



**COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS “IN SITU” E
PRODUÇÃO DE GÁS NA AVALIAÇÃO DE
ALIMENTOS PARA RUMINANTES.**

ROSELI APARECIDA DOS SANTOS

2001

52448

MFN-37105

ROSELI APARECIDA DOS SANTOS

**COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS "IN SITU" E PRODUÇÃO DE GÁS
NA AVALIAÇÃO DE ALIMENTOS PARA RUMINANTES.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Doutorado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes, para obtenção do título de "Doutor".

Orientador
Prof. Júlio César Teixeira



REGISTRO GERAL
52448
SAN
LAVRAS
7.52.448
DATA 27.11.2001

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2001

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA

Santos, Roseli Aparecida dos

Comparação das técnicas *in situ* e produção de gás na avaliação de alimentos
para ruminantes / Roseli Aparecida Santos. -- Lavras : UFLA, 2001.

100 p. : il.

Orientador: Júlio César Teixeira

Tese (Doutorado) UFLA.

Bibliografia.

1. Degradabilidade. 2. Produção de gás. 3. Bovino. 4. Ovino. 5. Caprino. 6.
Avaliação de alimento. 7. *In situ*. 8. *In vitro*. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD-636.0852

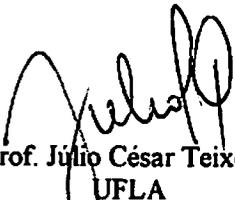
ROSELI APARECIDA DOS SANTOS

**COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS “IN SITU” E PRODUÇÃO DE GÁS
NA AVALIAÇÃO DE ALIMENTOS PARA RUMINANTES.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Doutorado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 30 de maio de 2001

Prof. Juan Ramón Olalquiaga Pérez	UFLA
Prof. Paulo César de Aguiar Paiva	UFLA
Prof. Joel Augusto Muniz	UFLA
Dr. Pedro Braga Arcuri	CNPGL/EMBRAPA


Prof. Júlio César Teixeira
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Dedico este trabalho aos meus pais, José Vieira dos Santos e Dolores Carmélia dos Santos.

*Instruir-te-ei e ensinar-te-ei o caminho que deves seguir;
guiar-te-ei com os meus olhos. (Sl 32,8)*

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realizar este curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Júlio César Teixeira, por ter sido professor, orientador, amigo, colega; pela experiência e conhecimentos transmitidos.

Aos integrantes da banca examinadora, professores Juan Ramón Olalquiaga Pérez, Paulo César de Aguiar Paiva, Joel Augusto Muniz e ao Dr. Pedro Braga Arcuri.

Ao coordenador do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, professor Elias Tadeu Fialho.

A todos os professores do Departamento de Zootecnia, os quais contribuíram para minha formação acadêmica.

Aos funcionários do Laboratório de Pesquisa Animal.

Aos secretários e demais funcionários do Departamento de Zootecnia.

Aos alunos de graduação, Daniele Toledo Del Rio, Alex Huber, Flávia Cristina Vilas Boas, pela grande ajuda na condução dos experimentos e nas análises laboratoriais.

Aos colegas de curso, Adauto, Adauton, Ademir, Bonifácio, Euclides, Flávia, Gabriel, Gustavo, Inácio, José Paulo, Lúcia, Luciana e Maria Emília, pelo companheirismo e horas agradáveis que passamos.

Em especial, Eleuza, Sidnei, Idalmo, Iraídes, Márcio, Suelba, Vera e Edgar.

Ao Cristiano, pelo incentivo, amizade e carinho.

À minha família, meu apoio incondicional.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
CAPÍTULO 1.....	1
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Técnica de degradabilidade ruminal <i>in situ</i>	3
2.2 Técnica de produção de gás <i>in vitro</i>	4
2.3 Diferenças entre grupos genéticos quanto à degradação do alimento no rúmen.....	5
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	6
CAPÍTULO 2.....	8
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Local e animais utilizados.....	14
3.2 Preparo das amostras.....	15
3.3 Descrição da técnica <i>in situ</i>	16
3.4 Estimativa da degradabilidade ruminal efetiva.....	17
3.5 Análises estatísticas.....	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1 Fração solúvel (A) e fração insolúvel potencialmente degradável (B).....	19
4.2 Taxa de degradação.....	23
4.3 Degradabilidade efetiva e potencial.....	26
5 CONCLUSÕES.....	33

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
CAPÍTULO 3.....	39
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	40
1 INTRODUÇÃO.....	41
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	42
2.1 Fatores que afetam a produção de gás.....	42
2.2 Técnicas de medir gás <i>in vitro</i>	43
2.2.1 Teste de gás de Hohenhein ou método de Menke.....	43
2.2.2 Sistema de deslocamento de líquido.....	44
2.2.3 Método manométrico.....	44
2.2.4 Sistemas de transdutor de pressão.....	44
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
3.1 Local e animais utilizados.....	46
3.2 Preparo das amostras.....	46
3.3 Preparo do inoculo.....	48
3.4 Meio de cultura.....	48
3.5 Incubação.....	49
3.6 Coleta de dados.....	49
3.7 Manipulação dos dados.....	50
3.8 Análises estatísticas.....	50
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4.1 Volume acumulado de gás.....	51
4.2 Taxa de degradação.....	57
4.3 Tempo de colonização (“lag time”).....	60
5 CONCLUSÕES.....	63
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
CAPÍTULO 4.....	68
RESUMO.....	68
ABSTRACT.....	69

1 INTRODUÇÃO.....	70
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	71
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	73
3.1 Local e animais utilizados.....	73
3.2 Preparo das amostras.....	73
3.3 Descrição da técnica <i>in situ</i>	74
3.4 Estimativa da degradabilidade ruminal efetiva <i>in situ</i>	74
3.5 Preparo do inóculo para incubação <i>in vitro</i>	75
3.6 Meio de cultura.....	76
3.7 Incubação <i>in vitro</i>	76
3.8 Coleta de dados de gás.....	77
3.9 Manipulação dos dados.....	77
3.10 Análises estatísticas.....	78
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
4.1 Bovinos.....	82
4.2 Ovinos.....	84
4.3 Caprinos.....	86
5 CONCLUSÃO.....	88
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	91
ANEXO.....	92

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
c	Taxa de degradação
CNE	Carboidratos não estruturais
CV	Coefficiente de variação
DE	Degradabilidade efetiva
DESMS	Desaparecimento de matéria seca
DP	Degradabilidade potencial
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
HEM	Hemicelulose
L	Tempo de colonização
MS	Matéria seca
N	Nitrogênio
P	Probabilidade
PB	Proteína bruta
pH	Potencial hidrogeniônico
r	Coefficiente de correlação
R²	Coefficiente de determinação
SDN	Fração solúvel em detergente neutro
SRD	Sem raça definida
TDIS	Taxa de degradação <i>in situ</i>
TDIV	Taxa de degradação <i>in vitro</i>
VG	Volume de gás

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
2.1	Composição bromatológica dos alimentos utilizados nos experimentos <i>in vitro</i> e <i>in situ</i> , expressa em porcentagem da matéria seca.....	15
2.2	Porcentagem da fração solúvel (A), fração insolúvel potencialmente degradável (B) e coeficientes de determinação (R^2) das equações para degradabilidade da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN) de diferentes alimentos.....	20
2.3	Porcentagem da fração indegradável (C) da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN) de diferentes alimentos.....	22
2.4	Médias da taxa de degradação (%/h) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies.....	24
2.5	Médias da taxa de degradação (%/h) dos diferentes alimentos testados, segundo as frações.....	25
2.6	Médias da taxa de degradação (%/h) das diferentes frações, segundo as espécies.....	26
2.7	Médias da degradabilidade efetiva (%) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies e frações.....	27
2.8	Médias da degradabilidade potencial (%) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies.....	32
3.1	Composição bromatológica dos alimentos utilizados nos experimentos <i>in vitro</i> e <i>in situ</i> , expressa em porcentagem da matéria seca.....	47
3.2	Médias do volume acumulado de gás (ml) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies e frações.....	52

3.3	Médias da taxa de degradação (%/h) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies e frações.....	58
3.4	Médias do tempo de colonização (horas) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies e frações.....	61
4.1	Degradabilidade estimada com 24, 48 e 72 horas de incubação em bovinos, ovinos e caprinos.....	79
4.2	Coefficientes de correlação linear de Pearson entre a produção de gás e os dados da cinética de degradação <i>in situ</i> . Resumo.....	81

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
2.1	Degradabilidade estimada da MS e FDN de alimentos volumosos, para as três espécies, nos diferentes tempos de incubação.....	28
2.2	Degradabilidade estimada da MS e FDN de alimentos concentrados, para as três espécies, nos diferentes tempos de incubação.....	29
3.1	Curvas da produção cumulativa de gás da MS, FDN e SDN dos fenos de alfafa e coast cross e das silagens de milho e capim, utilizando inóculo de bovinos, ovinos e caprinos.....	55
3.2	Curvas da produção cumulativa de gás da MS, FDN e SDN dos farelos de trigo, algodão e soja, caroço de algodão, fubá de milho e polpa cítrica, utilizando inóculo de bovinos, ovinos e caprinos.....	56
4.1	Correlação entre volume de gás e degradabilidade efetiva de alimentos volumosos e concentrados, durante 24 horas de incubação – Bovinos	83
4.2	Correlação entre volume de gás e degradabilidade efetiva de alimentos volumosos e concentrados, durante 48 horas de incubação – Bovinos	83
4.3	Correlação entre volume de gás e degradabilidade efetiva de alimentos volumosos e concentrados, durante 24 horas de incubação – Ovinos	85
4.4	Correlação entre volume de gás e degradabilidade efetiva de alimentos volumosos e concentrados, durante 48 horas de incubação – Ovinos	86
4.5	Correlação entre volume de gás e degradabilidade efetiva de alimentos volumosos e concentrados, durante 24 horas de incubação – Caprinos	87

4.6	Correlação entre volume de gás e degradabilidade efetiva de alimentos volumosos e concentrados, durante 48 horas de incubação – Caprinos	87
-----	--	----

RESUMO

SANTOS, R. A. Comparação das técnicas *in situ* e produção de gás na avaliação de alimentos para ruminantes. Lavras, UFLA, 2001. 100p. (Tese – Doutorado em Nutrição de Ruminantes).*

Com os objetivos de comparar técnicas para medir a digestibilidade de alimentos e verificar possíveis diferenças entre bovinos, ovinos e caprinos quanto aos valores de degradação ruminal de alimentos concentrados e volumosos, foram conduzidos dois experimentos: *in situ* e *in vitro*. Para determinação da degradabilidade ruminal *in situ*, foi utilizada a técnica do saco de náilon. A degradabilidade *in vitro* foi determinada pela técnica de produção de gás. As técnicas *in situ* e *in vitro* foram conduzidas no Laboratório de Pesquisa Animal, do Departamento de Zootecnia da UFLA. Tanto para as incubações *in situ* como para a retirada de inóculo, foram utilizadas 3 vacas Holandesas, 3 cabras e 3 ovelhas sem raça definida, não gestantes, não lactantes, providas de fistula ruminal. Foram utilizados alimentos concentrados (fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, caroço de algodão, farelo de trigo e polpa cítrica) e volumosos (feno de alfafa, feno de *coast cross*, silagem de milho e silagem de capim). As amostras foram previamente secas (65°C por 72 horas), moídas em peneira de 2 mm. Posteriormente, todos os alimentos foram analisados para matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). Na técnica *in situ*, os tempos de incubação foram 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48 e 72 horas. As leituras de volume dos gases foram obtidas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60 e 72 horas após o início da incubação. As variáveis obtidas pela técnica *in situ* (taxa de degradação, degradabilidade efetiva e potencial) e *in vitro* (taxa de degradação, tempo de colonização e volume de gás) foram submetidas à análise estatística. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições, em esquema fatorial 10x2x3, sendo 10 alimentos, 2 frações (MS e FDN) e 3 espécies (bovina, ovina e caprina) para técnica *in situ*, e um fatorial 10x3x3 para técnica *in vitro*, sendo 10 alimentos, 3 frações (MS, FDN e SDN) e 3 espécies. Na técnica *in situ*, a taxa de degradação e a degradabilidade efetiva (DE) foram maiores ($P<0,01$) quando os alimentos foram incubados em bovinos. As médias para taxa de degradação foram 4,57%/h; 3,97%/h e 3,41%/h, enquanto as médias para DE foram 45,76%; 38,24% e 33,54% para bovinos, ovinos e caprinos, respectivamente. A MS apresentou taxa de degradação média de 4,75%/h e DE de 48,07%. A FDN apresentou valores médios de 3,22%/h e

* Comitê de Orientação: Júlio César Teixeira - UFLA (Orientador), Juan Ramón Olalquiaga Pérez - UFLA, Paulo César de Aguiar Paiva - UFLA e Joel Augusto Muniz - UFLA.

30,29% para taxa de degradação e DE, respectivamente. No método *in vitro*, não houve diferença ($P>0,05$) entre as espécies, para nenhuma das variáveis estudadas. A fração SDN apresentou maior produção de gás e taxa de degradação em relação a FDN (50,66 ml x 25,14 ml; 10,54 %/h x 5,81 %/h respectivamente). Para o tempo de colonização, a FDN apresentou maior valor que a SDN (5,15 h x 0,99 h, respectivamente). A análise de correlação foi feita para os períodos de incubação: 24, 48 e 72 horas. Houve correlação significativa ($P<0,05$) entre a produção de gás e degradabilidade efetiva, para as três espécies estudadas, com 24 e 48 horas de incubação, exceto para os volumosos incubados por 48 horas em caprinos, cuja correlação só foi significativa entre o volume de gás e a taxa de degradação *in situ*.

ABSTRACT

SANTOS, R. A. Comparison between *in situ* and gas production techniques in the evaluation of feeds for ruminants. Lavras, UFLA, 2001. 100p. (Doctor's Thesis - Ruminant Nutrition).*

With the objectives to compare techniques to measure the digestibility of feeds, and to verify possible differences among cattle, sheep and goat, with relationship to the values of ruminal degradation of concentrated feeds and roughages, two experiments were conducted: *in situ* and *in vitro*. To determine the ruminal degradability *in situ*, the technique of the nylon bag was used. The *in vitro* degradability was determined by the gas production technique. The *in situ* and *in vitro* techniques were driven in the Laboratory of Animal Research, of the Animal Science Department - UFLA. So much to the *in situ* incubations as to the ruminal liquor retreat, 3 Holstein cows, 3 goats and 3 sheep without defined race, non-pregnant, non-lactating, fistulated in the rumen, were used. The concentrated feeds (ground corn, soybean meal, cotton meal, cottonseed, wheat meal and citrus pulp), and roughages (alfalfa hay, coast cross hay, corn silage and grass silage) were used. The samples were droughts previously (65°C for 72 hours), grounded in sieve of 2 mm. Later on, all the feeds were analyzed for dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF). In the *in situ* technique, the times of incubation were 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48 and 72 hours. The readings of volume of the gas were obtained 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60 and 72 hours after the beginning of the incubation. The variables obtained by the *in situ* technique (degradation rate, effective and potential degradabilities) and *in vitro* (degradation rate, lag time and volume of gas), were submitted the statistical analysis. The used experimental design was it entirely randomized, with three repetitions, in outline factorial 10x2x3 to *in situ* technique, being 10 feeds, 2 fractions (DM and NDF) and 3 species (cattle, sheep and goat), and a factorial 10x3x3 to *in vitro* technique, being 10 feeds, 3 fractions (DM, NDF and NDS) and 3 species. In the *in situ* technique, the degradation rate and the effective degradability (ED) were larger ($P < 0.01$) when the feeds were incubated in cattle. The averages for degradation rates were 4.57%/h; 3.97%/h and 3.41%/h, while the averages for ED were 45.76%; 38.24% and 33.54% for cattle, sheep and goats, respectively. The DM presented degradation rates of 4.75%/h and ED of 48.07%. Neutral detergent fiber presented 3.22%/h and 30.29% for degradation rate and ED

* Guindance Committee: Júlio César Teixeira - UFLA (Adviser), Juan Ramón Olalquiaga Pérez - UFLA, Paulo César de Aguiar Paiva - UFLA and Joel Augusto Muniz - UFLA.

respectively. In the *in vitro* method, there was not difference ($P>0.05$) among species, for any of the variables studied. The fraction soluble in neutral detergent NDS presented larger production of gas and degradation rate in relation to NDF (50.66 ml x 25.14 ml; 10.54%/h x 5.81%/h respectively). To the lag time, NDF presented larger value than NDS (5.15 h x 0.99 h respectively). It was conducted a correlation analysis to 24, 48 and 72 hours of incubation. There was significant correlation ($P<0.05$) between the gas production and effective degradability, for the three studied species, with 24 and 48 hours of incubation, except for the roughages ones incubated by 48 hours in goats, whose correlation was only significant between the volume of gas and the *in situ* rate of degradation.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

Por muito tempo, a alimentação dos ruminantes foi inadequada, já que se baseava somente na quantidade e não na qualidade dos alimentos. Este problema tornou-se ainda maior por não se conhecer o valor nutritivo exato destes alimentos, já que a eficiência da produção animal é atribuída em grande parte à formulação de dietas mais eficientes e de custo mínimo, o que depende do conhecimento do real valor nutritivo dos ingredientes disponíveis. Assim, várias metodologias têm sido utilizadas para determinar as quantidades e relações dos nutrientes, necessários para uma ótima resposta microbiana e animal, através da predição da medida com que estes nutrientes tornam-se disponíveis no rúmen. Para tanto, têm-se procurado técnicas acuradas, simples e rápidas, que determinem o valor nutricional dos alimentos através de sua degradação pelos microrganismos ruminais. O surgimento de novas técnicas de avaliação de alimentos é um processo constante. No caso de bovinos, a simples digestão ruminal progrediu para a degradação das diversas frações alimentares, inclusive solúveis e insolúveis.

As vantagens da utilização de uma técnica *in vitro* residem na sua rapidez, na uniformidade físico-química do microambiente de fermentação, e na conveniência de não se manterem animais fistulados. A maioria dos métodos *in vitro*, no entanto, pode apresentar falhas por não se utilizar adequadamente o inóculo, os meios tamponantes, ou os equipamentos que garantam as condições de pH, anaerobiose, número de microrganismos e nutrientes essenciais para os mesmos (Van Soest, 1994). Por outro lado, a técnica *in situ* permite o contato íntimo do alimento-teste com o ambiente ruminal, não existindo uma melhor forma de simulação do rúmen para um dado regime de alimentação, embora o

alimento não esteja sujeito a todos os eventos digestivos, como mastigação, ruminação e passagem pelas demais porções do aparelho digestivo. Esta técnica requer a utilização de animais fistulados no rúmen para que as amostras de alimentos sejam incubadas por determinados períodos de tempo. O maior problema encontrado neste método é a ação filtrante do tecido de náilon, que permite a passagem de pequenas partículas em ambos sentidos.

Um outro ponto de grande interesse e que ultimamente tem recebido a atenção de pesquisadores refere-se à existência de diferenças na degradação ruminal de alimentos, entre várias espécies e raças de ruminantes. Apesar de aparentemente possuírem características anatômicas e fisiológicas semelhantes, os ruminantes demonstram diferentes habilidades quanto à seleção de alimentos, mastigação, secreções endógenas, absorção de metabólitos e taxas de passagem pelo rúmen, entre outras, que alteram a fermentação ruminal dos alimentos. Portanto, a extrapolação de resultados obtidos com determinada espécie, utilizados para uma outra, poderia ocasionar erros.

As tabelas com valores de digestibilidade e composição de alimentos para ruminantes são, geralmente, resultantes de testes feitos com alimentos produzidos sob condições diferentes daquelas de países tropicais. Dessa forma, a utilização desses dados pode conduzir a uma série de erros, os quais, em última análise, podem afetar o desempenho dos animais. Assim, os objetivos do presente trabalho foram:

- a) comparar técnicas para medir a degradabilidade de alimentos comumente utilizados na alimentação de ruminantes;
- b) verificar possíveis diferenças entre bovinos, ovinos e caprinos quanto aos valores de degradação ruminal de alimentos concentrados e volumosos, obtidos através da técnica *in situ* e de produção de gás *in vitro*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

As técnicas de avaliação dos parâmetros cinéticos da degradação ruminal dos alimentos envolvem estudos sobre o desaparecimento da amostra incubada – técnica gravimétrica, e a quantificação dos produtos finais da atividade microbiana, durante o período de incubação com os microrganismos ruminais, conhecida como técnica metabólica, que mede a produção de gás carbônico (CO₂) e metano (CH₄) (Pell, Schofield e Stone, 1994). Embora rotineiramente empregadas, as técnicas gravimétricas têm resultado em estimativas pouco acuradas, além de não permitirem a mensuração do desaparecimento de massa nos tempos iniciais de incubação, correspondentes à digestão das frações solúveis do alimento. Assim, cria-se uma necessidade de utilizar técnicas mais precisas e mais sensíveis quanto à mensuração da degradação da fração solúvel.

Na técnica metabólica, o gás medido é formado a partir da digestão de substratos solúveis e insolúveis, enquanto nos métodos tradicionais *in vitro* e *in situ*, é medido somente o desaparecimento do material insolúvel (Pell e Schofield, 1993). Outra limitação do método gravimétrico é a dificuldade de se estudarem os estágios iniciais do processo de digestão, pois este não é sensível o suficiente para medir as pequenas mudanças que ocorrem no peso da amostra, durante as primeiras 6-8 horas da fermentação ruminal.

2.1 Técnica de degradabilidade ruminal *in situ*

A suspensão de alimentos dentro do rúmen, como ocorre na técnica *in situ*, permite o contato íntimo do alimento teste com o meio ruminal. Não existe melhor maneira para simular o ambiente ruminal dentro de um determinado regime alimentar (temperatura, pH, substrato tampão, enzimas). No entanto, o alimento não está sujeito à mastigação, ruminação e passagem.

Essa técnica tem sido utilizada por muitos anos e é a base para a predição da digestão em vários sistemas. Entretanto, apesar do aumento na popularidade, a técnica também tem sido sujeita a uma avaliação intensa e a críticas com relação a muitos fatores inerentes que influenciam a digestão, como por exemplo, o tamanho do poro do saco, o tamanho da partícula e a quantidade de amostra.

2.2 Técnica de produção de gás *in vitro*

Apesar de não ser uma técnica recente, pois McBee (1953) utilizou um sistema manométrico para o estudo da digestão da fibra, somente no final da década de 80 passou a ser utilizada mais freqüentemente na avaliação de alimentos. Menke et al. (1979) estimaram o valor energético de alimentos por meio da técnica de produção de gás. Pell e Schofield (1993) utilizaram a técnica de produção de gás para avaliação de alimentos a partir de um sistema computadorizado para as leituras de pressão gerada nos frascos de incubação, à medida que se processa a fermentação. Theodorou et al. (1994), com a utilização de um sistema semi-automatizado, mensuraram a pressão e o volume dos gases produzidos. Malafaia et al. (1998), utilizando um sistema que consiste de uma seringa acoplada a um manômetro, fizeram leituras de pressão e volume dos gases para estimativa das características cinéticas da matéria seca de alguns alimentos.

Este sistema possibilita a estimativa da degradabilidade do alimento por correlação entre a produção microbiana de gases e a matéria orgânica fermentada. Equações de regressão são utilizadas para converter a produção de gases em matéria orgânica digerida. Segundo Menke et al. (1979), alguns fatores podem interferir na técnica, como o baixo peso da amostra e a dificuldade em manter um padrão de alimento para correção das variações causadas pelas mudanças na atividade do inóculo ruminal. Certos alimentos apresentam uma

produção de gás significativamente menor, podendo ter valores de degradabilidade maiores, e fatores como pressão atmosférica, pH da amostra e conteúdo de ácidos orgânicos no alimento também podem interferir nessa técnica.

2.3 Diferenças entre as espécies quanto à degradação do alimento no rúmen

A taxa de fermentação no rúmen está negativamente relacionada à massa corporal, ou seja, animais de menor massa possuem maiores taxas de fermentação em relação a animais de maior massa, quando submetidos à mesma dieta (Gordon e Illius 1996, citados por Illius 1997). Segundo Illius (1997), a cinética de digestão e passagem estão sujeitas mais às interferências do alimento que aos atributos do animal, sendo a massa corporal e suas correlações fisiológicas, aspectos importantes na adaptação dos ruminantes.

Há, no campo da nutrição de ruminantes, uma polêmica sobre possíveis diferenças nos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes quando se comparam indivíduos pertencentes a diferentes grupos genéticos, sendo que as diferenças na digestibilidade entre grupos são frequentemente atribuídas às diferenças na taxa de passagem no rúmen, ao suprimento de nutrientes endógenos e ao consumo de alimentos, entre outros (Rodriguez et al. 1997).

A taxa de passagem é afetada pelo consumo, forma física da dieta e diferenças na ruminação entre animais. Por exemplo, os ovinos ruminam mais por kg de matéria seca em relação aos bovinos, indicando que a taxa de redução do tamanho de partícula pode variar entre as espécies (Welch, 1982).

Poucos são os experimentos que relatam as diferenças quanto à degradação dos alimentos obtidos com a técnica *in situ*, relativos aos valores encontrados em diferentes grupos genéticos. Playne, Khumnalhong, Echevarria (1978) sugerem que as diferenças encontradas nos valores de degradabilidade entre bovinos e ovinos podem ser maiores para forragens de baixa qualidade.

Huntington e Givens (1995), revisando os fatores que afetam a técnica *in situ*, relatam que as diferenças entre espécies de ruminantes adultos são pequenas e que podem estar relacionadas às diferentes taxas de passagens no rúmen.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HUNTINGTON, J.A.; GIVENS, D.I. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds: A review of the procedure. **Nutrition Abstracts and Reviews, Series B**, London, v.65, n.2, p.63-90, Feb. 1995.

ILLIUS, B.W. Physiological adaptation in saanna ungulates. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v.56, n.3, p.1041-1048, Nov. 1997.

MALAFAIA, P.A.M.; VALADARES FILHO, S.C.; VIEIRA, R.A.M.; COELHO DA SILVA, J.F.; PEREIRA, J.C. Cinética ruminal de alguns alimentos investigada por técnicas gravimétricas e metabólicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.27, n.2, p.370-380, mar./abr. 1998.

McBEE, R.H. Manometric method for the evaluation of microbial activity in the rumen with application to utilization of cellulose and hemicelluloses. **Applied Microbiology**, Washington, v.1, p.106-111, 1953.

MENKE, K.H.; RAAB, L.; SALEWSKI, A. et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. **Journal of Agricultural Science, Cambridge**, v.93, n.1, p.217-223, Aug. 1979.

PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.4, p.1063-1073, Apr. 1993.

PELL, A.N.; SCHOFIELD, P.; STONE, W.C. Rates of digestion of feeds measured *in vitro* with computer. **Proceedings Cornell Nutrition Conference**, Ithaca, n.13/15, p.74-81, 1994.

- PLAYNE, M.J.; KHUMNALTHONG, W.; ECHEVARRIA, M.G.** Factors affecting the digestion of esophageal fistula samples and hay in nylon bags in the rumen of cattle. **Journal of Agricultural Science, Cambridge**, v.90, n.1, p.193-204, Feb. 1978.
- RODRIGUEZ, L.R.R.; FONTES, C.A. de A.; JORGE, A.M. et al.** Digestibilidade de rações contendo quatro níveis de concentrado, em bovinos (Taurinos e Zebuínos) e Bubalinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.26, n.4, p.844-851, jul./ago. 1997.
- THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; McALLAN, A.B.** A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feed. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.48, n.1, p.185-197, Mar. 1994.
- VAN SOEST, P.J.** **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- WELCH, J.G.** Rumination, particle size and passage from the rumen.. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.54, n.4, p.885-894, Apr. 1982.

CAPÍTULO 2

Estimativa da degradabilidade ruminal de alimentos utilizando a técnica *in situ* em bovinos, ovinos e caprinos

RESUMO

SANTOS, R. A. **Estimativa da degradabilidade ruminal de alimentos utilizando a técnica *in situ* em bovinos, ovinos e caprinos.** Lavras, UFLA, 2001. 100p. (Tese – Doutorado em Nutrição de Ruminantes).

Há, no campo da nutrição de ruminantes, uma polêmica sobre possíveis diferenças nos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes quando se comparam indivíduos pertencentes a diferentes espécies, sendo que as diferenças na digestibilidade entre grupos são frequentemente atribuídas às diferentes taxas de passagem no rúmen, ao suprimento de nutrientes endógenos e ao consumo de alimentos, entre outros. Sob esses aspectos, este trabalho teve como objetivo verificar possíveis diferenças entre bovinos, ovinos e caprinos quanto à degradação de alimentos concentrados e volumosos, através do método do saco de náilon *in situ*. O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA. Foram utilizadas 3 vacas Holandesas, 3 cabras e 3 ovelhas sem raça definida, não gestantes, não lactantes, providas de fistula ruminal. Foram avaliadas as frações solúvel (A), potencialmente degradável (B) e indegradável (C) da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN), de alimentos concentrados (fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, caroço de algodão, farelo de trigo e polpa cítrica), e volumosos (feno de alfafa, feno de coast cross, silagem de milho e silagem de capim). Também foi determinada a taxa de degradação (c) e a degradabilidade efetiva (DE). Os tempos de incubação foram 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48, e 72 horas. A taxa de degradação e a DE foram maiores ($P < 0,01$) quando os alimentos foram incubados em bovinos. As médias para taxa de degradação foram 4,57%/h; 3,97%/h e 3,41%/h, enquanto as médias para DE foram 45,76%; 38,24% e 33,54% para bovinos, ovinos e caprinos, respectivamente. A MS apresentou taxa de degradação média de 4,75%/h, e a DE, de 48,07%. A FDN apresentou valores médios de 3,22%/h e 30,29% para taxa de degradação e DE, respectivamente.

ABSTRACT

SANTOS, R. A. Estimate of the ruminal degradability of feeds using the *in situ* technique in cattle sheep and goat. Lavras, UFLA, 2001. 100p. (Doctor's Thesis – Ruminant Nutrition).

There is, in the ruminant nutrition, a polemic on possible differences in the coefficients of digestibility of the nutrients when individuals belonging to different genetic groups are compared, and the differences in the digestibility among groups, they are frequently attributed to the different rates of passage in the rumen, supply of endogenous nutrients, feed intake among others. Under those aspects, this work had as objective to verify possible differences among cattle, sheep and goat, with relationship to the degradation of roughages and concentrated feeds, through the method of the *in situ* nylon bag. The experiment was driven in the Laboratory of Animal Research of the Animal Science Department - UFLA. Three Holstein cows, 3 goats and 3 sheep without defined race, non-pregnant, non-lactating, fistulated in the rumen were used. They were appraised the soluble (A), potentially degradable (B) and undegradable fractions (C) of the dry matter (DM) and neutral detergent fiber (NDF), of concentrated feeds (ground corn, soybean meal, cotton meal, cottonseed, wheat meal and citrus pulp), and roughages (alfalfa hay, coast cross hay, corn silage and grass silage). They were also estimated the degradation rate (c) and effective degradability (ED). The times of incubation were 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48, and 72 hours. The degradation rate and the ED were larger ($P < 0.01$) when the feeds were incubated in cattle. The averages for degradation rates were 4.57%/h; 3.97%/h and 3.41%/h, while the averages for ED were 45.76%; 38.24% and 33.54% to cattle, sheep and goats, respectively. The DM presented degradation rate of 4.75%/h and ED of 48.07%. The NDF presented medium values of 3.22%/h and 30.29% for c and ED respectively.

1. INTRODUÇÃO

A caracterização dos alimentos de acordo com sua composição química e constituição de suas diferentes frações degradáveis ou não no rúmen, é o grande objetivo dos nutricionistas para alcançar com êxito o balanceamento de dietas que proporcionem nutrientes para o crescimento e desenvolvimento dos microrganismos do rúmen e para o animal. Portanto, técnicas *in vivo*, *in vitro* e *in situ* têm sido utilizadas para determinar o aproveitamento das diferentes frações de carboidratos e proteínas dos alimentos.

Os inconvenientes na utilização das técnicas *in vitro* e *in vivo* fizeram com que os interesses dos pesquisadores se voltassem para a técnica *in situ*, a qual consiste em determinar o desaparecimento de componentes da amostra de alimentos acondicionados em sacos de náilon ou poliéster, incubados no rúmen através de uma fistula, por períodos variáveis. Esta técnica provavelmente oferece estimativa mais exata da degradação da proteína no rúmen do que as determinadas em laboratórios, justificando sua utilização como técnica de referência.

Há, no campo da nutrição de ruminantes, uma polêmica sobre possíveis diferenças nos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes quando se comparam indivíduos pertencentes a diferentes grupos genéticos, sendo que as diferenças na digestibilidade entre grupos são freqüentemente atribuídas às diferentes taxas de passagem no rúmen, ao suprimento de nutrientes endógenos e ao consumo de alimentos, entre outros (Rodriguez et al., 1997).

Sob esses aspectos, este trabalho teve como objetivo verificar possíveis diferenças entre bovinos, ovinos e caprinos quanto à degradação de alimentos concentrados e volumosos, através do método do saco de náilon *in situ*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A técnica *in situ* já era conhecida na década de 30, quando Quinn, Van Der Wath e Myburgh (1938) utilizaram este método para avaliar a digestão dos alimentos no rúmen de ovinos fistulados. Pode também ser denominada técnica do saco de náilon, dacron, poliéster ou degradabilidade *in sacco* ou *in situ*. Tem sido adotada pelo AFRC (1992) como um método padrão de caracterização da degradabilidade ruminal do nitrogênio, podendo ser utilizado para descrever as características de degradação das frações da fibra (Aerts et al, 1977; Navaratree, Ibrahim e Shiere, 1990) e da proteína do alimento (Crawford et al., 1978; Stern e Satter, 1984; Poos-Floyd, Klopfenstein e Britton, 1985). A utilização da técnica tem a vantagem de propiciar uma estimativa rápida e simples da degradação dos nutrientes no rúmen, além de permitir o acompanhamento da degradação ao longo do tempo (Mehrez e Ørskov, 1977).

A popularidade da técnica está ligada à sua rápida e fácil execução, requerendo pequena quantidade de amostra do alimento e possibilitando o contato íntimo com o ambiente ruminal, apesar de não estar sujeita à mastigação, ruminação e passagem para o trato digestivo posterior. Apesar da relativa simplicidade do método, os resultados de uma mesma amostra de alimento podem ser diferentes entre laboratórios. Os principais fatores inerentes à técnica, que ocasionam grandes variações na degradabilidade estimada, estão relacionados aos procedimentos no preparo do saco que conterá a amostra (tipo de tecido, tamanho do poro do saco, área superficial do saco, lavagem dos sacos), ao preparo e manipulação da amostra (peso da amostra, tamanho da partícula da amostra, e contaminação microbiana) e, por fim, ao animal (natureza da dieta, espécie animal, estado fisiológico) (Uden e Van Soest, 1984; Nocek, 1985). Estes aspectos da técnica *in situ* sofrem interação naturalmente e podem influenciar a interpretação dos resultados.

Os tipos de tecidos geralmente utilizados incluem o náilon, poliéster ou dacron, entretanto, maior importância tem a estrutura do tecido que pode ser multifilamentosa ou monofilamentosa. Os monofilamentosos são tratados com calor após a tecelagem, formando dobras permanentes, o que permite um poro definido. O mesmo não acontece com os multifilamentosos, os quais, após lavagem, relaxam, resultando em poros de diferentes tamanhos.

Uma porosidade adequada permite a entrada de todas as espécies relevantes de microrganismos para a degradação do alimento no saco e limita a saída de amostra não degradada, permitindo a remoção dos produtos finais da degradação. Nocek (1988) recomenda a adoção de porosidades de 40 a 60 μ de diâmetro, sendo esta faixa a que reúne as características desejáveis que favorecem o fluxo de fluido ruminal e evitam a saída de partículas não degradadas.

O procedimento de lavagem dos sacos após a retirada do rúmen é utilizado para eliminar resíduos de material proveniente do rúmen, sustar a atividade microbiana através da presença de oxigênio na água, além da remoção do fluido ruminal dos sacos (Wilkerson, Klopfenstein e Stroup 1995). Este procedimento varia consideravelmente entre laboratórios. Nocek (1988) recomenda a lavagem em água corrente com moderada manipulação até essa ficar clara (aproximadamente 90 segundos por saco).

A colocação dos sacos no interior do rúmen deve ser de tal maneira que permita a livre movimentação dentro do líquido ruminal e as trocas entre fluidos internos e externos ao saco. O comprimento da corda da sacola de filó, em que são dispostos os sacos, bem como o peso colocado nessa sacola, exercem grande influência na degradação da amostra (Huntington e Givens, 1995).

A moagem facilita a homogeneidade, reduz o tamanho da partícula e aumenta a área superficial para a degradação microbiana. O ideal seria a obtenção de alimentos pré-mastigados pelo animal. Geralmente, materiais

grosseiros são associados a menores taxas de digestão e maior variabilidade, enquanto materiais finamente moídos estão sujeitos a grandes perdas físicas e variabilidade menor (Nocek, 1988). Devido à dificuldade de estabelecer o tamanho de partícula ideal para os estudos *in situ*, Nocek (1988) recomenda a uniformização do tamanho dentro dos alimentos. Assim, os concentrados deveriam ser moídos em moinhos providos com peneira de 2mm, as forragens na de 5mm, sendo que, para amostras não moídas, a distribuição original das partículas deve ser conhecida para possibilitar a comparação entre laboratórios.

A quantidade da amostra utilizada deve fornecer resíduo suficiente, ao final do período de incubação, para execução das análises químicas sem preencher demasiadamente o saco, prejudicando o ataque dos microrganismos e aumentando o tempo de colonização. Segundo Nocek (1988), uma relação entre 10-20mg/cm² poderia ser utilizada para forragens e concentrados.

Em função do contato dos microrganismos ruminais com as partículas dos alimentos, a colonização da amostra por bactérias pode levar a erros na determinação do desaparecimento da proteína bruta, sendo que a intensidade de colonização do resíduo varia com o período de incubação e a natureza do alimento (Nocek, 1988). Os resíduos de concentrados após a fermentação geralmente contêm pequena contaminação microbiana, 5 a 10% do N residual (Mehrez e Ørskov, 1977), enquanto forragens apresentam maior contaminação.

A dieta determina a quantidade e tipos de microrganismos no rúmen e, portanto, influencia a taxa e a extensão da degradação do alimento-teste. Weakley, Stern e Satter (1983) propuseram a existência de um muco bacteriano, principalmente em dietas de milho, que bloqueia os poros dos sacos, sendo que a ação abrasiva entre a superfície do saco e o material fibroso do rúmen poderia ajudar a prevenir o bloqueio e melhorar o fluxo de fluido ruminal, revelando a necessidade da existência de fibra longa na dieta basal de animais utilizados para análises *in situ* dos alimentos. Em alguns resultados encontrados na literatura, a

influência da dieta parece dever-se, principalmente, à alteração no tipo de substrato presente e no pH do rúmen, levando a mudanças no tipo de população microbiana, principalmente as espécies celulolíticas e amilolíticas (Mould e Ørskov, 1983/84). Nocek (1988) recomenda a utilização de uma dieta similar, ou seja, que contenha o mesmo tipo de alimento avaliado, além da presença de fibra longa para facilitar as forças abrasivas e manter um fluxo ideal entre rúmen e interior do saco.

As diferenças entre animais são atribuídas às diferenças na taxa de absorção dos produtos finais da fermentação ruminal, principalmente dos ácidos graxos voláteis que induzem mudanças no pH e na taxa de passagem. Estes fatores são considerados os principais responsáveis pelas variações no desaparecimento do alimento incubado no rúmen (Nocek, 1988). O sexo, estado fisiológico e idade são fontes potenciais de variação. Vazquez-Anon et al. (1993) concluíram que os valores de degradação da proteína estimados em bovinos adultos não poderiam ser aplicados em bovinos desmamados jovens. Outros estudos mostram os efeitos da gestação (Ehle, Martin e Wheaton, 1984; Pond et al., 1984; Batista et al., 1994) e estágio da lactação (Hartnell e Satter, 1979) sobre a função ruminal.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e animais utilizados

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA. Foram utilizadas 3 vacas Holandesas, 3 cabras e 3 ovelhas sem raça definida (SRD), não gestantes, não lactantes, providas de fistula ruminal. Os animais permaneceram em piquetes com livre

acesso à água e foram alimentados duas vezes ao dia, com uma dieta à base de silagem de capim com sorgo e ração concentrada.

3.2 Preparo das amostras

Foram utilizados alimentos concentrados (fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, caroço de algodão, farelo de trigo e polpa cítrica) e volumosos (feno de alfafa, feno de coast cross, silagem de milho e silagem de capim). As amostras foram previamente secas (65°C por 72 horas), moídas em peneira de 2 mm. Posteriormente, todos os alimentos foram analisados para matéria seca (MS) e proteína bruta (PB), de acordo com as metodologias descritas por AOAC (1990). Fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas de acordo com as metodologias propostas por Van Soest e Wine (1968), descritas por Silva (1990). A composição bromatológica dos alimentos encontra-se na Tabela 2.1.

TABELA 2.1 Composição bromatológica dos alimentos utilizados nos experimentos *in vitro* e *in situ*, expressa em porcentagem da matéria seca.¹

ALIMENTOS	MS	PB	FDN	SDN ²	FDA	HEM ³
Feno de Alfafa	91,84	22,89	45,90	54,10	34,20	11,70
Feno de Coast cross	90,42	8,60	72,59	27,41	50,78	21,81
Silagem de Milho	30,20	2,70	54,88	45,12	28,10	26,78
Silagem de Capim	27,10	1,40	67,44	32,56	40,30	27,14
Farelo de Trigo	89,18	18,47	41,06	58,94	14,32	26,74
Farelo de Algodão	89,66	32,91	39,07	60,93	23,00	16,07
Caroço de Algodão	93,12	19,90	48,94	51,06	41,34	7,60
Farelo de Soja	89,34	52,24	15,84	84,16	11,64	4,20
Fubá de Milho	86,92	8,69	11,62	88,38	1,96	9,66
Polpa Cítrica	90,48	7,08	25,68	74,32	23,89	1,79

¹ Análises realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA.

² Fração solúvel em detergente neutro (SDN = 100 - FDN).

³ Hemicelulose (HEM = FDN - FDA).

3.3 Descrição da técnica *in situ*

Para determinação da degradabilidade ruminal *in situ*, foi utilizada a técnica do saco de náilon, segundo Mehrez e Ørskov (1977). Os sacos medindo 7 x 5 cm, foram confeccionados com tecido de náilon coreano 120 fios, com porosidade média de 54,35µm, utilizando máquina seladora quente. Foram confeccionados 3 sacos/alimento/tempo/animal, perfazendo um total de 720 sacos por espécie. Para obtenção do peso dos sacos vazios, estes foram colocados em estufa a 65°C por 24 horas, e em seguida resfriados em dessecador e pesados. As amostras dos alimentos foram colocadas nos sacos, em quantidade de MS suficiente para manter a relação proposta por Nocek (1988), em tomo de 20 mg de MS/cm² de área superficial do saco.

Foram incubados, primeiramente, os quatro volumosos; e os concentrados foram divididos em dois grupos de três alimentos. Isto foi feito para que o volume dos sacos no rúmen não interferisse no consumo de alimentos pelos animais.

Os sacos foram agrupados em sacolas de filó medindo 20 x 35 cm para as vacas, e 10 x 18 cm para as cabras e ovelhas. Cada sacola, contendo no seu interior um pequeno peso de chumbo, foi amarrada com um fio de náilon, e este, preso à tampa da cânula.

A incubação foi feita na parte ventral do rúmen de cada animal. Nas vacas, a incubação foi feita em períodos decrescentes de incubação, de tal forma que, no final de 72 horas, todos os sacos foram retirados simultaneamente. Nas cabras e ovelhas, devido ao pequeno porte destes animais, optou-se por inserir um tempo por vez. Os tempos de incubação foram: 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48 e 72 horas.

Após a retirada dos sacos do rúmen, em cada tempo de incubação, estes foram lavados até que a água se mostrasse limpa. O período de lavagem durou

em torno de 30 minutos. Posteriormente, os sacos lavados foram submetidos à secagem em estufa a 65°C, por um período de 72 horas.

Os sacos referentes ao tempo zero (utilizados para determinar a fração prontamente solúvel) foram introduzidos na massa ruminal e imediatamente retirados, recebendo então o mesmo tratamento destinado aos demais tempos.

Os resíduos remanescentes das incubações foram analisados quanto à MS e FDN (metodologia descrita anteriormente). Os valores de desaparecimento da MS foram obtidos por diferença de peso encontrado entre as pesagens, antes e após a incubação ruminal, e expressos em porcentagem. Para FDN, o desaparecimento foi obtido pela diferença entre as análises feitas no alimento a ser incubado e no resíduo. As três repetições dos sacos em cada animal foram utilizadas para os cálculos da MS; para FDN, foram feitas análises nas amostras compostas.

3.4 Estimativa da degradabilidade ruminal efetiva

As estimativas dos parâmetros (a, b, c) da equação de degradação dos alimentos, nos diferentes tempos de incubação, foram obtidas a partir do ajuste de uma regressão não linear pelo método de Gauss-Newton, contido no programa estatístico SAEG (Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas), descrito por Euclides (1997), conforme a equação proposta por Ørskov e McDonald (1979):

$$Y = a + b (1 - e^{-ct})$$

Onde:

Y = degradabilidade acumulada do componente nutritivo analisado, após um tempo t;

a = intercepto da curva de degradabilidade quando t=0, que corresponde à fração solúvel em água do componente nutritivo analisado;

b = degradabilidade potencial da fração insolúvel em água, do componente nutritivo analisado;

c = taxa de degradação, por ação fermentativa, de **b**;

t = tempo de incubação (horas).

A degradação efetiva (DE) foi calculada segundo o modelo matemático proposto por Ørskov e McDonald (1979).

$$P = a + \frac{b * c}{c + k}$$

Onde:

P = degradabilidade ruminal efetiva do componente nutritivo analisado;

k = taxa de passagem do alimento, sendo 4%/h para concentrados e 5%/h para volumosos.

3.5 Análises Estatísticas

A taxa de degradação “c”, bem como a degradabilidade ruminal efetiva (DE) dos nutrientes no tempo de incubação, e a degradabilidade potencial (DP=100-DE), foram submetidas à análise estatística. O quadro de análise de variância é apresentado na Tabela 1 do anexo. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições (3 animais por espécie), em esquema fatorial 10x2x3, sendo 10 alimentos, 2 frações (MS e FDN) e 3 espécies (bovina, ovina e caprina), conforme modelo estatístico:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + F_j + E_k + AF_{ij} + AE_{ik} + FE_{jk} + AFE_{ijk} + e_{ijk}$$

sendo:

y_{ijk} observação referente ao alimento i na fração j na espécie k ;

μ média geral;

A_i efeito do alimento i , sendo $i = 1, 2, 3, \dots, 10$;

F_j efeito da fração j , sendo $j = 1, 2$;

E_k efeito da espécie k , sendo $k = 1, 2, 3$;

AF_{ij} efeito da interação do alimento i com a fração j ;

AE_{ik} efeito da interação do alimento i com a espécie k ;

FE_{jk} efeito da interação da fração j com a espécie k ;

AFE_{ijk} efeito da interação do alimento i com a fração j , na espécie k ;

e_{ijk} erro aleatório associado a cada observação.

As médias foram comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974) contido no programa estatístico SISVAR (Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados), segundo Ferreira (2000). De acordo com Silva (1998), a grande vantagem deste teste é a ausência de ambigüidade presente nos procedimentos de comparações múltiplas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Fração solúvel (A) e fração insolúvel potencialmente degradável (B)

A fração solúvel (A) e fração insolúvel potencialmente degradável (B) da matéria seca (MS) e a fibra em detergente neutro (FDN) de diferentes alimentos estão na Tabela 2.2. A fração solúvel (A) corresponde à parte solúvel do alimento mais as partículas eliminadas através da malha dos sacos, quando esses são imersos no líquido ruminal e posteriormente lavados em água corrente.

A fração insolúvel (B) é aquela dependente do tempo de permanência da digesta no rúmen. Sua degradabilidade pode variar de pouco a completamente degradável.

TABELA 2.2 Porcentagem da fração solúvel (A), fração insolúvel potencialmente degradável (B) e coeficientes de determinação (R^2) das equações para degradabilidade da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN) de diferentes alimentos.

ALIMENTO	FRAÇÃO A		FRAÇÃO B		R ²	
	MS	FDN	MS	FDN	MS	FDN
1. Feno de Alfafa	30,17	2,27	41,06	63,52	95,68	93,48
2. Feno de Coast cross	16,66	8,82	54,90	69,59	95,12	95,88
3. Silagem de Milho	26,64	0,43	49,12	87,83	93,63	92,44
4. Silagem de Capim	11,93	1,34	54,38	74,33	92,81	94,77
5. Farelo de Trigo	38,26	4,62	34,02	48,52	97,00	96,49
6. Farelo de Algodão	13,21	1,48	70,26	90,89	95,79	88,58
7. Carço de Algodão	24,68	1,79	47,83	81,99	94,03	94,79
8. Farelo de Soja	28,34	3,90	62,42	80,73	96,05	91,48
9. Fubá de Milho	22,05	5,39	69,20	89,45	96,45	93,85
10. Polpa Cítrica	36,66	1,97	57,87	89,52	95,00	89,21

Na Tabela 2.2 observa-se que a fração A na FDN é muito inferior à MS. Isto porque, na fibra, todo material solúvel é extraído pelo detergente. Verifica-se também que dentre os volumosos, o feno de alfafa e a silagem de milho apresentaram valores superiores (30,17% e 26,24% respectivamente); de fato, as leguminosas são caracterizadas por conter altas quantidades de fração solúvel em relação às gramíneas (Galyean e Goetsch, 1993). Susmel et al. (1990) apresentam valores médios de 26% para fração A da MS da silagem de milho, enquanto Valadares Filho et al. (1991) apresentam valores médios de 16%. Moron (1999) encontrou 29,1% para a fração A da MS do feno de alfafa, valor este muito próximo ao deste trabalho.

A fração solúvel da silagem de milho pode variar de acordo com a proporção de grãos, o que faria aumentar ou diminuir a fração A. Pereira (1995) encontrou um valor médio de 20% para a fração A da MS da silagem de milho. Os valores relativamente altos, observados para fração A dos volumosos, poderiam também ser atribuídos ao tamanho da partícula, já que a moagem foi feita em peneira de 2 mm, o que permitiu um maior escape de amostra na incubação e no processo de lavagem dos sacos.

Pequenas variações podem ser atribuídas à própria composição do alimento, enquanto as maiores discrepâncias entre resultados, segundo Nocek (1988), podem ser devidas, entre outras fontes de variação, às perdas de partículas durante a lavagem dos sacos, juntamente com a fração solúvel. Este, pode ter sido o caso do feno de coast cross apresentar 8,82% de fração A na FDN.

O farelo de algodão apresentou a menor média para fração A, podendo este fato ser atribuído à maior quantidade de cascas e maior teor de FDN, conferindo ao material menor solubilidade e também uma textura mais grossa, diminuindo a perda de partículas durante a lavagem.

O fubá apresentou valor relativamente alto para fração A da FDN (5,39%). Uma possível explicação seria a “contaminação” da fibra com amido, o qual, de acordo com Van Soest (1994), é insolúvel em água fria e parcialmente solúvel em água quente.

Para a fração B, a maior proporção encontra-se na FDN, já que, como foi mostrado anteriormente, na MS esta fração B sofre um efeito de “diluição” por constituintes prontamente solúveis.

Quanto à fração indegradável C (Tabela 2.3), os maiores valores foram obtidos para os volumosos, por apresentarem maiores teores de fibra em detergente ácido (Tabela 2.1), que pode ainda ser ou não lignificada. Um problema relacionado com a técnica pode interferir na obtenção desta fração;

para Van Soest (1994), o tamanho ótimo para o poro do saco de náilon é de aproximadamente 30µm. Tamanhos menores retardam a entrada de microrganismos, inibindo a fermentação, enquanto tamanhos maiores permitem o trânsito de partículas lignificadas, que podem se acumular no interior dos sacos, causando resultados baixos ou negativos para degradabilidade.

TABELA 2.3 Porcentagem da fração indegradável (C) da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN) de diferentes alimentos.

ALIMENTO	FRAÇÃO INDEGRADÁVEL (C)	
	MS	FDN
1. Feno de Alfafa	28,77	34,21
2. Feno de Coast cross	28,44	21,59
3. Silagem de Milho	24,24	11,74
4. Silagem de Capim	33,69	24,33
5. Farelo de Trigo	27,72	46,86
6. Farelo de Algodão	16,53	7,63
7. Caroco de Algodão	27,49	16,22
8. Farelo de Soja	9,24	15,37
9. Fubá de Milho	8,75	5,16
10. Polpa Cítrica	5,47	8,51

Os parâmetros cinéticos são importantes por descreverem o processo de degradação e caracterizarem as propriedades intrínsecas dos alimentos que poderão ou não limitar sua disponibilidade aos ruminantes (Mertens, 1993). Portanto, por se tratar de propriedades inerentes aos alimentos, para as frações A, B e C não foram feitas comparações entre espécies, já que o objetivo foi apenas a caracterização destes alimentos.

4.2 Taxa de degradação

Houve diferença entre as espécies ($P < 0,05$) quanto à taxa de degradação dos alimentos, bem como diferença entre alimentos e entre frações ($P < 0,01$). As interações não foram significativas ($P > 0,05$).

Na Tabela 2.4 observa-se que a maior taxa de degradação dos alimentos foi obtida quando estes foram incubados em bovinos (4,57%/h), enquanto ovinos (3,97%/h) e caprinos (3,41%/h) não foram diferentes entre si. Rees e Little (1980), avaliando a digestibilidade da matéria seca e tempo de retenção ruminal de algumas gramíneas tropicais em bovinos e ovinos, encontraram maiores coeficientes de digestibilidade da matéria seca em bovinos, atribuindo esse resultado ao maior tempo de retenção do alimento no rúmen desses animais, permitindo uma exposição prolongada à atividade dos microrganismos ruminais.

Assim, poucos são os experimentos que relatam as diferenças quanto à degradação dos alimentos obtidos com a técnica *in situ*, relativos aos valores encontrados em diferentes espécies. Entretanto, Huntington e Givens (1995), revisando os fatores que afetam a técnica *in situ*, relatam que as diferenças entre espécies de ruminantes adultos são pequenas e podem estar relacionadas às diferentes taxas de passagens no rúmen.

TABELA 2.4 Médias da taxa de degradação (%/h) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies.

ALIMENTO	ESPÉCIE			Médias
	Bovinos	Ovinos	Caprinos	
1. Feno de Alfafa	6,27	3,66	3,72	4,55 B
2. Feno de Coast cross	3,11	2,57	2,09	2,59 C
3. Silagem de Milho	2,30	2,10	1,27	1,89 C
4. Silagem de Capim	1,73	1,54	1,02	1,43 C
5. Farelo de Trigo	9,72	11,94	9,68	10,44 A
6. Farelo de Algodão	1,76	2,43	1,49	1,90 C
7. Carço de Algodão	1,81	2,88	2,26	2,32 C
8. Farelo de Soja	6,36	4,70	5,37	5,47 B
9. Fubá de Milho	4,91	3,94	4,43	4,43 B
10. Polpa Cítrica	7,77	3,98	2,81	4,85 B
Médias	4,57 a	3,97 b	3,41 b	

Colunas: médias seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%.

Linhas: médias seguidas de letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%.

Para Moron (1999), bovinos, ovinos e caprinos mostraram habilidades semelhantes quanto à degradação do fubá de milho e farelo de trigo. Porém, os grupos diferiram quanto à degradação de volumosos, sendo os bovinos superiores aos ovinos e caprinos.

Ainda na Tabela 2.4, verifica-se que o farelo de trigo destaca-se entre os demais alimentos, apresentado maior taxa de degradação média (10,44 %/h). Segundo Kandyliis e Nokokyris (1997), alimentos com valores altos para fração rapidamente degradada (A), fato este observado na Tabela 2.2, também exibem rápidas taxas de degradação para a fração lentamente degradada (B). Outro fato de relevância também é de que a composição de alimentos concentrados, assim como as modificações físicas ou químicas a que são submetidos, afetam diretamente suas taxas de degradação no rúmen, da mesma forma que o processamento físico de forragens através da moagem ou peletização

proporciona uma maior área superficial para o “ataque” de microrganismos (Bourquin et al. 1990).

Na Tabela 2.5 verifica-se que a taxa de degradação da fibra (FDN) foi menor quando comparada à matéria seca. A degradação da fibra é influenciada por fatores ligados ao vegetal, tais como a maturidade e espécie da planta, e fatores ligados ao animal, como nível de consumo e tipo de dieta.

De acordo com Van Soest (1994), os carboidratos estruturais, além de possuírem estruturas mais complexas, o que dificulta o processo de colonização e fermentação, podem ser em parte lignificados, aumentando o tempo de permanência no rúmen e diminuindo a taxa de digestão. Outro fato que pode também acentuar a diferença na degradação de FDN e MS é a perda solúvel e mecânica de partículas através dos poros do saco (Nocek, 1988).

TABELA 2.5 Médias da taxa de degradação (%/h) dos diferentes alimentos testados, segundo as frações.

ALIMENTO	FRAÇÃO		Médias
	MS	FDN	
1. Feno de Alfafa	5,28	3,82	4,55 B
2. Feno de Coast cross	2,63	2,55	2,59 C
3. Silagem de Milho	2,26	1,52	1,89 C
4. Silagem de Capim	1,59	1,26	1,43 C
5. Farelo de Trigo	12,41	8,48	10,44 A
6. Farelo de Algodão	2,63	1,16	1,90 C
7. Caroco de Algodão	3,56	1,08	2,32 C
8. Farelo de Soja	6,16	4,79	5,47 B
9. Fubá de Milho	5,15	3,70	4,43 B
10. Polpa Cítrica	5,85	3,86	4,85 B
Médias	4,75 a	3,22 b	

Colunas: médias seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%.

Linhas: médias seguidas de letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%.

Apesar de não ter havido interação entre frações dos alimentos e espécies, na Tabela 2.6 verifica-se que para a matéria seca, a menor taxa de degradação ocorreu nas incubações feitas com caprinos (3,87%/h), enquanto bovinos e ovinos apresentaram resultados semelhantes (5,31 %/h e 5,08%/h, respectivamente). A maior taxa de degradação da FDN também foi obtida nos bovinos (3,84%/h).

TABELA 2.6 Médias da taxa de degradação (%/h) das diferentes frações, segundo as espécies.

FRAÇÃO	ESPÉCIE			Médias
	Bovinos	Ovinos	Caprinos	
MS	5,31	5,08	3,87	4,75 A
FDN	3,84	2,87	2,96	3,22 B
Médias	4,57 a	3,97 b	3,41 b	

Colunas: médias seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%.

Linhas: médias seguidas de letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%.

4.3 Degradabilidade efetiva e potencial

A análise de variância para os dados de degradabilidade efetiva mostrou diferenças significativas ($P < 0,01$) entre espécies, frações e alimentos. Também as interações espécie x fração, espécie x alimento, fração x alimento e espécie x alimento x fração foram significativas.

Na Tabela 2.7 observa-se que a espécie bovina, em relação às demais, degradou mais efetivamente as frações (MS e FDN) de todos os alimentos. Isto pode também ser visualizado nas Figuras 2.1 e 2.2.

TABELA 2.7 Médias da degradabilidade efetiva (%) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies e frações.

ALIMENTO	BOVINOS		OVINOS		CAPRINOS	
	MS	FDN	MS	FDN	MS	FDN
1. Feno de Alfafa	57,69 AaD	32,57 AbD	52,18 AaB	24,19 BbC	42,61 BaB	25,64 BbD
2. Feno de Coast cross	36,47 AaG	34,81 AaD	31,30 BaE	26,53 BaC	27,32 BaC	29,37 BaC
3. Silagem de Milho	45,62 AaE	23,09 AbE	42,10 AaC	19,00 AbD	30,72 BaC	16,05 AbE
4. Silagem de Capim	27,46 AaH	19,05 AbE	23,81 AaF	14,29 AbD	15,69 BaD	12,00 AaE
5. Farelo de Trigo	71,99 AaB	43,65 AbC	67,71 AaA	32,87 BbB	51,67 BaA	33,34 BbC
6. Farelo de Algodão	40,86 AaF	23,12 AbE	35,50 AaD	22,52 AbC	30,08 BaC	18,91 AbE
7. Carço de Algodão	48,41 AaE	21,02 AbE	44,65 AaC	17,79 AbD	32,65 BaC	17,21 AbE
8. Farelo de Soja	75,32 AaB	52,78 AbB	69,48 AaA	30,73 BbB	53,31 BaA	50,31 AaA
9. Fubá de Milho	65,71 AaC	54,16 AbB	65,74 AaA	44,92 BbA	48,56 BaB	41,18 BbB
10. Polpa Cítrica	79,94 AaA	61,51 AbA	72,05 BaA	27,47 CbC	55,51 CaA	38,65 BbB

Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%. Nas colunas, letras maiúsculas para diferenciar as espécies dentro de cada fração, para cada alimento; letras minúsculas para diferenciar as frações dentro de cada espécie, para cada alimento. Nas linhas, letras maiúsculas em negrito para diferenciar os alimentos dentro de cada espécie, para cada fração

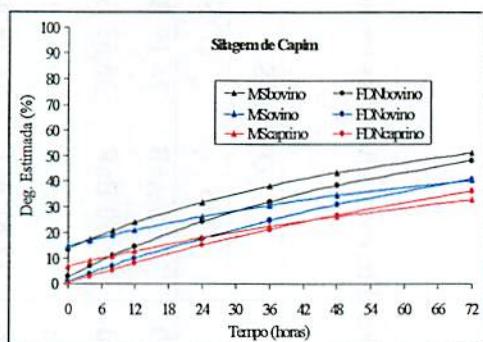
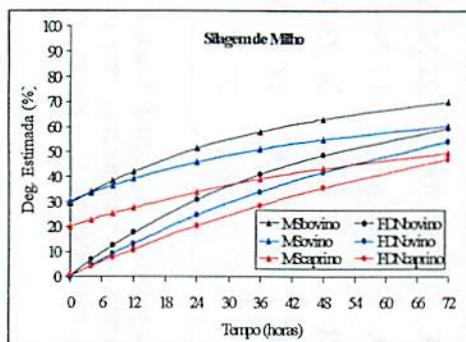
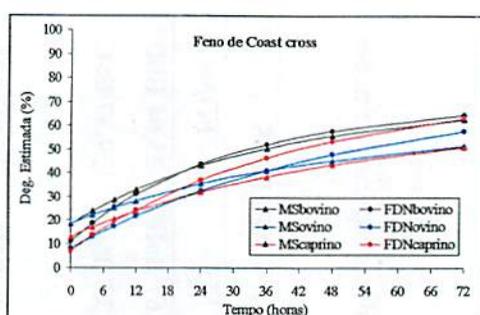
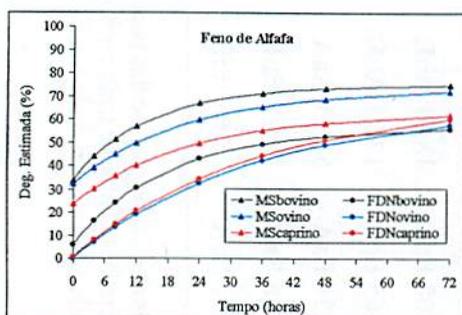


FIGURA 2.1 Degradabilidade estimada da MS e FDN de alimentos volumosos, para as espécies estudadas, nos diferentes tempos de incubação.

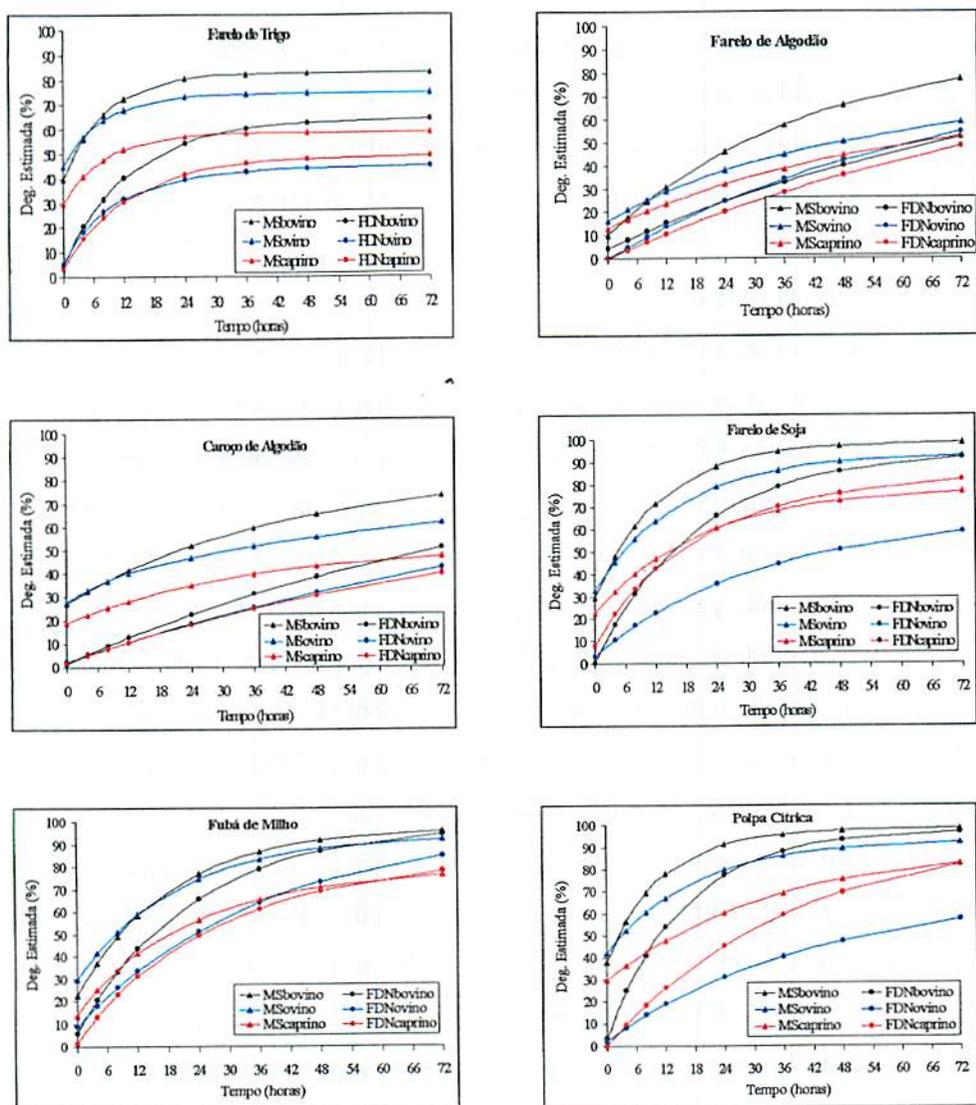


FIGURA 2.2 Degradabilidade estimada da MS e FDN de alimentos concentrados, para as espécies estudadas, nos diferentes tempos de incubação.

Semelhantemente, Boever et al. (1984) observaram, em bovinos, maior capacidade de digestão de forragens, quando comparados aos ovinos. No presente trabalho, no entanto, ovinos e caprinos degradaram os fenos da mesma forma, enquanto as silagens foram melhor degradadas por ovinos. Já os dados de Moron (1999) mostram que os caprinos foram superiores na degradação de volumosos.

A fração MS do feno de alfafa foi, entre os volumosos, a mais degradada em todas as espécies, sendo também o alimento que apresentou maior fração solúvel (A) e maior taxa de degradação da fração potencialmente degradável (B). Para a fração FDN incubada em bovinos e ovinos, os fenos apresentaram valores de degradabilidade igualmente superiores às silagens. O farelo e o caroço de algodão obtiveram os menores valores de degradabilidade para os alimentos concentrados, tanto para a MS como para a FDN, nas três espécies estudadas.

A degradabilidade efetiva da MS foi superior à da FDN (Tabela 2.8) para todos os alimentos avaliados, fato que pode facilmente ser notado nas Figuras 2.1 e 2.2. Isto porque na fração integral (MS) estão presentes os carboidratos solúveis, os quais estão ausentes no resíduo após fervura com detergente neutro. Considerando uma taxa de passagem de 5%/h, Aroeira, Lopes e Dayrell (1996) relataram valores para degradabilidade efetiva da MS do feno de alfafa e feno de coast cross de 61,4% e 45,5%, respectivamente.

A parede celular das leguminosas contem duas vezes mais lignina, e é muito menos digestível do que a parede celular das gramíneas. No entanto, as leguminosas fermentam mais rapidamente e possuem mais baixo conteúdo de hemicelulose; segundo Van Soest (1994) a maioria da celulose presente na planta é digerida no rúmen, mas uma porção substancial de hemicelulose “escapa” do rúmen e é fermentada no trato inferior.

Moron (1999) obteve degradabilidade efetiva da MS de 54,7% para o feno de alfafa e 40,8% para o feno de coast cross. Com relação à

degradabilidade efetiva da FDN, o valor para o feno de alfafa foi de 30,2%, e para o feno de coast cross, de 30,5%. Quanto aos concentrados, o mesmo autor obteve degradabilidade efetiva da MS do fubá de milho, 59,6%; do farelo de soja, 76,7%; do farelo de trigo, 70,6%; e do farelo de algodão, 34,6%.

Estes resultados foram semelhantes aos do presente trabalho, porém, qualquer diferença pode ser atribuída, pelo menos em parte, à falta de padronização da técnica. Fatores ligados à preparação da amostra, animal utilizado (tipo, estado fisiológico, dieta), porosidade e lavagem dos sacos, entre outros, podem afetar profundamente os resultados obtidos.

Na Tabela 2.7 verifica-se também que ovinos e caprinos degradaram de forma semelhante a matéria seca dos alimentos. Entretanto, existem evidências de que caprinos são mais eficientes na digestão da fibra do que ovinos (Gihad, 1976; Gihad, El-Bedawy e Mehrez, 1980; Brown e Johnson, 1985).

Moron (1999) encontrou maior degradabilidade efetiva para caprinos em relação aos ovinos. Porém, as diferenças foram maiores para os alimentos volumosos do que para os concentrados. Para Al Jassim et al. (1991), a alta digestibilidade da fibra em caprinos está relacionada à maior taxa de fermentação e à alta taxa de produção de saliva em comparação aos ovinos.

Para a degradabilidade potencial (DP), houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre espécies e entre alimentos testados ($P < 0,01$). Não houve diferença entre as frações estudadas ($P > 0,05$). As interações não foram significativas ($P > 0,05$).

A degradabilidade potencial seria aquela alcançada pelo alimento se o fator tempo não fosse um limite, ou seja, toda matéria com potencial de ser degradada desapareceria do rúmen se o alimento permanecesse lá indefinidamente. Assim, a degradabilidade potencial está em função das proporções entre as frações dos alimentos. Na Tabela 2.8 verifica-se que os menores valores de DP foram observados para o feno de alfafa, silagem de

capim e farelo de trigo; e como pôde ser visto na Tabela 2.3, estes foram os alimentos com maior teor de fração indegradável, ou seja, aquela fração que, independente do tempo de permanência no rúmen, sairá intacta.

Com relação às frações (MS e FDN) não houve diferenças entre elas, considerando que têm o mesmo potencial de degradação no rúmen, assumindo que o tempo seja infinito. Também, na Tabela 2.8, observa-se que a espécie bovina apresentou maior DP dos alimentos (84,47%) em relação às demais.

TABELA 2.8 Médias da degradabilidade potencial (%) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies.

ALIMENTO	ESPÉCIE			Médias
	Bovinos	Ovinos	Caprinos	
1. Feno de Alfafa	66,25	70,25	69,01	68,50 C
2. Feno de Coast cross	74,31	70,41	80,24	74,99 B
3. Silagem de Milho	82,86	79,43	83,74	82,01 A
4. Silagem de Capim	72,29	68,97	71,69	70,98 C
5. Farelo de Trigo	73,66	60,24	54,23	62,71 C
6. Farelo de Algodão	93,09	82,77	87,92	87,92 A
7. Carço de Algodão	88,20	85,74	60,50	78,15 B
8. Farelo de Soja	97,26	82,63	83,21	87,70 A
9. Fubá de Milho	98,27	95,95	84,90	93,04 A
10. Polpa Cítrica	98,50	86,77	93,76	93,01 A
Médias	84,47 a	78,32 b	76,92 b	

Colunas: médias seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%.

Linhas: médias seguidas de letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%.

5. CONCLUSÕES

As espécies diferiram quanto à taxa e extensão de degradação de alimentos volumosos e concentrados, sendo os bovinos superiores aos ovinos e caprinos. Assim, valores de degradabilidade obtidos com ovinos e caprinos não devem ser utilizados por bovinos e vice-versa.

A técnica *in situ*, apesar de sua extensa utilização e de ser considerada um procedimento de relativa precisão e de fácil condução, precisa ser padronizada para que a comparação de resultados possa ser feita.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AERTS, J. W.; De BRABANDER, D. L.; COTTYN, B. G. et al. Comparison of laboratory methods for predicting of the organic matter digestibility of forages. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.2, p.337-349, 1977.
- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL (AFRC). Agricultural and Food Research Council: Technical Committee on responses to nutrients: Nutritive requirements of ruminant animals: protein. **Nutrition Abstracts and Reviews : Series B**, London, v.62, n.9, p.65-71, Sept. 1992.
- AL JASSIM, R. A. M.; HASSAN, S. A.; AL-ANI, A. N. et al. Effects of undegradable protein supplementation on digestion and nitrogen balance in sheep and goats. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v.5, p.57-63, July 1991.
- AROEIRA, L.J.M.; LOPES, F.C.F.; DAYRELL, M. de S. Degradabilidade de alguns alimentos no rúmen de vacas Holandês/Zebu. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.25, n.6, p.1178-1186, nov./dez. 1996.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. **Official Methods of the Association of Official Analytical Chemist**. 15.ed. Washington, 1990. v.1, 684p.

- BATISTA, A. M. V.; SILVA, J. F. C. da; VALADARES FILHO, S. de C. et al. Consumo, taxa de passagem e digestão em cabras não-gestantes e não-lactantes e no terço final da gestação. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.23, n.1, p.149-155, jan./fev., 1994.
- BOEVER, J. L. de; COTTYN, B. G.; BOUCQUE, C. H. V. et al. Comparative digestibility by sheep and cows and consequences on energy value. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.64, p.175-176, Sept. 1984. Supplement 1.
- BOURQUIM, L. D.; GARLED, K. A.; MERCHEN, N. R. et al. Effects of intake and forage level on site and extend of digestion of plant cell wall monomers components by sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.68, n.8, p.2479-2495, Aug. 1990.
- BROWN, L. E.; JOHNSON, W. L. Intake and digestibility of wheat straw diets by goats and sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.60, n.5, p.1318-1323, May 1985.
- CRAWFORD, R. J.; HOOVER, W. H. Jr; SNIFFEN, C. J. et al. Degradation of foodstuff nitrogen in the rumen vs. nitrogen solubility in three solvents. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.46, n.6, p.1768-1775, May 1978.
- EHLE, F. R.; MARTIN, F.; WHEATON, J. E. Influence of forage source and level on intake, milk production, growth hormone, rate of passage and body composition during lactation. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.64, p.82-83, Sept. 1984. Supplement.
- EUCLYDES, R. F. **Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para análises estatísticas e genéticas)**. 2. ed. Viçosa : UFV, 1997. 150p.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000. **Anais...** São Carlos, SSP:SIB, 2000. p.255-258.
- GALYEAN, M. L.; GOETSCH, A. L. Utilization of forage fiber by ruminants. In: JUNG, H. G.; BUXTON, D. R.; HATFIELD, R. D. et al. **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: American Society of Agronomy, 1993. Cap. 2, p.33 - 71.

- GIHAD, E. A. Intake, digestibility and nitrogen utilization of tropical natural grass hay by goats and sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.43, n.4, p.879-883, Oct. 1976.
- GIHAD, E. A.; EL-BEDAWY, T. M.; MEHREZ, A. Z. Fiber digestibility by goats and sheep. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.63, n.10, p.1701-1706, Oct. 1980.
- HARTNELL, G. F.; SATTER, L. D. Determination of rumen fill, retention time and ruminal turnover rates of digest at different stages of lactation in dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.48, n.2, p.381-392, Feb. 1979.
- HUNTINGTON, J. A.; GIVENS, D. I. The in situ technique for studying the rumen degradation of feeds: A review of the procedure. **Nutrition Abstracts and Reviews, Series B**, London, v.65, n.2, p.63-90, Feb. 1995.
- KANDYLIS, K.; NIKOKYRIS, P. N. Nitrogen solubility in three solvents and in situ protein degradability of ruminant foodstuffs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.75, n.2, p.187-197, Oct. 1997.
- MEHREZ, A. Z.; ØRSKOV, E. R. A study of the artificial fiber bag technique for determination the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.88, n.1, p.645, Mar. 1977.
- MERTENS, D. R. Rate and extent of digestion. In: FORBES, J. M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**, Cambridge: University Press, 1993. Cap. 2, p.13-51.
- MORON, I. R. **Cinética da digestão ruminal *in situ* e *in vitro* de alimentos concentrados e volumosos em ruminantes de diferentes grupos genéticos**. 1999. 191p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- MOULD, F. L.; ØRSKOV, E. R. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco dry matter degradation and the rumen microflora in sheep offered in their hay or concentrate. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.10, n.1, p.1-14, 1983/84.
- NAVARATRE, H. U. R. G.; IBRAHIM, M. N. M.; SHIERE, J. B. Comparison of four techniques for predicting digestibility of tropical feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.29, n.1, p.209-221, 1990.

- NOCEK, J. E. Evaluation of specific variables affecting *in situ* estimates of ruminal dry matter and protein digestion. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.60, n.5, p.1347-1358, May 1985.
- NOCEK, J. E. *In situ* and others methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.8, p.2051-2059, Aug. 1988.
- ØRSKOV, E. R.; McDONALD, T. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate passage. **Journal of Agricultural Science, Cambridge**, v.92, n.2, p.499-503, Apr. 1979.
- PEREIRA, J. R. A. Avaliação das sub-frações dos carboidratos e das proteínas da silagem de milho, farelo de algodão e milho, usando a metodologia do CNCPS e *in situ* com bovinos da raça nelore. 1995. 94p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- POND, K. R.; GOODE, L.; LEONARD, E. S.; MANN, L. D. Intake, digest fill and flow kinetics pre and post part. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.64, p.68-69, Sept. 1984. Supplement.
- POOS-FLOYD, M.; KLOPFENSTEIN, T.; BRITTON, R. A. Evaluation of laboratory techniques for predicting ruminal protein degradation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, n.4, p.829-839, Apr. 1985.
- QUINN, J. I.; VAN DER WATH, J. G.; MYBURGH, S. Studies on the alimentary tract of merino sheep in South Africa. Description of experimental technique. **Journal of Veterinary Science Animal Indian, Ondersteport**, v.11, n.2, p.341-60, 1938.
- REES, M. C.; LITTLE, D. A. Differences between sheep and cattle in digestibility, voluntary intake and retention time in the rumen of three tropical grasses. **Journal of Agricultural Science, Cambridge**, v.94, n.2, p.483-485, Apr. 1980.
- RODRIGUEZ, L.R.R.; FONTES, C.A. de A.; JORGE, A.M. et al. Digestibilidade de rações contendo quatro níveis de concentrado, em bovinos (Taurinos e Zebuínos) e bubalinos. **Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa**, v.26, n.4, p.844-851, jul./ago. 1997.

- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v.30, p.507-512, Sept. 1974.
- SILVA, D. J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 2. ed. Viçosa: UFV, 1990. 165p.
- SILVA, E. C. **Avaliação do poder e taxas de erro tipo I do teste de Scott - Knott por meio do método de Monte Carlo**. 1998. 54p. Dissertação (Mestrado em Experimentação Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- STERN, M. D.; SATTER, L. D. Evaluation of nitrogen solubility and the dacron bag technique as methods for estimating protein degradation in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, n.3, p.714-724, Mar. 1984.
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; MILLS, C. R. et al. Rumen degradability of organic matter, nitrogen and fiber fractions in forages. **Animal Production**, Edinburgh, v.51, n.3, p.515-526, Dec. 1990.
- UDEN, P.; VAN SOEST, P. J. Investigation of the in situ bag technique and a comparison of the fermentation in heifers, sheep, ponies and rabbits. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, n.1, p.213-221, Jan. 1984.
- VALADARES FILHO, S. C.; COELHO SILVA, J. F.; LEÃO, M. I. et al. Degradabilidade *in situ* da proteína bruta e matéria seca de alguns alimentos em vacas gestantes e lactantes. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.20, n.1, p.111-122, jan./fev. 1991.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VAZQUEZ-ANON, M.; HEINRICH, A. J.; ALDRICH, J. M. et al. Effect of post weaning age on rate of in situ protein disappearance in calves weaned at 5 weeks of age. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.9, p. 2749-2757, Sept. 1993.
- WEAKLEY, D. C.; STERN, M. D.; SATTER, L. D. Factors affecting disappearance of foodstuffs from bags suspended in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.56, n.2, p.493-507, Feb. 1983.

WILKERSON, V. A.; KLOPFENSTEIN, T. J.; STROUP, W. W. A collaborative study of *in situ* forage protein degradation. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.73, n.2, p.583-588, Feb. 1995.

CAPÍTULO 3

Estimativa da degradabilidade ruminal de alimentos utilizando a técnica de produção de gás em bovinos, ovinos e caprinos

RESUMO

SANTOS, R. A. Estimativa da degradabilidade ruminal de alimentos utilizando a técnica de produção de gás em bovinos, ovinos e caprinos. Lavras: UFLA, 2001. 100p. (Tese – Doutorado em Nutrição de Ruminantes).

A técnica de produção de gás consiste basicamente em medir a produção total de gás liberada a partir da fermentação de uma amostra incubada em líquido ruminal tamponado. Outros métodos *in vitro* são baseados em mensurações gravimétricas que seguem o desaparecimento do substrato, enquanto a mensuração de gás se concentra no surgimento de produtos de fermentação. Esta diferença no princípio do método faz com que esta técnica apresente alta correlação com a digestibilidade *in vivo*. Assim, o objetivo deste trabalho foi validar a técnica de produção de gás na avaliação de alimentos concentrados e volumosos e as possíveis diferenças entre bovinos, ovinos e caprinos quanto à degradação destes alimentos. O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA. O líquido ruminal (inóculo) foi originado de 3 vacas Holandesas, 3 ovelhas e 3 cabras sem raça definida, fistuladas no rúmen. Foram avaliadas as frações SDN (solúvel em detergente neutro) e FDN (fibra em detergente neutro), de alimentos concentrados (fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, caroço de algodão, farelo de trigo e polpa cítrica) e volumosos (feno de alfafa, feno de coast cross, silagem de milho e silagem de capim). As leituras do volume cumulativo de gás foram feitas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60 e 72 horas após a incubação. Não houve diferença ($P>0,05$) entre as espécies, para nenhuma das variáveis estudadas. A fração SDN apresentou maior produção de gás e taxa de degradação em relação a FDN (50,66 ml e 25,14 ml; 10,54 %/h e 5,81 %/h respectivamente). Para o tempo de colonização, a FDN apresentou maior valor que a SDN (5,15 h e 0,99 h respectivamente). A técnica de produção de gases permitiu estimar as taxas de digestão das frações insolúveis e, principalmente, das frações solúveis (CNE) dos carboidratos totais.

ABSTRACT

SANTOS, R. A. Estimate of the ruminal degradability of some feeds using gas production technique in cattle, sheep and goats. Lavras, UFLA, 2001. 100p. (Doctor's Thesis – Ruminant Nutrition).

The gas production technique consists basically of measuring the total gas production liberated starting from the fermentation of a sample incubated in buffering ruminal liquid. Other methods *in vitro* are set in gravimetric measurements that follow the disappearance of the substrate, while, the measurement of gas concentrates on the appearance of fermentation products. This difference at the beginning of the method, does with that this technique presents high correlation with the *in vivo* digestibility. Thus, the objective of this work went to validate the technique of gas production in the evaluation of concentrated feeds and roughages, and the possible differences among cattle, sheep and goats, with relationship to the degradation of these feeds. The experiment was carried out in the Laboratory of Animal Research of the Animal Science Department - UFLA. The ruminal liquor was originated from 3 Holstein cows, 3 sheep and 3 goats without defined race, fistulated in the rumen. They were appraised the NDS fraction (neutral detergent soluble) and NDF (neutral detergent fiber), of concentrated feeds (ground corn, soybean meal, cotton meal, cottonseed, wheat meal and citrus pulp), and roughages (alfalfa hay, coast cross hay, corn silage and grass silage). The readings of the cumulative volume of gas were made 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60 and 72 hours after the incubation. There was not difference ($P>0.05$) among the species, for any of the studied variables. The NDS fraction presented larger gas production degradation rate in relation to NDF (50.66ml and 25.14ml, 10.54%/h and 5.81%/h respectively). To the "lag time", NDF presented larger value than NDS (5.15h and 0.99h respectively). The gas production technique allowed to estimate the rates of digestion of the insoluble fractions and, mainly, of the soluble fractions (NSC) of the total carbohydrates.

1. INTRODUÇÃO

A técnica de produção de gás (Menke et al., 1979; Pell e Schofield, 1993; Theodorou et al., 1994) consiste basicamente em medir a produção total de gás liberada a partir da fermentação de uma amostra incubada em líquido ruminal tamponado. As vantagens desta técnica sobre as outras técnicas *in vitro*, como a de Tilley e Terry (1963), para a avaliação de alimentos, foram destacadas por Blümmel e Ørskov (1993) e por Makkar et al. (1995). Outros métodos *in vitro* são baseados em mensurações gravimétricas que seguem o desaparecimento do substrato (componentes que podem ou não contribuir para a fermentação), enquanto a mensuração de gás se concentra no surgimento de produtos de fermentação (substâncias solúveis, mas não fermentáveis, não contribuem para a produção de gás). Esta diferença no princípio do método faz com que esta técnica apresente alta correlação com a digestibilidade *in vivo*.

Além disso, no método do gás a cinética de fermentação pode ser estudada em uma única amostra. Portanto, é necessário uma quantidade relativamente pequena de amostra, ou um maior número de amostras pode ser avaliado. Apresenta como desvantagem o baixo peso da amostra a ser incubada, o que dificulta a obtenção de amostras homogêneas. Por isso, a granulometria da moagem pode ser de 1,0 a 0,5 mm. Outra desvantagem do método é o fato de que os tampões também podem gerar gás.

Assim, o objetivo deste trabalho foi validar a técnica de produção de gás na avaliação de alimentos concentrados e volumosos comumente usados em dietas de ruminantes, bem como verificar possíveis diferenças entre bovinos, ovinos e caprinos quanto à degradação destes alimentos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Conforme Blümmel e Ørskov (1993), a produção de gás é basicamente resultado da fermentação de carboidratos a acetato, propionato, butirato, CO₂ e CH₄, durante o metabolismo anaeróbico no rúmen. A produção de gás medida por esta técnica é resultado da produção direta (gás produzido como resultado da fermentação de carboidratos a CO₂ e CH₄) e indireta de gás (gás produzido pelo tamponamento (CO₂/HCO₃) de ácidos graxos de cadeia curta, ou seja, CO₂ liberado do tampão bicarbonato).

A produção de gás a partir da fermentação protéica é relativamente pequena quando comparada à de carboidratos; os esqueletos de carbono são reutilizados na formação de ácidos graxos voláteis e a amônia é incorporada à proteína microbiana. A contribuição da gordura para produção de gases é insignificante.

2.1 Fatores que afetam a produção de gás

Um dos fatores que afetam a produção de gás de um alimento é a proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). De maneira geral, o gás é produzido principalmente quando o substrato é fermentado a acetato e butirato, enquanto a fermentação do substrato a propionato produz gás apenas do tamponamento do ácido (gás indireto). Portanto, a produção de gás relativamente mais baixa pode estar associada com a produção de propionato (Hungate, 1966 e Van Soest, 1994).

Segundo Beuvink e Spoeltra (1992) e Blümmel e Ørskov (1993), as produções molares de diferentes AGCC (acetato, propionato e butirato) são dependentes do tipo de substrato. De acordo com Blümmel e Ørskov (1993), para volumosos, quando se utiliza o tampão bicarbonato, cerca de 50% do gás total são oriundos do tamponamento dos AGCC e o restante é resultado direto da

fermentação. Já em dietas ricas em concentrados, que resultam numa fermentação com alta proporção molar de propionato, a quantidade de CO₂ gerada pelo tamponamento de AGCC é cerca de 60% da produção total de gás.

Outros fatores que podem afetar a fermentação de alimentos pelos microrganismos do rúmen, e conseqüentemente influenciar na produção de gás, são anaerobiose, temperatura, pH apropriado e tamponamento adequado.

Usando 3 horas de incubação, Trei et al. (1970) observaram um decréscimo significativo na produção de gás, por grama de matéria seca, quando o tamanho da amostra aumentou de 1 para 3 gramas, provavelmente devido ao esgotamento de tampão e baixa proporção microrganismos/substrato. Entretanto, Raab et al. (1983) descreveram uma correlação linear altamente significativa entre a quantidade de substrato incubado e a quantidade de gás produzido em 24 horas. Porém, a linearidade foi perdida quando ocorreu o esgotamento de tampão no meio.

2.2 Técnicas de medir gás *in vitro*.

2.2.1 Teste de gás de Hohenhein ou método de Menke.

Este método consiste na medida direta do volume de gás sob condições normais de pressão atmosférica (Menke et al. 1979). Neste sistema, as fermentações são conduzidas em grandes seringas de vidro, com capacidade para 150 ml, contendo o alimento e um fluido ruminal tamponado, que são incubadas a 39°C durante 24 horas, numa estufa munida de rotor. A desvantagem do método é a capacidade limitada da seringa para se colocar uma quantidade maior de amostra, principalmente aquelas de natureza volumosa, o que diminui a precisão.

O método de Menke et al. (1979) foi modificado por Blümmel e Ørskov (1993), segundo os quais os alimentos foram incubados em um banho-maria termostaticamente controlado, ao invés de um incubador. As principais

vantagens do método modificado sobre o método original de Menke são: queda mínima na temperatura do meio, o que é muito útil para estudar cinética de fermentação, em que o volume de gás deve ser registrado em vários intervalos de tempo; e aumento no peso das amostras, o que diminui os erros.

2.2.2 Sistema de deslocamento de líquido

Para este método, Beuvink et al. (1992) utilizaram um sistema fechado no qual a produção de gás é medida por deslocamento de líquido. O alimento é incubado com 60 ml de fluido ruminal tamponado, em garrafas de fermentação por um período de 24 horas. Uma garrafa é colocada em banho maria a 39°C e conectada ao sistema de deslocamento de água. A quantidade de líquido deslocada pelo gás é coletada e pesada, e as informações são transmitidas a um computador. Embora a produção de gás seja registrada automaticamente, o preparo, antes de iniciarem as medidas, é descrito como trabalhoso e complicado.

2.2.3 Método manométrico

Embora este método permita uma determinação quantitativa dos ácidos e gases envolvidos durante a fermentação e possibilite a incubação de amostras maiores, sua principal restrição, segundo Hungate et al. (1955), está no número de amostras. Waghorn e Stafford (1993) modificaram o método manométrico introduzindo a agitação mecânica.

2.2.4 Sistemas de transdutor de pressão: manual (Theodorou et al., 1994), computadorizado (Pell e Schofield, 1993), combinação de transdutor de pressão e sistema de liberação de gás (Cone et al., 1996).

No trabalho realizado por Pell e Schofield (1993), foi utilizado um sistema computadorizado para estudar a cinética da digestão de forragens,

medindo-se a produção de gás. Sensores de pressão individuais são conectados aos frascos de incubação e permanecem lá durante todo o período de leitura. Estes sensores são, então, ligados a um computador e as leituras são iniciadas. Utilizando este método, os autores examinaram o efeito da amostra, inóculo e tamanho de recipiente na produção de gás. Quando se adicionou uma pequena quantidade de amostra (100 mg), um erro de amostragem significativo na produção de gás foi observado, quando comparado ao obtido com uma amostra maior (200 mg). Com relação ao inóculo, uma quantidade menor proporcionou um “lag time” levemente mais longo do que um inóculo maior. Este sistema computadorizado de Pell e Schofield (1993) permite registros freqüentes de produção de gás. Contudo, o sensor de pressão utilizado no sistema tem a capacidade de 45 ml de gás; por isso, não permite incubação de amostra maior que 100 mg.

O método de Theodorou et al. (1994) também utiliza o transdutor de pressão para medir gás liberado durante a fermentação de ácidos. Uma agulha hipodérmica, ligada a um transdutor com leitor digital, é inserida manualmente através de uma tampa de borracha para medir a pressão do gás no espaço entre o líquido e a tampa. O volume é determinado registrando o gás que desloca para o corpo da seringa. Este método exige somente um transdutor de pressão, enquanto, na técnica descrita por Pell e Schofield (1993), cada frasco de incubação tem seu próprio sensor de pressão. Portanto, a vantagem do método de Theodorou et al. (1994) é que um número maior de amostras pode ser manuseado de cada vez, a um custo mais baixo.

Em ambos os métodos, a pressão acumulada não é liberada e isto pode, eventualmente, prejudicar a fermentação microbiana em ensaios de longa duração. O aumento de pressão pode mudar a solubilidade dos gases no meio, o que leva a um erro na mensuração de gás. Além disso, através do método do

transdutor de pressão, Theodorou et al. (1994) e Lowman et al. (1997) observaram uma influência do intervalo de leitura sobre a produção de gás.

Em seus estudos, Cone et al. (1996) utilizaram um transdutor de pressão em combinação com uma válvula elétrica de liberação de gás. A mensuração de gás é efetuada com uma unidade de controle eletrônico, ligada a um computador. O método permite registros frequentes de produção de gás, o que é uma vantagem sobre o registro manual de volume de gás. Porém, seu custo é mais alto em função da sofisticação dos equipamentos eletro-eletrônicos, e ainda pode haver introdução de erros sistemáticos causados pela liberação do gás.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e animais utilizados

A avaliação dos alimentos pela técnica manométrica de produção de gás foi conduzida no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA. Para coleta do líquido ruminal (inóculo), foram utilizadas 3 vacas Holandesas, 3 cabras e 3 ovelhas sem raça definida (SRD), não gestantes, não lactantes, providas de fistula ruminal. Os animais permaneceram em piquetes com livre acesso à água e foram alimentados duas vezes ao dia com uma dieta à base de silagem de capim com sorgo e ração concentrada.

3.2 Preparo das amostras

Foram utilizados alimentos concentrados (fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, caroço de algodão, farelo de trigo e polpa cítrica) e volumosos (feno de alfafa, feno de coast cross, silagem de milho e silagem de capim). As amostras foram previamente secas (65°C por 72 horas), moídas em peneira de 2 mm. Posteriormente, todos os alimentos foram analisados para matéria seca (MS) e proteína bruta (PB), de acordo com as metodologias descritas por AOAC

(1990). Fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas de acordo com as metodologias propostas por Van Soest e Wine (1968), descritas por Silva (1990). A composição bromatológica dos alimentos encontra-se na Tabela 3.1.

TABELA 3.1 Composição bromatológica dos alimentos utilizados nos experimentos *in vitro* e *in situ*, expressa em porcentagem da matéria seca.¹

ALIMENTOS	MS	PB	FDN	SDN ²	FDA	HEM ³
Feno de Alfafa	91,84	22,89	45,90	54,10	34,20	11,70
Feno de Coast cross	90,42	8,60	72,59	27,41	50,78	21,81
Silagem de Milho	30,20	2,70	54,88	45,12	28,10	26,78
Silagem de Capim	27,10	1,40	67,44	32,56	40,30	27,14
Farelo de Trigo	89,18	18,47	41,06	58,94	14,32	26,74
Farelo de Algodão	89,66	32,91	39,07	60,93	23,00	16,07
Caroço de Algodão	93,12	19,90	48,94	51,06	41,34	7,60
Farelo de Soja	89,34	52,24	15,84	84,16	11,64	4,20
Fubá de Milho	86,92	8,69	11,62	88,38	1,96	9,66
Polpa Citrica	90,48	7,08	25,68	74,32	23,89	1,79

¹ Análises realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA.

² Fração solúvel em detergente neutro (SDN = 100 - FDN).

³ Hemicelulose (HEM = FDN - FDA).

Para as incubações *in vitro*, pela técnica de produção de gás foi tomada uma amostra de aproximadamente 5g, a qual foi submetida à fervura durante 1 hora em solução de detergente neutro. Posteriormente, o resíduo foi filtrado em saco de náilon (porosidade média 54,35 µm) e exaustivamente lavado com água quente, acetona, e novamente com água, para a retirada completa do detergente sendo, então, colocado em estufa de ventilação forçada a 65°C durante 72 horas.

3.3 Preparo do inóculo

Foi utilizado o líquido ruminal de 3 vacas Holandesas, 3 cabras e 3 ovelhas sem raça definida, fistuladas no rúmen, tendo a extração sido feita nas primeiras 3 horas após alimentação. O líquido foi filtrado em gaze e acondicionado em garrafa térmica pré-aquecida com água a 39°C. Nas vacas, a coleta foi feita manualmente, na região ventral do rúmen. Para as cabras e ovelhas, devido às dimensões da fistula ruminal, a coleta foi feita por meio de uma mangueira conectada a uma bomba a vácuo, sendo que o líquido succionado desembocava diretamente em erlenmayer pré-aquecido, sendo posteriormente recolhido. O inóculo foi composto por uma mistura de líquido ruminal retirado de 3 animais por espécie. No laboratório, o líquido retirado foi novamente filtrado em 4 camadas de gaze, diretamente nos frascos de incubação, através de um funil acoplado a uma bureta de 100 ml.

3.4 Meio de cultura

Os microrganismos ruminais foram diluídos no meio denominado “tampão de McDougal” (McDougal, 1949). Este meio é adequado para manter a microbiota ruminal. Depois de preparada, a solução tampão foi colocada em banho-maria e reduzida, através de borbulhamento com CO₂, até que seu pH atingisse valores entre 6,8 – 6,9. Neste ponto, adicionou-se, para cada 1 litro de tampão, uma solução redutora preparada momentos antes, composta de 891 mg de HCl-cisteína e 891 mg de sulfeto de sódio, 5,7 ml de NaOH 1 N e água destilada até o volume de 77 ml; este volume foi calculado para manter uma relação solução tampão:solução redutora de 26:2. Então, a solução foi novamente borbulhada com CO₂, para atingir pH entre 6,8 – 6,9. Assim feito, a solução tampão estava pronta para ser utilizada.

3.5 Incubação

Aproximadamente 400 mg de MS integral e a devida proporção em FDN foram pesados em triplicata e colocados em frascos plásticos com capacidade de 100 ml. Estes, por sua vez, receberam 4 ml de água destilada para hidratar a amostra, mais 28ml da solução tampão pré-reduzida. Cada frasco foi, então, aspergido por 10 segundos com CO₂, tampado com rolha de borracha e levado ao banho-maria a 39°C, permanecendo lá até que o líquido ruminal fosse coletado e filtrado. Então, os frascos foram retirados do banho-maria, receberam 8 ml do inóculo, aspergidos novamente com CO₂, imediatamente tampados com rolha de borracha e tampa plástica rosqueada e foram colocados em banho-maria a 39°C (Malafaia, 1997). Feito isto, foi introduzida uma agulha em cada frasco por vez, durante 3 segundos, que serviu para descartar os gases e, assim zerar a pressão e volume dentro dos frascos. Desta maneira, as incubações foram realizadas separadamente para a matéria seca total (MS) e para a FDN.

3.6 Coleta de dados

As leituras de pressão e volume dos gases foram obtidas por meio de um manômetro (0-1 kgf/cm²) acoplado a uma seringa (20 ml), conforme descrito por Malafaia (1997), nos seguintes tempos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60 e 72 horas após o início da incubação. Para quantificar a produção de gás oriunda do tampão e do inóculo ruminal, três frascos foram incubados sem amostra (branco); dessa forma, o volume acumulado de gás nos frascos sem amostra foi subtraído do volume acumulado nos frascos com amostra. Com o somatório do volume de gás para cada tempo de leitura, podem ser construídas as curvas de produção cumulativa dos gases oriundos da MS e FDN, sendo a curva correspondente à fração solúvel em detergente neutro (SDN) obtida pela diferença entre o gás da MS e o da FDN para cada tempo de incubação, método este denominado como “curva de subtração”.

3.7 Manipulação dos dados

A cinética da produção cumulativa dos gases foi analisada empregando-se o modelo logístico unicompartimental descrito por Schofield, Pitt e Pell (1994):

$$V(t) = \frac{Vf}{1 + \exp[2.4 * c * (T - L)]}$$

no qual $V(t)$ é o volume acumulado no tempo t ; Vf (ml) é o volume total de gás produzido a partir da fração em questão; c (%/h) é a taxa de degradação da fração; L (h) é o tempo de colonização e T (h) é o tempo de incubação.

Para a realização dos ajustes, utilizou-se o processo iterativo do algoritmo de Marquadt implantado no software SAEG, descrito por Euclides (1997).

3.8 Análises estatísticas

Os valores do volume acumulado de gás, taxa de degradação “ c ” e o tempo de colonização foram submetidos à análise estatística. O quadro de análise de variância é apresentado na Tabela 2 do anexo. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições, em esquema fatorial $10 \times 3 \times 3$, sendo 10 alimentos, 3 frações (MS, FDN e SDN) e 3 espécies (bovina, ovina e caprina), conforme modelo estatístico:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + F_j + E_k + AF_{ij} + AE_{ik} + FE_{jk} + AFE_{ijk} + e_{ijk}$$

sendo:

y_{ijk} observação referente ao alimento i na fração j na espécie k ;

μ média geral;

A_i efeito do alimento i , sendo $i = 1, 2, 3, \dots, 10$;

F_j efeito da fração j , sendo $j = 1, 2, 3$;

E_k efeito da espécie k , sendo $k = 1, 2, 3$;

AF_{ij} efeito da interação do alimento i com a fração j ;

AE_{ik} efeito da interação do alimento i com a espécie k ;

FE_{jk} efeito da interação da fração j com a espécie k ;

AFE_{ijk} efeito da interação do alimento i com a fração j , na espécie k ;

e_{ijk} erro aleatório associado a cada observação.

As médias foram comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974) contido no programa estatístico SISVAR (Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados), segundo Ferreira (2000). De acordo com Silva (1998), a grande vantagem deste teste é a ausência de ambigüidade presente nos procedimentos de comparações múltiplas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Volume acumulado de gás

Houve diferença ($P < 0,01$) entre os alimentos, frações e espécies estudadas. Houve significância para as interações espécie x alimento, fração x alimento, espécie x fração e espécie x alimento x fração.

As médias do volume acumulado de gás (ml) dos alimentos testados, após 72 horas de incubação, encontram-se na Tabela 3.2.

TABELA 3.2 Médias do volume acumulado de gás (ml) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies e frações.

ALIMENTO	BOVINOS			OVINOS			CAPRINOS		
	MS	FDN	SDN	MS	FDN	SDN	MS	FDN	SDN
1. Feno de Alfafa	74,94 AaC	11,42 BcC	60,81 AbB	76,67 AaC	31,28 AcA	46,57 AbD	84,18 AaC	29,19 AcB	55,34 AbC
2. Feno de Coast cross	79,20 AaC	45,65 AbA	33,88 BcD	73,39 AaC	12,71 CcB	61,26 AbC	55,67 BaD	26,78 BbB	29,26 BbE
3. Silagem de Milho	87,40 AaB	20,15 BcB	66,63 AbB	83,52 AaB	42,46 AbA	47,18 BbD	63,77 BaD	37,87 AbB	30,18 CbE
4. Silagem de Capim	34,84 BaF	26,67 BaB	7,82 CbE	62,91 AaD	38,42 AbA	24,70 BcE	70,41 AaD	18,01 BcC	52,55 AbC
5. Farelo de Trigo	86,02 AaB	21,04 BcB	65,36 AbB	96,49 AaA	23,21 BcB	74,84 AbB	44,90 BaE	34,48 AaB	11,98 BbF
6. Farelo de Algodão	46,93 BaE	41,52 AaA	16,28 AbE	59,14 AaD	37,68 AbA	20,00 AcE	59,00 AaD	35,57 AbB	23,17 AcE
7. Caroço de Algodão	27,64 AaF	19,61 AaB	12,92 AaE	35,36 AaE	29,45 AaA	12,64 AbE	37,17 AaE	29,41 AaB	17,92 AbF
8. Farelo de Soja	63,40 BaD	16,61 BcB	48,04 AbC	71,48 BaC	16,26 BcB	54,88 AbC	83,13 AaC	52,68 AbA	40,00 AbD
9. Fubá de Milho	88,20 BaB	2,07 AbC	86,25 BaA	105,03 AaA	1,98 AbC	103,44 AaA	114,03 AaA	2,03 AbD	112,08 AaA
10. Polpa Cítrica	117,97 AaA	25,07 AcB	94,70 AbA	97,22 BaA	21,51 AcB	69,16 BbB	101,38 BaB	15,18 AcC	89,22 AbB

Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%. Nas colunas, letras maiúsculas para diferenciar as espécies dentro de cada fração, para cada alimento; letras minúsculas para diferenciar as frações dentro de cada espécie, para cada alimento. Nas linhas, letras maiúsculas em negrito para diferenciar os alimentos dentro de cada espécie, para cada fração.

Os maiores valores foram observados para o fubá de milho e a polpa cítrica. Isto se explica pelo fato de que alimentos ricos em carboidratos solúveis, como o amido presente no fubá, propiciam uma maior fermentação ruminal e, conseqüentemente, maior produção de gás em relação a outros alimentos com maior proporção de carboidratos estruturais (parede celular). Da mesma forma, a pectina presente na polpa cítrica também propicia uma maior produção de gás devido à sua alta fermentabilidade, o que, segundo Van Soest (1994), estimula a atividade microbiana ruminal e, assim a produção de ácidos graxos voláteis totais.

O caroço de algodão foi o alimento concentrado que apresentou menor produção de gás em todas as espécies estudadas, seguido dos farelos de algodão e soja, o que pode ser explicado pelo alto conteúdo de proteína destes alimentos, pois, de acordo com Khazaal et al. (1995), a incubação de substratos ricos em proteína resultaria na formação de bicarbonato de amônio, a partir de CO_2 e amônia, reduzindo, assim, a contribuição de CO_2 para a produção total de gás.

Dentre os volumosos testados, a silagem de capim apresentou uma menor produção de gás quando foram utilizados os inóculos de bovinos e ovinos. Quanto aos caprinos, o menor volume de gás foi obtido pelo feno de coast cross. Segundo Beuvink e Kogut (1993), a parede celular pode ser dividida em 3 partes: 1) material rapidamente fermentável; 2) material lentamente fermentável e 3) fração não fermentável, consistindo basicamente de tecido vascular lignificado. O que caracteriza maior ou menor digestão é a proporção entre estas frações. Como o teor de fibra em detergente neutro para a silagem de capim foi alto, pode-se atribuir isto ao fato de, segundo Van Soest (1994), existir uma menor atividade de celulasas em líquido de rúmen filtrado, como aquele utilizado neste trabalho. As bactérias celulolíticas atacam as fibras e lá produzem suas enzimas, de modo que grande parte delas fica retida no material filtrado.

Houve diferença entre as espécies, no entanto, quando se considera cada alimento isolado, uma espécie ou outra se destaca; por exemplo, para a matéria seca, o feno de alfafa e o caroço de algodão, mostraram o mesmo comportamento em relação aos diferentes inóculos. Quanto à FDN, o farelo e o caroço de algodão, o fubá de milho e a polpa cítrica também não foram diferentes entre as espécies. Também não houve diferença entre espécies quando foi avaliada a fração solúvel (SDN) do feno de alfafa, caroço de algodão e os farelos de soja e algodão.

Na Tabela 3.2, pode-se observar também uma maior produção de gás para a fração solúvel em detergente neutro (SDN) em relação à fibra em detergente neutro (FDN) para a maioria dos alimentos avaliados. Este resultado também está evidenciado nas Figuras 3.1 e 3.2. Ao contrário, o farelo e o caroço de algodão apresentaram maior produção de gás para a FDN. Dessa forma, pode-se inferir que, nestes alimentos, esta fração é a principal fonte de energia para o crescimento microbiano.

Ainda na Tabela 3.2 pode-se verificar que para a silagem de capim, a produção de gás oriunda da FDN e da SDN foi estatisticamente igual (27,70 ml; 31,82 ml). Alimentos que apresentam valor de FDN maior do que de SDN (Tabela 3.1), produzem proporcionalmente, maior volume de gás para a fração FDN, podendo-se pressupor que a maior parte desta fração constitui-se de material indegradável ou lentamente degradável.

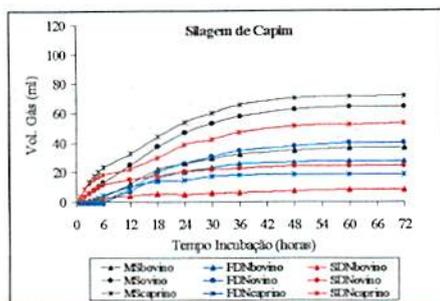
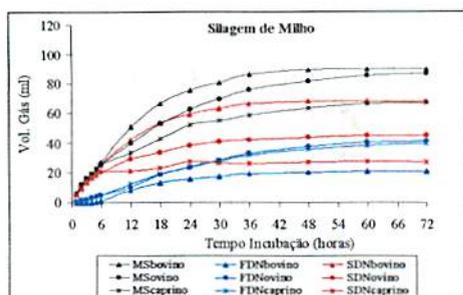
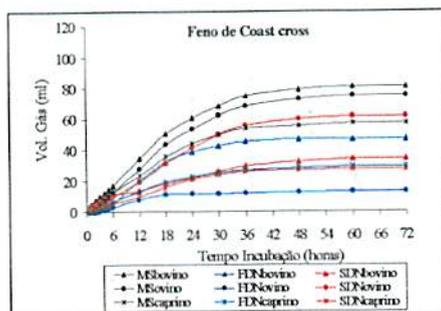
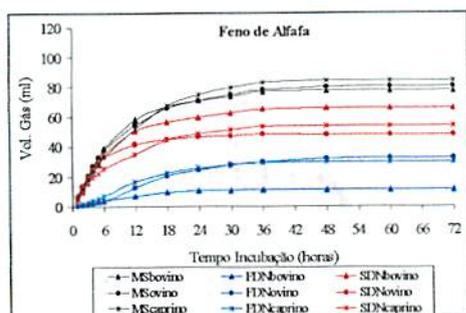


FIGURA 3.1 Curvas da produção cumulativa de gás da MS, FDN e SDN, dos fenos de alfafa e coast cross e das silagens de milho e capim, utilizando inóculo de bovinos, ovinos e caprinos.

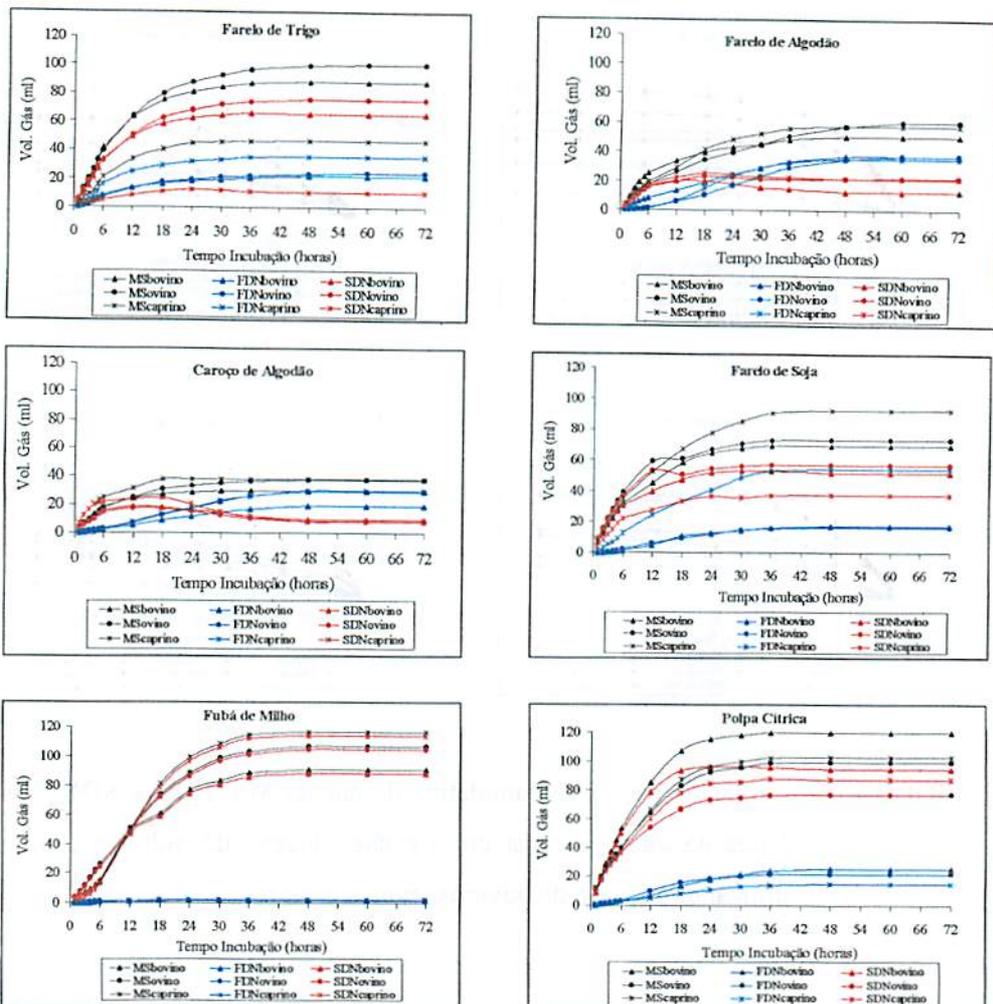


FIGURA 3.2 Curvas da produção cumulativa de gás da MS, FDN e SDN, dos farelos de trigo, algodão e soja, caroço de algodão, fubá de milho e polpa cítrica, utilizando inóculo de bovinos, ovinos e caprinos.

4.2 Taxa de degradação

Através da análise de variância, não foi detectada diferença entre as espécies ($P>0,05$). Por serem distintos, houve diferença significativa ($P<0,01$) entre alimentos e entre frações. As interações espécie x alimento, fração x alimento, espécie x fração e espécie x alimento x fração também foram significativas ($P<0,01$).

Na Tabela 3.3 verifica-se que o caroço de algodão foi o alimento concentrado que apresentou maior taxa de degradação da matéria seca, quando utilizado o inóculo de bovinos e caprinos. Como foi comentado no item 4.1, o farelo e o caroço de algodão apresentaram maior produção de gás para a FDN em relação à SDN. Pode-se constatar, então, que a fração fibrosa do caroço de algodão constitui-se de uma maior proporção de carboidratos rapidamente fermentáveis.

Na Figura 3.2, verifica-se que para todas as espécies, o caroço de algodão (MS) alcançou seu valor máximo de digestão (máximo volume de gás) com 36 horas de incubação.

Quanto aos volumosos, apenas o feno de alfafa se destacou entre os demais. De fato, as leguminosas são caracterizadas por conterem maior quantidade de fração solúvel em relação às gramíneas (Galyean e Goetsch, 1993). Outra notável diferença entre estes alimentos, deve-se ao menor teor de FDN (Tabela 3.1) no feno de alfafa e, por conseguinte, maior teor de carboidratos não estruturais (SDN), o que permite à alfafa ser classificada como um volumoso de alta qualidade. Este fato já havia sido preconizado por Schofield e Pell (1995), segundo os quais a contribuição de gás a partir da fração SDN é maior para as leguminosas do que para as gramíneas.

TABELA 3.3 Médias da taxa de degradação (%/h) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies e frações.

ALIMENTO	BOVINOS			OVINOS			CAPRINOS		
	MS	FDN	SDN	MS	FDN	SDN	MS	FDN	SDN
1. Feno de Alfafa	7,74 AaB	5,80 AaB	8,62 BaC	7,00 AbA	4,97 AbC	12,75 AaB	5,62 AaB	5,53 AaB	7,21 BaB
2. Feno de Coast cross	3,79 AaC	5,86 BaB	2,94 AaD	3,97 AbB	8,76 AaB	3,61 AbC	4,34 AaB	4,75 BaB	3,89 AaA
3. Silagem de Milho	4,66 AaC	5,84 AaB	5,21 BaD	3,44 AaB	3,27 AaC	6,04 BaC	4,06 AbB	3,33 AbB	14,50 AaA
4. Silagem de Capim	4,49 AaC	5,85 AaB	6,32 AaD	3,73 AaB	4,65 AaC	5,55 AaC	3,54 AaB	6,04 AaB	3,30 AaA
5. Farelo de Trigo	6,70 AaC	5,32 AaB	7,38 AaC	5,51 AaA	5,01 AaC	6,00 AaC	6,82 AaB	6,13 AaB	6,97 AaA
6. Farelo de Algodão	7,86 AbB	3,00 AcB	26,92 AaA	2,96 BbB	3,39 AbC	14,60 BaB	3,98 BbB	4,73 AbB	14,48 BaB
7. Carço de Algodão	11,59 AbA	3,36 AcB	28,93 BaA	6,04 BbA	3,62 AbC	24,73 CaA	12,48 AbA	3,92 AcB	40,10 AaA
8. Farelo de Soja	8,02 AbB	5,62 AbB	11,94 AaB	8,78 AaA	4,53 AbC	12,00 AaB	7,70 AaB	4,33 AaB	6,67 BaB
9. Fubá de Milho	5,50 AbC	9,71 BaA	5,41 AbD	4,56 AbB	27,90 AaA	4,58 AbC	6,07 AbB	10,08 BaA	6,01 AbA
10. Polpa Cítrica	6,70 AaC	4,21 AbB	8,63 AaC	6,00 AaA	5,84 AaC	8,40 AaC	5,68 AaB	3,82 AaB	6,52 AaA

Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%. Nas colunas, letras maiúsculas para diferenciar as espécies dentro de cada fração, para cada alimento; letras minúsculas para diferenciar as frações dentro de cada espécie, para cada alimento. Nas linhas, letras maiúsculas em negrito para diferenciar os alimentos dentro de cada espécie, para cada fração.

Ainda na Tabela 3.3, observa-se que as taxas de degradação da matéria seca dos volumosos foram estatisticamente iguais entre as espécies estudadas. Por outro lado, o farelo de algodão apresentou maior taxa de degradação quando incubado em bovinos, o caroço de algodão quando incubado em bovinos e caprinos, não havendo diferença entre as espécies para os demais alimentos. Na Figura 3.2, pode-se constatar que o caroço de algodão quando incubado com líquido ruminal de caprinos, obteve produção máxima de gás após 18 horas, ocasionando, assim, a maior taxa de degradação para este alimento.

Há uma polêmica quanto à eficiência de diferentes ruminantes na degradação de alimentos. No entanto, existem evidências indicando que os caprinos são mais eficientes na digestão da fibra, especialmente quando é permitida a seleção de alimentos, enquanto os ovinos parecem mais capazes de utilizar a proteína (Gihad, Elbedawy e Mehrez 1980; Brown e Johnson, 1985). Uma possível razão para a grande divergência nos estudos comparativos entre a digestão em ovinos e caprinos poderia estar relacionada à variabilidade das condições nas quais os estudos são conduzidos, incluindo genótipo animal, tipo de dieta e práticas de manejo.

Na Tabela 3.3 verifica-se também que para os alimentos concentrados, a maior taxa de degradação ocorreu na fração solúvel em detergente neutro (SDN), para qualquer espécie estudada. Esta fração compreende os carboidratos não estruturais, representados pelos açúcares solúveis em água (mono e dissacarídeos), ácidos orgânicos, amido e pectina, que são rápida e completamente digeríveis no trato gastrointestinal (Mertens, 1997). Para os alimentos volumosos, as taxas de degradação somente foram diferentes entre as frações, para ovinos e caprinos, ou seja, a fração solúvel (SDN) apresentou maior taxa de degradação.

Nas três espécies, o feno de coast cross e o fubá apresentaram maiores taxas de degradação para a FDN em relação à SDN. Isto pode ser explicado pelo

fato de que o volume acumulado de gás para a SDN foi obtido pela diferença entre o volume observado para a MS e FDN (“curva de subtração”). Assim, pode ter ocorrido, por exemplo, uma variabilidade associada ao inóculo utilizado para incubar a FDN e a MS.

4.3 Tempo de colonização (“lag time”)

Houve diferença significativa ($P < 0,01$) para o tempo de colonização entre as espécies, alimentos e frações estudadas. Sabe-se que para se processar a digestão, os microrganismos devem penetrar as barreiras resistentes da superfície das partículas de alimentos para alcançarem seus substratos preferidos. Segundo McAllister et al. (1994), o grau no qual os microrganismos se fixam e penetram estas barreiras físicas é refletido no tempo de colonização que caracteriza a digestão ruminal de vários alimentos.

As interações espécie x alimento, espécie x fração, fração x alimento e espécie x alimento x fração também foram significativas ($P < 0,01$).

Na Tabela 3.4 pode-se observar que dentre os volumosos, o feno de coast cross e a silagem de capim apresentaram os maiores tempos de colonização para a matéria seca, quando incubados com inóculo de bovinos e ovinos.

TABELA 3.4 Médias do tempo de colonização (horas) dos diferentes alimentos testados, segundo as espécies e frações.

ALIMENTO	BOVINOS			OVINOS			CAPRINOS		
	MS	FDN	SDN	MS	FDN	SDN	MS	FDN	SDN
1. Feno de Alfafa	0,0073 AaD	0,0014 CaE	0,0040 AaB	0,0006 AbC	5,1457 AaE	0,0066 AbC	0,0028 AbC	2,3376 BaG	0,0005 AbD
2. Feno de Coast cross	1,8780 CbC	5,7053 AaC	0,0005 BcB	4,1371 AaA	4,6944 BaE	4,6148 AaA	3,2511 BbB	2,4163 CcG	4,9495 AaB
3. Silagem de Milho	0,5520 AbD	6,9133 AaB	0,0025 AbB	0,0006 AbC	6,3109 AaD	0,0006 AbC	0,0017 AbC	4,7408 BaE	0,0024 AbD
4. Silagem de Capim	5,8838 AbA	8,4393 AaA	0,0011 AcB	2,7196 BbB	8,5161 AaB	0,0048 AcC	0,0037 CbC	3,4565 BaF	0,0025 AbC
5. Farelo de Trigo	0,0273 AaD	0,7543 BaE	0,0049 BaB	0,0023 AbC	2,0387 AaF	0,0020 BbC	0,5207 AbC	1,1058 BbH	2,5433 AaD
6. Farelo de Algodão	0,0034 AaD	0,6081 CaE	0,5653 AaB	0,0046 AbC	11,1940 AaA	0,5778 AbC	0,0025 AbC	9,7833 BaA	0,0024 AbD
7. Carço de Algodão	0,3105 AbD	5,7543 CaC	0,7179 AbB	0,0004 AbC	7,2166 BaC	0,3843 AbC	0,0004 AbC	8,2285 AaB	0,1064 AbD
8. Farelo de Soja	0,0013 AbD	7,3137 AaB	0,0028 AbB	0,0002 AbC	4,9725 BaE	0,0038 AbC	0,0024 AbC	6,6675 AaC	0,0233 AbD
9. Fubá de Milho	3,8043 BaB	3,1723 BaD	3,8414 BaA	2,2066 CaB	1,5368 CbF	2,4421 CaB	5,8956 AaA	5,6555 AaD	5,9104 AaA
10. Polpa Cítrica	0,0026 AbD	5,8207 AaC	0,1252 AbB	0,0009 AbC	4,5627 BaE	0,0012 AbC	0,0028 AbC	3,6610 CaF	0,0005 AbD

Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Scott & Knott a 5%. Nas colunas, letras maiúsculas para diferenciar as espécies dentro de cada fração, para cada alimento; letras minúsculas para diferenciar as frações dentro de cada espécie, para cada alimento. Nas linhas, letras maiúsculas em negrito para diferenciar os alimentos dentro de cada espécie, para cada fração.

O que pode explicar este maior tempo de colonização é o maior teor de FDN destes alimentos e, conseqüentemente, pela menor proporção de carboidratos não estruturais, quando comparados ao feno de alfafa e à silagem de milho. Os carboidratos não estruturais facilitam a fixação microbiana e a penetração das enzimas no interior do substrato. Este fato é comprovado pelo maior tempo de colonização na fração FDN em relação àquele observado para a fração SDN.

Os microrganismos que se fixam às partículas de alimentos com baixa taxa de passagem, como os carboidratos estruturais, prolongam sua residência dentro do rúmen. A retenção com a fase sólida aumenta a quantidade de energia utilizada para manutenção do microrganismo e diminui a eficiência de síntese de proteína microbiana. Entretanto, uma residência prolongada é estratégica para os organismos que crescem vagarosamente, tais como os fungos e protozoários. O fubá também apresentou maior tempo de colonização, quando comparado aos outros alimentos concentrados. Curiosamente, este não é um fato normal nos estudos conduzidos. No entanto, esta diferença nos resultados pode ter sido causada pela amostragem do líquido ruminal. Segundo Campos et al. (2000), a homogeneização do líquido na garrafa térmica não garante a seleção das diferentes quantidades e espécies de microrganismos do inóculo existente. Por ser o fubá um alimento rico em amido, uma possível explicação para este dado, seria o fato de que as bactérias amilolíticas precisam se fixar avidamente aos grânulos de amido. De acordo com McAllister (1994), em geral, as espécies bacterianas que se fixam ao substrato exibem atividade amilase significativamente mais alta do que aquela exibida pelas espécies amilolíticas não-fixas.

5. CONCLUSÕES

A técnica de produção de gás permitiu estimar as taxas de digestão das frações insolúveis e, principalmente, das frações solúveis (CNE) dos carboidratos totais. Além disso, a técnica é simples, rápida e de custo relativamente baixo, podendo, assim, se tornar rotina em laboratórios de avaliação de alimentos; porém, a padronização é fundamental.

Bovinos, ovinos e caprinos mostraram habilidades semelhantes quanto à degradação ruminal de alimentos e tempo de colonização;

A fração solúvel em detergente neutro (SDN) foi a que contribuiu com a maior produção de gás, apresentando também maior taxa de degradação e menor tempo de colonização, sendo esta a principal fonte de energia para o crescimento microbiano.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. **Official Methods of the Association of Official Analytical Chemist.** 15.ed. Washington, 1990. v.1, 684p.

BEUVINK, J.M.W.; SPOELSTRA, S.F. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms *in vitro*. **Applied Microbiology Biotechnology**, Berlin, v.37, p.505-509, 1992.

BEUVINK, J.M.W.; SPOELSTRA, S.F.; HOGENDORP, R.J. An automated method for measuring time-course of gas production of feedstuffs incubated with buffered rumen fluid. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Amsterdam, v.40, p.401-407, 1992.

- BEUVINK, J.M.W.; KOGUT, J. Modeling gas production kinetics of grass silages incubated with buffered ruminal fluid. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.71, n.4, p.1041-1046, Apr. 1993.
- BLÜMMEL, M.; ØRSKOV, E.R. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v.40, p.109-119, 1993.
- BROWN, L.E.; JOHNSON, W.L. Intake and digestibility of wheat straw diets by goats and sheep. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.60, n.5, p.1318-1323, May 1985.
- CONE, J.W.; VAN GELDER, A.H.; VISSCHER, G.J.W. et al. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v.61, n.1-4, p.113-128, Sept. 1996.
- EUCLYDES, R.F. *Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para análises estatísticas e genéticas)*. 2.ed. Viçosa : UFV, 1997. 150p.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000. Anais... São Carlos, SSP: SIB, 2000. p.255-258.
- GALYEAN, M. L.; GOETSCH, A. L. Utilization of forage fiber by ruminants. In: JUNG, H. G.; BUXTON, D. R.; HATFIELD, R. D. et al. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison: American Society of Agronomy, 1993. Cap. 2, p.33 - 71.
- GIHAD, E.A.; EL-BEDAWY, T.M.; MEHREZ, A.Z. Fiber digestibility by goats and sheep. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.63, n.10, p.1701-1706, Oct. 1980.
- HUNGATE, R.E. *The rumen and its microbes*. New York: Academic Press, 1966. 533p.
- HUNGATE, R.E.; FLETCHER, D.W.; DOUGHERTY, R.W. et al. Microbial activity in the bovine rumen: its measurement and relation to bloat. *Applied Microbiology*, Washington, v.3, p.161-173, 1955.

- KHAZAAL, K.; DENTINHO, M.T.; RIBEIRO, J.M. et al. Prediction of apparent digestibility and voluntary intake of hays fed to sheep: comparison between using fiber components, *in vitro* digestibility or characteristics of gas production or nylon bag degradation. *Animal Science*, Edinburgh, v.61, n.3, p.527-538, Dec. 1995.
- LOWMAN, R.S.; BROOKS, A.E.; THEODOROU, M.K. et al. The effect of head-space pressure on gas production profiles as determined using the pressure transducer technique. In: *In vitro* techniques for measuring nutrient supply to ruminants. *Proceedings of Occasional Meeting of the British Society of Animal Science*, p.8-10, July 1997, University of Reading, UK.
- MAKKAR, H.P.S.; BLÜMMEL, M.; BECKER, K. *In vitro* effects and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v.69, n.4, p.481-493, Dec. 1995.
- MALAFAIA, P.A.M. Taxas de digestão das frações protéicas e de carboidratos de alimentos por técnicas "in situ" "in vitro" e de produção de gases. Viçosa: UFV, 1997. 85p. (Tese – Doutorado em Zootecnia).
- McALLISTER, T.A.; BAE, H.D.; JONES, G.A. et al. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.72, n.11 p3004-3018, Nov. 1994.
- McDOUGAL, E.I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*, London, v.43, n.1, p.99-109, 1949.
- MENKE, B.K.H.; RAAB, L.; SALEWSKI, A. et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, v.93, n.1, p.217-223, Aug. 1979.
- MERTENS, D.R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.64, n.5, p.1548-1558, May 1987.
- PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.76, n.4, p.1063-1073, Apr. 1993.

- 
- RAAD, L.; CAFANTARIS, B.; JILG, T. et al. Rumen protein degradation and biosynthesis: 1. A new method for determination of protein degradation in the rumen fluid *in vivo*. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.50, n.3, p.569-582, Nov. 1983.
- SCHOFIELD, P.; PELL, A.N. Measurement and kinetic analysis of the neutral detergent-soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, p.3455-3463, 1995.
- SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL, A.N. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, n.11, p.2980-2991, Nov. 1994.
- SCOTT, A.J.; KNOTT, M.A. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v.30, n.3, p.507-512, Sept. 1974.
- SILVA, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 2.ed. Viçosa: UFV, 1990. 165p.
- SILVA, E.C. **Avaliação do poder e taxas de erro tipo I do teste de Scott - Knott por meio do método de Monte Carlo**. Lavras: UFLA, 1998. 54p. (Dissertação - Mestrado em Experimentação Agrícola).
- THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.48, p.185-197, 1994.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the digestion of forage crops. **Journal British Grassland Society**, Aberystwyth, v.18, p.104-111, 1963.
- TREI, J.; HALE, W. H.; THEURER, B. Effect of grain processing on gas production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.30, n.5, p.825-831, May 1970.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

WAGHORN, G.C.; STAFFORD, K.J. Gas production and nitrogen digestion by rumen microbes from deer and sheep. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, Wellington, v.36, n.4, p.493-497, 1993.

CAPÍTULO 4

Comparação da técnica *in vitro* de produção de gás e a técnica do saco de náilon *in situ* para estimar a taxa de degradação de alimentos no rúmen de bovinos, ovinos e caprinos

RESUMO

SANTOS, R. A. Comparação da técnica *in vitro* de produção de gás e a técnica do saco de náilon *in situ* para estimar a taxa de degradação de alimentos no rúmen de bovinos, ovinos e caprinos. Lavras, 2001, 100p. (Tese – Doutorado em Nutrição de Ruminantes).

Vários métodos químicos e biológicos têm sido testados para estimar a degradabilidade de alimentos no rúmen e prever o consumo pelos animais. A maioria destes é baseada na exposição de quantidades conhecidas de alimentos a um inóculo de microrganismos obtidos a partir do trato gastrointestinal ou de preparações enzimáticas (métodos *in vitro*). Outros expõem as amostras de alimentos ao ambiente ruminal propriamente dito (método *in situ*). Estes métodos permitem estimar a extensão da degradação durante determinados períodos de tempo. Portanto, o objetivo deste trabalho foi comparar os métodos *in situ* e *in vitro* na estimativa da taxa de degradação de alimentos por bovinos, ovinos e caprinos. Para determinação da degradabilidade ruminal *in situ*, foi utilizada a técnica do saco de náilon, e a degradabilidade *in vitro* foi determinada pela técnica de produção de gás. Tanto para as incubações *in situ* como para a retirada de inóculo foram utilizadas 3 vacas Holandesas, 3 cabras e 3 ovelhas, não gestantes, não lactantes, providas de fistula ruminal. Foram utilizados alimentos concentrados (fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, caroço de algodão, farelo de trigo e polpa cítrica) e volumosos (feno de alfafa, feno de *coast cross*, silagem de milho e silagem de capim). As amostras foram previamente secas (65°C por 72 horas), moídas em peneira de 2 mm. Posteriormente, todos os alimentos foram analisados para matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). As variáveis obtidas pela técnica *in situ* (taxa de degradação, degradabilidade efetiva, desaparecimento de matéria seca) e *in vitro* (taxa de degradação e volume de gás) foram submetidas à análise de correlação para os períodos de 24, 48 e 72 horas de incubação. Houve correlação positiva entre a produção de gás e degradabilidade efetiva, bem como entre produção de gás e desaparecimento de matéria seca, para as três espécies estudadas, com 24 e 48 horas de incubação.

ABSTRACT

SANTOS, R. A. Comparison between *in vitro* gas production and *in situ* nylon bag techniques to estimate ruminal rate and extent of degradation of feeds by cattle, sheep and goats. Lavras, UFLA, 2001. 100p. (Doctor's Thesis – Ruminant Nutrition).

Several chemical and biological methods have been tested to estimate the ruminal degradability of feeds and to predict the consumption for the animals. Most of this is set in the exhibition of well-known amounts of feeds to a microorganisms inoculum obtained from the gastrointestinal tract, or from enzymatic preparations (*in vitro* methods). Other, they expose the samples of feeds properly to the atmosphere ruminal said (*in situ* method). These methods allow estimating the extension of the degradation during known periods of time. Therefore, the objective of this work was to compare *in situ* and *in vitro* methods in the estimate of the degradation rate of feeds for cattle, sheep and goats. To determine the *in situ* ruminal degradability, the nylon bag technique was used. The *in vitro* degradability was estimated using the gas production technique. So much for the *in situ* incubations as for the ruminal liquor retreat, 3 Holstein cows, 3 sheep and 3 goats, not-pregnant, non-lactating, fistulated in the rumen, were used. The concentrated feeds utilized were ground corn, soybean meal, cotton meal, cottonseed, wheat meal and citrus pulp, and roughages were alfalfa hay, coast cross hay, corn silage and grass silage. The samples were droughts previously (65°C for 72 hours), moods in sieve of 2 mm. Later on, all the feeds were analyzed for dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF). The variables obtained by the *in situ* technique (degradation rate, effective degradability, dry matter disappearance) and *in vitro* technique (degradation rate and volume of gas), were submitted the correlation analysis, for the periods of 24, 48 and 72 hours of incubation. There was positive correlation between the gas production and effective degradability, as well as, gas production and dry matter disappearance, for the three studied species, with 24 and 48 hours of incubation.

1. INTRODUÇÃO

A eficiência da produção de ruminantes é, em grande parte, atribuída ao balanceamento adequado de rações, sendo que a formulação de dietas eficientes e econômicas depende basicamente do conhecimento do real valor nutritivo dos alimentos. Dentro deste contexto, a determinação da degradabilidade é um dos primeiros passos para a caracterização nutricional de um alimento.

Os métodos para estudar a degradabilidade ruminal dos alimentos têm se desenvolvido consideravelmente nos últimos anos. O interesse dos pesquisadores tem sido direcionado ao aperfeiçoamento de técnicas laboratoriais existentes, bem como à produção de técnicas mais precisas. Assim, vários métodos químicos e biológicos têm sido testados para estimar a degradabilidade de alimentos no rúmen e prever o consumo pelos animais. A maioria destes é baseada na exposição de quantidades conhecidas de alimentos a um inóculo de microrganismos obtidos a partir do trato gastrointestinal ou de preparações enzimáticas (métodos *in vitro*). Outros expõem as amostras de alimentos ao ambiente ruminal propriamente dito (método *in situ*). Estes métodos permitem estimar a extensão da degradação durante determinados períodos de tempo. Dependendo dos objetivos do pesquisador, um método pode ser mais apropriado do que o outro. Entretanto, ambos têm vantagens e desvantagens que influenciam sua acuidade para obter a descrição quantitativa da taxa e extensão de degradação (Mertens, 1993).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi correlacionar os métodos *in situ* e *in vitro* na estimativa da degradação de alimentos por bovinos, ovinos e caprinos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

As metodologias tradicionais de avaliação nutricional de alimentos e das necessidades dos animais vêm se complementando com o surgimento de novas técnicas, evoluindo rápida e constantemente. No caso de ruminantes, a simples análise da digestão ruminal progrediu para a avaliação da degradação das diversas frações dos alimentos, solúveis e insolúveis.

A técnica de degradabilidade ruminal *in situ* avalia os alimentos quanto à sua taxa e extensão de fermentação no rúmen. A simplicidade e a popularidade desta técnica, sem a necessidade de recursos altamente técnicos e procedimentos laboratoriais caros, tomam-na largamente utilizada, principalmente em países em desenvolvimento. No entanto, existem algumas limitações quanto ao seu uso. Uma é o fato de que apenas um número pequeno de amostras pode ser validado ao mesmo tempo. Outra seria a exigência de pelo menos 3 animais fistulados para que as variações devidas ao animal possam ser estimadas. Nesta técnica, os erros estão relacionados principalmente com os estágios iniciais de digestão, devido a uma grande perda de peso da amostra. No caso de volumosos de baixa qualidade, a aderência de microrganismos neste estágio, pode levar a pesos mais altos, subestimando os resultados. Portanto, apesar de sua extensa utilização e de ser considerado um procedimento de relativa precisão e fácil condução, falta ainda padronizar a técnica para a comparação de valores entre laboratórios.

Por outro lado, a amostragem de material contido no rúmen, por mais freqüente que seja, sempre deixa intervalos que poderiam fornecer dados significativos, sendo, pois, ideal o acompanhamento contínuo do processo digestivo, conforme o que ocorre com a técnica da produção cumulativa de gás. Esta técnica *in vitro* consiste basicamente em medir os gases liberados a partir da fermentação de uma amostra incubada em líquido ruminal tamponado, sendo

uma avaliação indireta da degradabilidade ruminal. Considera-se como vantagem a possibilidade de processar um grande número de amostras em curto espaço de tempo; porém, o baixo peso na amostragem a ser incubada dificulta a homogeneidade e aumenta a probabilidade de erros.

Alguns estudos têm sido conduzidos com o objetivo de comparar os métodos *in vitro* e *in situ* para determinar a degradação dos alimentos. Varel e Kreikemeier (1995) os compararam para determinar a cinética da digestão ruminal da FDN de leguminosas e gramíneas. Com o método *in situ*, obtiveram menor tempo de colonização, uma taxa mais rápida e maior degradação do que com o método *in vitro*. Segundo os autores, fatores como a menor concentração de microrganismos no inóculo, a inadequada manutenção da temperatura e condições anaeróbicas, a remoção de partículas sólidas através da filtração, eliminando microrganismos que normalmente degradam a fibra, devem ser considerados quando comparam-se os métodos.

Malafaia et al. (1996) encontraram curvas de degradação da matéria seca, para o fubá de milho e de sorgo e para os farelos de algodão e trigo, semelhantes a quando utilizaram as técnicas *in situ* e produção de gás *in vitro*. Da mesma forma, López et al. (1998) avaliaram a degradabilidade ruminal da matéria seca de fenos de gramíneas e leguminosas, cortados em diferentes épocas do ano. Embora tenham havido diferenças nos valores absolutos estimados, as duas técnicas apresentaram valores relativamente similares quanto à taxa de degradação.

Avaliando a silagem de milho através dos métodos *in situ* e *in vitro*, Valentin et al. (1999) concluíram que a técnica do saco de náilon e de produção de gás não descreveram a degradação ruminal da mesma maneira. Os autores explicaram que isto pode ter ocorrido devido à perda de matéria seca não degradada através do saco, o que não ocorre na técnica *in vitro*. Ao contrário, Sileshi et al. (1996) incubaram diversas gramíneas pelas técnicas *in situ* e *in*

vitro e verificaram que em todos os experimentos realizados, o desaparecimento de matéria seca *in situ* foi significativamente correlacionado com a produção de gás *in vitro*. Os autores concluíram que os parâmetros de degradação *in situ* podem ser preditos a partir de parâmetros obtidos com a produção de gás *in vitro*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para determinação da degradabilidade ruminal *in situ*, foi utilizada a técnica do saco de náilon, segundo Mehrez e Ørskov (1977), seguindo as recomendações propostas por Nocek (1988). A degradabilidade *in vitro* foi determinada pela técnica manométrica de produção de gás, segundo Malafaia (1997).

3.1 Local e animais utilizados

As técnicas *in situ* e *in vitro* foram conduzidas no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA. Tanto para as incubações *in situ* como para a retirada de líquido ruminal (inóculo) foram utilizadas 3 vacas Holandesas, 3 cabras e 3 ovelhas sem raça definida (SRD), não gestantes, não lactantes, providas de fistula ruminal. Os animais permaneceram em piquetes com livre acesso à água e foram alimentados duas vezes ao dia com uma dieta à base de silagem de capim com sorgo e ração concentrada.

3.2 Preparo das amostras

Foram utilizados alimentos concentrados (fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, caroço de algodão, farelo de trigo e polpa cítrica) e volumosos (feno de alfafa, feno de coast cross, silagem de milho e silagem de capim). As

amostras foram previamente secas (65°C por 72 horas), moidas em peneira de 2 mm. Posteriormente, todos os alimentos foram analisados para matéria seca (MS) e proteína bruta (PB), de acordo com as metodologias descritas por AOAC (1990). Fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas de acordo com as metodologias propostas por Van Soest e Wine (1968), descritas por Silva (1990).

3.3 Descrição da técnica *in situ*

Para determinação da degradabilidade ruminal *in situ*, foi utilizada a técnica do saco de náilon, segundo Mehrez e Ørskov (1977). Os sacos, medindo 7 x 5 cm, foram confeccionados com tecido de náilon coreano 120 fios, com porosidade média de 54,35µm, utilizando máquina seladora quente. As amostras dos alimentos foram colocadas nos sacos, em quantidade de MS suficiente para manter a relação proposta por Nocek (1988), em torno de 20 mg de MS/cm² de área superficial do saco. A incubação dos sacos contendo os alimentos foi feita na parte ventral do rúmen de cada animal. Os tempos de incubação foram: 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48 e 72 horas. Os sacos foram agrupados em sacolas de filó medindo 20 x 35 cm para as vacas, e 10 x 18 cm para as cabras e ovelhas. Cada sacola, contendo no seu interior um pequeno peso de chumbo, foi amarrada com um fio de náilon, e este preso à tampa da cânula.

Após a retirada dos sacos do rúmen, em cada tempo de incubação, estes foram lavados em água corrente e submetidos à secagem em estufa a 65°C, por um período de 72 horas.

3.4 Estimativa da degradabilidade ruminal efetiva *in situ*

As estimativas dos parâmetros (a, b, c) da equação de degradação dos alimentos, nos diferentes tempos de incubação, foram obtidas a partir do ajuste de uma regressão não linear pelo método de Gauss-Newton, contido no

programa estatístico SAEG (Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas), descrito por Euclides (1997), conforme a equação proposta por Ørskov e McDonald (1979):

$$Y = a + b(1 - e^{-ct})$$

Onde:

Y = degradabilidade acumulada do componente nutritivo analisado, após um tempo t;

a = intercepto da curva de degradabilidade quando t=0, que corresponde à fração solúvel em água do componente nutritivo analisado;

b = degradabilidade potencial da fração insolúvel em água, do componente nutritivo analisado;

c = taxa de degradação, por ação fermentativa, de b;

t = tempo de incubação (horas).

A degradação efetiva (DE) foi calculada segundo o modelo matemático proposto por Ørskov e McDonald (1979).

$$P = a + \frac{b * c}{c + k}$$

Onde:

P = degradabilidade ruminal efetiva do componente nutritivo analisado;

k = taxa de passagem do alimento, sendo 4%/h para concentrados e 5%/h para volumosos.

3.5 Preparo do inóculo para incubação *in vitro*

A extração do líquido ruminal foi feita, via fistula, nas primeiras 3 horas após alimentação. O líquido foi filtrado em gaze e acondicionado em garrafa térmica pré-aquecida com água a 39°C. Nas vacas, a coleta foi feita

manualmente, na região ventral do rúmen. Para as cabras e ovelhas, devido às dimensões da fistula ruminal, a coleta foi feita por meio de uma mangueira conectada a uma bomba a vácuo, de forma que o líquido succionado desembocasse diretamente em erlenmayer pré-aquecido, sendo posteriormente recolhido. O inóculo foi composto por uma mistura de líquido ruminal retirado de 3 animais por espécie. No laboratório, o líquido retirado foi novamente filtrado em 4 camadas de gaze, diretamente nos frascos de incubação.

3.6 Meio de cultura

Os microrganismos ruminais foram diluídos em solução tampão “tampão de McDougal” (McDougal,1949). Este meio é adequado para manter a microbiota ruminal. Depois de preparada, a solução tampão foi colocada em banho-maria e reduzida, através de borbulhamento com CO₂, até que seu pH atingisse valores entre 6,8 – 6,9. Neste ponto adicionou-se, para cada 1 litro de tampão, uma solução redutora preparada momentos antes, composta de 891 mg de HCl-cisteína e 891 mg de sulfeto de sódio, 5,7 ml de NaOH 1 N e água destilada até o volume de 77 ml; este volume foi calculado para manter uma relação solução tampão:solução redutora de 26:2. Então, a solução foi novamente borbulhada com CO₂ para atingir pH entre 6,8 – 6,9. Assim feito, a solução tampão estava pronta para ser utilizada.

3.7 Incubação *in vitro*

Aproximadamente 400 mg de MS foram pesados em triplicata e colocados em frascos plásticos com capacidade de 100 ml. Estes, por sua vez, receberam 4 ml de água destilada para hidratar a amostra e 28 ml da solução tampão pré-reduzida. Cada frasco foi, então, aspergido por 10 segundos com CO₂, tampado com rolha de borracha e levado ao banho-maria a 39°C, permanecendo lá até que o líquido ruminal fosse coletado e filtrado. Então, os

frascos foram retirados do banho-maria, receberam 8 ml do inóculo, foram aspergidos com CO₂, imediatamente tampados com rolha de borracha e tampa plástica rosqueada e colocados em banho-maria a 39°C (Malafaia, 1997). Feito isto, foi introduzida uma agulha em cada frasco por vez, durante 3 segundos, que serviu para descartar os gases e, assim, zerar a pressão e volume dentro dos frascos.

3.8 Coleta de dados de gás

As leituras de pressão e volume dos gases foram obtidas por meio de um manômetro (0-1 kgf/cm²) acoplado a uma seringa (20 ml), conforme descrito por Malafaia (1997), nos seguintes tempos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60 e 72 horas após o início da incubação. Para quantificar a produção de gás oriunda do meio de cultura e do inóculo ruminal, três frascos foram incubados sem amostra (branco); dessa forma, para cada tempo de leitura, o volume de gás dos frascos sem amostra foi subtraído do volume dos frascos com amostra.

3.9 Manipulação dos dados

A cinética da produção cumulativa dos gases foi analisada empregando-se o modelo logístico unicompartmental descrito por Schofield et al. (1994):

$$V(t) = \frac{V_f}{1 + \exp [2.4 * c * (T - L)]}$$

no qual V(t) é o volume acumulado no tempo t; V_f (ml) é o volume total de gás produzido a partir da fração em questão; c (%/h) é a taxa de degradação da fração; L (h) é o tempo de colonização e T (h) é o tempo de incubação.

Para a realização dos ajustes, utilizou-se o processo iterativo do algoritmo de Marquadt implantado no software SAEG, descrito por Euclides (1997).

3.10 Análises Estatísticas

As variáveis obtidas pela técnica *in situ* (taxa de degradação, degradabilidade efetiva, desaparecimento de matéria seca) e *in vitro* (taxa de degradação e volume de gás) foram submetidas à análise de correlação. As matrizes de correlação entre os parâmetros estimados pelas diferentes técnicas foram obtidas pelo procedimento CORR contido no programa estatístico SAS (Statistical Analysis System Institute, 1991).

Os principais parâmetros da degradação da matéria seca das técnicas avaliadas foram comparados dois a dois, para os alimentos volumosos e concentrados, entre as diferentes espécies estudadas, buscando encontrar correlações entre as metodologias. Foram consideradas como significativas as correlações com o valor de P menor que 5%.

Nas Tabelas 3 a 8 do anexo são apresentadas as matrizes de correlação (coeficientes de correlação linear de Pearson – r) entre as estimativas de degradação da matéria seca, pelas técnicas *in situ* e *in vitro* (produção de gás).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram feitas comparações entre as técnicas, considerando somente incubações a longo prazo, ou seja, 24, 48 e 72 horas. Na Tabela 4.1 são apresentados os valores de degradabilidade efetiva dos alimentos testados nas diferentes espécies. De acordo com Valentin et al. (1999), períodos mais curtos de incubação (2, 4, 8 horas), na metodologia *in situ*, corresponderiam à perda de partículas através dos sacos e à hidratação das partículas. Na metodologia *in vitro*, as primeiras horas correspondem à colonização, mas sem haver perda de partículas. Esses fatores poderiam sub ou superestimar as variáveis, “mascarando” as possíveis correlações entre elas.

TABELA 4.1 Degradabilidade estimada com 24, 48 e 72 horas de incubação, em bovinos, ovinos e caprinos.

ALIMENTO	BOVINOS	OVINOS	CAPRINOS
24 horas de incubação			
Feno de Alfafa	66,9101	59,8667	49,8653
Feno de Coast cross	42,9090	35,4822	32,0789
Silagem de Milho	51,3042	46,0667	34,0217
Silagem de Capim	31,8061	26,5824	18,1739
Farelo de Trigo	80,3496	73,2649	57,2699
Farelo de Algodão	46,0840	38,2502	32,1557
Caroço de Algodão	51,9365	47,2634	35,2156
Farelo de Soja	88,2304	79,3722	60,9981
Fubá de Milho	77,1599	74,9877	56,8137
Polpa Cítrica	91,3847	79,9071	60,4639
48 horas de incubação			
Feno de Alfafa	73,4289	69,1492	58,7319
Feno de Coast cross	55,4929	45,3148	43,5185
Silagem de Milho	63,1216	55,0782	43,3246
Silagem de Capim	43,3222	34,6847	26,6450
Farelo de Trigo	82,7287	74,8973	58,8206
Farelo de Algodão	66,0972	50,7339	44,4271
Caroço de Algodão	65,6480	56,0064	43,4119
Farelo de Soja	97,4680	90,4120	73,2124
Fubá de Milho	91,8365	88,3091	70,9986
Polpa Cítrica	97,7027	89,7807	75,5307
72 horas de incubação			
Feno de Alfafa	74,8982	72,3300	62,0396
Feno de Coast cross	62,5484	51,6405	50,9573
Silagem de Milho	70,0542	60,6251	49,7621
Silagem de Capim	51,0704	40,5081	33,2003
Farelo de Trigo	82,8707	75,0252	58,9102
Farelo de Algodão	77,2955	58,9721	52,9945
Caroço de Algodão	73,4852	62,1469	47,7316
Farelo de Soja	98,9249	93,0547	77,1907
Fubá de Milho	95,8617	92,4426	76,6472
Polpa Cítrica	98,5885	92,6245	83,0528

Neste trabalho, as correlações entre os parâmetros que medem a degradação dos alimentos (volumosos e concentrados) só foram significativas nos tempos de 24 e 48 horas de incubação. Isto pode ser devido à evolução no ambiente de incubação na técnica *in situ*; a população microbiana no saco é influenciada pela população do rúmen, a qual sofre variações ao longo do dia (Michalet-Doreau e Ould-Bah, 1992). Na metodologia *in vitro*, por não haver entrada ou saída de microrganismos, a população é mais estável. Entretanto, com o tempo, alguns microrganismos morrem e tornam-se substrato adicional, aumentando a produção de gás no final da incubação (Blümmel e Bullerdieck, 1997).

A taxa de degradação da matéria seca e a taxa de produção de gás não apresentaram correlações significativas em nenhum dos períodos de incubação. Em outros trabalhos, os autores também não obtiveram correlações entre estas variáveis. Assim, Khazaal et al. (1993) obtiveram coeficiente igual a 0,052, e Beauvink (1993), citado por Valentin et al. (1999), obteve r igual a 0,017. Por outro lado, Sileshi et al. (1996) encontraram correlação igual a 0,76, e Murray et al. (1996), citado por Valentin et al. (1999), encontraram valor igual a 0,51.

Na Tabela 4.2 encontra-se um resumo dos coeficientes de correlação entre o volume de gás e a degradabilidade efetiva, e entre o volume de gás e o desaparecimento de matéria seca.

As equações de regressão linear entre o volume de gás e a degradabilidade efetiva, podem apresentar valores baixos para o coeficiente de determinação (R^2). Mesmo assim as equações foram demonstradas neste trabalho, e os gráficos foram construídos, já que o objetivo é mostrar o “comportamento” das variáveis. Outro ponto a ser considerado, é que o baixo R^2 pode ser devido ao fato de que os pontos da reta são compostos por valores obtidos com diferentes alimentos.

TABELA 4.2 Coeficientes de correlação linear de Pearson entre a produção de gás e os dados da cinética de degradação *in situ*. Resumo.

Espécies	Alimentos		Coeficientes	TDIS	DE	DESMS
24 horas de incubação						
Bovinos	Volumosos	VG	r	ns	0,68	0,60
			P		0,0147	0,0395
	Concentrados	VG	r	0,70	0,82	0,78
			P	0,0011	0,0001	0,0001
Ovinos	Volumosos	VG	r	ns	0,88	0,88
			P		0,0002	0,0002
	Concentrados	VG	r	ns	0,76	0,68
			P		0,0003	0,0019
Caprinos	Volumosos	VG	r	0,77	0,65	0,64
			P	0,0034	0,0211	0,0250
	Concentrados	VG	r	ns	0,62	0,62
			P		0,0065	0,0060
48 horas de incubação						
Bovinos	Volumosos	VG	r	ns	0,67	0,67
			P		0,0158	0,0162
	Concentrados	VG	r	0,70	0,79	0,80
			P	0,0012	0,0001	0,0001
Ovinos	Volumosos	VG	r	ns	0,65	ns
			P		0,0229	
	Concentrados	VG	r	ns	0,66	0,63
			P		0,0026	0,0054
Caprinos	Volumosos	VG	r	0,70	ns	ns
			P	0,0120		
	Concentrados	VG	r	ns	0,78	0,75
			P		0,0002	0,0004

TDIS = taxa de degradação *in situ*; DE = degradabilidade efetiva *in situ*; DESMS = desaparecimento de matéria seca *in situ*; VG = volume de gás *in vitro*; r = coeficiente de correlação; P = probabilidade e ns = não significativo.

4.1 Bovinos

Para os bovinos, o volume de gás *in vitro* obtido pela incubação dos volumosos correlacionou-se significativamente com a degradabilidade efetiva (0,68) e com o desaparecimento de matéria seca (0,60), ambos medidos *in situ*.

A regressão linear entre volume de gás e degradabilidade efetiva originou curvas (Figuras 4.1 e 4.2), as quais representam a porcentagem de matéria seca fermentada (digerida) por unidade de gás produzido. Com base na equação obtida para os alimentos volumosos, incubados 24 horas em bovinos (Figura 4.1), pode-se afirmar que cada 1 ml de gás produzido *in vitro* implicará num aumento de 0,50% na degradabilidade efetiva. Assim pode ser feita uma estimativa, a partir do volume de gás, da degradabilidade efetiva.

López et al. (1998) correlacionaram a extensão de degradação de fenos, obtida pela técnica *in situ* e *in vitro* (produção de gás), encontrando coeficiente igual a 0,88 para períodos de 24 e 48 horas de incubação. Quando períodos de 6 e 72 horas de incubação foram considerados, este valor foi menor (0,78 e 0,81, respectivamente). Neste trabalho, a incubação de volumosos em bovinos por 48 horas forneceu um coeficiente de correlação entre o volume de gás e a degradabilidade efetiva ou desaparecimento de matéria seca, igual a 0,67 (Tabela 4.2).

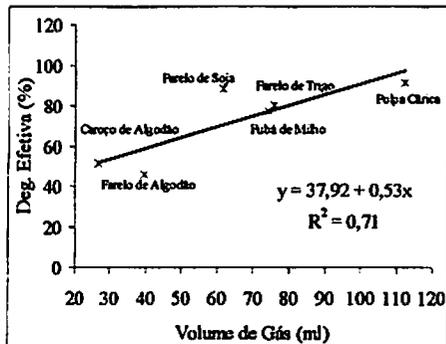
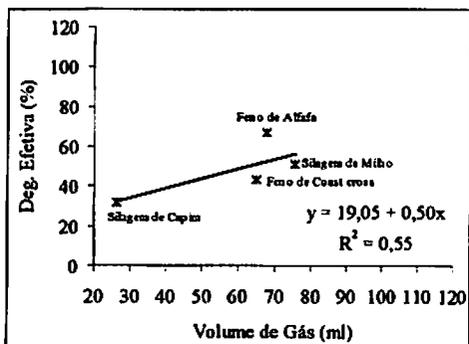


FIGURA 4.1 Correlação entre volume de gás e degradabilidade efetiva de alimentos volumosos e concentrados, durante 24 horas de incubação – Bovinos.

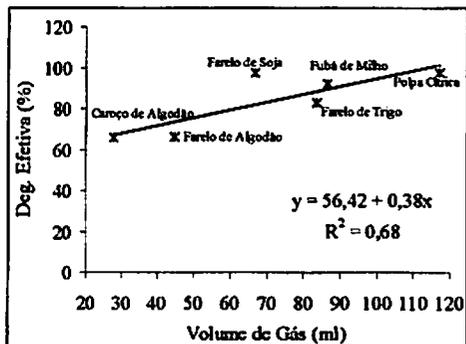
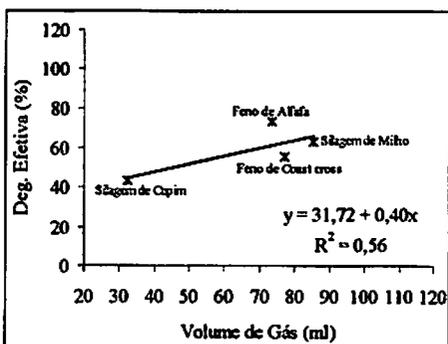


FIGURA 4.2 Correlação entre volume de gás e degradabilidade efetiva de alimentos volumosos e concentrados, durante 48 horas de incubação – Bovinos.

Quanto aos alimentos concentrados, além da degradabilidade efetiva e do desaparecimento de matéria seca, o volume de gás correlacionou-se também com a taxa de degradação *in situ* (0,70) nos dois tempos de incubação, 24 e 48 horas (Tabela 4.1). Assim, presume-se que através do volume de gás produzido *in vitro*, pode-se fazer predição quanto à taxa de degradação do alimento no rúmen. Os valores dos coeficientes obtidos com estes alimentos foram mais altos do que aqueles obtidos com os volumosos. Nas Figura 4.1 e 4.2, visualizam-se as curvas e equações obtidas pela regressão linear dos dados, com 24 e 48 horas de incubação.

Apesar de não terem sido feitas análises para comparar os coeficientes obtidos com 24 ou 48 horas de incubação, pode-se dizer que dentro de cada grupo de alimentos, os resultados apresentados na Tabela 4.1 são semelhantes.

4.2 Ovinos

Para os volumosos, os coeficientes de correlação entre as variáveis obtidas a partir de ovinos estão resumidos na Tabela 4.1. Pode-se verificar que, com 24 horas de incubação, as correlações entre volume de gás e degradabilidade efetiva (0,88) ou desaparecimento de MS (0,88) foram altamente significativas ($P < 0,001$). Os valores de r obtidos aqui encontram-se no intervalo descrito pela literatura; algumas correlações entre desaparecimento de MS *in situ* e produção de gás *in vitro* já foram avaliadas utilizando ovinos. Assim, os valores dos coeficientes foram : 0,77 (Khazaal et al., 1993); 0,98 (Blümmel e Ørskov et al., 1993); e 0,90 (Sileshi et al., 1996). No entanto, num período de 48 horas de incubação, houve correlação significativa ($P < 0,05$) somente entre volume de gás e degradabilidade efetiva ($r = 0,65$).

Para os concentrados, houve correlações significativas ($P < 0,01$) entre a produção de gás e a degradabilidade efetiva (0,62) e o desaparecimento de matéria seca (0,62) com 24 e 48 horas de incubação (0,66 e 0,63

respectivamente). As curvas originadas pela regressão linear entre volume de gás e degradabilidade efetiva são apresentadas nas Figuras 4.3 e 4.4. Ao contrário do que ocorreu com bovinos, para os ovinos, os coeficientes de correlação entre as variáveis, para 24 horas de incubação, foram relativamente mais altos, quando comparados aos dados de 48 horas.

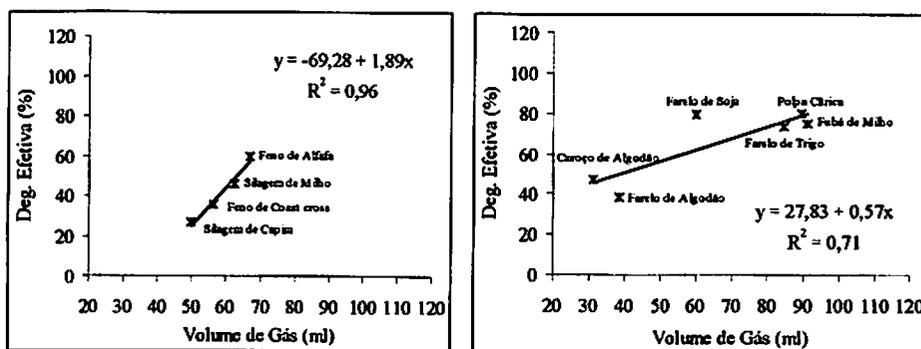


FIGURA 4.3 Correlação entre volume de gás e degradabilidade efetiva de alimentos volumosos e concentrados, durante 24 horas de incubação – Ovinos.

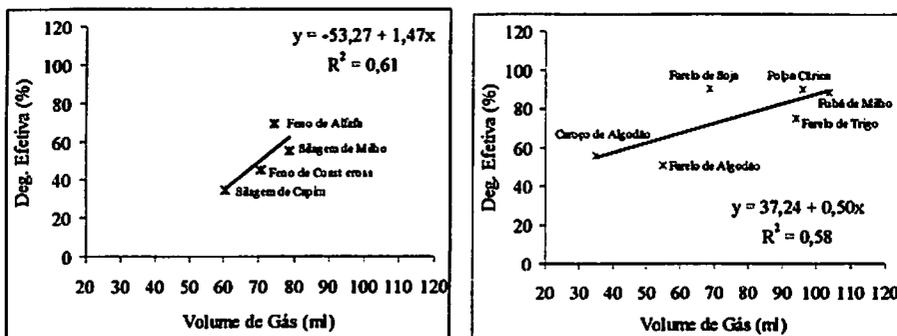


FIGURA 4.4 Correlação entre volume de gás e degradabilidade efetiva de alimentos volumosos e concentrados, durante 48 horas de incubação – Ovinos.

4.3 Caprinos

Da mesma forma que para bovinos e ovinos, os alimentos, quando incubados em caprinos, também apresentaram dados que correlacionaram as metodologias. No estudo com volumosos, houve correlação ($P < 0,05$) entre o volume de gás e a degradabilidade efetiva (0,65), bem como para o desaparecimento de MS (0,64), durante 24 horas de incubação (Tabela 4.1). Com 48 horas de incubação, o volume de gás correlacionou-se com a taxa de degradação *in situ* (0,70).

Com os alimentos concentrados também ocorreram correlações entre volume de gás e a degradabilidade efetiva (0,66) ou desaparecimento de MS (0,63), para 24 e 48 horas de incubação (0,78 e 0,75, respectivamente).

As diferenças observadas entre os coeficientes de correlação para uma espécie e outra, ou para um grupo ou outro de alimentos, estão possivelmente associadas à própria composição do alimento em estudo e, conseqüentemente, ao seu perfil de fermentação, pois, segundo Sileshi et al. (1996), a relação entre a produção de gás *in vitro* e o desaparecimento de matéria seca *in situ* pode variar

com o tipo de alimento fermentado. Nas Figuras 4.5 e 4.6 estão as curvas e respectivas equações obtidas pela regressão linear dos dados.

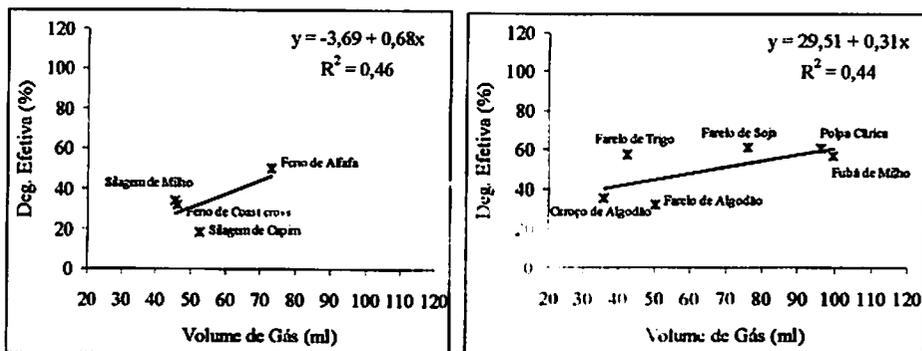


FIGURA 4.5 Correlação entre volume de gás (ml) e degradabilidade efetiva (%) de alimentos volumosos e concentrados, durante 24 horas de incubação – Caprinos.

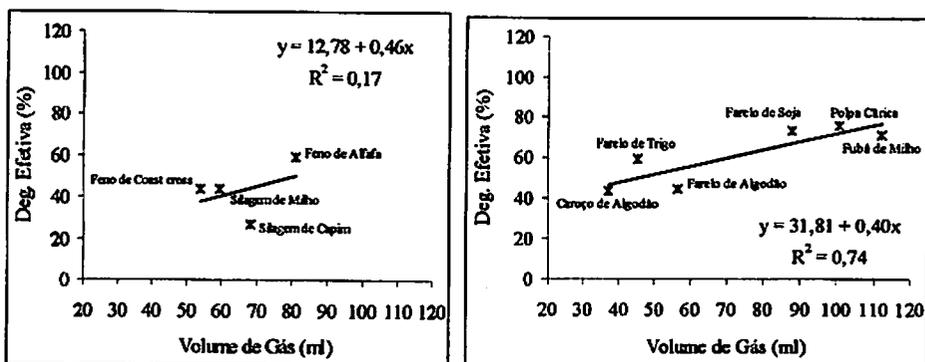


FIGURA 4.6 Correlação entre volume de gás (ml) e degradabilidade efetiva (%) de alimentos volumosos e concentrados, durante 48 horas de incubação – Caprinos.

5. CONCLUSÃO

As correlações entre os resultados a partir das duas metodologias não foram altas, mas suficientes para predizer a degradabilidade ruminal a partir da técnica manométrica de produção de gás. Assim, os resultados deste estudo permitem concluir que os parâmetros desaparecimento de matéria seca e a degradabilidade efetiva *in situ*, podem ser preditos a partir do volume de gás obtido pela técnica *in vitro* de produção de gás.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. **Official Methods of the Association of Official Analytical Chemist.** 15.ed. Washington, 1990. v.1, 684p.

BLÜMMEL, M.; BULLERDIECK, P. The need to complement gas production measurements with residue determinations from *in sacco* degradabilities to improve the prediction of voluntary intake of hays. **Animal Science**, London, v.64, n.1, p.71-75, Feb. 1997.

BLÜMMEL, M.; ØRSKOV, E. R. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.40, p.109-119, 1993.

EUCLYDES, R.F. **Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para análises estatísticas e genéticas).** 2.ed. Viçosa : UFV, 1997. 150p.

KHAZAAL, K.; DENTINHO, M.T.; RIBEIRO, J.M. et al. A comparison gas production during incubation with rumen contents *in vitro* and nylon bag degradability as predictors of the apparent digestibility *in vivo* and the voluntary intake of hays. **Animal Production**, Bletchley, v.57, n.1, p.105-112, Aug. 1993.

- LÓPEZ, S.; CARRO, M.D.; GONZÁLEZ, J.S. et al. Comparison of different *in vitro* and *in situ* methods to estimate the extent and rate of degradation of hays in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v.73, n.1/2, p.99-113, July 1998.
- MALAFAIA, P.A.M.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.C. da et al. Degradabilidade potencial de alguns concentrados estimada *In situ* e *In vitro*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. Anais... Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996. p.309-311.
- MALAFAIA, P.A.M. Taxas de digestão das frações protéicas e de carboidratos de alimentos por técnicas “*in situ*” “*in vitro*” e de produção de gases. Viçosa: UFV, 1997. 85p. (Tese – Doutorado em Zootecnia).
- McDOUGAL, E.I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*, Cambridge, v.43, n.1, p.99-109, 1949.
- MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R. A study of the artificial fiber bag technique for determination the digestibility of feeds in the rumen. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, v.88, n.1, p.645, Mar 1977.
- MERTENS, D.R. Rate and extent of digestion. In: FORBES, J.M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallingford: CAB International, 1993. p.13-51.
- MICHALET-DOREAU, B.; OULD-BAH, M.Y. *In vitro* and *in sacco* methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v.40, p.57-86, 1992.
- NOCEK, J.E. *In situ* and others methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A review. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.71, n.8, p.2051-2059, Aug. 1988.
- ØRSKOV, E.R.; McDONALD, T. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate passage. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, v.92, n.2, p.499-503, Apr. 1979.

- SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL, A.N.** Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, n.11, p.2980-2991, Nov. 1994.
- SILESHI, Z.; OWEN, E.; DHANOA, M.S. et al.** Prediction of in situ rumen dry matter disappearance of Ethiopian forages from *in vitro* gas production technique using a pressure transducer, chemical analyses or *in vitro* digestibility. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.61, n.1-4, p.73-87, Sept. 1996.
- SILVA, D.J.** **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 2.ed. Viçosa: UFV, 1990. 165p.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE.** **SAS user's guide: statistical edition**. Cary: SAS Institute, 1991. 754p.
- VALENTIN, S.F.; WILLIAMS, P.E.V.; FORBES, J.M. et al.** Comparison of the *in vitro* gas production technique and the nylon bag degradability technique to measure short- and long-term processes of degradation of maize silage in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.78, n.1/2, p.81-99, Mar. 1999.
- VAREL, V.H.; KREIKEMEIER, K.K.** Technical note: comparison of *in vitro* and *in situ* digestibility methods. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.2, p.578-582, Feb. 1995.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica de degradação *in vitro* permite avaliar rapidamente os alimentos sem a dificuldade de manutenção de animais fistulados, desde que as condições de pH, anaerobiose e solução-tampão garantam a continuidade do processo fermentativo. A técnica *in situ* permite ótimas condições de temperatura, pH, tamponamento, substratos, enzimas e fatores de crescimento; no entanto, apresenta elevada contaminação do material nos sacos com micropartículas da dieta, sendo importante a avaliação dos efeitos da dieta sobre a degradação dos alimentos e frações que o compõem.

Considerando as vantagens da técnica *in vitro* de produção de gás, como sua simplicidade de uso e a possibilidade de processar um grande número de amostras em curto espaço de tempo, cresce seu potencial como metodologia de rotina em laboratórios.

A escolha do método deve ser ditada pelo objetivo da pesquisa. Caso seja mais interessante descrever a cinética da digestão afetada pela interação de efeitos do animal e dieta (nível de consumo, passagem, disponibilidade de nutrientes, entre outros), o procedimento *in situ* parece o mais adequado, mas, por outro lado, se o principal interesse é comparar as diferenças intrínsecas do substrato, o procedimento *in vitro* parece o mais certo. Outro fator importante na escolha de um método é a disposição de recursos e o número de amostras a serem avaliadas.

ANEXO

Anexo

Pág

- Tabela 1 Quadrados médios da taxa de degradação (c), degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE), através da técnica *in situ* para as diferentes espécies, com os respectivos coeficientes de variação (CV)....
- Tabela 2 Quadrados médios da taxa de degradação (c), volume acumulado de gás (VG) e tempo de colonização (L), através da técnica de produção de gás *in vitro* para as diferentes espécies, com os respectivos coeficientes de variação (CV).....
- Tabela 3 Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos volumosos – Bovinos.....
- Tabela 4 Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos concentrados – Bovinos...
- Tabela 5 Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos volumosos – Ovinos.....
- Tabela 6 Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos concentrados – Ovinos.....
- Tabela 7 Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos volumosos – Caprinos.....
- Tabela 8 Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos concentrados – Caprinos...

TABELA 1: Quadrados médios da taxa de degradação (c), degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE), através da técnica *in situ* para as diferentes espécies, com os respectivos coeficientes de variação (CV).

Fontes de variação	GL	Quadrados Médios		
		c	DP	DE
Espécie (E)	2	0,001654 *	967,4660 *	2280,2467 **
Fração (F)	1	0,009976 **	157,4727 ns	14224,8890 **
Alimento (A)	9	0,012916 **	2012,5781 **	3272,2290 **
E x F	2	0,000471 ns	670,9103 ns	725,9531 **
E x A	18	0,000591 ns	260,5029 ns	68,7834 **
F x A	9	0,000590 ns	458,6831 ns	329,6116 **
E x F x A	18	0,000145 ns	99,8758 ns	54,7930 **
Erro	120	0,000359	249,7183	13,6127
Total	179			
CV (%)		48,30	19,78	9,42

** Significativo a 1% de probabilidade

* Significativo a 5% de probabilidade

ns – não significativo

TABELA 2: Quadrados médios da taxa de degradação (c), volume acumulado de gás (VG) e tempo de colonização (L), através da técnica de produção de gás *in vitro* para as diferentes espécies, com os respectivos coeficientes de variação (CV).

Fontes de variação		GL	Quadrados Médios		
			VG	c	L
Especie (E)		2	300,2976 **	0,0005 ns	2,4217 **
Alimento (A)		9	4794,7661 **	0,0177 **	26,9164 **
Fração (F)		2	48860,6800 **	0,0557 **	447,5120 **
E x A		18	704,6795 **	0,0026 **	13,8798 **
E x F		4	120,6603 *	0,0014 **	5,2670 **
F x A		18	2681,7719 **	0,0211 **	23,8975 **
E x A x F		36	421,3818 **	0,0026 **	4,9562 **
Erro		146	40,2331	0,0003	0,1903
Total		235			
			12,77	24,27	17,39
			CV (%)		

** Significativo a 1% de probabilidade
 * Significativo a 5% de probabilidade
 ns – não significativo

TABELA 3: Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos volumosos – Bovinos.

Coeficientes		TDIS	DE	DESMS	TDIV	VG
24 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,86	0,87	0,55	0,38
	P	0,0	0,0004	0,0002	0,0635	0,2266
DE	r	0,86	1,0000	0,98	0,42	0,68
	P	0,0004	0,0	0,0001	0,1763	0,0147
DESMS	r	0,87	0,98	1,0000	0,41	0,60
	P	0,0002	0,0001	0,0	0,1817	0,0395
TDIV	r	0,55	0,42	0,41	1,0000	-0,22
	P	0,0635	0,1763	0,1817	0,0	0,5001
VG	r	0,38	0,68	0,60	-0,22	1,0000
	P	0,2266	0,0147	0,0395	0,5001	0,0
48 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,77	0,75	0,53	0,30
	P	0,0	0,0033	0,0047	0,0710	0,3378
DE	r	0,77	1,0000	0,89	0,60	0,68
	P	0,0033	0,0	0,0001	0,0699	0,0158
DESMS	r	0,75	0,89	1,0000	0,51	0,67
	P	0,0047	0,0001	0,0	0,0877	0,0162
TDIV	r	0,53	0,60	0,51	1,0000	-0,02
	P	0,0710	0,0699	0,0877	0,0	0,9510
VG	r	0,30	0,68	0,67	-0,02	1,0000
	P	0,3378	0,0158	0,0162	0,9510	0,0
72 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,62	0,68	-0,09	0,36
	P	0,0	0,0320	0,0148	0,7842	0,2460
DE	r	0,62	1,0000	0,80	0,50	0,24
	P	0,0320	0,0	0,0019	0,0988	0,4553
DESMS	r	0,68	0,80	1,0000	0,48	0,18
	P	0,0148	0,0019	0,0	0,1139	0,5785
TDIV	r	-0,09	0,50	0,48	1,0000	0,22
	P	0,7842	0,0988	0,1139	0,0	0,5004
VG	r	0,36	0,24	0,18	0,22	1,0000
	P	0,2460	0,4553	0,5785	0,5004	0,0

TDIS = taxa de degradação *in situ*; DE = degradabilidade efetiva *in situ*; DESMS = desaparecimento de matéria seca *in situ*; TDIV = taxa de degradação *in vitro*; VG = volume de gás *in vitro*; r = coeficiente de correlação e P = probabilidade.

TABELA 4: Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos concentrados – Bovinos.

Coeficientes		TDIS	DE	DESMS	TDIV	VG
24 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,82	0,74	-0,39	0,70
	P	0,0	0,0001	0,0004	0,0960	0,0011
DE	r	0,82	1,0000	0,99	-0,43	0,82
	P	0,0001	0,0	0,0001	0,0606	0,0001
DESMS	r	0,74	0,99	1,0000	-0,42	0,78
	P	0,0004	0,0001	0,0	0,0800	0,0001
TDIV	r	-0,39	-0,43	-0,42	1,0000	-0,82
	P	0,0960	0,0606	0,0800	0,0	0,0001
VG	r	0,70	0,82	0,78	-0,82	1,0000
	P	0,0011	0,0001	0,0001	0,0001	0,0
48 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,64	0,62	-0,06	0,70
	P	0,0	0,0039	0,0056	0,4610	0,0012
DE	r	0,64	1,0000	0,99	-0,08	0,79
	P	0,0039	0,0	0,0001	0,4036	0,0001
DESMS	r	0,62	0,99	1,0000	-0,08	0,80
	P	0,0056	0,0001	0,0	0,3201	0,0001
TDIV	r	-0,06	-0,08	-0,08	1,0000	-0,08
	P	0,4610	0,4036	0,3201	0,0	0,3621
VG	r	0,70	0,79	0,80	-0,08	1,0000
	P	0,0012	0,0001	0,0001	0,3621	0,0
72 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,46	0,62	0,12	-0,47
	P	0,0	0,0522	0,0056	0,6212	0,0706
DE	r	0,46	1,0000	0,96	0,44	-0,29
	P	0,0522	0,0	0,0001	0,0705	0,0930
DESMS	r	0,62	0,96	1,0000	0,75	-0,77
	P	0,0056	0,0001	0,0	0,0004	0,0002
TDIV	r	0,12	0,44	0,75	1,0000	-0,08
	P	0,6212	0,0705	0,0808	0,0	0,0234
VG	r	-0,47	-0,29	-0,77	-0,08	1,0000
	P	0,0706	0,0930	0,0002	0,0234	0,0

TDIS = taxa de degradação *in situ*; DE = degradabilidade efetiva *in situ*; DESMS = desaparecimento de matéria seca *in situ*; TDIV = taxa de degradação *in vitro*; VG = volume de gás *in vitro*; r = coeficiente de correlação e P = probabilidade.

TABELA 5: Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos volumosos – Ovinos.

Coeficientes		TDIS	DE	DESMS	TDIV	VG
24 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,17	0,51	0,47	0,29
	P	0,0	0,5971	0,0912	0,1247	0,3655
DE	r	0,17	1,0000	0,90	0,46	0,88
	P	0,5971	0,0	0,0001	0,1003	0,0002
DESMS	r	0,51	0,90	1,0000	0,34	0,88
	P	0,0912	0,0001	0,0	0,1301	0,0002
TDIV	r	0,47	0,46	0,34	1,0000	0,80
	P	0,1247	0,1003	0,1301	0,0	0,0019
VG	r	0,29	0,88	0,88	0,80	1,0000
	P	0,3655	0,0002	0,0002	0,0019	0,0
48 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	-0,05	0,66	0,45	0,18
	P	0,0	0,8732	0,0196	0,1439	0,5766
DE	r	-0,05	1,0000	0,55	0,39	0,65
	P	0,8732	0,0	0,0618	0,1036	0,0229
DESMS	r	0,66	0,55	1,0000	0,50	0,52
	P	0,0196	0,0618	0,0	0,0668	0,0814
TDIV	r	0,45	0,39	0,50	1,0000	0,27
	P	0,1439	0,1036	0,0668	0,0	0,3943
VG	r	0,18	0,65	0,52	0,27	1,0000
	P	0,5766	0,0229	0,0814	0,3943	0,0
72 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	-0,24	0,72	-0,19	0,20
	P	0,0	0,4532	0,0088	0,5436	0,5236
DE	r	-0,24	1,0000	0,37	-0,01	0,38
	P	0,4532	0,0	0,2363	0,9670	0,2182
DESMS	r	0,72	0,37	1,0000	0,00	0,47
	P	0,0088	0,2363	0,0	0,9903	0,1233
TDIV	r	-0,19	-0,01	0,00	1,0000	0,07
	P	0,5436	0,9670	0,9903	0,0	0,8189
VG	r	0,20	0,38	0,47	0,07	1,0000
	P	0,5236	0,2182	0,1233	0,8189	0,0

TDIS = taxa de degradação *in situ*; DE = degradabilidade efetiva *in situ*; DESMS = desaparecimento de matéria seca *in situ*; TDIV = taxa de degradação *in vitro*; VG = volume de gás *in vitro*; r = coeficiente de correlação e P = probabilidade.

TABELA 6: Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos concentrados – Ovinos.

Coficientes		TDIS	DE	DESMS	TDIV	VG
24 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,35	0,32	-0,08	0,330
	P	0,0	0,1505	0,1945	0,7383	0,1865
DE	r	0,35	1,0000	0,96	0,13	0,76
	P	0,1505	0,0	0,0001	0,6074	0,0003
DESMS	r	0,32	0,96	1,0000	0,20	0,68
	P	0,1945	0,0001	0,0	0,4237	0,0019
TDIV	r	-0,08	0,13	0,20	1,0000	-0,43
	P	0,7383	0,6074	0,4237	0,0	0,0747
VG	r	0,33	0,76	0,68	-0,43	1,0000
	P	0,1865	0,0003	0,0019	0,0747	0,0
48 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,08	0,18	0,09	0,31
	P	0,0	0,7397	0,4618	0,7152	0,2130
DE	r	0,08	1,0000	0,89	0,45	0,66
	P	0,7397	0,0	0,0001	0,0611	0,0026
DESMS	r	0,18	0,89	1,0000	0,39	0,63
	P	0,4618	0,0001	0,0	0,1133	0,0054
TDIV	r	0,09	0,45	0,39	1,0000	-0,10
	P	0,7152	0,0611	0,1133	0,0	0,6827
VG	r	0,31	0,66	0,63	-0,10	1,0000
	P	0,2130	0,0026	0,0054	0,6827	0,0
72 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	-0,10	0,18	-0,41	-0,072
	P	0,0	0,6956	0,4618	0,0706	0,7735
DE	r	-0,10	1,0000	0,81	-0,38	0,332
	P	0,6956	0,0	0,0001	0,1180	0,0959
DESMS	r	0,18	0,81	1,0000	-0,43	0,42
	P	0,4618	0,0001	0,0	0,0774	0,1348
TDIV	r	-0,41	-0,38	-0,43	1,0000	-0,03
	P	0,0706	0,1180	0,0774	0,0	0,9104
VG	r	-0,07	0,33	0,42	-0,03	1,0000
	P	0,7735	0,0959	0,1348	0,9104	0,0

TDIS = taxa de degradação *in situ*; DE = degradabilidade efetiva *in situ*; DESMS = desaparecimento de matéria seca *in situ*; TDIV = taxa de degradação *in vitro*; VG = volume de gás *in vitro*; r = coeficiente de correlação e P = probabilidade.

TABELA 7: Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos volumosos – Caprinos.

Coeficientes		TDIS	DE	DESMS	TDIV	VG
24 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,87	0,87	-0,06	0,77
	P	0,0	0,0002	0,0002	0,8476	0,0034
DE	r	0,87	1,0000	0,98	0,12	0,65
	P	0,0002	0,0	0,0001	0,6987	0,0211
DESMS	r	0,87	0,98	1,0000	0,08	0,64
	P	0,0002	0,0001	0,0	0,8081	0,0250
TDIV	r	-0,06	0,12	0,08	1,0000	-0,23
	P	0,8476	0,6987	0,8081	0,0	0,4669
VG	r	0,77	0,65	0,64	-0,23	1,0000
	P	0,0034	0,0211	0,0250	0,4669	0,0
48 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,84	0,86	0,54	0,70
	P	0,0	0,0006	0,0004	0,0710	0,0120
DE	r	0,84	1,0000	0,98	0,42	0,43
	P	0,0006	0,0	0,0001	0,0706	0,1663
DESMS	r	0,86	0,98	1,0000	0,49	0,49
	P	0,0004	0,0001	0,0	0,0699	0,1028
TDIV	r	0,54	0,42	0,49	1,0000	0,51
	P	0,0710	0,0706	0,0699	0,0	0,0929
VG	r	0,70	0,43	0,49	0,51	1,0000
	P	0,0120	0,1663	0,1028	0,0929	0,0
72 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,76	0,70	0,01	0,07
	P	0,0	0,0038	0,0105	0,9672	0,8212
DE	r	0,76	1,0000	0,98	-0,00	0,36
	P	0,0038	0,0	0,0001	0,9844	0,2530
DESMS	r	0,70	0,98	1,0000	0,01	0,36
	P	0,0105	0,0001	0,0	0,9642	0,2478
TDIV	r	0,01	-0,00	0,01	1,0000	0,42
	P	0,9672	0,9844	0,9642	0,0	0,1753
VG	r	0,07	0,36	0,36	0,42	1,0000
	P	0,8212	0,2530	0,2478	0,1753	0,0

TDIS = taxa de degradação *in situ*; DE = degradabilidade efetiva *in situ*; DESMS = desaparecimento de matéria seca *in situ*; TDIV = taxa de degradação *in vitro*; VG = volume de gás *in vitro*; r = coeficiente de correlação e P = probabilidade.

TABELA 8: Coeficientes de correlação linear de Pearson entre os dados da cinética de degradação *in situ* e *in vitro*, de alimentos concentrados – Caprinos.

Coeficientes		TDIS	DE	DESMS	TDIV	VG
24 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,42	0,30	0,23	-0,23
	P	0,0	0,0791	0,2262	0,3526	0,3542
DE	r	0,42	1,0000	0,93	-0,11	0,62
	P	0,0791	0,0	0,0001	0,6752	0,0065
DESMS	r	0,30	0,93	1,0000	-0,06	0,62
	P	0,2262	0,0001	0,0	0,8084	0,0060
TDIV	r	0,23	-0,11	-0,06	1,0000	-0,29
	P	0,3526	0,6752	0,8084	0,0	0,3690
VG	r	-0,23	0,62	0,62	-0,29	1,0000
	P	0,3542	0,0065	0,0060	0,3690	0,0
48 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	0,06	0,12	0,14	-0,22
	P	0,0	0,8137	0,6319	0,5743	0,3834
DE	r	0,06	1,0000	0,97	-0,29	0,78
	P	0,8137	0,0	0,0001	0,2384	0,0002
DESMS	r	0,12	0,97	1,0000	-0,33	0,75
	P	0,6319	0,0001	0,0	0,1843	0,0004
TDIV	r	0,14	-0,29	-0,33	1,0000	-0,38
	P	0,5743	0,2384	0,1843	0,0	0,1010
VG	r	-0,22	0,78	0,75	-0,38	1,0000
	P	0,3834	0,0002	0,0004	0,1010	0,0
72 horas de incubação						
TDIS	r	1,0000	-0,16	0,12	-0,42	-0,14
	P	0,0	0,5308	0,6319	0,0620	0,5865
DE	r	-0,16	1,0000	0,91	-0,43	0,42
	P	0,5308	0,0	0,0001	0,0776	0,0805
DESMS	r	0,12	0,91	1,0000	-0,42	0,34
	P	0,6319	0,0001	0,0	0,0758	0,1639
TDIV	r	-0,42	-0,43	-0,42	1,0000	-0,47
	P	0,0620	0,0776	0,0758	0,0	0,0498
VG	r	-0,14	0,42	0,34	-0,47	1,0000
	P	0,5865	0,0805	0,1639	0,0498	0,0

TDIS = taxa de degradação *in situ*; DE = degradabilidade efetiva *in situ*; DESMS = desaparecimento de matéria seca *in situ*; TDIV = taxa de degradação *in vitro*; VG = volume de gás *in vitro*; r = coeficiente de correlação e P = probabilidade.