

REVISTA

CERES

Março a Abril de 1968

VOL. XIV

N.º 82

Viçosa — Minas Gerais

UNIVERSIDADE RURAL DO ESTADO DE MINAS GERAIS

**A TÉCNICA DO RÚMEN ARTIFICIAL NA ESTIMATIVA
DA DIGESTIBILIDADE APARENTE DE FORRAGEIRAS**

TROPICais*

Margarida M. Carvalho
J. A. Gomide
J. F. Coelho da Silva**

I. INTRODUÇÃO

A exploração da pecuária de corte e de leite, em diversos países de clima temperado, e principalmente naqueles de clima tropical, fundamenta-se na produção de forragens volumosas, como principal fonte para a alimentação do gado. O preço relativamente elevado das rações concentradas, em comparação com o custo de produção de pastagens, fenos e silagem é, provavelmente, uma das razões mais sérias para esta preferência por parte dos criadores. As áreas destinadas à produção desses volumosos, representam, portanto, um grande potencial econômico, cujo rendimento apropriado está na

* Trabalho financiado pelo Instituto de Pesquisas - IRI e apresentado pelo primeiro autor como tese, à Escola de Pós-Graduação da UREMG, como parte das exigências para obtenção do grau de M. S.

Recebido para publicação em 2/5/967.

**Respectivamente, Técnico do IPEACO, Prof. Adjunto em Nutrição Animal e Auxiliar de Pesquisa em Nutrição Animal, Instituto de Zootecnia da ESA.

dependência de diversos fatores entre os quais pode ser certamente mencionada como de primeira ordem, a escolha adequada das espécies forrageiras a serem utilizadas. Por outro lado, a indicação de uma forrageira para preencher tal finalidade, envolve uma série de requisitos tais como: produtividade, facilidade de multiplicação, resistência à seca, aspecto qualitativo e diversos outros fatores. Apesar da influência de cada um desses fatores no êxito de uma exploração pecuária, o aspecto qualitativo da forragem pode ser considerado como um dos mais importantes, uma vez que permitirá um maior rendimento de carne, leite ou lâ por animal.

O aspecto qualitativo de uma forrageira é, basicamente, uma função do seu valor nutritivo e da taxa de consumo voluntário. O valor nutritivo, embora esteja relacionado com a composição química da forragem, depende mais estreitamente da digestibilidade de seus componentes químicos. A taxa de consumo é, também, um aspecto de grande importância, quando se considera a qualidade de uma forragem, e pode tornar-se fator limitante mesmo que o valor nutritivo seja satisfatório.

A determinação da digestibilidade de plantas forrageiras, através de ensaios de alimentação com animais, tem sido o método convencional para a avaliação do seu valor nutritivo. Esse método, apesar de ser o mais aceito, apresenta algumas desvantagens que limitam, consequentemente, o seu uso. Entre estas pode-se incluir a exigência de um certo número de animais que, devendo ser alimentados durante um determinado período, necessitam de uma quantidade considerável de forragem. Torna-se portanto um processo oneroso e de execução demorada. Em vista disto, diversos estudiosos preocuparam-se em estabelecer um método mais simples e de aplicação mais ampla. Surgiram então o método dos indicadores (13), o método do índice fecal (17), e alguns métodos de laboratório, tais como: fermentação "in vitro" da celulose e matéria seca, solubilidade da celulose em diamino cuprietíleno (11), solubilidade da matéria seca da forragem em 1,0 N H_2SO_4 (11), e a técnica do saco de nylon (16). A digestibilidade de forrageiras "in vivo", tem sido frequentemente utilizada para testar a viabilidade desses métodos, na avaliação da digestibilidade aparente (11, 16, 18).

Os métodos de laboratório, dada a sua facilidade de execução, no que se refere ao tempo e à quantidade de forragem exigida, apresentam especial interesse em trabalhos de melhoramento de plantas forrageiras, considerando-se que, nes-

te caso, as parcelas experimentais dificilmente fornecem forragem suficiente para permitir a utilização do método convencional. Apresentam ainda importância notável os métodos de laboratório, nas avaliações preliminares do valor nutritivo de forrageiras introduzidas. Apesar disso, o estabelecimento de um método padrão de laboratório, ainda constitue um dos sérios problemas das pesquisas com forrageiras.

O primeiro relato da técnica "in vitro", para determinação quantitativa da digestibilidade de forrageiras, foi feito por PIGDEN e BELL (21), que encontraram boa correlação entre a fermentação "in vitro" de carbohidrato, determinado pelo método de antrona, e a digestibilidade "in vivo" da matéria orgânica. A partir de então, notável interesse tem despertado a técnica do rúmen artificial sendo numerosas as pesquisas já realizadas sobre o seu uso, na estimativa da digestibilidade aparente de plantas forrageiras, suas possíveis aplicações e os diversos fatores que podem contribuir para a sua precisão. Vale ressaltar que, embora tentativas tenham sido feitas (2, 5) no sentido de desenvolver e simplificar a técnica de fermentação "in vitro", um método padrão ainda não foi estabelecido.

A técnica de fermentação "in vitro", pode ser também utilizada na estimativa de outros aspectos do valor qualitativo da forrageira, tais como: consumo voluntário e índice de valor nutritivo. DONEFER *et alii* (12) correlacionaram a digestão "in vitro" da celulose durante 12 e 24 horas de fermentação, com os dados de consumo relativo, digestibilidade da energia e índice de valor nutritivo obtidos em um ensaio convencional com carneiros, e concluíram que o índice de valor nutritivo de gramineas e leguminosas pode ser determinado pela digestão "in vitro" da celulose durante 12 horas de fermentação.

Diversos autores, em trabalhos realizados em países de clima temperado (25, 30), têm relatado uma correlação estreita entre os valores da digestibilidade "in vivo" e "in vitro". Entretanto a falta de pesquisas semelhantes, utilizando forrageiras tropicais, impede confirmar tais resultados.

Um fator de grande importância, na técnica do rúmen artificial, é o tempo de fermentação. Alguns trabalhos efetuados (14, 18), com a finalidade de determinar o tempo de fermentação "in vitro" que apresentasse um grau de digestão mais aproximado da digestão "in vivo", têm indicado períodos de fermentação diferentes, geralmente 24 e 48 horas, em condições de clima temperado. Também neste caso, não existem trabalhos, com forrageiras tropicais, que possam indicar o tempo de fer-

mentação a ser adotado em nossas condições.

O presente estudo foi executado visando investigar a validade da técnica de fermentação „in vitro“, na estimativa da digestibilidade de três forrageiras tropicais. Apresenta três principais objetivos:

- 1 - determinar o período de fermentação „in vitro“, mais indicado para as forrageiras tropicais;
- 2 - verificar a precisão da técnica adotada;
- 3 - estabelecer a correlação entre os valores da digestibilidade „in vitro“ e os dados obtidos em um ensaio „in vivo“, com carneiros.

2. REVISÃO DE LITERATURA

BARNES (3) classificou os erros a que estão sujeitos os métodos de determinação da digestibilidade „in vitro“, em duas categorias: os „erros ao acaso“, que contribuem para a falta de precisão dos resultados das técnicas „in vitro“ e os „erros de vícios“, que se referem à deficiência dos resultados „in vitro“ para estimar a digestibilidade aparente das forrageiras. Os erros ao acaso, por sua vez, estão associados à variação que ocorre dentro e entre ensaios, e são expressos pelo erro padrão. HERSHBERGER *et alii* (14) verificaram que o coeficiente de variação e erro padrão entre determinações para digestão da celulose „in vitro“ de 35 amostras de plantas forrageiras, foram respectivamente 2,19 e $\pm 1,30\%$. Observaram ainda que os erros padrão, dentro de ensaio para a digestão da celulose „in vivo“ e „in vitro“, eram bastante aproximados, e da ordem de $\pm 1,44$ e $\pm 1,3\%$, respectivamente. BAUMGARDT e HILL (4) encontraram coeficientes de variação dentro de ensaios, menores que 2%. TILLEY *et alii* (30), estudando a variação da digestibilidade „in vitro“ da matéria seca, encontraram um erro padrão, dentro de ensaio, de $\pm 1,3\%$, quando utilizaram apenas a fermentação com liquor de rúmen, durante 48 horas, e um erro padrão de $\pm 0,9\%$, quando utilizaram uma fermentação adicional, com pepsina, em mais 48 horas.

A variação entre ensaios parece estar associada com a variação na atividade dos microorganismos do fluido de rúmen, que pode ocorrer de dia para dia. Fator que pode determinar uma certa variação no fluido de rúmen é a natureza da dieta fornecida ao animal doador. Foi observada (25, 26) uma tendência para a digestibilidade da celulose ou matéria seca a-

presentar-se ligeiramente mais alta, quando o fluido de rúmen era obtido de animais alimentados com feno, do que de animais que recebiam capim verde.

Não foi verificada diferença no coeficiente de digestibilidade da celulose, com fluido de rúmen fornecido por bovino ou carneiro (18). TILLEY et alii (30) observaram um erro padrão entre ensaios que variou de $\pm 2,0$ a $\pm 2,8\%$, quando foram utilizados fluidos de rúmen de diferentes dias e provenientes de carneiros submetidos a dietas diferentes, segundo os dois estágios de fermentação considerados, ou seja, com liquor de rúmen e liquor de rúmen mais pepsina. BAUMGARDT et alii (7) relataram um erro padrão entre ensaios de $\pm 1,02\%$ para um substrato de farinha de alfafa.

Numa tentativa de corrigir a variabilidade entre repetições, diversos pesquisadores (7, 25, 31) têm adotado uma amostra padrão de digestibilidade "in vivo" e "in vitro" conhecidas, a qual é incluída em todas as séries de repetições efetuadas. Qualquer variação mais pronunciada no coeficiente de digestibilidade da amostra padrão indica que os resultados devem ser corrigidos de acordo com a variação média da amostra padrão ou então abandonados.

A duração do período de fermentação é um fator da técnica de fermentação "in vitro", que tem variado de um laboratório para outro. Segundo JOHNSON (15), o tempo de fermentação está inteiramente em função dos objetivos do estudo, devendo ser considerado o nível do substrato utilizado. Os carboidratos solúveis têm a sua digestão completada dentro de 1 a 2 horas após o início da fermentação. HERSHBERGER et alii (14) observaram que, no início da digestão da celulose, há um período de retardamento, seguido de uma rápida elevação no grau de fermentação, no período de 6 a 18 horas, diminuindo em seguida de modo a apresentar, entre 24 e 48 horas, um aumento de apenas 5-10%. Eles são de opinião que o período de 24 horas parece mais aproximado às condições encontradas no rúmen, pois a população bacteriana tende a modificação quando submetida a um período de fermentação muito longo. Outros pesquisadores (18, 22), testando diversos períodos de fermentação, concluiram que o período de 48 horas fornece coeficientes de digestibilidade mais aproximados dos determinados "in vivo".

O período de fermentação parece associado ao elemento "in vivo", que se pretende avaliar através dos dados de digestibilidade "in vitro". DONEFER et alii (12) encontraram boas correlações entre digestibilidade "in vitro" da celulose por 12

horas e consumo relativo, e entre digestibilidade "in vitro" da celulose por 24 horas e digestibilidade da energia. Eles concluíram que o índice de valor nutritivo de uma forragem pode ser estimado através da digestibilidade "in vitro" da celulose por um período de 12 horas de fermentação. Esse resultado foi parcialmente confirmado por REID *et alii* (25) que observaram uma correlação altamente significativa, entre a digestibilidade "in vitro" da celulose, o consumo voluntário e índice de valor nutritivo, mas os autores acrescentaram que essa relação parece independente do período de fermentação "in vitro". Não houve portanto, nas condições do estudo, vantagem aparente para o uso específico de qualquer período de fermentação, na estimativa do consumo relativo e índice de valor nutritivo.

Os dados referentes à digestibilidade "in vitro" da celulose e matéria seca têm sido correlacionados com as mais diversas medições "in vivo", visando observar até que ponto os fatores determinantes do valor nutritivo podem ser estimados através da técnica de fermentação "in vitro". WALKER (31), estudando a digestão "in vitro" da matéria seca de fenos de gramíneas, encontrou coeficientes de digestibilidade comparáveis aos obtidos "in vivo" com carneiros. REID *et alii* (24), estudando a digestibilidade de pastos mistos, encontraram correlações altamente significativas entre as digestibilidades "in vivo" e "in vitro" de celulose, fibra, energia e proteína. Trabalhos efetuados por TILLEY *et alii* (30) demonstraram que o uso da digestão secundária com a enzima proteolítica, pepsina, concorreu para aproximar os valores da digestibilidade "in vitro" da matéria seca dos resultados obtidos "in vivo". Observam ainda que os maiores aumentos no coeficiente de digestibilidade "in vitro", foram verificados nas amostras que tinham os maiores conteúdos de proteína bruta. Isto porque, uma boa parte da proteína da amostra não é digerida apenas pela fermentação com líquor de rúmen e que, para maior acurada determinação da digestibilidade da matéria seca, faz-se necessário proceder a uma digestão secundária, com pepsina. Eles encontraram, em dois experimentos separados, uma correlação igual a 0,89 quando usaram somente o líquor de rúmen, e a 0,98 para o caso da digestão adicional com pepsina. SIMKINS e BAUMGARDT (28), testando a eficácia de várias técnicas de laboratório, para prever a digestibilidade "in vivo" da matéria seca da silagem, observaram que não houve correlações significativas quando foi considerada a digestão "in vitro" da maté-

ria seca. No entanto, a digestão "in vitro" da celulose apresentou correlação significativa com a digestão "in vivo" da matéria seca.

REID *et alii* (26) encontraram correlações para a digestibilidade "in vivo" e "in vitro" da matéria seca, que variaram de 0,81 a 0,85, quando utilizaram amostras no estado natural, liofilizada e seca na estufa. As correlações entre a digestibilidade da celulose "in vitro" e da matéria seca "in vivo" foram também significativas e variaram de 0,77 a 0,93 quando foram usados os substratos nos 3 estados referidos acima. Sugeriram que, para a estimativa da digestibilidade "in vivo" da matéria seca, tanto a digestibilidade "in vitro" da celulose como da matéria seca parecem ser igualmente efetivas. Em outro estudo, REID *et alii* (25) relacionaram os coeficientes de digestibilidade "in vivo" com os coeficientes "in vitro" medidos a 36 horas de fermentação e obtiveram as seguintes correlações: para matéria seca digestível "in vivo" e "in vitro", 0,97 e 0,91, respectivamente, quando usaram fluido de rúmen proveniente de carneiros alimentados com capim-sudão e feno-de-timóteo e $r = 0,99$ para as relações matéria seca digestível "in vivo" e para celulose digestível "in vivo" e "in vitro", com os dois tipos de líquor de rúmen oriundos da dietas referidas acima.

HERSHBERGER *et alii* (14), comparando a digestibilidade da celulose de 35 forrageiras, observaram um coeficiente de correlação de 0,97 entre a digestão "in vivo" e "in vitro" da celulose. LE FEVRE E KAMSTRA (18) verificaram que houve uma redução no coeficiente de correlação da digestibilidade "in vivo" e "in vitro" da celulose, de 0,84 para 0,40, quando foram incluídas rações que tinham sido submetidas a longo período de armazenamento antes do ensaio "in vitro".

BAUMGARDT *et alii* (7) estabeleceram uma equação de regressão entre a digestibilidade "in vivo" da matéria seca e a digestão "in vitro" da celulose e encontraram uma correlação igual a 0,77.

A estimativa da digestibilidade aparente da forragem a partir dos dados "in vitro", é obtida através de uma equação de regressão cujo valor está na dependência da magnitude do erro padrão apresentado. Raymond, citado por BARNES (3), julga que uma equação de regressão para ter uso prático, deveria ser capaz de estimar a digestibilidade aparente, dentro de um erro padrão não superior a 2 unidades de digestibilidade. Entretanto, diversos valores de erro padrão, encontrados na literatura, apresentam-se superiores a esse limite. TILLEY

et alii (30) relataram alguns erros padrão que variaram de 1,96 a 4,43%, sendo os valores mais baixos obtidos de ensaios nos quais foi feita uma digestão secundária com pepsina. Outros autores (7, 14) relatam uma variação de 3,41 a 2,05%.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de três gramíneas tropicais de pastoreio capim-pangola (Digitaria pentzii Stent); capim-gordura (Melinis minutiflora Beauv.) e capim-sempre-verde (Panicum maximum var. gongylodes, Jacq.) de digestibilidade "in vivo" conhecida, foram utilizadas, como substrato, para a determinação da digestibilidade da celulose e matéria seca, por meio da técnica de fermentação "in vitro".

3.1. Ensaio de digestibilidade "in vivo"

A digestibilidade "in vivo" de cada uma dessas forrageiras foi determinada através de um ensaio de alimentação com carneiros, em gaiolas de metabolismo, o qual consistiu de quatro períodos de coleta de 16 dias, envolvendo quatro diferentes estádios de maturação. Antes do início do estudo toda a área de pastagem destinada ao ensaio sofreu um corte geral, sendo que o primeiro período de coleta foi iniciado dois meses depois. Os períodos subsequentes foram realizados com intervalos sucessivos de dois meses, de tal forma que no quarto período a forragem apresentava oito meses de idade. A forragem fornecida diariamente aos carneiros, em quantidades conhecidas, era previamente picada, e feita a amostragem para as análises de laboratório. Igualmente pesava-se o total de fezes excretadas diariamente e, após devidamente homogeneizada, retirava-se uma amostra correspondente a 10% do total excretado por cada carneiro. O resíduo de forragem rejeitada pelos animais era acumulado a cada dois dias, sendo então pesado e feita a amostragem. As amostras eram, em seguida, levadas ao laboratório, em saco plástico e submetidas a pré-secagem. Posteriormente, a forragem picada e seca era passada em moedor com peneira de 40 "mesh" e imediatamente guardada em frascos de vidro com tampa de polietileno. Fizeram-se então para cada amostra, determinações de matéria seca, celulose e cinzas a fim de determinar a digestibilidade aparente da matéria seca, da celulose e da matéria orgânica de cada forrageira, nas quatro idades consideradas.

Para as determinações de matéria seca, adotou-se o método de LENKEIT e BECKER (19), e para as análises de celulose e cinza, os métodos de CRAMPTON e MAYNARD (10) e AOAC (1), respectivamente. Foram feitas duas determinações por amostra. O cálculo da percentagem de matéria orgânica foi feito subtraindo de 100 o teor de cinza da matéria seca.

Os teores de matéria seca das amostras, assim como os teores de matéria orgânica e celulose na matéria seca das amostras estudadas são apresentados no quadro 1.

QUADRO 1 - Teor de matéria seca, dos capins e teores de matéria orgânica e celulose na matéria seca das amostras usadas como substrato para a fermentação "in vitro".

Forragens	Idade (meses)	Materia seca %	Materia orgânica %	Celulose %
Capim-Gordura	2	24,6	92,6	34,2
" "	4	35,0	92,8	36,8
" "	6	33,4	93,2	38,2
" "	8	49,8	94,9	40,8
Capim-Pangola	2	21,6	92,8	36,3
" "	4	30,2	93,3	37,4
" "	6	38,5	93,6	36,2
" "	8	46,2	94,5	37,2
Capim-S. -Verde	2	20,0	89,7	40,4
" " "	4	34,8	91,8	39,6
" " "	6	36,5	93,5	40,2
" " "	8	39,4	92,5	41,7

3.2. Ensaio de digestibilidade "in vitro"

3.2.1. Substrato

No ensaio "in vitro" foram utilizadas, como substrato, amostras dos capins gordura, pangola e sempre-verde, nas idades de 2, 4, 6 e 8 meses. Este material foi selecionado entre as amostras das forragens coletadas no ensaio com carneiros. O critério de seleção dessas amostras, baseou-se na digestibilidade "in vivo" da matéria seca, sendo escolhidas para as análises do presente trabalho, as amostras cujo coeficiente de di-

gestibilidade apresentava maior aproximação da digestibilidade média de cada período. Cada amostra, por sua vez, representam a forragem fornecida em dois dias consecutivos.

3. 2. 2. Coleta de fluido de rúmen

O fluido de rúmen foi obtido de um novilho Nelore, rúmen fistulado (Figuras 1 e 2) com idade aproximada de 18 meses, e peso médio 260 kg, o qual recebeu silagem de milho, sal e farinha de ossos à vontade, durante período experimental. A coleta de fluido de rúmen era sempre feita pela manhã, ficando o animal em jejum durante um período de 18 a 20 horas. O fluido de rúmen foi obtido por succão através de um tubo de plástico, e recebido diretamente em um kitazato mantido em água morna (40°C). Do kitazato era o fluido de rúmen transferido para uma garrafa térmica pré-aquecida a uma temperatura de 45°C . Em seguida, era levado ao laboratório, e submetido a filtração em gaze com 8 dobras.

3. 2. 3. Solução nutritiva tampão

Utilizou-se a saliva artificial de McDougall (20), com os seguintes componentes em gramas por litro: Na H CO₃, 9,80; Na₂HPO₄, 3,71; KC₁, 0,57; Na Cl, 0,47; Mg SO₄. 7 H₂O, 0,12 e Ca Cl₂, 0,04. Soluções a 5,5% de glucose e uréia, foram adicionadas a um volume definido da solução tampão de Mc Dougall, a fim de obter uma solução tampão nutritiva, contendo 0,1% de glucose e de uréia. Esta solução foi em seguida gasificada com CO₂, até aproximar o seu pH de 6,9.

3. 2. 4. Técnica do rumen artificial

Em tubos de centrífuga, previamente tarados, uma grama de amostra pré-séca moida, foi seca em estufa de 100°C , esfriada em dessecador e pesada. Em cada tubo foram adicionados 25 ml de solução nutritiva tampão e 25 ml de fluido de rúmen, através de uma máquina automática de pipetar. O fluido de rúmen ao ser pipetado, era mantido continuamente em movimento, por meio de um agitador magnético. Logo em seguida, todos os tubos eram gasificados com CO₂, e imediatamente tampados com uma rôlha de borracha equipada com válvula de de Bunsen (Figuras 3 e 4), sendo então deixados a fermentar durante 48 horas, a 39°C . No final do período de fermentação,

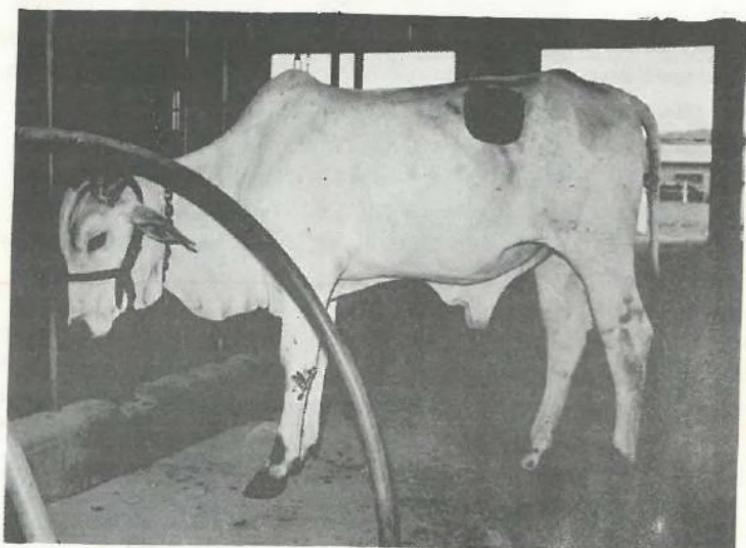


FIGURA 1 - Novilho Nelore, rúmen fistulado

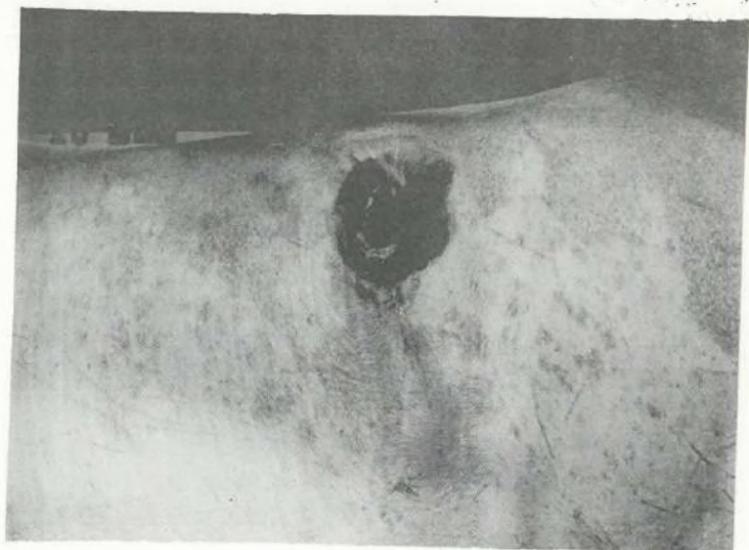


FIGURA 2 - Detalhe da fistula

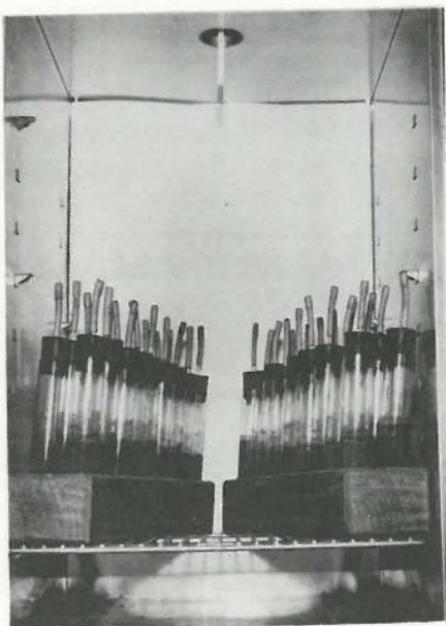


FIGURA 3 - Aspecto da fermentação "in vitro" em incubadeira a 39°C.

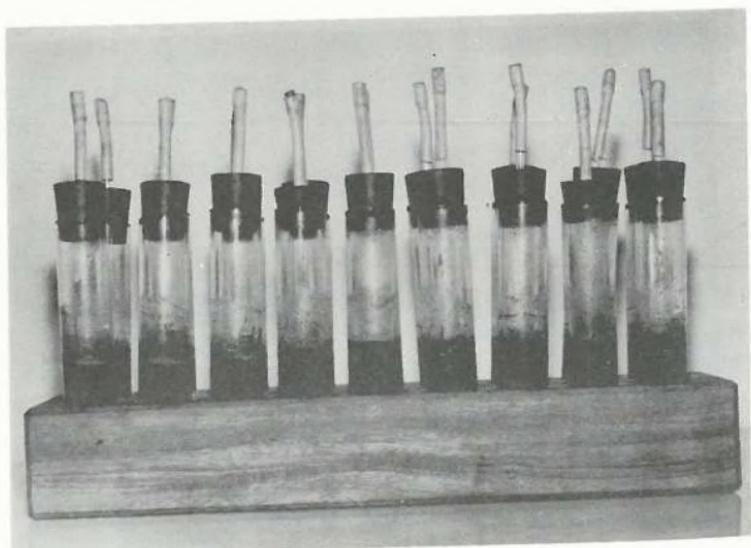


FIGURA 4 - Tubos de fermentação "in vitro", equipados com válvula de Bunsen.

a atividade microbiana foi interrompida pela adição de 1 ml de ácido sulfúrico 4N em cada tubo. Os tubos foram, em seguida, submetidos a 2 cetrifugações durante 10 minutos a 2.500 rpm, retirando-se o líquido sobrenadante depois de cada centrifugação. O resíduo obtido, após a fermentação, foi seco em estufa a 100°C, esfriado em dessecador, pesado, e a celulose residual analisada no próprio tubo.

3.3. Estudo da curva de fermentação

A curva de fermentação foi determinada em um ensaio preliminar, por meio de uma forragem índice, utilizando-se para este fim o capim-guatemala (*Tripsacum fasciculatum* Trin.), com dois meses de idade. O ensaio constou de quatro repetições de fermentação "in vitro", com os seguintes tratamentos: tubos com e sem amostra, fermentados por períodos de 24, 36 e 48 horas. Ao mesmo tempo que se procurou verificar operíodo de fermentação mais adequado para a determinação da digestibilidade "in vitro" de forrageiras tropicais, a digestibilidade média da forragem índice foi também examinada.

Estabelecida a curva de fermentação, adotou-se o tempo de 48 horas, para a fermentação das amostras de digestibilidade "in vivo", conhecida a qual obedeceu a um esquema experimental de blocos ao acaso, envolvendo doze tratamentos (3 espécies x 4 idades), 3 repetições e 3 determinações por tratamento. Em cada repetição foram incluídos ainda 3 controles e 3 sub-amostras da forragem índice. Esta foi incluída, com o objetivo de fornecer uma referência para qualquer variação mais acentuada que ocorresse no ensaio. Os tubos de controle, contendo apenas fluido de rúmen e solução nutritiva tam-pão, permitiram a avaliação do total de celulose e matéria seca não fermentada, proveniente da adição do fluido de rúmen em cada tubo. Para os cálculos da digestibilidade "in vitro" de matéria seca e celulose, o resíduo não fermentado foi subtraído destes valores, de acordo com as fórmulas (23):

$$D \text{ Cel.} = \frac{\text{Cel. na Amostra} - (\text{cel. residual-cel. do fluido de rúmen})}{\text{Celulose na Amostra}}$$

$$D \text{ M. S.} = \frac{\text{M. S. na Amostra} - (\text{M. S. residual} - \text{M. S. do fluido de rúmen})}{\text{M. S. na Amostra}}$$

D = digestibilidade

Cel. = celulose

M. S. = matéria seca

3. 4. Correlação entre as digestibilidade „in vivo“ e „in vitro“

Para verificar a possibilidade de se estimar a digestibilidade „in vivo“ da matéria seca, matéria orgânica e celulose, através dos valores „in vitro“ para matéria seca e celulose, os dados disponíveis foram submetidos às análises de regressão e correlação.

4. RESULTADOS

4. 1. Duração de tempo de fermentação

O efeito do tempo de fermentação sobre a digestibilidade „in vitro“ da matéria seca e celulose do capim-guatemala é apresentado no quadro 2 e figuras 5 e 6. No mesmo quadro encontram-se as médias das determinações nas quatro repetições, para matéria seca e para celulose, em cada período de fermentação.

Os quadros 3 e 4 mostram as análises de variância da digestibilidade da matéria seca e da celulose, respectivamente.

4. 2. Estudo da precisão do método de fermentação „in vitro“

No quadro 5 estão contidos os coeficientes de digestibilidade „in vitro“ da matéria seca, obtidos nas determinações efetuadas com os capins gordura, pangola e sempre-verde, em quatro diferentes estádios de maturação. Verificou-se no decorrer das análises, uma perda de quatro determinações. Em vista disso, a análise de variância (Quadro 6) seguiu o método para o número de subclasses desproporcionais, segundo SNEDECOR (29).

A figura 7 mostra, graficamente, o decréscimo verificado na digestibilidade „in vitro“ da matéria seca, para as três forrageiras estudadas, durante os quatro estádios de maturação considerados. Os coeficientes de digestibilidade „in vitro“ da celulose, bem como as médias das determinações nas três repetições, aparecem no quadro 7. A análise de variância, que seguiu o mesmo esquema anterior, é apresentada no quadro 8.

Os coeficientes da digestibilidade „in vitro“ da celulose das três gramíneas, nos quatro estádios de maturação, são mostrados graficamente na figura 8.

QUADRO 2 - Efeito do tempo de fermentação sobre a digestibilidade "in vitro" da matéria seca e da celulose da forragem índice (capim-guatemala aos 2 meses de idade)

Repetições	TEMPO DE FERMENTAÇÃO EM HORAS					
	24	36	48	M. S. %	Celulose %	M. S. %
				Celulose %	Celulose %	
I	41, 5-44, 4-45, 5	44, 6-49, 3-49, 7	51, 5-52, 4-50, 6	58, 0-58, 5-58, 5	54, 4-55, 0-56, 2	62, 8-62, 4-63, 3
II	39, 8-39, 9-40, 0	44, 8-45, 0-47, 8	47, 5-	-44, 9	60, 3-	-57, 9
III	41, 2-38, 7-39, 5	49, 3-49, 8-50, 2	49, 4-46, 2-47, 8	62, 5-63, 5-62, 7	51, 4-53, 5-52, 5	66, 5-68, 2-66, 7
IV	27, 1-29, 5-33, 1	16, 8-19, 1-35, 4	47, 5-46, 8-47, 7	56, 1-57, 6-62, 0	51, 9-53, 0-52, 8	64, 7-67, 9-64, 0
Médias	38, 3	41, 8	48, 2	59, 7	52, 1	65, 5

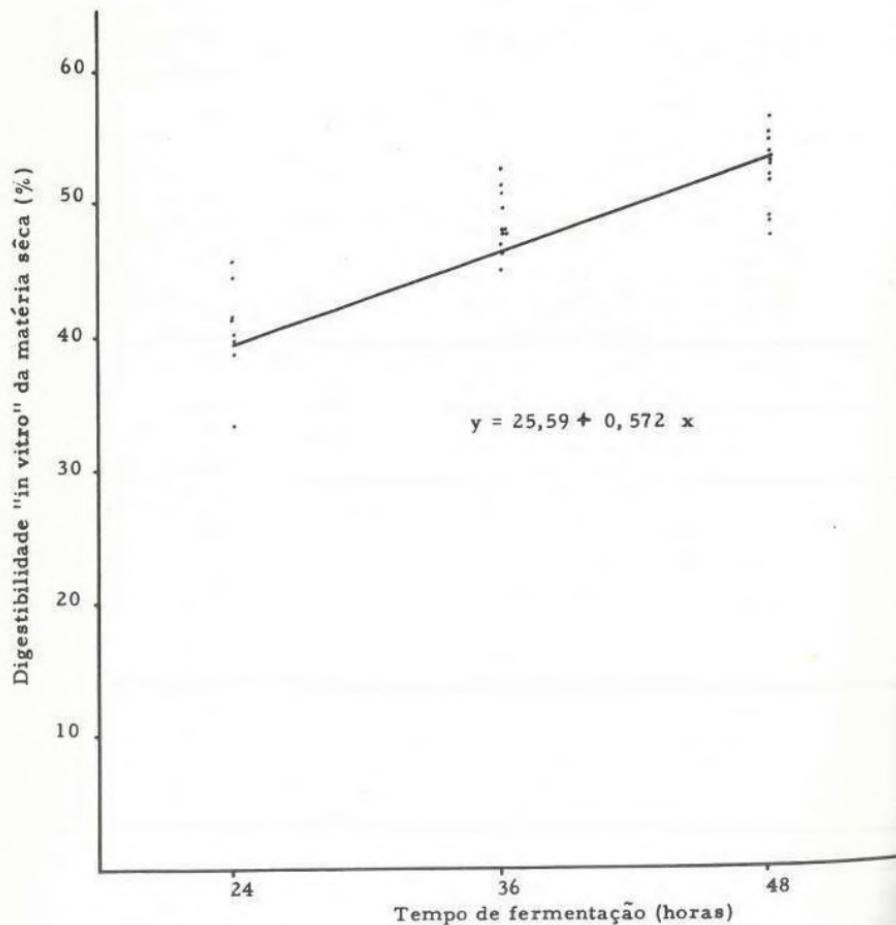


FIGURA 5 - Efeito de tempo de fermentação sobre a digestibilidade "in vitro" da matéria seca da forragem índice.

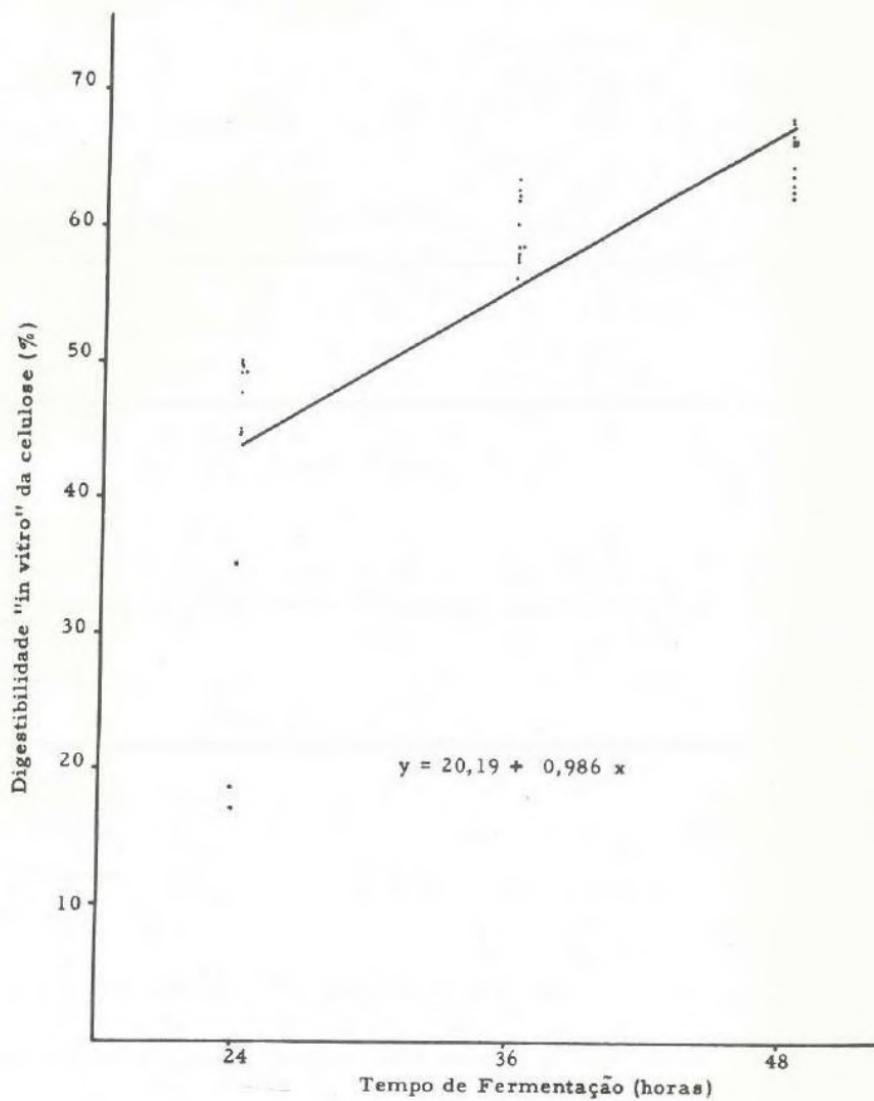


FIGURA 6 - Efeito do tempo de fermentação sobre a digestibilidade "in vitro" da celulose da forragem índice.

QUADRO 3 - Análise de variância da digestibilidade "in vitro", da matéria seca da forragem índice (capim-guatemala aos 2 meses de idade)

F. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Efeito Linear	1	378,12	278,12	36,428 **
Efeito Quadrático	1	23,60	23,60	2,274
(Tratamento)	(2)	(401,73)	(200,86)	19,351 **
Repetição	3	80,22	26,74	2,576
Erro	6	62,27	10,38	14,829 **
Determinação	23	16,08	0,70	

* significativo ao nível de 5%

** significativo ao nível de 1%

C. V. = 7,0%

QUADRO 4 - Análise de variância da digestibilidade "in vitro", da celulose da forragem índice (Capim-guatemala aos 2 meses de idade)

F. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Efeito Linear	1	1.121,01	1.121,01	23,834 **
Efeito Quadrático	1	97,20	97,20	2,066
(Tratamento)	(2)	(1.218,21)	(609,10)	12,951 **
Repetição	3	184,90	61,63	1,310
Erro	6	282,17	47,03	11,936 **
Determinação	23	90,67	3,94	

* significativo ao nível de 5%

** significativo ao nível de 1%

C. V. = 12,3%

QUADRO 5 - Coeficientes de digestibilidade "in vitro" da matéria seca dos capins gordura, pangola e sempre-verde aos 2, 4, 6 e 8 meses de idade

Capim	Repetição	IDADE (Meses)			
		2	4	6	8
Digestibilidade "in vitro" da M. S. (%)					
Gordura	I	47,3	52,8	49,0	42,8
	II	46,0	45,3	44,4	40,9
	III	45,2	43,1	43,6	38,0
Média		46,3		39,6	39,9
					36,4
Pangola	I	54,8	57,0	57,3	48,1
	II	46,1	46,7	43,1	46,9
	III	51,0	52,7	52,7	45,2
Média		51,3		47,2	43,3
					43,2
Sempre-verde	I	45,5	46,1	44,1	37,5
	II	48,4	47,2	47,5	37,5
	III	41,1	41,6	42,3	36,2
Média		44,9		36,6	33,3
					29,0

QUADRO 6 - Análise de variância da digestibilidade "in vitro" da matéria seca, dos capins gordura, pangola e sempre-verde

F. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F.
Efeito Linear em Gordura	1	130,83	130,83	28,257 **
" " " Pangola	1	117,32	117,32	25,339 **
" " " Sempre-Verde	1	388,11	388,11	38,825
Efeito Quadrático em Gordura	1	8,33	8,33	1,799
" " " Pangola	1	12,20	12,20	2,635
" " " Sempre-Verde	1	12,00	12,00	2,592
Efeito Cúbico em Gordura	1	15,81	15,81	3,415
" " " Pangola	1	1,91	1,91	0,412
" " " Sempre-Verde	1	5,52	5,52	1,192
Total	35	1.499,51		
Repetições	2	66,18	33,09	7,147 **
Espécies	2	640,03	320,01	69,117 **
(Idade)	(3)	(226,89)	208,96	45,132 **
(Especies x Idade)	(6)	(64,55)	10,76	2,324 **
Erro	22	101,86	4,63	4,171 **
Determinação	68	75,25	1,11	

** significativo ao nível de 1%

C. V. = 5,3%

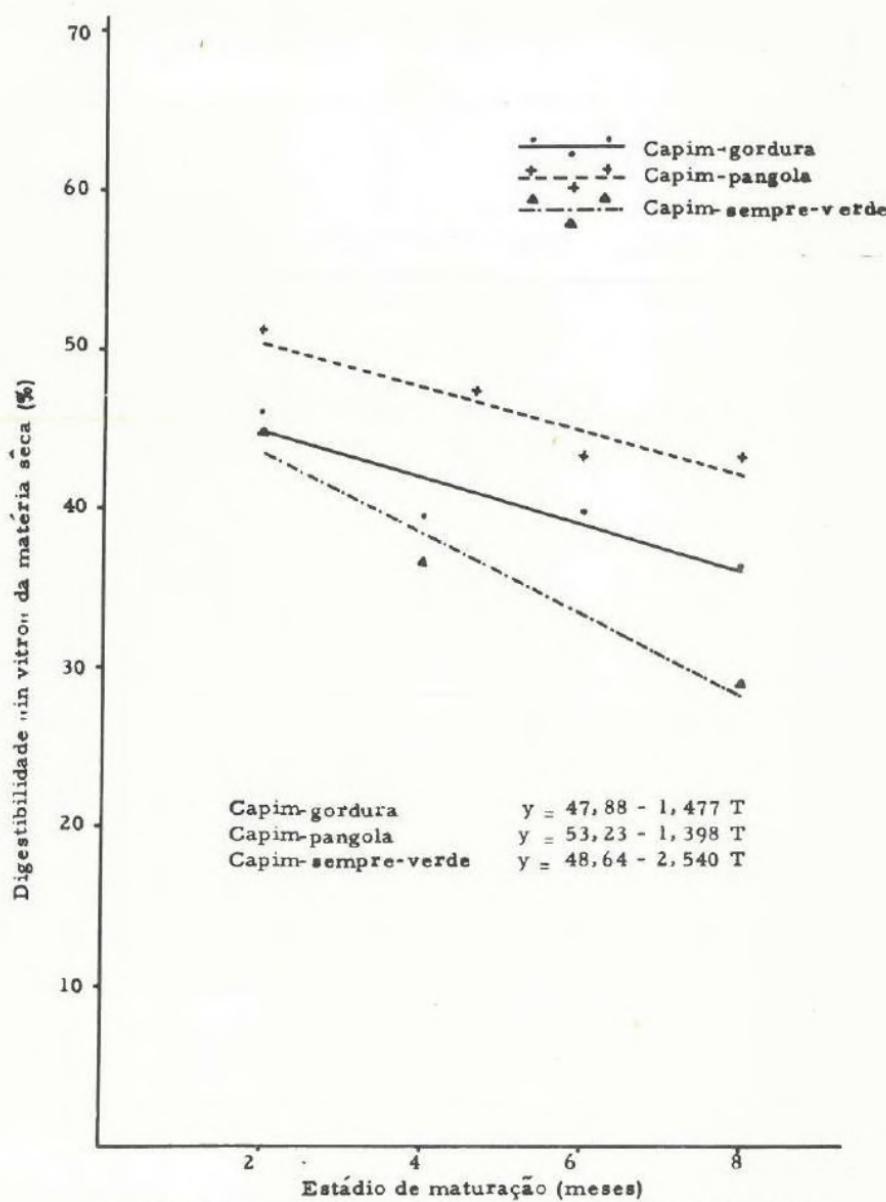


FIGURA 7 - Efeito do estágio de maturação sobre a digestibilidade "in vitro" da matéria seca das três gramíneas estudadas.

QUADRO 7 - Coeficientes de digestibilidade "in vitro" da celulose dos capins gordura, pangola e sempre-verde aos 2, 4, 6 e 8 meses de idade.

Capim	Repetição	IDADE (Meses)			
		2	4	6	8
Digestibilidade "in vitro" da celulose (%)					
Gordura					
I	47,5	56,4	60,3	51,3	52,8
II	56,3	56,0	56,5	52,9	51,6
III	54,1	56,3	52,9	47,8	44,6
Média	55,1		50,0	49,7	45,5
Pangola					
I	67,1	68,0	65,7	58,6	56,8
II	54,4	56,8	49,6	57,9	53,8
III	63,2	62,4	64,3	55,1	51,1
Média	61,3		54,9	50,4	49,8
Sempre-verde					
I	53,8	54,3	64,2	41,1	40,2
II	57,3	57,4	56,6	43,2	44,3
III	52,8	55,0	48,8	37,5	36,7
Média	55,6		40,4	37,2	34,9

QUADRO 8 - Análise de variância da digestibilidade "in vitro" da celulose dos capins gordura, pangola e sempre-verde.

	F. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F.
Efeito Linear em Gordura		1	128,77	128,77	15,458***
" " " Pangola		1	226,98	226,98	27,248***
" " " Sempre-Verde		1	639,61	639,61	76,784***
Efeito Quadrático em Gordura		1	0,52	0,52	0,062
" " " Pangola		1	24,37	24,37	2,926
" " " Sempre-Verde		1	122,24	122,24	14,675***
Efeito Cúbico em Gordura		1	11,53	11,53	1,384
" " " Pangola		1	0,62	0,62	0,074
" " " Sempre-Verde		1	18,48	18,48	2,218
Total	35	2.351,97			
Repetições	2	86,76	43,38	5,208*	
Espécies	2	908,84	454,42	54,552**	
(Idade)		(3)(1.000,13)	(333,38)	40,022**	
(Especies x Idade)	(6)	(173,00)	(28,83)	3,461*	
Erro	22	183,24	8,33	4,228	
Determinação	68	134,00	1,97		

* significativo ao nível de 5%

**significativo ao nível de 1%

C. V. = 5,9%

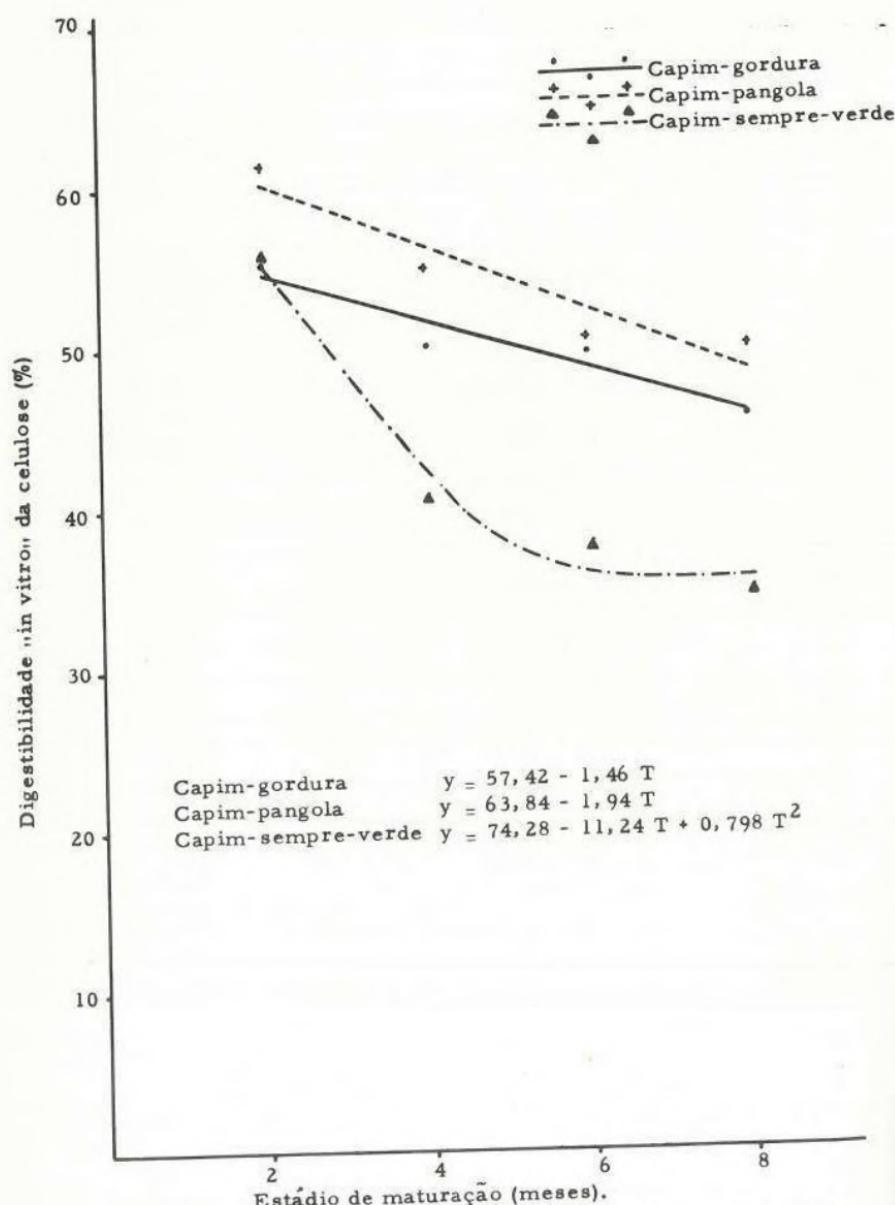


FIGURA 8 - Efeito do estágio de maturação sobre a digestibilidade "in vitro" da celulose das três gramineas estudadas.

4. 3. Correlação entre a digestibilidade „in vivo“ e „in vitro“

O quadro 9 mostra os coeficientes de digestibilidade „in vitro“ da matéria seca e celulose e a digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica e celulose, dos capins gordura, pangola e sempre-verde aos 2, 4, 6 e 8 meses de idade. Os coeficientes de digestibilidade „in vitro“ referem-se às médias das determinações nas três repetições efetuadas. O valor de F, significativo para a interação espécie x idade na análise de variância da digestibilidade „in vitro“ da celulose, sugeriu que fossem efetuadas análises de correlação parciais, uma para cada espécie. Os valores de r obtidos foram submetidos a um teste de homogeneidade de z (29). Como não se verificou efeito significativo nos valores determinados para χ^2 , os diferentes r foram considerados homogêneos. Foi então calculado um coeficiente de correlação, com a respectiva equação de regressão, para todas as relações estudadas, abrangendo os valores dos três capins.

O quadro 10 apresenta os coeficientes de correlação com a respectiva equação de regressão, entre a digestibilidade „in vivo“ da matéria seca, matéria orgânica e celulose, e a digestibilidade „in vitro“ da matéria seca e celulose.

As figuras 9-14 apresentam gráficamente as correlações entre as digestibilidades „in vivo“ de matéria seca, matéria orgânica e celulose e a digestibilidade „in vivo“ da matéria seca e celulose para as três gramíneas estudadas.

QUADRO 9 - Coeficientes de digestibilidade „in vitro“ da matéria seca e celulose, e coeficientes de digestibilidade „in vivo“ da matéria seca, matéria orgânica e celulose, dos capins pangola, gordura e sempre-verde, em quatro estádios de maturação.

Forragens	Idades (meses)	Coeficientes de digestibilidade (%)					
		„in vitro“		„in vivo“		Materia seca	Materia organica
		Materia seca	Celulose	Materia seca	Celulose		
Capim-Gordura	2	46, 3	55, 1	59, 4	63, 2	61, 7	
" "	4	39, 6	50, 0	48, 6	51, 7	50, 7	
" "	6	39, 8	49, 7	46, 2	47, 4	46, 5	
" "	8	36, 4	45, 5	40, 2	52, 0	44, 0	
Capim-Pangola	2	51, 3	61, 3	62, 6	65, 8	62, 7	
" "	4	47, 2	54, 9	54, 6	60, 3	59, 8	
" "	6	43, 3	50, 4	53, 3	61, 6	58, 4	
" "	8	43, 2	49, 8	40, 7	56, 1	53, 1	
Capim-Sempre-Verde	2	44, 9	55, 6	57, 1	65, 6	60, 1	
" " "	4	36, 6	40, 4	44, 7	45, 0	48, 0	
" " "	6	33, 3	37, 2	35, 6	39, 4	38, 6	
" " "	8	29, 0	34, 9	31, 9	42, 3	37, 2	

QUADRO 10 - Relação entre a digestibilidade "in vivo" de matéria seca, matéria orgânica e celulose com a digestibilidade "in vitro" de matéria seca e celulose.

Y (in vivo)	X (in vitro)	r	r ²	Equações de regressão	s _{yx} (%)	s _b (%)	C. V. (%)
D. M. S.	D. M. S.	0, 91**	0, 82	Y = -9, 404 + 1, 401X	± 4, 06	± 0, 192	9, 9
D. M. S.	D. Cel.	0, 91**	0, 82	Y = -6, 673 + 1, 120X	± 4, 09	± 0, 155	10, 0
D. M. O.	D. M. S.	0, 95**	0, 90	Y = -3, 616 + 1, 353X	± 2, 69	± 0, 127	5, 2
D. M. O.	D. Cel.	0, 92**	0, 84	Y = 0, 953 + 1, 042X	± 3, 65	± 0, 138	7, 1
D. Cel.	D. M. S.	0, 90**	0, 81	Y = 0, 201 + 1, 320X	± 4, 09	± 0, 193	7, 5
D. Cel.	D. Cel.	0, 91**	0, 82	Y = 2, 104 + 1, 069X	± 3, 86	± 0, 146	7, 1

**Significativo ao nível de 1%

Abreviações usadas: D. M. S. = digestibilidade da matéria seca; D. M. O. = digestibilidade da matéria orgânica; D. Cel. = digestibilidade da celulose.

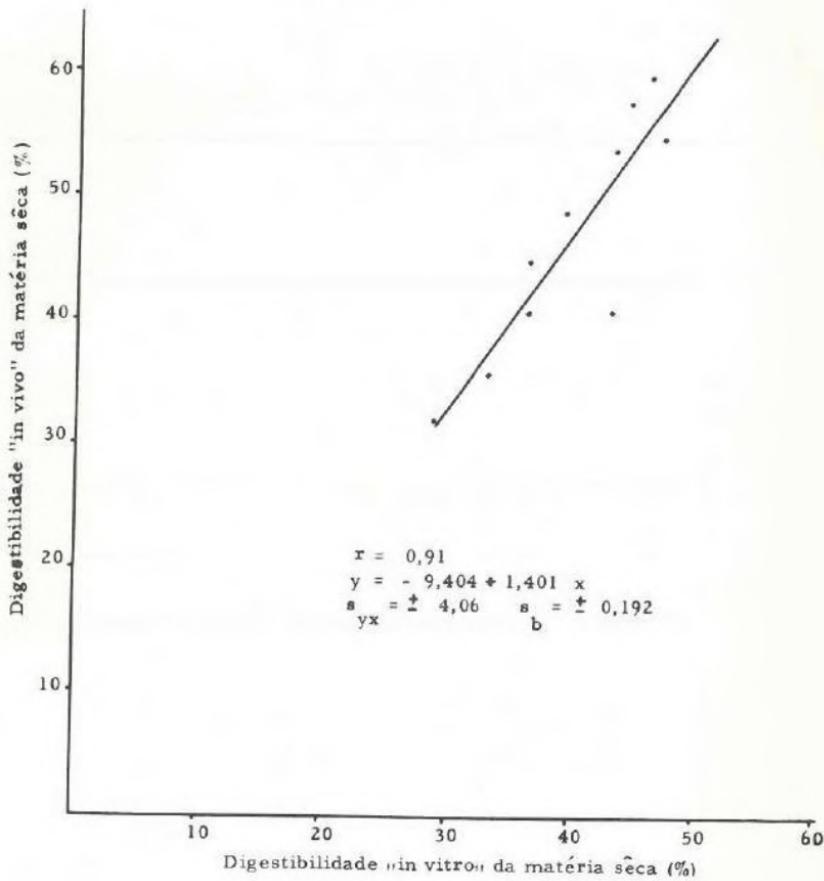


FIGURA 9 - Correlação entre as digestibilidades "in vivo" e "in vitro" da matéria seca.

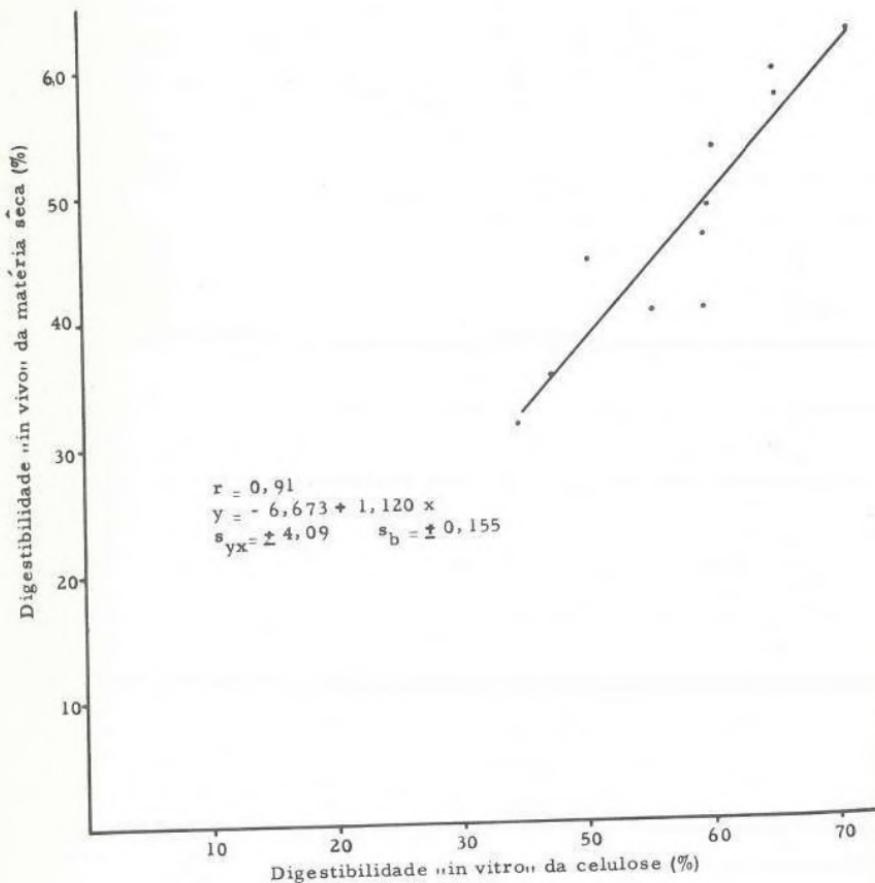


FIGURA 10 - Correlação entre a digestibilidade "in vivo" da matéria seca e a digestibilidade "in vitro" da celulose.

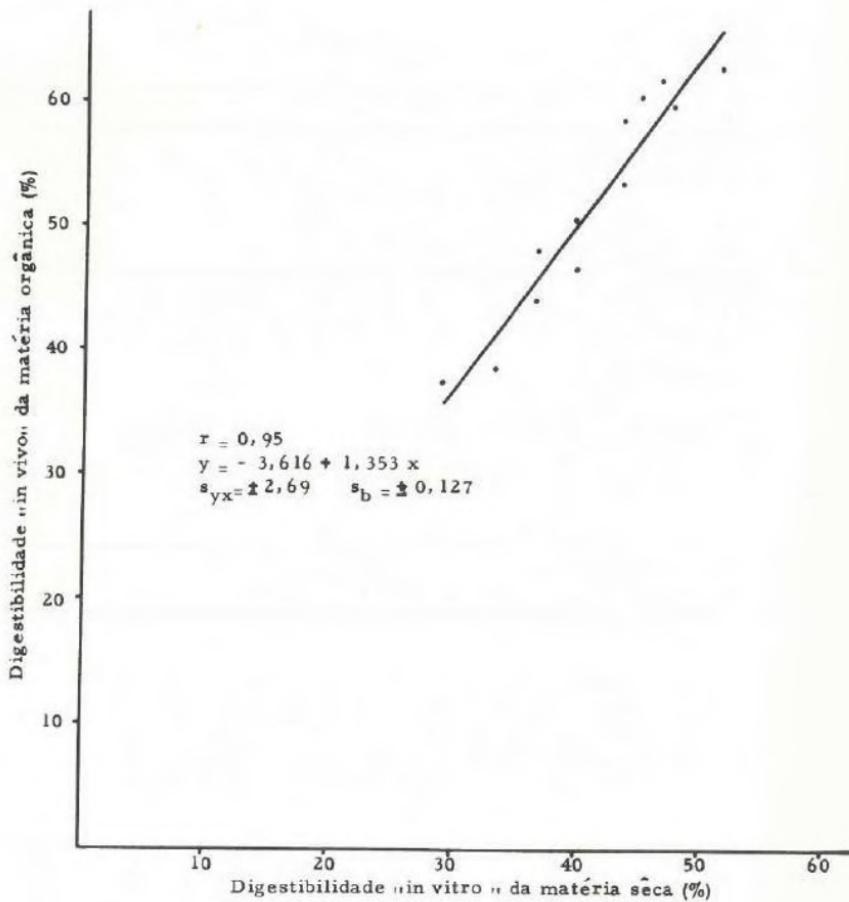


FIGURA 11 - Correlação entre a digestibilidade 'in vivo' da matéria orgânica e a digestibilidade 'in vitro' da matéria seca

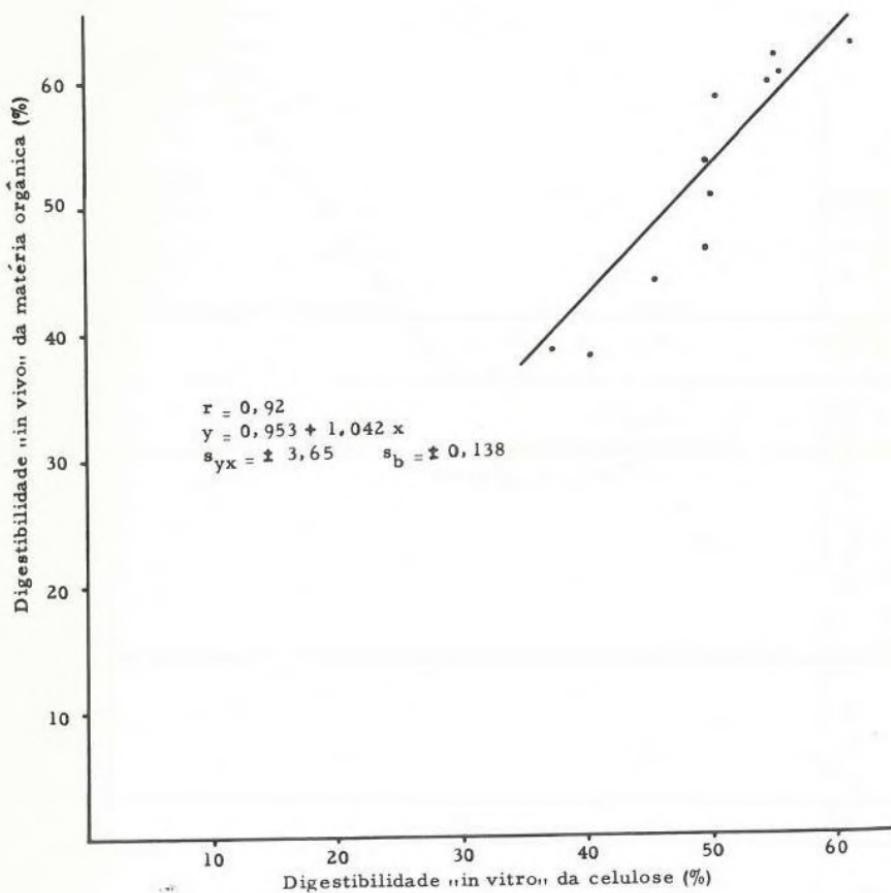


FIGURA 12 - Correlação entre a digestibilidade "in vivo" da matéria orgânica e digestibilidade "in vitro" da celulose.

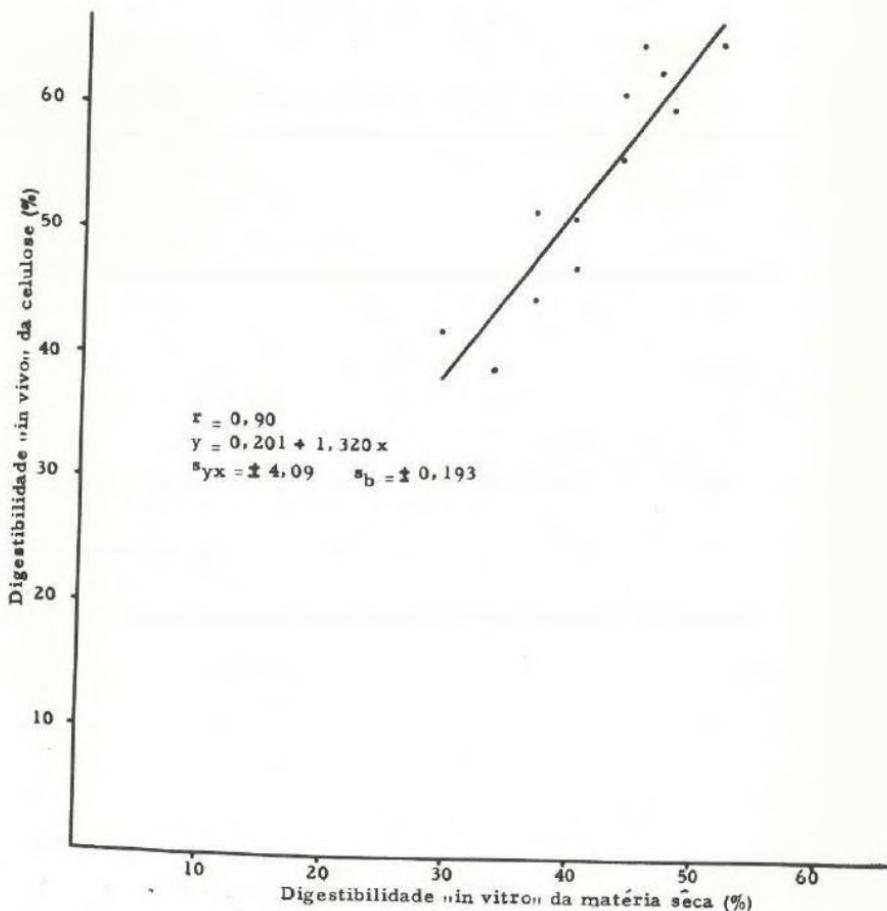


FIGURA 13 - Correlação entre a digestibilidade "in vivo" da celulose e digestibilidade "in vitro" da matéria seca.

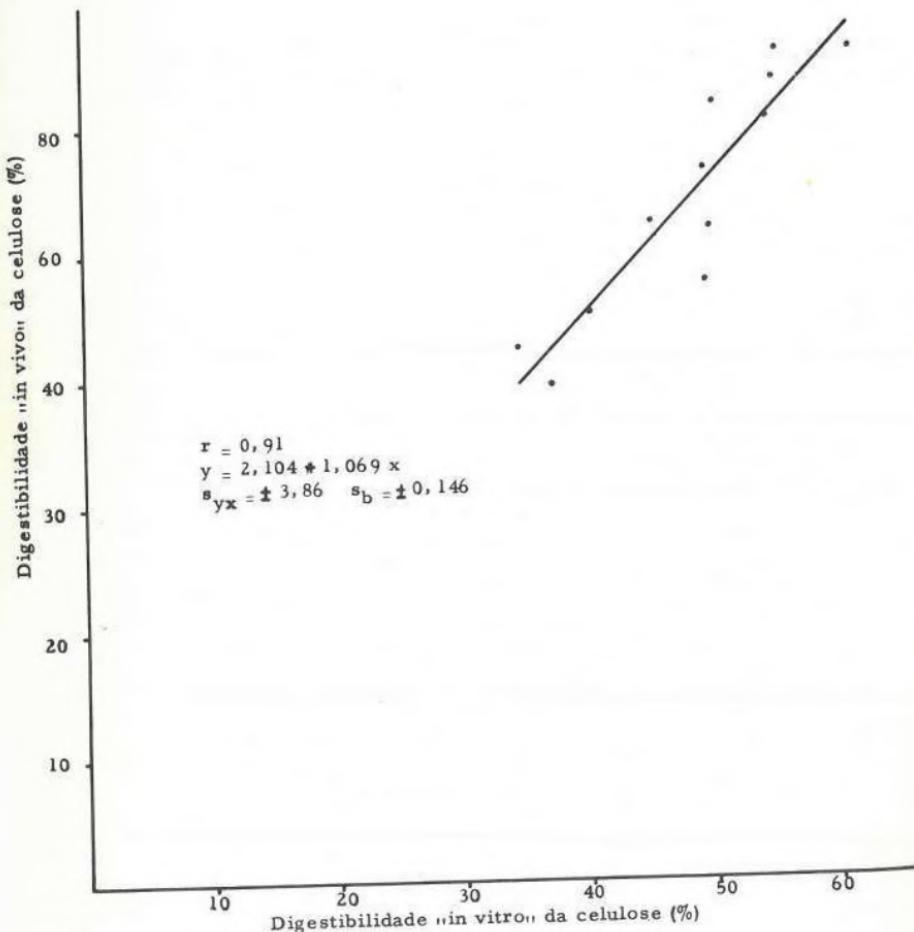


FIGURA 14 - Correlação entre as digestibilidades "in vivo" e "in vitro" da celulose.

5. DISCUSSÃO

5. I. Duração do tempo de fermentação

As análises de variância dos coeficientes de digestibilidade "in vitro" da matéria seca e celulose da forragem índice demonstram que houve uma variação significativa no grau de digestão, quando se aumentou o período de fermentação. Através das equações de regressão, cujos valores de b são positivos, verifica-se que houve um acréscimo linear no coeficiente de digestibilidade da celulose e matéria seca da forragem índice, à medida que o tempo de fermentação aumentou de 24 para 48 horas. A equação de regressão $Y = 25,59 + 0,572 X$, obtida para digestibilidade "in vitro" da matéria seca da forragem índice, em função do tempo de fermentação, mostrou que para cada hora de fermentação houve um acréscimo de 0,572 unidades de digestibilidade. Isto representa, em cada intervalo de 12 horas, um acréscimo correspondente a 6,8 unidades no coeficiente de digestibilidade da matéria seca. Para a digestibilidade "in vitro" de celulose, em função do tempo de fermentação, a equação de regressão obtida foi $Y = 20,19 + 0,986 X$, e o acréscimo por intervalo de 12 horas foi de 11,8 unidades de digestibilidade. Consequentemente, o período de 48 horas de fermentação resultou nos mais altos coeficientes de digestibilidade. Apesar do acréscimo linear verificado de 24 para 48 horas de fermentação, seria de esperar uma certa estabilização no grau de digestão algum tempo após 48 horas. Na realidade a falta de inclusão de mais um período de fermentação no estudo, além de 48 horas, impede sejam tiradas algumas conclusões a esse respeito.

BAUMGARDT *et alii* (7) verificaram que o grau de digestão máxima para um substrato de alfafa foi atingido antes de 48 horas, enquanto que a celulose de gramineas, aparentemente, não havia alcançado sua máxima digestão com 48 horas de fermentação. QUICK *et alii* (22) observaram que os coeficientes de digestibilidade "in vitro" da celulose medidos a 48 horas ou a 60 horas, não diferiram estatisticamente dos valores "in vivo", mas, na maioria dos casos, o período de fermentação por 60 horas forneceu estimativas ligeiramente mais aproximadas da digestibilidade "in vivo" da celulose, do que o período de 48 horas. LE FEVRE e KAMSTRA (18) obtiveram, com o período de 48 horas de fermentação, coeficientes de digestibilidade da celulose semelhantes aos obtidos "in

vivo..

Pode-se notar, ainda, que a duração de período de fermentação exerceu uma influência mais acentuada sobre a digestibilidade "in vitro" da celulose do que matéria seca, conforme os acréscimos por período de 12 horas, que foram de 6,8 e 11,8 unidades de digestibilidade, respectivamente, para matéria seca e celulose.

Examinando-se as figuras 5 e 6, verifica-se que tanto para o caso da digestibilidade da matéria seca como da celulose houve maior dispersão nos valores das determinações, quando se usou o período de 24 horas de fermentação, obtendo-se menor variação quando foram usados os períodos de 36 e 48 horas. Os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, no período de 24 horas, variaram de 27,1 a 45,5% enquanto que para a celulose a variação no mesmo período foi de 16,8 a 50,2%. Houve, portanto, uma variação muito maior no caso da digestibilidade da celulose. Na verdade, conforme se pode verificar através do quadro 2, apenas os coeficientes de digestibilidade da quarta repetição mostra-se muito abaixo da média, causando uma diminuição no valor da média do período. Isto poderia ser atribuído a uma certa diluição no fluido de rúmen, por ocasião de sua coleta, na quarta repetição do ensaio de fermentação "in vitro" da forragem índice. Entretanto, observando os valores das determinações, nos períodos de 36 e 48 horas, da quarta repetição, tanto para celulose como para matéria seca, verifica-se que eles não diferem das médias dos períodos. Se a suposição de que a diluição no fluido de rúmen ocasionou um decréscimo na atividade microbiana fosse válida, seria possível concluir, ainda, que, após 36 horas de fermentação, a população bacteriana recuperou-se, prosseguindo em sua atividade normal de digestão do substrato. Seria, portanto, mais uma vantagem a favor dos períodos mais longos de fermentação.

No estudo da forragem índice, observou-se que a variação entre ensaios foi maior que a variação dentro dos ensaios. Os erros padrão da variação dentro e entre ensaios da digestibilidade "in vitro" da matéria seca foram respectivamente $\pm 1,42$ e $\pm 2,33\%$. Semelhantemente, $\pm 1,66$ e $\pm 2,34\%$, foram, respectivamente, os erros padrão da variação dentro e entre ensaios, no caso da digestibilidade "in vitro" da celulose. Os dois tipos de variação considerados foram ligeiramente mais elevados para o caso da digestibilidade da celulose do que da matéria seca. Aliás a maior variação dos coeficientes, determinados para a digestibilidade da celulose, reflete-se também

no coeficiente de variação, 12,3% contra 7,0% para matéria seca. Houve portanto, para a digestibilidade da celulose, uma variação quase duas vezes maior do que para a matéria seca. Os erros padrão, dentro de ensaios ($\pm 1,42$ a $\pm 1,66\%$), apresentam uma diferença menor, em parte porque para a sua determinação segundo o método de sub-classes desproporcionais, que é o caso da celulose, eliminou-se a soma de quadrados de determinações, referente à quarta repetição, pois a mesma se apresentava extremamente mais elevada que as demais.

5. 2. Estudo da precisão do método de fermentação „in vitro“

A análise de variância da digestibilidade da matéria seca mostrou uma diferença altamente significativa entre as três espécies de gramíneas, e entre as quatro idade consideradas. O estudo da regressão efetuado para cada capim demonstrou, nos três casos, apenas um efeito linear altamente significativo. As equações de regressão determinadas, apresentando em todos os casos um valor negativo para b, indicam que houve um decréscimo linear na digestibilidade „in vitro“ da matéria seca dos três capins, à medida que avançou o estádio de maturação. Observa-se que o decréscimo mensal na digestibilidade da matéria seca é bem mais acentuado para o capim-sempre-verde com 2,54 unidades de digestibilidade, e menor para o capim-pangola, com 1,40% unidades de digestibilidade.

SILVA (27) relatou coeficientes de digestibilidade „in vitro“ da celulose dos capins pangola, gordura e sempre-verde, aos 60 dias, da ordem de 68,9; 68,7 e 69,9%, respectivamente. Esses valores apresentam-se mais elevados do que os obtidos no presente estudo, conforme pode ser observado no quadro 5.

A variação entre ensaios ($s = \pm 1,54\%$) foi menor que a variação dentro do ensaio ($s = \pm 1,76\%$). BOWDEN e CHURCH (8) relataram diversos erros padrão, dentro de ensaio, calculados para 4 determinações que variam de $\pm 0,5$ a $\pm 4,3\%$.

TILLEY et alii (30) encontraram um erro padrão, dentro de ensaio, de $\pm 1,3\%$ para a digestibilidade da matéria seca quando usaram apenas líquor de rúmen, e para duas variedades forrageiras, encontraram, entre ensaios, erros padrão da ordem de $\pm 2,1$ e $\pm 2,8\%$. No presente estudo, é provável que a dieta do animal doador tendo sido constante, tenha impedido maior variação entre ensaios.

A análise de variância da digestibilidade „in vitro“ da ce-

lulose dos capins estudados, demonstrou também uma diferença altamente significativa entre espécies e entre estádios de maturação. Entretanto neste caso, a interação espécies x idades mostrou-se significativa, indicando que o efeito da idade variou de espécie para espécie. Realmente, a análise de regressão mostrou um efeito quadrático da idade para o capim-sempre-verde, enquanto que para os capins gordura e pangola, só foi significativo o efeito linear. Os valores negativos para b, nas equações de regressão dos capins gordura e pangola, indicam um decréscimo linear com o avanço do estádio de maturação. Observa-se que o capim-pangola, apesar de apresentar coeficientes de digestibilidade da celulose, mais altos do que o capim-gordura mostra, no entanto, uma queda mensal (1, 94) ligeiramente maior que este último (1, 46).

O capim-sempre-verde apresentou um decréscimo bem mais acentuado em sua digestibilidade, do segundo para o quarto mês de idade, diminuindo em seguida até apresentar uma digestibilidade mais ou menos uniforme, de sexto para o oitavo mês. O comportamento da digestibilidade "in vitro" da celulose do capim-sempre-verde pode ser representado por uma curva do segundo grau, conforme a equação $Y = 74,28 \pm 11,24T + 0,798T^2$, onde T representa tempo de maturação em meses.

A variação, dentro e entre ensaios, para o caso da digestibilidade da celulose, com erros padrão de $\pm 2,43$ e $\pm 1,71\%$ foi maior do que para o caso da digestibilidade da matéria seca. Este resultado concorda com o de BOWDEN e CHURCH (8), que indicaram maior variação da digestibilidade da celulose, do que da matéria seca.

Alguns resultados encontrados na literatura, com referência à precisão da técnica "in vitro" para digestibilidade da celulose, indicam erros padrão menores do que os encontrados neste estudo. HERSHBERGER *et alii* (14) relataram um erro padrão de $\pm 1,30\%$ para as duas determinações efetuadas em 35 amostras de forragem. BAUMGARDT *et alii* (7) expressam a variabilidade, dentro de ensaio, através do erro padrão para a forragem padrão, que variou de $\pm 0,32$ a $\pm 0,79\%$. A variabilidade entre dias foi $\pm 1,02\%$. Entretanto os valores relatados por BOWDEN e CHURCH (8), calculados para quatro determinações em cada ensaio, variaram de $\pm 0,5$ a $\pm 8,5\%$.

5.3. Correlação entre a digestibilidade "in vivo" e "in vitro"

Os coeficientes de digestibilidade "in vitro" da matéria seca e celulose dos capins gordura, pangola e sempre-verde, nos quatro estádios de maturação, apresentaram uma correlação altamente significativa, com os coeficientes de digestibilidade "in vivo" da matéria seca, celulose e matéria orgânica correspondentes. Foi então estabelecida, para cada relação estudada, uma equação de regressão entre a digestibilidade "in vivo" e a digestibilidade "in vitro", conforme é mostrado no quadro 10.

Os coeficientes de correlação obtidos, os quais variaram de 0,90 a 0,95, encontram-se dentro da média dos valores citados na literatura. Para a correlação matéria seca "in vivo" e "in vitro", encontram-se valores na literatura que variam de 0,81 a 0,97 (9, 25, 26 e 30) enquanto que os valores para a correlação celulose "in vivo" e "in vitro" têm variado de 0,89 a 0,99 (9, 14 e 25).

BOWDEN e CHURCH (9) relataram coeficientes de correlação entre a digestibilidade da matéria seca "in vitro" x celulose "in vivo" e celulose "in vitro" x matéria seca "in vivo", altamente significativos e da ordem de 0,95 e 0,87, respectivamente. REID *et alii* (25) obtiveram um coeficiente de correlação igual a 0,99 para a relação celulose "in vitro" x matéria seca "in vivo".

BAUMGARDT *et alii* (6) encontraram uma correlação altamente significativa ($r = 0,84$), entre a digestibilidade "in vitro" da celulose e a digestibilidade "in vivo" da matéria orgânica.

O erro padrão da estimativa da digestibilidade aparente apresentou valores relativamente altos (Quadro 10). O erro padrão de - 4,06%, calculado para a equação de regressão entre a digestibilidade "in vivo" da matéria seca e a digestibilidade "in vitro" da matéria seca é intermediário dos erros padrão de regressão obtidos por TILLEY *et alii* (30), os quais variaram de $\pm 3,64$ a $4,43\%$.

HERSHBERGER *et alii* (14) encontraram um erro padrão de $\pm 2,05\%$ para a equação de regressão entre a digestibilidade "in vivo" e "in vitro" da celulose o qual é bem menor que o valor encontrado no presente estudo ($s = 3,86\%$).

Verificou-se menor variação para a estimativa da digestibilidade "in vivo" da matéria orgânica, a partir da digestibili-

dade "in vitro" da matéria seca ($s = \pm 2,69\%$) e da celulose ($s = \pm 3,65\%$).

TILLEY et alii (30) opinam que o erro padrão de estimativa (sy. x) não deve ser maior que 2%. No presente estudo, os erros padrão associados às equações de regressão (sy. x) foram todos superiores a 2%.

Apesar de uma certa variação, observada no presente estudo, verifica-se que a digestibilidade "in vitro" tanto da celulose como da matéria seca poderiam ser de utilidade na estimativa da digestibilidade aparente da celulose, da matéria seca e da matéria orgânica.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem as seguintes conclusões:

- 1 - Verificou-se um acréscimo linear na digestibilidade "in vitro" da matéria seca e celulose da forragem índice, à medida que o período de fermentação aumentou de 24 para 48 horas. Consequentemente, o período de 48 horas de fermentação apresentou o mais alto grau de digestão, com coeficientes de digestibilidade médios para matéria seca e celulose, iguais a 52,1 e 65,5%, respectivamente.
- 2 - O período de 24 horas de fermentação apresentou maior variabilidade dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca e da celulose, do que os períodos de 36 e 48 horas.
- 3 - A digestibilidade "in vitro" da matéria seca dos capins gordura, pangola e sempre-verde mostrou decréscimo linear com o avanço do estádio de maturação.
- 4 - O capim- sempre-verde, que apresentou os mais baixos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, apresentou também o maior decréscimo mensal.
- 5 - A digestibilidade "in vitro" da celulose dos capins gordura e pangola sofreu um decréscimo linear com o avanço do estádio de maturação. Entretanto, a digestibilidade do capim- sempre-verde caiu mais rapidamente no período compreendido entre o segundo e o quarto mês de idade, tendendo a estabilizar-se do sexto para o oitavo mês.

- 6 - Os coeficientes de digestibilidade "in vitro", obtidos para matéria seca e celulose, revelaram maior variação, dentro de ensaios ($s = \pm 1,76$ e $\pm 2,43\%$), do que entre ensaios ($s = \pm 1,54$ e $\pm 1,71\%$), de fermentação "in vitro".
- 7 - Foram obtidos correlações altamente significativas ($r=0,90$ a $r=0,95$), entre os coeficientes de digestibilidade "in vitro" de matéria seca e celulose, e os coeficientes de digestibilidade "in vivo" de matéria seca, matéria orgânica e celulose. Conclui-se, portanto, que os índices de digestibilidade "in vitro" da matéria seca e da celulose, são igualmente úteis para a estimativa dos valores "in vivo".

7. SUMÁRIO

A duração do período de fermentação na técnica do rúmen artificial foi estudada utilizando-se, como substrato, uma forragem índice: o capim-guatemala (Tripsacum fasciculatum, Trin) com 2 meses de idade. Verificou-se um acréscimo linear na digestibilidade "in vitro" da matéria seca e da celulose, à medida que o tempo de fermentação aumentou de 24 para 48 horas. Período de 48 horas, que resultou nos maiores coeficientes de digestibilidade para matéria seca e celulose, foi então adotado nas análises de fermentação "in vitro" subsequentes.

Amostras de três gramíneas tropicais de pastoreio, capim-gordura, (Melinis minutiflora Beauv.), capim-pargola, (Digitaria pentzii Stent) e capim-sempre-verde (Panicum maximum var. gongylodes, Jacq.), de digestibilidade "in vivo" da matéria seca, da matéria orgânica e da celulose conhecidas, foram utilizadas, como substrato, para determinação da digestibilidade "in vitro" da matéria seca e celulose, por meio da técnica do rúmen artificial.

Os dados resultantes foram correlacionados com os obtidos "in vivo", observando-se em todos os casos correlações altamente significativas ($r = 0,90$ a $r = 0,95$). Foi então estabelecida, para cada relação estudada, uma equação de regressão destinada a estimar a digestibilidade "in vivo" das forrageiras, a partir da digestibilidade "in vitro" da matéria seca ou celulose.

A precisão da técnica de fermentação "in vitro" foi também examinada e verificada maior variação dentro de ensaios do que entre ensaios. Os desvios padrão da digestibilidade "in vitro" da matéria seca, foram $\pm 1,76$ e $\pm 1,54\%$, respectivamente.

mente para variação dentro e entre ensaios; enquanto que os desvios padrão da digestibilidade "in vitro" da celulose foram de $\pm 2,43$ e $1,71\%$, respectivamente para variação dentro e entre ensaios.

8. SUMMARY

Samples of 2-month-old guatemalagrass, (Tripsacum fasciculatum Trin), were used as substrate in a study of fermentation periods by the artificial rumen technique. Fermentation periods studied were 24, 36 and 48 hours. A linear increase in the "in vitro" digestibility of dry matter and cellulose was observed.

In a subsequent study, samples of molassegrass (Melinis minutiflora Beauv.); pangolagrass (Digitaria pentzii Stent), and sempre-verdegrass (Panicum maximum var. gongylodes, Jacq.) of known "in vivo" digestibilities of dry matter, organic matter and cellulose were used in 48 hr "in vitro" fermentations.

The "in vitro" data were highly correlated with the "in vivo" data ($r=0.90$ to 0.95). Linear regression equations were established for predicting "in vivo" digestibilities from the "in vitro" dry matter and cellulose digestibilities.

The precision of the technique was also studied. The standar deviations of determinations of "in vitro" digestibilities of cellulose and dry matter were 2.43 and 1.76%, respectively.

9. LITERATURA CITADA

1. A. O. A. C. Official methods of analysis of the association of official agricultural chemists. Washington D.C. Ed. Board, 1960. 832 p.
2. BARNES, R.F. Use of in vitro rumen fermentation techniques for estimating forage digestibility and intake. Agron. J., Wisconsin, 57(2): 213-216. 1965.
3. BARNES, R.F.; MOTT, G.O.; PACKETT, L. V. & PLUMLEE, M.P. Comparison of in vitro rumen fermentation methods. J. of Animal Sci., New York, 23 (4): 1061-1065. 1964.
4. BAUMGARDT, B. R. & HILL, D. L. Factors affecting the dry matter digestion of various roughages in the artificial rumen. Abstrats of papers presented at the 51 st annual meeting. J. of Dairy Sci., Illinois, 39(7): 943. 1956.

5. BAUMGARDT, B. R.; TAYLOR, M. W. & CARSON, J. L. A simplified artificial rumen procedure for estimating the digestible energy content of hays. Abstracts of papers for presentation at the 51st annual meeting of the American Society of Animal Production. J. of Animal Sci., New York, 18(4): 1538. 1959.
6. _____. Evaluation of forages in the laboratory. I - Comparative accuracy of several methods. J. of Dairy Sci., Illinois, 45(1): 59-61. 1962.
7. _____. II - Simplified artificial rumen procedure for obtaining repeatable estimates of forage nutritive value. J. of Dairy Sci., Illinois, 45(1): 62-68. 1962.
8. BOWDEN, D. M. & CHURCH, D. C. Artificial rumen investigations. I - Variability of dry matter and cellulose digestibility and production of volatile fatty acids. J. of Dairy Sci., Illinois, 45(8): 972-979. 1962.
9. _____. II - Correlations between in vitro and in vivo measures of digestibility and chemical components of forage. J. of Dairy Sci., Illinois, 45(8): 980-985. 1962.
10. CRAMPTON, E.W. & MAYNARD, L.A. The relation of cellulose and lignin to the nutritive value of animal feeds. J. Nutr., Philadelphia, 15(4): 383-395. 1938.
11. DEHORITY, B.A. & JOHNSON, R.R. Comparison of in vitro fermentation and chemical solubility methods in estimating forage nutritive value. Abstracts of papers for presentation at the meeting of the Midwestern Section. A. S. A. S. J. of Animal Sci., New York, 22(4): 1134. 1963.
12. DONEFER, E.; CRAMPTON, E.W. & LLOYD, L.E. Prediction of the nutritive value index of a forage from in vitro rumen fermentation data. J. of Animal Sci., New York, 19(2): 545-552. 1960.
13. HARDISON, A. W. & REID, J. T. Use of indicators in the measurement of dry matter intake of grazing animals. J. Nutrition, Philadelphia, 51(1): 35-52. 1953.

4. HERSHBERGER, T. V.; LONG, T. A.; HARTSOOK, E. W. SWIFT, R. W. Use of the artificial rumen technique to estimate the nutritive value of forages. J. of Animal Sci., New York, 18(2): 770-779. 1959.
5. JOHNSON, R. R. Techniques and procedures for in vitro and in vivo rumen studies. J. of Animal Sci., New York, 25(3): 855-875. 1966.
6. KERCHERK, C. J.; GALLINGER, D. D. & EIKENBERRY, H. D. Nylon bag technique for measuring forage value. Abstracts of papers for presentation at the 56th annual meeting of the American Society of Animal Science. J. of. Animal Sci., New York, 23(3): 880. 1964.
7. LANCASTER, R. J. The measurements of feed intake by grazing cattle and sheep. I - A method of calculating the digestibility of pasture based on the nitrogen content of feaces derived from the pastures. N. Z. J. Sci. and Tech. New Zealand, 31(1): 31-38. 1949.
8. LE FEVRE, C. F. & KAMSTRA, L. D. A comparison of cellulose digestion in vitro and in vivo. J. of Animal Sci., New York, 1(3): 876-872. 1960.
9. LENKEIT, W. & BECKER, N. Inspecção e apreciação de forrageiras. Lisboa, Ministério da Economia de Portugal, 1956. 152 p. (Boletim pecuário nº 2).
10. McDougall, E. I. Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep's saliva. The Bioch. Jour. Londen, 43(1): 99-109. 1948.
11. PIGDEN, W. J. & BELL, J. M. The artificial rumen as a procedure for evaluating forage quality. Abstracts of papers presented at the 46th annual meeting of the American Society of Animal Production. J. of Animal Sci., New York, 14(4): 1239. 1955.
12. QUICKE, G. V.; BENTLEY, O. G.; SCOTT, H. N. & MOXON, A. L. Cellulose digestion in vitro as a measure of the digestibility of forage cellulose in ruminants. J. of Animal Sci., New York, 18(1): 275-287. 1959.

23. RAYMOND, W. F. & TERRY, R. A. Studies of herbage digestibility by an in vitro method. Outlook on Agriculture, 5(2): 60-68. 1966.
24. REID, R. L.; SHELTON, D. C.; WELCH, J. A. & JUNG, G. A. Pasture quality as determined by in vitro and in vivo techniques. Abstracts of papers for presentation at the 51st annual national meeting of the American Society of Animal Production. J. of Animal Sci., New York, 18(4): 1537-1538. 1959.
25. REID, R. L.; CLARK, B. & JUNG, G. A. Studies with Sudangrass. II - Nutritive evaluation by in vivo and in vitro methods. Agron. Jour., Wisconsin, 56(6): 537-542. 1964.
26. REID, R. L.; JUNG, G. A. & MURRAY, S. The measurement of nutritive qualities in a blue grass pasture using in vivo and in vitro techniques. J. of Animal Sci., New York, 23(3): 700-710. 1964.
27. SILVA, D. J.; CAMPOS, J. & CONRAD, J. H. Da digestibilidade in vitro de algumas forrageiras tropicais. Rev. Ceres, Viçosa, 12(68): 63-100. 1964.
28. SIMKINS Jr., H. L. & BAUMGARDT, B. R. Estimation of silage digestibility by laboratory methods. Abstracts of papers for presentation at the 54th annual national meeting of the American Society of Animal Science. J. of Animal Sci., New York, 21(4): 1037. 1962.
29. SNEDECOR, G. W. Statistical Methods. 5. Ed. The Iowa State College Press, Ames (Iowa), 1959. 534p.
30. TILLEY, J. M. A.; DERIAZ, R. E. & TERRY, R. A. The in vitro measurement of herbage digestibility and assessment of nutritive value. Proc. 8th internat. Grassl. Congr. pp. 5. Bibl. 27. 1960.
31. WALKER, D. M. The in vitro digestion of roughage dry matter. The J. of Agric. Sci., London, 53(2): 192-197. 1959.