

Digestibilidade da Matéria Seca, Proteína Bruta e Energia Bruta da Silagem de Milho Associada ao Concentrado, por meio de Ensaios *in vivo* e *in vitro*

Mauro Dal Secco de Oliveira¹, Alexandre Amstalden Moraes Sampaio¹, Paulo de Figueiredo Vieira² e David Arioaldo Banzatto³

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi comparar a digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e energia bruta da silagem de milho associada ao concentrado, por meio de técnicas *in vivo* e *in vitro*. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e nove repetições, envolvendo três ensaios. O ensaio de digestão *in vivo* foi conduzido com doze novilhas da raça Holandesa em esquema de vigília permanente de 24 horas de colheita de amostras. O ensaio de digestão *in vitro* foi realizado com três métodos de colheita (M= manual, B= bomba de vácuo e S= sonda nasoesofageana). Os resultados revelaram que o método de colheita B e M podem ser utilizados para determinar a digestibilidade da matéria seca em substituição ao método *in vivo*, para a ração do presente estudo. Os métodos de digestão influíram na digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e energia bruta da ração estudada.

Palavras-chave: bovino, conteúdo ruminal, ração, volumoso

Dry Matter, Crude Protein and Gross Energy Digestibility of Corn Silage and Concentrate Mixture Through *in vivo* and *in vitro* Digestion Assays

ABSTRACT - A study was made to compare dry matter, crude protein and gross energy digestibility of corn silage, associated to concentrate, through *in vitro* and *in vivo* digestion techniques. A completely randomized design was used, with two treatments and nine replications, involving three assays. The *in vivo* digestion assay was conducted with 12 Holstein heifers, on a 24 h permanent sample collection. The *in vitro* digestion assay was achieved with three collection methods: manual (M), vacuum pump (VP) and nasoesophageic (N). The collection methods VP and M can be used to determine the dry matter digestibility, instead of *in vivo* method, for the present study ration. The digestion methods influenced the DM, CP and GE digestibility for the studied ration.

Key Words: bovine, ruminal content, diet, forage

Introdução

A técnica da digestão *in vitro* tem sido largamente utilizada na análise dos mais variados tipos de alimentos fornecidos aos bovinos. Este fato é devido à maior praticidade na determinação dos resultados, uma vez que grande parte do processo é desenvolvido em laboratório. Esta técnica procura simular as condições naturais da digestão; mas, para que os resultados sejam confiáveis, torna-se imprescindível que cada etapa da operação represente, o mais fielmente possível, o processo digestivo.

Uma das etapas da técnica consiste na colheita de conteúdo ruminal para inocular as amostras de alimento que serão submetidas à digestão. Existem várias formas de se realizar a colheita, a saber: a) manual, quando o animal doador de conteúdo rumi-

nal possui uma cânula de diâmetro que possibilite a penetração da mão; b) bomba de vácuo, quando a cânula não permite a passagem da mão para a colheita do conteúdo; c) sonda nasoesofageana, feita mediante a colocação da sonda via nasal; e d) esofageana, quando a sonda é introduzida pelo esôfago, via oral, uma vez que as duas últimas formas de colheita dispensam a cânula ruminal. Existem vantagens e desvantagens quanto à especificidade do método de colheita. Segundo RAUN e BURROUGHS (1962), tanto a colheita via esofageana como a nasoesofageana dependem da habilidade em se introduzir a sonda no animal. No caso da cânula com colheita manual, ocorre a possibilidade da obtenção de fluido ruminal mais homogêneo (WHOLT et al., 1976, e LAVEZZO et al., 1988). É oportuno salientar que a maior dificuldade encontrada no método de cânula ruminal é

¹ Zootecnistas, Professores do Departamento de Zootecnia de Ruminantes - FCAVJ/UNESP Rod. Carlos Tonanni, Jaboticabal, SP. Bolsistas do CNPq.

² Engenheiro Agrônomo, Professor do Departamento de Zootecnia de Ruminantes - FCAVJ/UNESP.

³ Engenheiro Agrônomo, Professor do Departamento de Ciências Exatas - FCAVJ/UNESP.

quanto à manutenção do animal, e nem tanto ao estabelecimento e à permanência da cânula acoplada à fístula. Um dos maiores problemas é a abreviação da vida útil dos animais fistulados e o fracasso da fistulação devido à necrose por pressão nas extremidades da cânula (CAMPBELL et al., 1968).

Com relação à colheita usando a bomba de vácuo, este é um método mais simples, porém merece cuidados quanto à localização da sonda dentro do rúmen. Dirksen e Seidel (1975), citados por LAVEZZO et al. (1988), relataram que a maior quantidade de líquido e a menor quantidade de forragem no rúmen tornam mais fácil a aspiração do conteúdo ruminal.

O objetivo deste trabalho foi estudar a digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e energia bruta de uma ração constituída de silagem de milho e concentrado, por meio da técnica de digestão *in vivo* comparativamente com a técnica *in vitro*, usando diferentes métodos de colheita do conteúdo ruminal.

Material e Métodos

Foram utilizadas 12 novilhas da raça Holandesa com peso médio de 386 kg, as quais permaneceram estabuladas durante 42 dias, em que foram condicionadas ao ambiente, às técnicas de manejo, aos horários de distribuição da ração (em duas refeições diárias) e às demais atividades de controle sanitário e higienização. Nos 14 dias seguintes foi feito o controle do consumo voluntário procurando a maior homogeneidade possível. Durante os últimos três dias desse período, o consumo diário de ração foi utilizado para limitar em 80% a quantidade a ser oferecida aos animais no período de colheita de fezes que teve uma duração de sete dias, sob vigilância diária total, com as colheitas efetuadas a cada vez que ocorriam as excreções de cada um dos animais que

permaneceram contidos por meio de correntes. O concentrado oferecido aos animais apresentou a seguinte composição percentual: milho triturado (57), farelo de trigo (25), farelo de soja (5), farelo de algodão (10) e sal mineralizado (3). A composição bromatológica da silagem de milho e do concentrado encontra-se na Tabela 1. A amostragem da ração e das fezes constituiu-se da retirada de 100 gramas, diariamente, de cada um dos animais, após cuidadosa homogeneização do conteúdo total oferecido e excretado, respectivamente. As sobras de ração foram amostradas apenas quando havia quantidade superior a 3% do total oferecido diariamente. Das 12 novilhas, foram selecionadas nove, cujos dados foram analisados estatisticamente.

Para o ensaio de digestão *in vitro*, utilizou-se um bovino da raça Holandesa de aproximadamente 450 kg, com fístula permanente provida de cânula com duas aberturas de diâmetro diferentes, uma com aproximadamente 10 cm e outra com 2 cm de diâmetro, permitindo a colheita do conteúdo ruminal com a mão e a sonda (2 cm de diâmetro e 1,2 m de comprimento), respectivamente. No método nasoesofageano, utilizou-se uma sonda de 1,3 cm de diâmetro e aproximadamente 2 m de comprimento, previamente lubrificada e introduzida até atingir o rúmen. A retirada do conteúdo ruminal foi feita com bomba de vácuo modelo 141/2 CV. O animal foi submetido a 42 dias de adaptação, durante os quais recebeu, diariamente, em duas refeições (8 e 15 h) um total de 20 kg de silagem de milho e 4 kg de concentrado, iguais àqueles utilizados na digestão *in vivo*. Além da ração, estiveram à disposição água e sal mineralizado.

As colheitas de conteúdo ruminal foram feitas pela manhã (7 h), com o animal em jejum de 12 horas. Em cada método, a primeira quantidade coletada do conteúdo foi sempre desprezada, sendo as demais

TABELA 1- Composição química da silagem de milho e do concentrado¹
TABLE 1 - Chemical composition of corn silage and concentrate¹

Alimentos Feeds	Porcentagem da MS Percentage of DM						EB GE kcal/kgMS kcal/kgDM
	MS(% DM	PB CP	FDA ² ADF	FDN ² NDF	EE EE	MM MM	
Silagem de milho Corn silage	27,6	7,0	33,4	61,3	4,0	3,9	3961
Concentrado Concentrate	86,9	14,7	10,0	25,7	4,6	6,9	3940

¹ Análise no Laboratório de Nutrição Animal da FCAVJ/UNESP (Analysis were made at Animal Nutrition Laboratory of FCAVJ/UNESP).

² Médias (Means).

TABELA 2 - Identificação dos tratamentos dos diferentes ensaios
 TABLE 2 - Identification of treatments of the different assays

Ensaio Assay	Tratamentos Treatments	Tipo de digestão Type of digestion	MCCR CMRF
1	A	<i>In vivo</i>	—
	M	<i>In vitro</i>	Manual Handly
2	A	<i>In vivo</i>	—
	B	<i>In vitro</i>	Bomba a vácuo Vacuum pump
3	A	<i>In vivo</i>	—
	S	<i>In vitro</i>	Sonda nasoesofageana Nasoesophagic gauge

MCCR = Métodos de coleta do conteúdo ruminal CMRF = (Collection methods of ruminal fluid).

filtradas em saco de pano de algodão (20x22 cm) com malhas ralas, por meio de pressão manual. O conteúdo foi coletado, primeiramente, por meio do método manual, em seguida, pelo método da bomba de vácuo e finalmente pelo método da sonda nasoesofageana. O conteúdo foi mantido a 39-40°C, em garrafas térmicas, e enviado ao laboratório de Nutrição Animal da FCAVJ.

Utilizou-se a técnica de Tilley e Terry (1963), citados por SILVA (1981), com um estágio de 48 horas de fermentação nos tubos. Foram obtidos os coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca, da proteína bruta e da energia bruta, utilizando-se a ração moída em moínho tipo Wiley, provido de peneira com 20 mesh.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e nove repetições, envolvendo três ensaios. A digestão *in vivo* foi comparada à digestão *in vitro* em cada um dos métodos de colheita do conteúdo ruminal. Os tratamentos testados encontram-se identificados na Tabela 2.

Resultados e Discussão

Na Tabela 3 são apresentados os dados referentes aos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, da proteína bruta e da energia bruta da ração, contendo silagem de milho e concentrado, além do quadrado médio e do coeficiente de variação obtidos nos diferentes tratamentos.

Notou-se que o método de digestão não afetou ($P > 0,05$) a digestibilidade da MS da ração nos ensaios 1 e 2. Isto indicou que, para rações constituídas de silagem de milho e concentrado, pode-se utilizar o

método *in vitro* com retirada de conteúdo ruminal, manualmente ou com bomba de vácuo, uma vez que as diferenças observadas nas médias da digestibilidade da MS (Tabela 3) foram de 2,8 e 4,7 unidades percentuais, respectivamente.

No ensaio 3, houve superioridade de 12,9% na média da digestibilidade da MS em favor do tratamento S ($P < 0,01$). Neste caso, houve aumento da digestibilidade, indicando que a retirada do conteúdo por meio de sonda nasoesofageana não é adequada, necessitando, portanto, de um fator de correção, a fim de permitir uma digestibilidade mais próxima da obtida pelo método *in vivo*.

Observou-se que a digestibilidade da PB foi menor ($P < 0,01$) no método de digestão *in vitro*. Houve diferença de 45,8 unidades percentuais, correspondendo à superioridade de 115,7%, em favor da digestibilidade obtida no método *in vivo*, considerando-se o ensaio 1. Devido à participação do concentrado na ração, possivelmente os microorganismos tiveram menor tempo de atuação sobre a proteína, em virtude da utilização do período de 48 horas de fermentação. Por outro lado, na digestão *in vitro* ocorre uma utilização da energia pelos microorganismos existentes no meio, o que pode ter causado diminuição na digestibilidade.

A digestibilidade da EB foi afetada ($P < 0,01$) pelos métodos de digestão. Foram obtidas as médias de 84,9 e 60,2% de digestibilidade da EB nos tratamentos A e M, respectivamente, no ensaio 1. Houve superioridade de 41% na digestibilidade da EB no método *in vivo*.

Considerando-se os resultados dos três ensaios, notou-se que, mesmo com a diferença observada nas médias da digestibilidade da EB, a bomba de vácuo

TABELA 3 - Coeficientes de digestibilidade da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB), quadrado médio (QM) e coeficiente de variação (CV) obtidos nos diferentes tratamentos
 TABLE 3 - Coefficients of digestibility of the dry matter (DM), crude protein (CP), and gross energy (GE), mean squares (MS) and coefficient of variation (CV) obtained from different treatments

Ensaio Assay	Tratamentos Treatments	Coeficientes de digestibilidade (%) Coefficients of digestibility		
		MS DM	PB CP	EB GE
1	A	57,4	85,3	84,9
	M	60,2	39,5	60,2
	QM	33,8NS	9419,7**	2748,6**
	MS CV,%	8,4	9,9	3,4
2	A	57,4	85,3	84,9
	B	62,1	46,9	62,6
	QM	99,8NS	6627,4**	2237,1**
	MS CV,%	8,0	10,7	4,7
3	A	57,4	85,3	84,9
	S	64,8	52,7	62,6
	QM	245,6**	4470,4**	2248,9**
	MS CV,%	8,0	7,2	4,2

NS= Não-significativo. *(P<0,05). **(P<0,01).
 NS = No significant.

e a sonda nasoesofageana possibilitaram uma colheita com proteção maior do conteúdo ruminal, uma vez que a digestibilidade se aproximou mais da obtida na digestão *in vivo*.

Apesar do método de digestão *in vitro* ter demonstrado constantemente a maior correlação com a digestibilidade *in vivo* (TILLEY e TERRY, 1963), pôde-se observar que a forma de retirada do conteúdo ruminal interferiu nos resultados.

A simulação da digestão *in vitro* feita em nível de laboratório proporcionou condições favoráveis aos microorganismos presentes no fluido ruminal. No entanto, observou-se que houve maior proximidade das médias de digestibilidade *in vitro* da EB, seguida da digestibilidade da MS e finalmente da PB. Sob este aspecto, verificou-se aumento na digestibilidade da MS e PB, em ordem crescente, à medida que se utilizaram o método de colheita manual, a bomba de vácuo e a sonda nasoesofageana. Isto demonstrou que as médias menores obtidas por meio da colheita manual foram decorrentes de maiores interferências sobre as condições de fermentação, com conseqüente alteração na atuação dos microorganismos e na digestão dos alimentos (SILVA e LEÃO, 1979).

Comparando o método *in vitro* com o da colheita das fezes por intermédio da vigília permanente de 24 horas, as diferenças significativas nas médias da PB e da EB, além da digestibilidade da MS (no caso do tratamento S do ensaio 3), possivelmente ocorreram por se tratar de variáveis inerentes ao método *in vitro*,

tais como o uso de um estádio de fermentação, e principalmente por não estimar adequadamente a digestibilidade da PB e EB, proporcionando valores diferentes. Todavia, apesar da maior média obtida para a digestibilidade da MS (P<0,01) em favor do método *in vitro*-sonda nasoesofageana, para a digestibilidade da PB e EB, neste método de colheita do conteúdo ruminal as médias foram as que mais se aproximaram das médias obtidas no método *in vivo*. Tal fato é atribuído à melhor preservação das condições do conteúdo ruminal e, por conseguinte, às menores alterações nos parâmetros ruminiais (Church, 1979, citado por LAVEZZO et al., 1988), o que poderá não ocorrer no método de colheita manual (BALEY e BALCH, 1961, e LAVEZZO et al., 1988). As modificações nas condições ruminiais causaram alterações na digestão dos alimentos (SILVA e LEÃO, 1979).

Do ponto de vista estatístico e nas condições do presente trabalho, as formas de retirada do conteúdo ruminal por meio manual e bomba de vácuo, poderão ser utilizados para determinar a digestibilidade da MS em substituição ao método *in vivo*, uma vez que este método envolve a utilização de vários animais, grandes quantidades de alimentos, instalações apropriadas e, conseqüentemente, custos mais elevados. No método *in vitro* a praticidade é maior, além de, no caso da colheita do conteúdo por via sonda nasoesofageana, não ser necessária uma cânula permanente no rúmen.

Conclusões

Para a ração estudada, os métodos de colheita do conteúdo ruminal por meio de bomba de vácuo e por meio manual podem ser utilizados para determinar a digestibilidade da matéria seca em substituição ao método *in vivo*. Porém, a colheita por meio de bomba de vácuo causou diminuição na digestibilidade da proteína e da energia.

Para a técnica da digestão *in vitro*, o método de colheita do conteúdo ruminal pode influir na estimativa da digestibilidade dos nutrientes.

Referências Bibliográficas

BAILEY, C.B., BALCH, C.C. Saliva excretion and its relation to feeding in cattle. 2- The composition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. *Br. J. Nutr.*, Cambridge, v.15, n.7, p.383 - 402, Nov. 1961.

CAMPBELL, C.M., ENG Jr., K.S., NELSON, A.B., POPE, L.S. Use of the esophageal fistula in diet sampling with beef

cattle. *J. Anim. Sci.*, Albany, v.27, n.1, p.231-233, Jan. 1968.

LAVEZZO, O.E.N.M., FARIÁ, V.P., MATTOS, W.R.S., LAVEZZO, W. Influência de métodos de coleta de fluido ruminal sobre os parâmetros de fermentação em bovinos alimentados com diferentes fontes de proteína. *R. Soc. Bras. Zootec.*, Viçosa, v.17, n.3, p.281-291, Mai/Jun. 1988.

RAUN, N.S., BURROUGHS, W. Suction strainer technique in obtaining rumen fluid samples from intact lambs. *J. Anim. Sci.*, Albany, v.21, n.3, p.454-457, Mai. 1962.

SILVA, D.J. *Análises de alimentos (Métodos químicos e biológicos)*. Viçosa: UFV, 1981 166p.

SILVA, J.F.C., LEÃO, M.I. *Fundamentos de nutrição dos ruminantes*. Piracicaba: Livroceres, 1979.384p.

TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.*, Cambridge, v.18, n.1, p. 104-111, Jan. 1963.

WHOLT, J.E., CLARK, J.H., BLAISDELL, F.S. Effect of sampling location, time, and method of concentration on ammonia nitrogen in rumen fluid. *J. Dairy Sci.*, Champaign, v.59, n.3, p.459-464, Mar. 1976.

Recebido em: 15/05/95

Aceito em: 20/02/97