

PARÂMETROS RUMINAIS DE VACAS DOADORAS DE INÓCULO ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS E SEUS EFEITOS NA DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DE VOLUMOSOS¹

VANESSA PILLON DOS SANTOS², CARLA MARIS MACHADO BITTAR³, LUIZ GUSTAVO NUSSIO⁴, LUCAS SILVEIRA FERREIRA²,
MAITY ZOPOLLATTO², CARLOS CÉSAR ALVES³

¹Parte de Dissertação de Mestrado em Agronomia, área de Ciência Animal e Pastagens, apresentada pela primeira autora à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Recebido para publicação em 29/02/08. Aceito para publicação em 14/11/08.

²Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens, Departamento de Zootecnia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), Av. Pádua Dias, 11, Caixa postal 9, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil. E-mail: vpdsanto@esalq.usp.br

³Laboratório de Bromatologia, Departamento de Zootecnia, ESALQ, USP, Piracicaba, SP, Brasil.

⁴Departamento de Zootecnia, ESALQ, USP, Piracicaba, SP, Brasil.

RESUMO: Objetivou-se avaliar o ambiente ruminal de vacas doadoras de inóculo, alimentadas com cana de açúcar fresca ou ensilada, e seus efeitos na digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca (DVIVMS) e matéria orgânica (DVIVMO) da cana-de-açúcar fresca (CF), cana-de-açúcar ensilada (SC) e da silagem de milho (SM). Foram utilizadas duas vacas Holandesas com fistula ruminal, as quais foram alimentadas com rações com diferentes volumosos: CF ou SC. Foram coletadas amostras de fluido ruminal para a avaliação do ambiente ruminal resultante de cada ração, através da determinação do pH, nitrogênio amoniacal e concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Para a determinação da DVIV da MS e da MO, foi coletado fluido ruminal dos animais alimentados com as diferentes dietas, sendo os volumosos testados incubados em quadruplicatas durante 48h. Diferenças significativas foram observadas para a concentração total dos AGCC nos diferentes tratamentos ($P < 0,05$). O horário de coleta afetou significativamente a concentração molar do ácido acético e total dos AGCC, além do pH ruminal. As digestibilidades da MS da CF, SC e SM foram maiores (60,82; 68,36 e 71,79%, respectivamente) quando se utilizou inóculo proveniente de animal alimentado com SC, comparado com proveniente da CF (53,90; 54,54 e 62,02%).

Palavras-chave: ácidos graxos de cadeia curta, ambiente ruminal, cana-de-açúcar, silagem de milho, pH.

RUMINAL PARAMETERS OF INOCULA-DONNOR COWS FED DIFFERENT DIETS AND ITS EFFECTS ON FORAGE *IN VITRO* DIGESTIBILITY

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the rumen environment of inocula cows donor fed fresh or ensiled sugar cane, and its effects on the *in vitro* true dry matter (IVTDMD) and organic matter digestibilities (IVTOMD) of fresh sugar cane (FS), sugarcane silage (SS) and corn silage (CS). Two Holstein cows with rumen cannulae were fed diets containing different forage sources: fresh chopped sugarcane and sugarcane silage. Rumen fluid samples were collected for diets resulting rumen conditions evaluation by the determination of pH, ammonia-N and short chain fatty acids (SCFA) molar concentration. For the IVTDMD and IVTOMD determinations, rumen fluid was collected from the animals fed different diets, being the tested forages incubated in quadruplicates during 48h. Significant differences between treatments were observed for the total SCFA molar concentration ($P < 0.05$). Sampling time affected molar concentration of acetic acid and total SCFA, as well as the rumen pH. The DM digestibilities of FS, SS and CS were highest (60.82; 68.36 and 71.79%, respectively) when inoculated in the ruminal conditions containing ES as compared to ruminal conditions resulting from FS (53.90; 54.54 and 62.02%).

Key-words: corn silage, pH, rumen environment, short chain fatty acids, sugar cane.

INTRODUÇÃO

Os fatores nutricionais que podem influenciar o desempenho animal são mensurados com base em algumas variáveis como a composição químico-bromatológica e a digestibilidade dos alimentos. A avaliação da digestibilidade, principalmente dos volumosos que compõem a maior parte das rações para os ruminantes, tem como objetivo prever a qualidade nutricional desses alimentos.

As metodologias *in vivo* e *in vitro* podem ser utilizadas para a determinação da digestibilidade dos alimentos, sendo a última a mais utilizada. Esta técnica simula o processo de digestão que ocorre no rúmen, abomaso e intestino, com intuito de estimar, quantitativamente, a taxa e a extensão da digestão, semelhante aos obtidos pela metodologia *in vivo*.

Com o propósito de simular o que ocorre na digestão pós-ruminal, no final da década de 60, VAN SOEST substituiu a digestão com pepsina proposta por TILLEY e TERRY (1963) pela solução de detergente neutro. Essa modificação na técnica demonstrou resultados mais próximos do que ocorreria na digestibilidade *in vivo*, denominada então, digestibilidade verdadeira *in vitro* (VAN SOEST, 1967).

As frações a serem obtidas, a partir da técnica de digestibilidade verdadeira *in vitro*, correspondem à digestibilidade da MS e da matéria orgânica (MO). A técnica *in vitro* consiste em manter amostras de alimentos em contato com o líquido ruminal (inóculo) no interior de um tubo de ensaio, onde se procura reproduzir o processo de fermentação ruminal, ou seja, na presença de microrganismos, anaerobiose, temperatura, poder tampão e pH, durante 24 a 48 horas (SILVA e QUEIROZ, 2002).

No entanto, os fatores que afetam os resultados obtidos por essa técnica estão relacionados com a dieta fornecida aos animais doadores de fluido ruminal, à limitação quanto à reprodução das condições de movimentação do alimento, o pH do inóculo utilizado, e o tamanho de partícula da amostra incubada. Dentre esses fatores, as maiores variações observadas na técnica *in vitro* estão relacionadas com a redução do pH do inóculo, que pode afetar a digestibilidade da fibra, uma vez que os microrganismos celulolíticos são sensíveis à queda do pH (CHERNEY *et al.*, 1993).

Através deste trabalho objetivou-se avaliar o

ambiente ruminal de vacas doadoras de inóculo, alimentadas com cana de açúcar fresca ou ensilada, e seus efeitos na digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca (MS) e matéria orgânica (MO) dos volumosos da cana-de-açúcar fresca, cana-de-açúcar ensilada e da silagem de milho.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Departamento de Zootecnia – Setor de Ruminantes e Laboratório de Bromatologia, da Universidade de São Paulo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ). O delineamento experimental foi em blocos inteiramente causalizados com duas repetições. Foram utilizadas duas vacas Holandesas não lactantes, com peso médio de 450kg, providas de cânula ruminal permanente. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais do tipo *tie-stall*, com 1,05m de largura e 2,10m de comprimento, com piso cimentado, providas de bebedouro automático e comedouro individual.

As rações experimentais eram isoprotéicas e isoenergéticas, formuladas segundo o NRC (2001), para animais com produção potencial de 30kg de leite/dia, embora os animais não estivessem em lactação. O objetivo foi simular o ambiente ruminal de vacas que estivessem sendo alimentadas com essas rações, as quais apresentaram relação volumoso:concentrado de 40:60 e foram fornecidas aos animais de maneira a se obter diferentes ambientes ruminais. As rações variaram conforme a fonte de volumoso: cana-fresca (CF) ou silagem de cana (SC). Na Tabela 1 estão apresentadas a proporção dos ingredientes e a composição químico-bromatológica das rações experimentais.

Durante o experimento, os animais receberam as rações experimentais duas vezes ao dia (8:00 e 18:00 horas) em quantidade suficiente para permitir cerca de 10% de sobras. Os volumosos e os concentrados foram pesados separadamente e homogeneizados para o animal, individualmente, no momento do fornecimento das rações.

A silagem de cana-de-açúcar aditivada com inoculante bacteriano Lalsilcana®, constituído pela cepa *L. buchneri* 40788, foi retirada de um silo tipo poço no momento do fornecimento. A cana-de-açúcar fresca foi colhida em dias intercalados, sendo a picagem realizada no momento do fornecimento aos

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química das rações experimentais

Ingrediente	Rações Experimentais	
	Cana-de-açúcar fresca	Silagem de cana
	%MS	
Cana-de-açúcar fresca	40,00	-
Silagem de cana-de-açúcar	-	40,00
Milho grão moído	8,00	8,00
Polpa cítrica	12,90	12,90
Caroço de algodão	10,00	10,00
Farelo de algodão	12,00	12,00
Farelo de soja	14,02	14,02
Bicarbonato de sódio	0,70	0,70
Minerais e vitaminas	2,38	2,38
Composição química (%)		
Matéria seca	45,24	44,33
Cinzas	4,96	5,56
Proteína bruta	9,55	8,56
Fibra em detergente neutro	50,27	49,51
Fibra em detergente ácido	31,82	31,62

animais, em picadora estacionária regulada para corte de tamanho de partícula de aproximadamente 1,0cm.

O período de adaptação às dietas foi de 14 dias, sendo então realizadas as coletas para a avaliação do ambiente ruminal resultante de cada ração experimental. Amostras de fluido ruminal foram coletadas das duas vacas, a cada duas horas, durante um período de 12 horas, a começar do horário de fornecimento da ração (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas), em vários pontos do rúmen e filtradas em quatro camadas de pano de queijo (tipo fralda), conforme proposto por CAMPOS *et al.* (2004). Uma alíquota de fluido ruminal de aproximadamente 200 mL teve o pH medido imediatamente em potenciômetro digital (DIGIMED® - DMPH2) sendo subdividida em duas amostras para armazenamento (-2°C) sem conservantes para posterior determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e N-NH₃.

Para determinação do teor de N-NH₃, uma das amostras foi descongelada e centrifugada a 12.000 x g, a 4°C, durante 20 minutos. Uma alíquota do sobrenadante foi utilizada para a determinação, seguindo o método colorimétrico proposto por CHANEY e MARBACH (1962), adaptado para leitura em leitor de microplaca (BIO-RAD, Hercules, CA, EUA) utilizando-se filtro para absorvância de 540nm (CAMPOS *et al.*, 2004).

A partir do fluido da outra amostra, foi determinada as concentrações dos AGCC. A amostra foi igualmente descongelada e centrifugada sob as mesmas condições, sendo 800µL do sobrenadante, juntamente com 200µL de ácido fórmico e 100µL de padrão interno adicionados à um frasco para leitura em cromatógrafo e mantidos congelados. Os frascos foram descongelados em temperatura ambiente no momento da realização da leitura. As leituras foram realizadas conforme descrito por CAMPOS *et al.* (2004), em cromatógrafo líquido-gasoso, CLG (Hewlett Packard® 5890 series II), equipado com braço mecânico HP e Integrator 3396 série II (Hewlett Packard Company®).

Os alimentos avaliados quanto a digestibilidade verdadeira *in vitro* foram a cana-de-açúcar fresca, a silagem de cana e a silagem de milho. As amostras dos alimentos foram submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65° C por 48 horas. Após secagem, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey providos de peneira com malha de 1mm de diâmetro, para a determinação dos teores de MS e MO, segundo CAMPOS *et al.* (2004).

As amostras moídas foram pesadas em quadruplicatas em tubos de ensaio de 100 mL e incubadas seguindo a metodologia proposta por GOERING e VAN SOEST (1970), com inóculos utilizados coletados de vacas consumindo as rações experi-

mentais. Dessa maneira, após um período de sete dias depois das coletas de fluido ruminal para estudo do perfil de fermentação, foram realizadas novas coletas de fluido para a avaliação da digestibilidade. Durante a incubação, com duração de 48 horas, o pH foi medido em potenciômetro digital DIGIMED® (DMPH2) e corrigido para 6,0 durante as oito primeiras horas após a incubação, em intervalos de uma hora.

Embora a metodologia padrão recomende correção do pH até seis horas após a incubação, adotou-se o período de oito horas uma vez que os inóculos eram provenientes de vacas recebendo ração com grande participação de alimentos concentrados. Após 48 horas cessou-se a fermentação com adição de tolueno, seguido da determinação de FDN de cada tubo para a determinação da digestibilidade verdadeira *in vitro* da MS e da MO, conforme recomendado por GOERING e VAN SOEST (1970).

Os tratamentos consistiram de dois ambientes ruminais, resultantes do fornecimento das diferentes rações, sendo incubados os três volumosos estudados: cana-de-açúcar fresca, cana-de-açúcar ensilada com aditivo e silagem de milho. Os dados de digestibilidade foram analisados de forma a obter a análise de variância entre os alimentos e a interação entre o alimento e os inóculos utilizando-se o programa SAS (2000). As diferenças entre médias foram comparadas pelo teste t ao nível de 5% de significância. As variáveis dos parâmetros ruminais foram analisadas por meio da análise de covariância do procedimento MIXED do programa estatístico SAS (2000). Foi avaliada a interação entre os ambientes ruminais (rações experimentais) e os tempos de coleta. Para a comparação de médias dos tratamentos e das interações que apresentaram diferenças significativas foi utilizado o teste t de Student ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta tempo x tratamento enquanto as médias dos parâmetros ruminais avaliados para os diferentes ambientes ruminais são apresentados na Tabela 3. Embora não tenha ocorrido diferença significativa na concentração molar dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) individualmente, o ambiente ruminal contendo silagem de cana apresentou maior concentração molar de AGCC total. Diferenças significativas ($P < 0,05$) en-

tre os tratamentos foram observadas para a concentração total de AGCC. Conforme mostra a Tabela 3, o fator tempo afetou de forma significativa a concentração molar do ácido acético ($P < 0,0005$) e total dos ácidos graxos ($P < 0,0010$), bem como o pH ruminal ($P < 0,0075$).

As médias das concentrações molares dos ácidos propiônico (C3) e butírico (C4) apresentaram comportamento temporal semelhante, não havendo efeito de horário de coleta ou da interação tempo x tratamento. Variações nas concentrações molares de AGCC podem afetar a digestão e/ou o desaparecimento de alimentos, principalmente quando ocorrem em coincidência com grande variação de pH. (RUSSEL, 2002), como observado neste estudo.

Quando se avaliou a concentração de C2, o valor médio encontrado foi de 57,71 mM no ambiente ruminal contendo cana-de-açúcar fresca e 58,94 mM no ambiente ruminal contendo silagem de cana, ambiente este que apresentou a maior concentração total dos AGCC (Tabela 2). ALCÂNTARA *et al.* (1989), observaram menores concentrações de C2 para animais alimentados com cana-de-açúcar fresca quando comparado com animais que se alimentaram com silagem de cana.

Ainda que diferenças significativas não tenham sido observadas entre os animais alimentados com cana-de-açúcar e silagem de cana para as concentrações de C2 no fluido ruminal, apresentando média de 58,32 mM, o tempo e a interação entre tempo e tratamento afetaram significativamente este parâmetro (Tabela 3). Conforme a Tabela 2 observou-se um pico de C2 quatro horas após o fornecimento da ração completa contendo silagem de cana, quando os animais devem ter apresentado grande consumo. Quando os animais se alimentaram das rações constituídas de CF esse pico ocorreu aproximadamente 10 horas após a alimentação.

As maiores concentrações de C2 no ambiente ruminal dos animais consumindo a ração contendo SC quatro horas após a alimentação (Tabela 2), provavelmente se devem ao fato da silagem de cana ter em sua constituição maiores concentrações de C2, resultante da fermentação heterolática (*L. buchneri*) que ocorre durante o processo de ensilagem (McDONALD *et al.*, 1991). Assim, maiores quantida-

Tabela 2. Efeito do horário de coleta e do tratamento no pH e na concentração molar total dos ácidos graxos de cadeia curta e do ácido acético no fluido ruminal de vacas alimentadas com rações contendo cana-de-açúcar fresca ou ensilada

Tratamento ¹	Horário de coleta							EPM
	0	2	4	6	8	10	12	
pH ruminal								
CF	6,95	6,18	6,21	6,20	6,30	6,50	6,10	0,17
SC	6,69	6,25	6,20	6,23	6,52	6,58	5,88	0,17
Média	6,82a	6,21c	6,21c	6,21c	6,41b	6,54ab	5,99c	0,12
N-NH ₃								
CF	18,65	19,90	9,70	11,02	6,18	13,35	16,65	9,66
SC	15,45	17,50	10,30	7,27	4,38	9,11	14,45	9,66
Média	17,05	18,70	10,00	9,15	5,28	11,23	15,55	9,39
Ácidos graxos de cadeia curta totais (mM)								
CF	92,56Bc	83,32Ad	99,31Bb	100,62Aab	95,68Abc	106,46Aa	94,69Bbc	3,06
SC	104,78Ac	91,91Ad	123,94Aa	96,09Ad	95,64Ad	106,92Abc	110,18Ab	1,98
Média	98,67d	87,61f	111,62a	98,35de	95,66e	106,69b	102,44	1,16
Ácido acético								
CF	58,50Abc	47,72Be	56,33B,c	64,50A,ab	57,33A,c	67,45A,a	52,11B,d	1,71
SC	61,20Ab	57,54Abc	66,17A,a	54,74B,c	55,98A,bc	58,35B,bc	58,63A,bc	1,62
Média	59,85b	52,63d	61,25ab	59,62bc	56,66c	62,90a	55,37cd	1,14

¹: Rações contendo cana-de-açúcar fresca (CF) ou silagem de cana-de-açúcar aditivada (SC);
a,b,A,B: Médias seguidas de mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si (P<0,05) pelo teste t de Student.

Tabela 3. Concentração molar dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), pH e concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) no fluido ruminal de vacas alimentadas com rações contendo cana-de-açúcar fresca ou ensilada

Parâmetro	Tratamento ¹		EPM ²	P<
	CF	SC		
Ácidos graxos de cadeia curta (mM)				
Total	96,09	104,21	0,94	0,0313
Ácido acético	57,71	58,94	0,70	0,3521
Ácido propiônico	23,85	26,37	1,44	0,3150
Ácido butírico	15,67	20,17	1,74	0,2011
pH	6,35	6,34	0,12	0,9057
N-NH ₃ (mg dL ⁻¹)	15,05	11,21	4,02	0,3207

¹: Rações contendo cana-de-açúcar fresca (CF) ou silagem de cana-de-açúcar aditivada (SC).

²: EPM - erro padrão da média.

des de C2 são disponibilizadas no rúmen quando a silagem aditivada é consumida pelos animais.

Os valores observados neste estudo para a concentração molar de C2 no fluido ruminal foram se-

melhantes aos obtidos por SCHMIDT (2006) de 60,9 mM no fluido ruminal de bovinos alimentados com silagens de cana-de-açúcar com ou sem aditivos. Concentrações molares de C2 próximas as observadas no presente ensaio são ideais para que ocorra

digestão da celulose pelas bactérias celulolíticas e a fermentação dos carboidratos solúveis pelos microrganismos sacarolíticos (VAN SOEST, 1994).

Neste estudo foram encontrados valores próximos aos relatados por Burgwald-Balstad *et al.* (1995), que observaram concentração de C3 (28,7mM) e C4 (10,4mM) no fluido ruminal de vacas alimentadas com rações contendo feno. Os resultados sugerem a presença majoritária de microrganismos celulolíticos e, não amilolíticos, que teriam como função produzir o acetato, como principal produto da fermentação.

A maior concentração molar dos AGCC foi constatada no fluido ruminal dos animais que receberam silagem de cana-de-açúcar aditivada com *L. buchneri* (104,21mM), sendo que para os animais que se alimentaram de cana-de-açúcar fresca essa concentração total foi de 96,09mM (Tabela 3). As maiores concentrações molares dos AGCC do ambiente ruminal dos animais que consumiram a ração contendo SC se deve provavelmente à elevada proporção dos ácidos orgânicos presentes em volumos conservados, decorrente do consumo dos carboidratos pelas bactérias durante o processo de fermentação do material ensilado.

No trabalho conduzido por SCHMIDT (2006) a maior concentração molar total dos AGCC foi observada no fluido ruminal de animais alimentados com silagem de cana aditivada com uréia (100,8 mM), quando comparado com animais alimentados com silagem de cana aditivada com *L. buchneri* (97,1 mM).

Os produtos intermediários formados a partir da digestão da parede celular são os monossacarídeos, sendo esses as hexoses (glucoses e frutoses) e as pentoses (arabinose e xilose). CULLEN *et al.* (1986), por meio da técnica de digestibilidade *in vitro*, estudaram a relação entre os carboidratos solúveis de vários açúcares, grãos e subprodutos, sobre o abaixamento do pH. Os autores verificaram que o pH é reduzido, principalmente pela fermentação de pentoses provenientes da digestão da hemicelulose e pectina.

O valor médio de pH não foi afetado pelos tratamentos, sendo a média geral de 6,35. Segundo VAN SOEST (1994), este valor não deve exercer influência negativa sobre o crescimento de bactérias

fermentadoras de celulose. Ainda no presente estudo, não foi observada alguma ocorrência de acidoses e/ou laminites, embora os animais tenham consumido grande quantidade de ingredientes concentrados. Visto que, o maior aporte de energia a partir do fornecimento de concentrado contribui para uma rápida fermentação e, conseqüentemente, declínio no pH (RUSSELL, 2002). No entanto, é provável que a ocorrência desse distúrbio metabólico não tenha sido observada devido as rações atenderem os níveis de fibra, para essa categoria animal, ou seja mais que 25 % de FDN de forragem (NRC, 2001).

Este efeito pôde ser confirmado uma vez que o horário de coleta influenciou o pH ruminal de forma significativa (Tabela 3). Como pode ser observado na Tabela 2, a queda do pH ocorreu duas horas após o fornecimento das rações experimentais pela manhã (tempo 2) e a tarde (tempo 12), confirmando o que normalmente ocorre após a ingestão de alimentos (STROBEL e RUSSEL, 1986).

Valores médios observados para as concentrações de N-NH₃ ruminal nos diferentes ambientes ruminais não foram estatisticamente diferentes para os efeitos estudados e apontam variações diurnas entre 5,28 e 18,70mg dL⁻¹, com média de 13,13mg dL⁻¹ (Tabela 2). Estes dados demonstram que as rações fornecidas atenderam a exigência para o crescimento microbiano como descrito por Satter e SLYTTER (1974), de 5 mg de N-NH₃/dL no fluido ruminal como quantidade mínima adequada para promover a máxima síntese microbiana. Contudo, foram inferiores às exigências relatadas por MEHREZ *et al.* (1977), que afirmaram que a atividade fermentativa microbiana ocorre quando o N-NH₃ alcança valores entre 19 e 23mg de N-NH₃/dL de fluido ruminal. PEREIRA *et al.* (2001) também obtiveram maiores concentrações de nitrogênio amoniacal (16,90mg N-NH₃/dL) três horas após alimentar novilhos com dietas constituídas de cana-de-açúcar aditivada com uréia.

De acordo com a Tabela 2, quando o pH ruminal se manteve entre 6,0 e 6,2, ambiente este considerado adequado para o crescimento de bactérias celulolíticas, as concentrações de N-NH₃ foram diminuídas, possivelmente devido à utilização do N ruminal pelas bactérias. As bactérias celulolíticas são as que apresentam preferência pela utilização de N disponível no rúmen (RUSSELL, 2002).

Conforme previsto, as dietas resultaram em

ambientes ruminais diferentes no que se refere à concentração molar média de AGCC, assim como na concentração de AGCC total e de ácido acético de acordo com o horário após a alimentação.

As médias da digestibilidade *in vitro* da MS

(DVIVMS) e da MO (DVIVMO) da cana-de-açúcar fresca (CF), da silagem de cana (SC) e da silagem de milho (SM), incubados em inóculos provenientes de diferentes ambientes ruminais, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica dos volumosos provenientes de diferentes ambientes ruminais

Volumoso ²	Tratamento ¹		ID3 (%)	EPM ⁴
	Cana Fresca	Silagem de Cana		
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca				
CE	52,57bB	66,24aB	13,67	0,916
CF	53,90bB	60,82aC	6,90	0,987
SC	54,54bA	68,36aB	13,82	0,916
SM	62,02bA	71,79aA	9,77	1,100
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica				
CE	54,13bC	67,63aB	13,5	0,939
CF	53,45bC	61,21aC	7,76	1,010
SC	60,38bB	68,64aB	8,26	0,939
SM	62,65bA	71,89aA	9,24	1,130

¹Inóculos provenientes de vacas consumindo ração contendo cana-de-açúcar fresca (CF) ou ensilada (SC); ²Volumosos: CE = capim elefante; CF = cana-de-açúcar fresca; SC = silagem de cana-de-açúcar; SM = silagem de milho. ³ID = Incremento da digestibilidade. ⁴EPM = erro padrão da média. a,b: Médias nas linhas seguidas de mesmas letras minúsculas não diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de médias lsmeans. A,B,C: Médias nas colunas seguidas de mesmas letras maiúsculas não diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de médias lsmeans.

Foram observadas diferenças significativas para a DVIVMS e DVIVMO dos alimentos incubados nos diferentes inóculos ruminais. Os resultados demonstram que as digestibilidades da MS dos volumosos CF, SC e SM foram maiores (60,82; 68,36 e 71,79%, respectivamente) quando incubados no ambiente ruminal resultante do fornecimento de SC aditivada com *L. buchneri* para o animal doador, comparando-se com o ambiente resultante da ração contendo CF (52,57; 53,90; 54,54 e 62,02%). A resposta observada, provavelmente, ocorreu pelo fato de grande parte dos aditivos inoculantes apresentarem em sua composição, a associação de bactérias lácticas e enzimas derivadas de subprodutos microbianos. Estes microrganismos produzem celulasas, hemicelulasas, amilases, glicoamilases e proteases que podem promover a digestão de carboidratos estruturais e não estruturais, produzindo açúcares solúveis utilizados como substratos para a fermentação láctica (PATRIZINI *et al.*, 2004).

Paralelamente, a menor DVIVMS da CF pode ter ocorrido devido à cana-de-açúcar apresentar limitações no ponto de vista nutricional relacionado aos baixos teores de proteína bruta, e alta concentração

de carboidratos provenientes da participação dos concentrados provenientes das rações fornecidas ao animal doador de fluído ruminal. Porém, o valor encontrado para a digestibilidade pode ser considerado intermediário em termos nutricionais.

A digestibilidade (DVIVMS) observada neste trabalho (68,36 %) foi superior à observada por PEDROSO *et al.* (2006) para a silagem de cana aditivada com *L. buchneri* (55,22%), provavelmente devido à diferente fonte de inóculo utilizada para a incubação, uma vez que o referido autor utilizou inóculo proveniente de animal alimentado conforme recomendações de GOERING e VAN SOEST (1970). LOPES *et al.* (2007) observaram valores ainda menores (44,22%) de digestibilidade *in vitro* da MS de silagem de cana sem aditivos, sugerindo efeitos tanto da maturidade quanto da variedade da cana testada. SCHMIDT *et al.* (2004) observaram interação do aditivo e da variedade da cana de açúcar ensilada na DVIV tanto da matéria seca quanto da matéria orgânica.

O desaparecimento da MS da cana-de-açúcar incubada no ambiente SC foi semelhante aos encontrados por ALCANTARA *et al.* (1989), estudando o efeito

do desaparecimento *in situ* da cana-de-açúcar fresca por 24 horas (62,70%).

Conforme esperado, a silagem de milho apresentou os maiores valores de digestibilidade quando comparada aos outros volumosos, independente da fonte de inóculo utilizada. Os valores observados estão próximos aos valores observados por MORAIS *et al.* (1996), que utilizou fonte de inóculo tradicional. Com a utilização do inóculo SC, foram observados aumentos significativos na DVIVMS de 6,90; 13,83 e 9,77% para a CF, SC e SM, respectivamente, quando comparado com o inóculo CF (Tabela 4).

O mesmo comportamento foi observado para a DVIVMO, sendo encontrados maiores valores para CF, SC e SM (61,21; 68,64 e 71,89%, respectivamente) quando incubados no inóculo contendo SC comparados aos valores observados com o inóculo CF (53,45; 60,38 e 62,65%).

A DVIVMO da CF incubada no inóculo resultante do conteúdo ruminal dos animais que se alimentaram de SC, foi superior ao observado por Campos *et al.* (2005) que avaliaram a DVIVMO da cana-de-açúcar combinadas com doses crescentes de sacarose, utilizando-se inóculo padrão. Todavia, quando a CF foi incubada no inóculo CF, os valores para a DVIVMO se assemelham com os dados da literatura. É provável, que as menores digestibilidades encontradas para os alimentos incubados no ambiente ruminal proveniente de animais alimentados com cana fresca, esteja relacionado com a menor concentração de ácidos orgânicos uma vez que estes são considerados precursores de energia para microrganismos ruminais.

No entanto, quando a digestibilidade da MO da silagem de cana foi avaliada em cada um dos inóculos, foram observados valores superiores aos observados por SCHMIDT *et al.* (2003), sendo observado valor de 60,38% e 68,64% para os ambientes ruminais resultantes das dietas contendo cana fresca e silagem de cana, respectivamente. Os resultados encontrados para a SC demonstram que, independentemente do inóculo utilizado, os valores para a DVIVMO foram superestimados, quando comparados a dados de literatura onde se utilizou o inóculo seguindo recomendações de VAN SOEST (1967).

A digestibilidade verdadeira *in vitro* da SM, quando incubada no inóculo de vacas recebendo

dieta contendo SC (71,89%), foi semelhante ao valor da digestibilidade *in vivo* observado por PINTO *et al.* (1999) de 72,99%. Embora críticas sejam feitas quando esses métodos são comparados, vale ressaltar que o objetivo das duas técnicas é avaliar a digestibilidade total dos alimentos ao longo do trato gastrointestinal.

Houve um incremento positivo na DVIVMO quando os alimentos foram incubados no ambiente SC, sendo eles de 7,76; 8,26 e 9,24 % para o CF, SC e SM, respectivamente. Esse comportamento deve ter ocorrido pelas mesmas razões já discutidas para a DVIVMS.

CONCLUSÕES

O fornecimento de diferentes volumosos pode afetar o ambiente ruminal, principalmente no que se refere a concentração de ácidos graxos de cadeia curta de acordo com tempo após a alimentação. De modo geral, o inóculo ruminal resultante do fornecimento de rações contendo silagem de cana aumentou a digestibilidade dos alimentos estudados.

As digestibilidades verdadeira *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica não devem ser determinadas utilizando-se diferentes inóculos uma vez que pode haver super ou subestimativas dos valores em relação à metodologia tradicional com o fornecimento de feno ao animal doador.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, E. et al. Fermentation and utilization by lambs of sugarcane harvested fresh and ensiled with and without NaOH. **Animal Feed Science and Technology**, v. 23, n. 4, p. 323-331, 1989.
- BURGWALD-BALSTAD, L.A. et al. Influence of forage level and naloxone injection on feed intake, digestion, and plasma hormone and metabolite concentrations in dairy heifers. **Journal of Animal Science**, v.73, n. 9, p. 2677-2686, 1995.
- CAMPOS, F.P. et al. Doses e fontes de açúcares solúveis sobre a digestão *in vitro* da cana-de-açúcar e dos monossacarídeos da parede celular. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais/CD-ROM ...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005.
- CAMPOS, F.P. et al. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2004. 135 p.

- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, n.2, p.130-137, 1962.
- CHERNEY, D.J.R. et al. Forage *in vitro* dry matter digestibility as influenced by fiber source in the donor cow diet. **Journal of Animal Science**, v. 71, n.5, p. 1335-1338, 1993.
- CULLEN, A.J. et al. *In vitro* fermentation of sugars, grains, and by-product feeds in relation to initiation of ruminal lactate production. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.10, p. 2616-2621, 1986.
- GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. **Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some applications**. Washington: ARS, 1970. 112 p.
- LOPES, J. et al. Valor nutricional da silagem de cana-de-açúcar acrescida de uréia e aditivos absorventes de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.1155-1161, 2007 (supl.).
- MCDONALD, P. et al. **The biochemistry of silage**. 2. ed. Merlow: Chalcomb Publishing., 1991. 340 p.
- MEHREZ, A.Z. et al. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, v. 38, n. 3, p. 437-443, 1977.
- MORAIS, J.P.G. et al. Efeito de inoculante bacteriano em silagem de milho quanto à digestibilidade *in vivo* e fermentação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. **Anais ...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996a. p. 428.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington: National Academic of Sciences, 2001. 381 p.
- PATRIZINI, W.L. et al. 2004. Efeito de aditivos biológicos comerciais na silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 392-397, 2004.
- PEDROSO, A.F. et al. Performance of Holstein heifers fed sugarcane silages treated with urea, sodium benzoate or *Lactobacillus buchneri*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.4, p.649-654, 2006.
- PEREIRA, E.S. et al. Fontes nitrogenadas e uso de *Sacharomyces cerevisiae* em dietas à base de cana-de-açúcar para novilhos: consumo, digestibilidade, balanço nitrogenado e parâmetros ruminiais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 2, p. 563-572, 2001.
- PINTO, J.C. et al. Valor nutritivo das silagens de capim-sudão, milheto, teosinto e milho. 1 - Consumo e digestibilidade aparente. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 4, p. 980-986, 1999.
- RUSSEL, J.B. **Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition**. Ithaca: Cornell University, 2002. 119 p.
- SAS INSTITUTE. **The SAS system for windows: release 8.01**. Cary: North Caroline, 2000.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v. 32, n. 2, p. 199-208, 1974.
- SCHMIDT, P. et al. Produtividade, composição morfológica, e perdas no processo de ensilagem de duas variedades de cana-de-açúcar, com e sem adição de uréia. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004.
- SCHMIDT, P. et al. Consumo e digestibilidade de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e microbianos, In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais/CD-ROM ...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003.
- SCHMIDT, P. **Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar**. 2006. 228 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos biológicos**. 2.ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária, 2002. 265 p.
- STROBEL, H.J.; RUSSEL, J.B. Effects of pH and energy spilling on bacteria protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 2941, 1986.
- TILLEY, J.M.; TERRY, R.A. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of British Grassland Society**, v. 18, n. 2, p. 104-111, 1963.
- VAN SOEST, P.J. Development of comprehensive system of feed analyses and application to forages. **Journal of Animal Science**, v. 26, p. 119-131, 1967.
- VAN SOEST, P.J. Integrated feeding systems. In: **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. p. 140-155.