resultados analíticos, custo e tempo requeridos são considerados limitações dessa rotina. As mudanças diárias na composição química da planta que ocorrem antes da ceifa também contribuem para a menor exatidão dessa avaliação (ORLOFF, 1996).

Pesquisadores têm trabalhado no sentido de desenvolver um método mais exato para predizer o valor nutritivo da alfafa antes do corte. Os esforços têm se concentrado em três áreas: modelos de cresci-

mento em graus dia, morfologia da planta (estádio de maturação) e equações de predição baseadas na altura da planta e no estádio de maturação da alfafa (ORLOFF, 1996).

O modelo de crescimento em graus dia utiliza a temperatura (temperatura média diária menos uma temperatura base) para prever o crescimento e a qualidade da forragem. A temperatura base normalmente utilizada é de 5°C. A data inicial para início do acúmulo de graus dia é importante ser considerada e tem variado entre estudos. Em alguns estudos, a data de 1º de março no Hemisfério Norte foi utilizada, enquanto, em outros, o início do acúmulo de graus dia ocorre após a temperatura manter-se acima de 5°C por cinco dias consecutivos. Estudos realizados no meio-oeste norte-americano indicaram que a alfafa com 700 graus dia na primavera atingiu 40% de FDN. Apesar de o FDN ser uma fração diferente do FDA, 40% de FDN na matéria seca da alfafa é comparável a 54% de NDT (ORLOFF, 1996). Isso pode ser visualizado na Figura 2 montada a partir de dados coletados por Cherney (1995), retirada do trabalho de CHERNEY e SULC (1997).

O método de graus dia tem a desvantagem de ser muito vulnerável a alterações climáticas entre diferentes regiões, o que limita sua utilização em larga escala (ORLOFF, 1996), além de exigir a montagem de estações meteorológicas próximas da área cultivada com alfafa, onde será estimado o valor de FDN (CHERNEY e SULC, 1997).

Outro sistema de avaliação relatado por ORLOFF (1996) é o método de avaliação do estádio de crescimento. Nesse método, médias dos pesos dos caules em cada categoria são utilizadas para predizer o valor nutritivo da forragem. Também chamado de estádio médio pelo peso, esse método consome muito tempo para ser utilizado pela maioria dos produtores como ferramenta para manejo de colheita (ORLOFF, 1996).

Dentre os métodos, o que parece mais promissor é o das equações preditoras baseadas na altura da planta e no estádio de maturação da alfafa, denominado de PEAQ ("Predictive Equations for Alfalfa Quality"). Ele é largamente aceito pelos produtores e consultores, uma vez que constitui um método rápido, relativamente simplificado e oferece uma razoável exatidão (ORLOFF, 1996).

Na Figura 3, retirada de CHERNEY e SULC (1997), pode ser observada a comparação entre os teores de FDN determinados por análises bromatológicas convencionais e os valores estimados por meio de equação de FDN do modelo PEAQ.

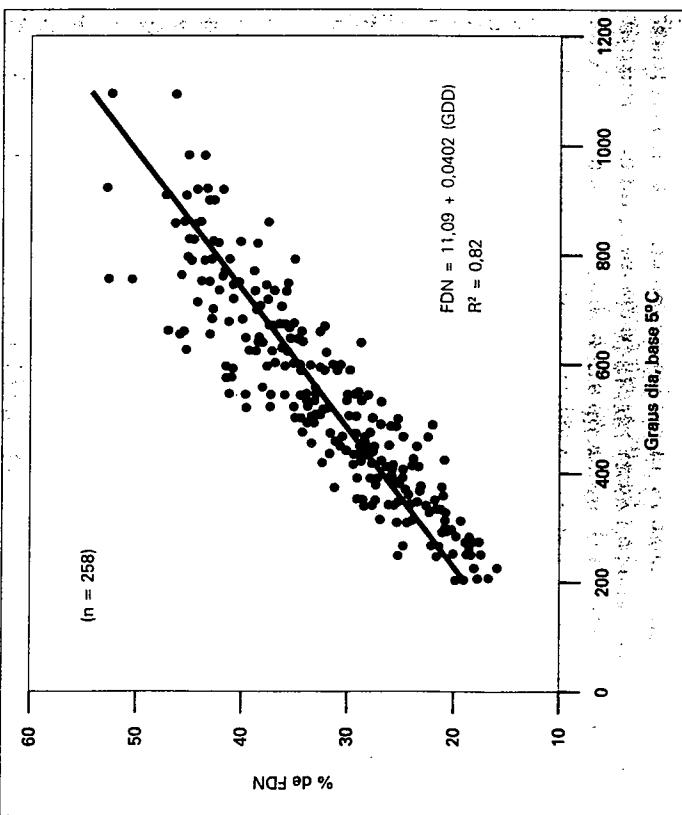


Figura 4. Equação para estimativa do FDN usando o modelo de crescimento em graus dia e os dados de FDN determinados em laboratório no Estado de New York durante os anos de 1992 - 1994 (CHERNEY, 1995).

O PEAQ foi desenvolvido a partir dos dados de HINTZ e AL-BRECHT (1991), que avaliaram 15 características morfológicas da alfafa, para determinar qual variável ou grupo de variáveis seriam mais efetivas no desenvolvimento de equações para estimativa rotineira da qualidade da forragem a ser ceifada. A altura do caule mais alto e o estádio de maturidade do caule mais maduro representaram melhor a variação interna e permitiram maior exatidão na predição das estimativas do conteúdo de proteína celular da alfafa.

SAPIENZA (1996) apresentou um sumário do modelo PEAQ, conforme apresentado abaixo:

$$FDN = 16,89 + 0,69 \text{ (altura)} + 0,81 \text{ (maturidade)}$$

$$FDA = 11,57 + 0,53 \text{ (altura)} + 0,79 \text{ (maturidade)}$$

Altura: altura (polegadas) do caule mais alto.

Maturidade: índice de maturidade do caule mais maduro.

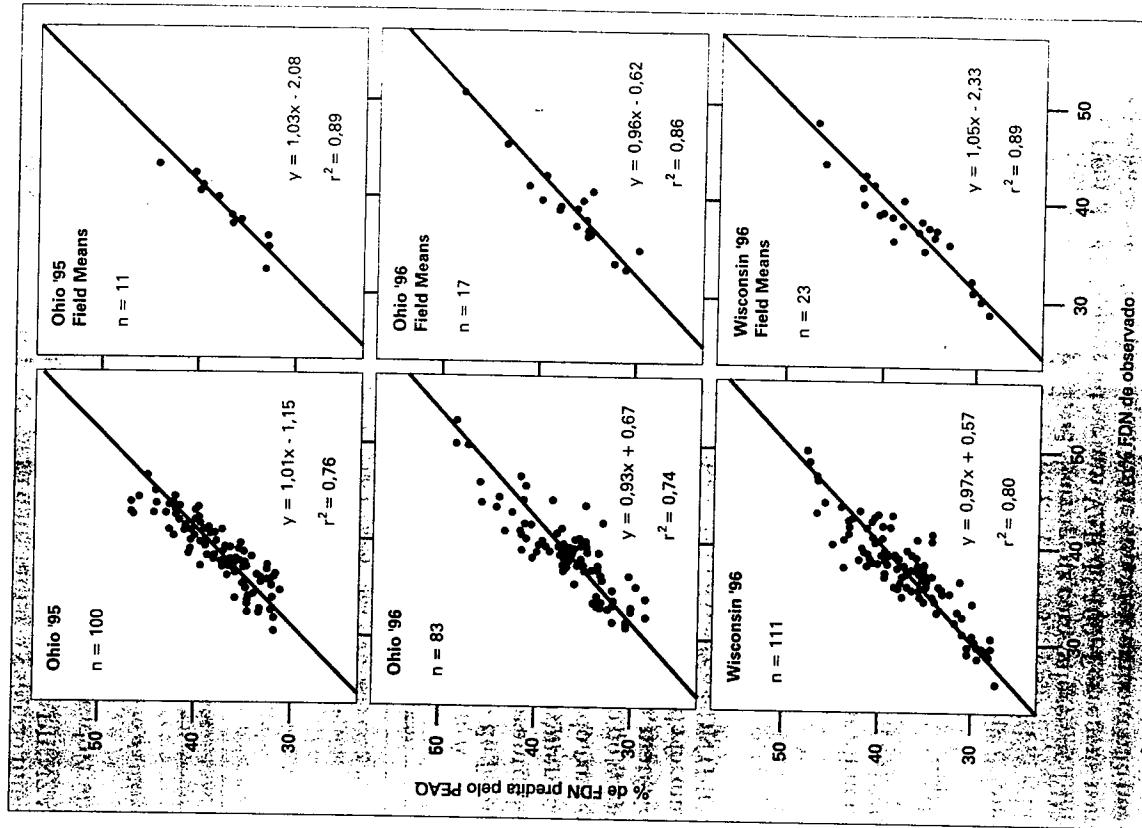


Figura 5. Valores de FDN estimados pelo PEAQ vs. valores de FDN determinados em laboratório em amostras de alfafa dos Estados de Ohio e Wisconsin.

As observações de maturidade para determinar o valor do índice de maturidade estão presentes na Tabela 8, retirada de SAPIENZA (1996).

Tabela 8. Demonstração das observações de maturidade no caule mais maduro da alfafa para determinação do índice de maturidade.

Índice de maturidade	Observação da maturidade
0	comprimento do caule menor do que 6 polegadas
1	comprimento do caule de 6 a 12 polegadas
2	comprimento do caule maior que 12 polegadas
3	1 a 2 nós com botões visíveis
4	mais do que 2 nós com botões visíveis
5	1 nó com, no mínimo, uma flor aberta
6	2 ou mais nós com flores abertas

Fonte: SAPIENZA (1996).

O uso desse método de predição auxiliará a obtenção de feno, silagens e silagem pré-seca com maior valor nutritivo, garantindo ao produtor remuneração maior por tonelada de volumoso comercializada. O preço da tonelada de feno é estabelecido de acordo com o valor alimentício relativo (VAR) (PUTNAM, 1998). O cálculo do valor alimentício relativo é executado a partir das fórmulas da matéria seca digestível (MSD) da alfafa, baseada no valor de FDA; e da fórmula de ingestão de matéria seca (IMS), baseada no teor de FDN (PIO-NEER FORAGE MANUAL 1990), apresentadas abaixo:

$$\text{MSD (\%)} = 88,9 - (0,779 \times \% \text{FDA})$$

$$\text{IMS (\% do peso vivo)} = 120 / \% \text{FDN}$$

De posse desses valores, pode-se fazer o cálculo do valor alimentício relativo (VAR), conforme a fórmula apresentada pelo PIONEER FORAGE MANUAL, 1990:

$$\text{VAR} = \% \text{MSD} \times \text{IMS (\% do PV)} / 1,29$$

O valor obtido para o VAR não possui unidades, mas é uma maneira de comparar o potencial de duas ou mais forragens em relação à ingestão de energia digestível. Forragens com valores de FDN de 53% e FDA de 41% apresentam um VAR de 100. Forragens com valores maiores que 100 são de qualidade superior, embora não possam ser consideradas forragens de excelente qualidade. Produtores de leite que trabalham com vacas de alta produção preferem alfafa com VAR igual ou superior a 124. Vale ressaltar que o VAR não considera a fração proteíca das forragens, devendo a proteína ser ava-

liada separadamente (PIONEER 1990). Na Tabela 9 constam alguns exemplos dos valores de VAR para alfafa comercializada no Estado de Nebraska, EUA.

Tabela 9. Valor alimentício relativo da alfafa em virtude das concentrações de FDN e FDA.

Padrão de qualidade	PB % da MS	FDA % da MS	FDN % da MS	% MSD	IMS % do PV	Índice VAR
Prime	>19	<31	<40	>65	>3,0	>151
1	17-19	31-35	40-46	62-65	3,0-2,6	151-125
2	14-16	36-40	47-53	58-61	2,5-2,3	124-103
3	11-13	41-42	54-60	56-57	2,2-2,0	102-87
4	8-10	43-45	61-65	53-55	1,9-1,8	86-75
5	<8	>45	>65	<53	<1,8	<75

Fonte: Nebraska Alfalfa Marketing Association Quality Standards.

A maior parte da alfafa comercializada na forma de feno, na região Central dos Estados Unidos, vem recentemente sendo submetida a correções (bonus/deságio) baseadas na umidade do material, conteúdo de proteína e VAR, sobre um valor base padronizado. Segue descrita a rotina de cálculo para definição do preço final do feno de alfafa.

Preço base	US\$ 60/tonelada
Umidade máxima	17%
Proteína bruta	17%
VAR	125 (máximo de 175)

A – Correção da umidade = $(17\% - \text{umidade observada}) \times 0,0125 \times \text{Preço base}$;

B – Correção para a proteína = $(\text{Proteína bruta observada} - 17\%) \times 0,04 \times (\text{Preço base} + A) \times 100$;

C – Correção para VAR = $(\text{VAR observado} - 125) \times 0,25$;

Preço final = Preço base + A + B + C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN M. e BECK, J. Relationship between spring harvest alfalfa quality and growing degree days. In: 26th National Alfalfa Symposium, East Lansing, MI, USA, 1996, p.16-25.
- BRODERICK, G.A. Desirable characteristics of forage legumes for improving protein utilization in ruminants. *J. Animal Science*, 1995, 73:2760-2773.
- BRODERICK, G.A.; YANG, J.H.; KOEGEL, R.G. Effect of steam heating alfalfa hay on utilization by lactating dairy cows. *J. Dairy Science*, 1993, 76: 165-174.
- CHERNYI, J.H.; SULC, R.M. Predicting first cutting alfalfa quality. Proceedings from the Silage:field to feedbunk North American Conference, Hershey, Pennsylvania, USA, 1997, p.53-65.
- DAVIES, D.R.; EMERY R.J.; WILLIAMS A.P.; BAKEWELL E.I.; LEEMANS D.K.; TWEED, J.K.S. Proteolysis during ensilage of forages varying in soluble sugar content. *J. Dairy Sci*, 1998, 81:444-453.

- FAIRBAIRN, R.L.; ALLI, I.; BAKER, B.E. Proteolysis associated with the ensiling of chopped alfalfa. *J. Dairy Science*, 1988, 71:152.
- HATFIELD, R. Biochemical strategies for improving alfalfa utilization in dairy production. Proceedings of the US Dairy Forage Research Center Information Conference with Dairy and Forage Industries, Madison, Wisconsin, USA, 1996, p.15-21.
- HATFIELD, R. e R. MUCK. Characterizing proteolytic inhibition in red clover silage. Proceedings of The XIIth International Silage Conference, Uppsala, Suécia, 1999, p.147.
- HINTZ, R.W.; ALBRECHT, K.A. Prediction of alfalfa chemical composition from maturity and plant morphology. *Crop Science*, 1991, 31:1561-1565.
- HINTZ, R.W.; KOEGEL, R.G.; KRAUS, T.J.; MERTENS, D.R. Mechanical maceration of alfalfa. *J. Animal Science*, 1999, 77:187-193.
- HRISTOV, A.N.; HUHTANEN, P.; RODE, L.M.; MCALLISTER, T.A. e S.N. ACHARAYA. In vivo metabolism of nitrogen from ¹⁵N-labelled alfalfa preserved as hay or silage. *Proc. Western Section, American Society of Animal Science*, 1998, 49: 306-309.
- JONES, B.A.; HATFIELD, R.D.; MUCK, R.E. Characterization of proteolysis in alfalfa and red clover. *Crop Science*, 1995, 35:537-541.
- KRAUS, T. Maceration: the process and nutrition implications. 27th California Alfalfa Symposium, University of California-Cooperative Extension, Visalia, CA, USA, 1997, p.31-44.
- KUNG, JR., L. E MUCK, R.E. Animal response to silage additives. Proceedings from the Silage field to feedbunk. North American Conference, Hershey, Pennsylvania, USA, 1997, p.200-211.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. The biochemistry of silage. 2^a ed. Chalcombe Publications, Marlow, UK, 1991.
- MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. *J. Dairy Science*, 1988, 71:2992-3002.
- MUCK, R.E. Dry matter level effects on alfalfa silage quality. I. Nitrogen transformations. *Transactions of the ASAE*, 1987, 30:7-14.
- MUCK, R.E. E HINTZ, R.W. Effects of breeding for quality on alfalfa ensilability. Conference with Dairy and Forage Industries, Dairy Forage Research Center, Madison, Wisconsin, USA, 1996, p.5.
- ORLOFF, S.B. Methods to access alfalfa forage quality in the field. In: 27th National Alfalfa Symposium, San Diego, CA, USA, 1996, p.183-193.
- ORLOFF, S.B.; PUTNAM, D.; KRAUS T. Maceration: What is its potential for California growers? 27th California Alfalfa Symposium, University of California-Cooperative Extension, Visalia, CA, USA, 1997, p.24-30.
- PIONEER FORAGE MANUAL. A Nutritional Guide. Pioneer Hi-Breed International Inc. 1990, 55p.
- PRICE, S.G.; SATTER, L.D.; JORGENSEN, N.A. Dehydrated alfalfa in dairy cow diets. *J. Dairy Science*, 1988, 71:727.
- PUTNAM, D.; MUELLER, S.; MARCUM, D.; FRATE, C.; LAMB, C.; CANEVARI, M.; BALLANCE, B.; KALLENBACH, R.; ORLOFF, S.; DENISON, F. Diurnal changes in alfalfa forage quality. *California/Nevada Symposium*, University of California Alfalfa Workgroup, UC Cooperative Extension, Uni-

- versity of Nevada Cooperative Extension and Nevada Farm Bureau, Reno, Nevada, USA, 1998, p.31-39.
- PUTNAM, D. Relationships among testing results of California alfalfa hay samples. *California/Nevada Symposium*, University of California Alfalfa Workgroup, UC Cooperative Extension, University of Nevada Cooperative Extension and Nevada Farm Bureau, Reno, Nevada, USA, 1998, p.148-149.
- RUGGIERI, A.C. *Silagem de alfafa*. Revista. Zootecnia, 1995, 33:55-68.
- SAPIENZA, D.A. Analytical methodologies to analyze forages and grains. Conference Proceedings of Seeds of Animal Nutrition, Pioneer Hi-bred International Inc., Rochester, New York, USA, 1996.
- SEALE, D.R. et al. The effect of addition of sugar and inoculation with two commercial inoculants on the fermentation of lucerne silage in laboratory silos. *Grass and Forage Sci.*, 1986, 41:61-70.
- TSOPITO, C.M.; HESS, B.W.; BURGWALD-BALSTAD, L.A. Extrusion as a method of partially protecting alfalfa proteins from ruminal proteolysis. Proc. Western Section, American Society of Animal Science, 1998, 49:165-168.
- VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2^a ed. Comstock Publishing Associates, Ithaca, USA, 1994.
- YANG, J.H.; BRODERICK, G.A. e R.G. KOEGEL, J. Effect of heat treating alfalfa hay on chemical composition and ruminal in vitro protein degradation. *J. Dairy Science*, 1993, 76 (1): 154-164.