

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE AGRONOMIA, MEDICINA VETERINÁRIA E
ZOOTECNIA**

Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DAS TORTAS DE ALGODÃO E
GIRASSOL POR MEIO DA TÉCNICA *IN VITRO* DE PRODUÇÃO DE
GASES**

CLÁUDIO LUIZ BARBOSA DE TOLEDO

**CUIABÁ - MT
2015**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE AGRONOMIA, MEDICINA VETERINÁRIA E
ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DAS TORTAS DE ALGODÃO E
GIRASSOL POR MEIO DA TÉCNICA *IN VITRO* DE PRODUÇÃO DE
GASES

CLÁUDIO LUIZ BARBOSA DE TOLEDO

Médico Veterinário

Orientador: Prof. Dr. LUCIANO DA SILVA CABRAL

Tese apresentada à Faculdade de
Agronomia, Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade Federal de
Mato Grosso, para obtenção do título de
Doutor em Agricultura Tropical.

CUIABÁ - MT

2015

FICHA CATALOGRÁFICA

T649a Toledo, Cláudio Luiz Barbosa de.
Avaliação nutricional das tortas de algodão e girassol por meio da técnica *in vitro* de produção de gases / Cláudio Luiz Barbosa de Toledo. – 2015.
74 f : il.

Orientador: Prof. Dr. Luciano da Silva Cabral.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia, Pós-Graduação em Agricultura Tropical, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Ovinos – Confinamento – Dieta. 2. Nutrição animal. 3. Dieta animal. 4. Torta de algodão – Nutrição animal. 5. Torta de girassol – Nutrição animal. 6. Ovinos – Digestão de dietas. 7. Dieta de ovinos – Produção de gases. I. Título.

CDU – 636.3.084.4

Ficha elaborada por: Rosângela Aparecida Vicente Söhn – CRB-1/931

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE AGRONOMIA, MEDICINA VETERINÁRIA E
ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DAS TORTAS DE ALGODÃO E GIRASSOL
POR MEIO DA TÉCNICA *IN VITRO* DE PRODUÇÃO DE GASES

Autor: CLÁUDIO LUIZ BARBOSA DE TOLEDO

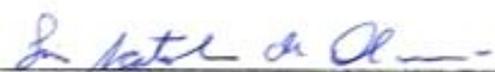
Orientador: Prof. Dr. LUCIANO DA SILVA CABRAL

Aprovado em 13 de março de 2015.

Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Luciano da Silva Cabral
(FAMEVZ / UFMT)
(Orientador)



Profa. Dra. Isis Scatolin de Oliveira
(FAMEVZ / UFMT)
(Membro Interno)



Prof. Dr. Nicolau Elias Neto
(FAMEVZ / UFMT)
(Membro Interno)



Dr. Rodrigo Dias Lauritano Pacheco
(EMPAER)
(Membro Externo)



Prof. Dr. Dorival Pereira Borges da Costa
(IFMT / Cuiabá)
(Membro Externo)

*À minha compreensiva e amada esposa Michelle;
aos meus pais (in memoriam) Claudionor e Maria
Thereza; ao meu irmão, cunhada e sobrinha Cláudio
José, Magda e Bruna; à minha sogra Vilma, sogro
Derival e ao meu cunhado Rafael.*

DEDICO ...

A Deus, ser supremo, infinito, por mostrar e me acompanhar no longo e prazeroso caminho a ser trilhado.

À Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT, a Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia – FAMEVZ e Departamento de Zootecnia e Extensão Rural – DZER, principalmente na figura do antigo chefe, Prof. Lucirdes Ferreira, pela amizade e oportunidade de qualificação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, na figura do seu coordenador, Prof. Ricardo e aos demais servidores, que sempre estiveram prontos a atender qualquer tipo de solicitação, e a prestar a necessária ajuda.

Aos professores dos Programas de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, Ciência Animal e Ciências Veterinárias, pelos ensinamentos, troca de experiências e inestimável ajuda.

Ao meu orientador e grande amigo, Prof. Dr. Luciano da Silva Cabral, pela confiança, amizade, atenção, estímulo, paciência, convívio e preciosa orientação.

Aos professores doutores componentes da banca avaliadora, Isis de Oliveira, Nicolau Neto, Rodrigo Pacheco e Dorival da Costa pelo aceite, disposição, doação de tempo, e pelas valorosas sugestões e contribuições na elaboração deste trabalho.

Aos professores Dr. Joadil Abreu e Dra. Rosemary Galati pela amizade, apoio e orientação na condução deste e de diversos outros trabalhos.

Ao professor Dr. Nelcino de Paula pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos colegas de pós-graduação Leni Lima e Deivison Rodrigues pela amizade, solidariedade e união de esforços em busca dos objetivos.

Aos colegas mestrandos e doutorandos dos Programas de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, Ciência Animal e Ciências Veterinárias, pelo companheirismo, convivência e amizade.

Aos bolsistas PIBIC e VIC, e aos alunos de graduação em Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia que participaram do projeto, pela amizade, solidariedade e ajuda nos trabalhos de campo e laboratoriais.

Aos amigos Rafael Reis e Perivaldo Carvalho pelo apoio e estímulo.

Ao setor de Ovinocultura da Fazenda Experimental da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), onde foram realizados os experimentos a campo e ao Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMT, na cidade de Cuiabá, onde foram realizadas as análises laboratoriais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT), pelo financiamento do projeto.

Enfim, a todos aqueles que de forma direta ou indireta, ajudaram na realização deste árduo e prazeroso trabalho, meu sincero muito obrigado!

A G R A D E Ç O . . .

Aprender sem pensar é tempo perdido.

Confúcio

*O sábio nunca diz tudo o que pensa,
mas pensa sempre tudo o que diz.*

Aristóteles

*Sábio é aquele que conhece os limites
da própria ignorância.*

Sócrates

*Somos o que pensamos. Tudo o que somos
surge com nossos pensamentos. Com nossos
pensamentos, fazemos o nosso mundo.*

Buda

*Penso noventa e nove vezes e nada descubro;
deixo de pensar, mergulho em profundo silêncio
- e eis que a verdade se me revela.*

Albert Einstein

*Para conseguir a amizade de uma pessoa digna
é preciso desenvolvermos em nós mesmos as
qualidades que naquela admiramos.*

Sócrates

*Se enxerguei mais longe, foi porque
me apoiei sobre os ombros de gigantes*

Isaac Newton

*Sede como os pássaros que, ao pousarem um
instante sobre ramos muito leves, sentem-nos
ceder, mas cantam! Eles sabem que possuem
asas.*

Victor Hugo

*O futuro tem muitos nomes.
Para os fracos é o inalcançável.
Para os temerosos, o desconhecido.
Para os valentes é a oportunidade.*

Victor Hugo

AValiação Nutricional das Tortas de Algodão e Girassol por Meio da Técnica *in vitro* de Produção de Gases

RESUMO – Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de níveis (0; 7; 14; 21 e 28 % na matéria seca - MS) da torta de algodão (TA) e de girassol (TG) na dieta de ovinos em confinamento sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gases, assim como utilizar esses parâmetros para prever a digestão total da MS da dieta e confrontar essas estimativas com os valores observados nos animais via simulação. As incubações *in vitro* ocorreram simultaneamente aos dois experimentos *in vivo*, nos quais foram usadas dietas (relação volumoso:concentrado de 40:60), contendo os níveis de TA e TG, por meio de delineamento em quadrado latino 5 x 5. No experimento *in vivo* foram usados cinco ovinos canulados no rúmen, que foram os doadores de fluido ruminal para as incubações *in vitro*, e de onde foram obtidos os dados de digestão da matéria orgânica (MO) total da dieta. Nas incubações *in vitro* avaliaram-se os efeitos de dieta, animal e período, sendo incubadas as mesmas dietas e ingredientes do experimento *in vivo*. A partir dos parâmetros cinéticos obtidos pelo uso da técnica *in vitro* de produção de gases (TIVPG) e a composição das dietas experimentais, estimou-se a digestão da MS para as dietas experimentais. O aumento dos níveis de TA na dieta causou redução da produção de gás total (GT) para os alimentos avaliados, e redução da produção de gás da fração de rápida degradação (Vf_1) para o farelo de soja (FS), TA e silagem de milho (SM), e da produção de gás da fração de lenta degradação (Vf_2) para o FS e SM. As taxas de digestão (c_1 e c_2) foram influenciadas de forma cúbica pelos níveis de TA, exceto c_1 para FS. O aumento dos níveis de TG na dieta causou redução da produção de GT para milho moído (MI), TG e SM. Redução de Vf_1 para FS e SM, e de Vf_2 para FS e TG. Taxas de digestão c_1 foram influenciadas de forma linear e quadrática pelos níveis de TG respectivamente para FS e SM, e c_2 de forma linear para FS e cúbica para TG e SM. Observou-se efeito de animal (Vf_1 , Vf_2 , e GT) e período (latência - L e Vf_2) sobre os parâmetros cinéticos. A dieta do animal doador de inóculo, o animal e o período experimental tanto para TA quanto para TG, afetam os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gás e, devem ser considerados nesses tipos de experimentos. A simulação dos valores preditos e observados para a digestão da MO indicou semelhança para os níveis de TA, mas o mesmo comportamento não foi observado para os níveis de TG, mas quando foram usados os dados em conjunto não houve diferença entre valores preditos e observados. Conclui-se que TIVPG pode ser usada para avaliar a digestão total de dietas, por apresentar elevada sensibilidade à variação da composição das mesmas.

Palavras-chave: parâmetros cinéticos, ovinos, nutrição animal, *Gossypium hirsutum*, *Helianthus annuus*.

NUTRITIONAL EVALUATION OF COTTONSEED AND SUNFLOWER CAKES BY *IN VITRO* GAS PRODUCTION TECHNIQUE

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the effect of levels of cottonseed cake (CC) and sunflower cake (SC) (0, 7, 14, 21 and 28 % dry matter basis - DM) in the feedlot wethers diets on the kinetic parameters of *in vitro* gas production, and to use these parameters to predict total DM digestibility of the diet and compare these estimative with the values observed in animals by simulation. *In vitro* incubations were carried out simultaneously to *in vivo* experiments in which were tested diets (forage:concentrate ratio of 40:60) containing CC and SC levels by a 5 x 5 Latin square design. Five rumen fitted sheep were used in the *in vivo* trials, from of which the ruminal fluid was collected for *in vitro* incubations, and where were collected the data of organic matter digestion (OM). *In vitro* incubations were used to evaluate the effects of diet, animal and experimental period, have been incubated the same diets and ingredients used on *in vivo* trials. Kinetic parameters obtained by *in vitro* gas production technique (IVGPT) as well as chemical composition of diets have been used to estimate the organic matter digestion for all experimental diets. The increase in CSC levels in the diets caused a reduction on total gas production (GT) for evaluated foods, and reduction on gas production from rapidly degradation fraction (Vf_1) for soybean meal (SBM), CSC and corn silage (CS), and gas production from slowly degradation fraction (Vf_2) for SBM and CS. The CSC levels had a cubic effect on digestion rates (c_1 and c_2), except c_1 to SBM. The increase in SC levels in the diet caused a reduction on GT production for ground corn (GC), SC and CS. A decrease on gas form Vf_1 for SBM and CS, and Vf_2 for SBM and SC have been observed. The SC levels had linear and quadratic effects on digestion rates (c_1), respectively, for SBM and CS, linear effect on c_2 for SBM and cubic effect for SC and CS. It was observed animal effect on Vf_1 , Vf_2 , and GT, as well as a period effect on latency (L) and Vf_2 . The diet of the donor animal, the animal and the trial period for both CSC and for SC affect kinetic parameters of *in vitro* gas production and thus should be considered in these kinds of trials. The simulation of the predicted and observed values for the digestion of OM showed similarity for CSC levels, but the same behavior was not observed for SC levels. But when we have used the data together there was no differences between predicted and observed values. Thus, IVGPT can be used to assess the overall digestion diets, due to its high sensitivity to the variation of composition of the diets.

Keywords: kinetic parameters, ovine, animal nutrition, *Gossypium hirsutum*, *Helianthus annuus*.

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Correlação entre a digestão total da MO observada (<i>in vivo</i>) e digestão total da MO predita pelos parâmetros cinéticos estimados pela técnica <i>in vitro</i> de produção de gases para a torta de algodão. $P > 0,05$	67
2 Correlação entre a digestão total da MO observada (<i>in vivo</i>) e digestão total da MO predita pelos parâmetros cinéticos estimados pela técnica <i>in vitro</i> de produção de gases para a torta de girassol. $P > 0,05$	68
3 Correlação entre os valores preditos e observados para a digestão total da MO de dietas contendo níveis crescentes de torta de algodão e torta de girassol (dados analisados em conjunto). $P > 0,05$	69

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Composição bromatológica dos alimentos: milho moído (MI), farelo de soja (FS), torta de algodão (TA) e silagem de milho (SM).....	26
2 Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais.....	26
3 Parâmetros cinéticos da degradação ruminal dos ingredientes dietéticos avaliados, estimados pela técnica <i>in vitro</i> de produção de gases usando líquido ruminal proveniente dos animais alimentados com dieta isenta de torta de algodão (TA).....	30
4 Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> estimados para milho moído.....	31
5 Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> estimados para farelo de soja.....	32
6 Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> estimados para torta de algodão.....	32
7 Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> estimados para silagem de milho.....	33
8 Efeitos do animal sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> da produção de gases das dietas.....	34
9 Efeito de período sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> da produção de gases das dietas.....	36
10 Composição bromatológica dos alimentos: milho moído (MI), farelo de soja (FS), torta de girassol (TG) e silagem de milho (SM).....	47
11 Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais.....	47
12 Parâmetros cinéticos da degradação ruminal dos ingredientes dietéticos avaliados, estimados pela técnica <i>in vitro</i> de produção de gases usando líquido ruminal proveniente dos animais alimentados com dieta isenta de torta de girassol (TG).....	51
13 Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> estimados para milho moído.....	52

	Página
14 Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> estimados para farelo de soja.....	53
15 Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> estimados para torta de girassol.....	53
16 Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> estimados para silagem de milho.....	54
17 Efeitos do animal sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> da produção de gases das dietas.....	55
18 Efeito de período sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> da produção de gases das dietas.....	56
19 Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais usadas com torta de algodão.....	64
20 Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais usadas com torta de girassol.....	65
21 Valores médios das taxas de digestão estimadas para as frações de rápida e lenta degradação ruminal para as dietas em função dos níveis de inclusão de torta de algodão.....	66
22 Valores médios das taxas de digestão estimadas para as frações de rápida e lenta degradação ruminal para as dietas em função dos níveis de inclusão de torta de girassol.....	66

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Referências Bibliográficas.....	19
2 PARÂMETROS CINÉTICOS <i>IN VITRO</i> DE ALIMENTOS E DIETAS CONTENDO TORTA DE ALGODÃO.....	21
Resumo.....	21
Abstract.....	22
2.1 Introdução.....	23
2.2 Material e Métodos.....	25
2.3 Resultados e Discussão.....	30
2.4 Conclusões.....	38
2.5 Referências Bibliográficas.....	39
3 PARÂMETROS CINÉTICOS DE ALIMENTOS E DIETAS EM FUNÇÃO DE NÍVEIS DE TORTA DE GIRASSOL.....	42
Resumo.....	42
Abstract.....	43
3.1 Introdução.....	44
3.2 Material e Métodos.....	46
3.3 Resultados e Discussão.....	51
3.4 Conclusões.....	58
3.5 Referências Bibliográficas.....	59
4 SIMULAÇÃO DA DIGESTÃO DE DIETAS CONTENDO COPRODUTOS DO BIODIESEL PELA TÉCNICA <i>IN VITRO</i> DE PRODUÇÃO DE GASES.....	61
Resumo.....	61
Abstract.....	62
4.1 Introdução.....	63
4.2 Material e Métodos.....	64

	Página
4.3 Resultados e Discussão.....	67
4.4 Conclusões.....	71
4.5 Referências Bibliográficas.....	72
5 CONCLUSÕES.....	74

1 INTRODUÇÃO

A utilização dos nutrientes pelos ruminantes depende principalmente dos eventos que acontecem no rúmen-retículo, os quais são exercidos pela microbiota ruminal. Desta ação, ocorre a digestão de carboidratos (fibrosos e não fibrosos), proteínas e lipídeos, e resulta na síntese de ácidos graxos voláteis e células microbianas, os quais representam a principal fonte de energia e proteína para estes animais (Van Soest, 1994).

No processo de formulação de dietas utilizando programas de computador, como por exemplo, o The Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) e Ração de Lucro Máximo (RLM), há a necessidade de informações detalhadas da composição dos alimentos, incluindo dos carboidratos e compostos nitrogenados (N), particularmente das suas frações e suas respectivas taxas de digestão (características cinéticas) no rúmen, bem como da digestão intestinal para as frações que escapam do rúmen.

Essas informações possibilitam a adequação da disponibilidade de carboidratos e N no rúmen de forma a otimizar a eficiência microbiana e o seu fluxo para o duodeno, bem como evitar que ocorra excesso ou deficiência de N no ambiente ruminal. Como consequência, vislumbra-se aumentar a eficiência de uso dos nutrientes pelo animal, aumento do desempenho produtivo e redução do custo das dietas e da excreção de metano e N para o ambiente (Russell et al., 1992; Sniffen et al., 1992).

Desta forma, a obtenção de estimativas das taxas de digestão dos carboidratos e proteínas no rúmen é vital para o processo de adequação (formulação) de dietas para os ruminantes. Adicionalmente, essas informações podem ser utilizadas para a avaliação de alimentos e seleção de plantas forrageiras

e seus cultivares que proporcionem maior eficiência de uso dos nutrientes pelo animal.

Os métodos usados para avaliação dos parâmetros cinéticos dos alimentos destinados aos ruminantes podem ser *in situ* e *in vitro*, os quais consistem da mensuração do desaparecimento da massa de amostra e seus componentes (proteína, fibra, etc.), também denominados de métodos gravimétricos, ou métodos que se baseiam na mensuração dos produtos finais da fermentação, denominados metabólicos.

O método *in situ* consiste da incubação do alimento por meio de sacos de nylon (Nocek, 1988) ou TNT – tecido não tecido (Valente et al., 2011), colocados diretamente no rúmen do animal, através de uma cânula, em vários tempos de incubação, onde mensura-se o resíduo para cada tempo, de modo a obter-se uma curva de desaparecimento do alimento (amostra) ou do resíduo (Nocek, 1988). Neste método, é assumido que o desaparecimento da amostra do saco representa a sua degradação pela ação dos microrganismos que entraram pela porosidade deste saco, o qual não pode restringir o acesso dos microrganismos do rúmen, e ao mesmo tempo deve evitar a perda de partículas do mesmo (López et al., 1999; Araújo et al., 2010).

Embora seja o método mais antigo e utilizado para obtenção de dados relacionados à degradabilidade dos alimentos, pois proporciona as condições de ambiente ruminal do animal (Araújo et al., 2010), o método *in situ* tem como limitações o escape de partículas dos sacos, que não necessariamente são solúveis e apresentam elevada degradação ruminal, assim como a contaminação dos resíduos de incubação com proteína microbiana, dificultando a interpretação dos perfis de degradação da proteína, particularmente para alimentos que apresentam baixo teor de proteína bruta (PB), onde a contaminação dos resíduos com compostos nitrogenados da microbiota ruminal ganham grande proporção em relação ao nitrogênio presente no alimento (Nocek, 1988). Apresenta ainda como desvantagens a necessidade da manutenção de animais cirurgicamente preparados, o que tem sofrido forte pressão da sociedade como um todo, no que tange às políticas de bem estar animal, no sentido de evitar esse tipo de prática.

Considerando as limitações acima apresentadas pelo método *in situ*, foi desenvolvido o método da incubação *in vitro*, o qual consiste da incubação da amostra do alimento a ser testado (previamente moída, a 1,0 mm) em frascos de

vidro com líquido ruminal, solução tampão (McDougall, 1948), os quais são mantidos a 39 °C em banho-maria ou estufa, sob condições anaeróbicas e agitação.

Esta técnica não necessita de animais canulados no rúmen, bem como proporciona a manutenção de condições adequadas para isolamento das características inerentes aos alimentos, o que não acontece no método *in situ* (Pell e Schofield, 1993). Entretanto, pode apresentar problemas relacionados ao tamponamento do meio, decorrentes do acúmulo de produtos finais do metabolismo microbiano em função do uso inadequado de solução tamponante, bem como inadequada anaerobiose ou potencial redox, reduzido número inicial de microrganismos decorrentes de inóculo de baixa qualidade, ou a deficiência de nutrientes essenciais aos microrganismos (Mertens, 2005).

Nos sistemas *in vitro* podem ser utilizados microrganismos ruminais ou suas enzimas, dependendo do objetivo. O uso de microrganismos é mais comum quando objetiva-se avaliar a degradabilidade da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN), enquanto o uso de enzimas proteolíticas, oriundas da microbiota ruminal ou comerciais (provenientes de *Streptomyces griseus*) são utilizadas para obtenção de dados cinéticos da degradação da PB, pois evita a contaminação dos resíduos de alimento nos tempos de incubação com proteína microbiana.

Ainda no sistema *in vitro*, as amostras são pesadas (0,25 ou 0,50 g) em recipientes adequados (erlenmeyers ou tubos de digestão próprios ou frascos de vidro do tipo penicilina de 50 mL), nos quais adiciona-se solução tampão reduzida (borbulhada com gás carbônico – CO₂ durante 15 minutos, pH entre 6,8 – 7,0) e inóculo ruminal, sob aspersão de CO₂. Então os frascos são fechados com válvula de Bunsen e permanecem em banho-maria sob agitação. Nos respectivos tempos pré-definidos, os recipientes são retirados e o conteúdo é filtrado, lavado em cadinhos filtrantes de porosidade zero, secos a 105 °C e então pesados.

Considerando o trabalho e o tempo necessário para obtenção de perfis de degradação dos alimentos utilizando os métodos gravimétricos *in vitro*, em que são necessários frascos contendo a amostra nos vários tempos de incubação, onde os resíduos são analisados, foi desenvolvida a técnica metabólica, a qual consiste da mensuração do volume de gases acumulados nos frascos de incubação, os quais representam a digestão do alimento, notadamente dos seus carboidratos fibrosos e não fibrosos (Cabral et al., 2002; Dijkstra et al., 2005).

Entretanto, os gases acumulados nos frascos de incubação apresentam

origem direta e indireta, bem como estão sujeitos a efeitos da via metabólica usada pela microbiota inoculada. A produção de gás direta ocorre pela liberação de CO₂ e metano decorrentes da fermentação dos monômeros resultantes da digestão dos polímeros dietéticos, uma vez que os frascos mantem o ambiente anaeróbico, e nesta perspectiva não há oxidação completa dos monômeros até CO₂ e água (ambientes aeróbicos), sendo gerados ácidos graxos voláteis (AGV's) e gases. Já a produção de gás indireta resulta da reação dos AGV's com o bicarbonato do meio tamponante, o qual gera ácido carbônico e adiante se dissocia em CO₂ e água (Blummel et al., 1997). Portanto, a produção total de gás representa a degradação e fermentação do substrato de forma muito acurada, mantendo alta correlação com a digestibilidade de alimentos e dietas obtidos no animal.

Como fontes de variação, adicionais a composição intrínseca do alimento, a variação na sua proporção de carboidratos não fibrosos (CNF) e FDN pode afetar a produção de acetato e propionato, o que afeta a quantidade de gás liberado. A fermentação de glicose a acetato gera dois moles de CO₂, enquanto que a fermentação de glicose a propionato não gera CO₂, o que pode afetar os parâmetros cinéticos, como produção de gás total e taxas de digestão (Beuvink e Spoelstra, 1992).

A vantagem da técnica de produção de gases é que esta reduz a quantidade de amostra utilizada na incubação, pois nos mesmos frascos de incubação as leituras são feitas ao longo do tempo, além de possibilitar a estimativa da taxa de digestão da fração solúvel ou de rápida degradação ruminal, o que não tem sido possível com o uso dos métodos gravimétricos (Pell e Schofield, 1993). A leitura dos gases é feita por intermédio de sensores de pressão acoplados a voltímetros (semi-automático) ou computadores (automáticos) ou por meio de manômetros/seringas (Dijkstra et al., 2005).

Nos sistemas *in vitro* em que se utiliza inóculo ruminal, há a necessidade de proximidade dos animais doadores do inóculo com o local da incubação, para garantir a qualidade deste inóculo. Na maioria das vezes, os resultados obtidos *in vitro* são de baixa qualidade por causa da falta de cuidado na coleta e transporte do líquido ruminal até o laboratório. Entretanto, é possível realizar o transporte do líquido ruminal mediante o uso de garrafas térmicas pré-aquecidas, das quais é retirado totalmente o ar destas garrafas por intermédio do seu enchimento completo com o líquido ruminal, na tentativa de garantir a anaerobiose e com temperatura em

torno de 39 °C.

Borges et al. (2002) concluíram que o líquido ruminal conservado em garrafas térmicas por até 12 horas manteve-se dentro dos padrões de normalidade quanto aos parâmetros físicos, químicos e biológicos. Ressaltam, entretanto que quanto mais rápido a sua utilização após a coleta do material, mais fidedignos serão os resultados.

Uma forma prática de se avaliar a qualidade do líquido ruminal, ou seja, se este ainda está apto para uso em ensaios *in vitro*, é a observação, no momento da inoculação dos frascos de incubação, da presença e motilidade de protozoários, uma vez que são de fácil visualização e apresentam elevada sensibilidade ao ar e mudanças do meio, queda da temperatura e presença de luz. Estes podem ser visualizados por meio de microscopia óptica ou com uso de lupa eletrônica (Makkar e McSweeney, 2005).

Para a redução da exposição da microbiota ruminal ao oxigênio torna-se necessária a utilização de CO₂, isento de oxigênio, e a leve aspensão deste último sobre o líquido ruminal durante todo o tempo de manipulação do mesmo. Do momento da coleta até a manipulação do líquido ruminal e inoculação dos frascos de incubação, este precisa ser mantido sob temperatura de 39 °C, a qual é a mesma observada no líquido ruminal quando recém coletado do rúmen.

Por fim, vale ressaltar que tem havido esforço do meio científico no desenvolvimento de métodos que reduzam o labor, o tempo e o custo da pesquisa na área de ruminantes, e que ao mesmo tempo minimizem o uso de animais cirurgicamente preparados, no sentido de assegurar o uso de animais na pesquisa e o bem-estar destes animais.

Nas duas últimas décadas tem havido incentivo dos governos federal e estadual na produção de biocombustíveis, os quais são oriundos da transformação dos ácidos graxos de oleaginosas em biodiesel. Desta forma, ocorreu neste período aumento expressivo no cultivo de oleaginosas em várias regiões do Brasil, especialmente na região Centro Oeste, aumentando, portanto a disponibilidade das tortas dessas oleaginosas (algodão e girassol) para uso na dieta de ruminantes como fonte de energia, proteína e fibra, bem como em decorrência do baixo custo (Abdalla et al., 2008).

Apesar dessas vantagens já mencionadas, ainda há controvérsias sobre os efeitos desses ingredientes no consumo de MS, microbiota ruminal e digestão da

FDN. Pois, pelo fato de apresentarem teores médios a elevados de extrato etéreo (EE) entre 8 e 15 % na MS, as recomendações sobre os níveis de inclusão nas dietas variam de 10 a 20 % na MS, com o propósito de limitar a inclusão de lipídeos até o nível máximo de 6 %, a fim de minimizar os efeitos negativos desses no ambiente ruminal (Jenkins et al., 2008).

Os efeitos da inclusão de lipídeos nas dietas de ruminantes tem sido associados ao efeito tóxico dos ácidos graxos insaturados aos microrganismos fibrolíticos ou ao efeito de proteção física das partículas dos alimentos, o que dificultaria a aderência da microbiota ruminal ao substrato. Considerando que a aderência é um evento necessário para que ocorra a digestão dos carboidratos fibrosos, especialmente da celulose, qualquer composto do meio que iniba ou previna a aderência tem consequências negativas na digestão da FDN pela microbiota ruminal (Jenkins et al., 2008).

Portanto, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes níveis de inclusão das tortas de algodão e de girassol na dieta de ovinos em confinamento sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gases, assim como de utilizar esses parâmetros cinéticos para prever a digestão total da matéria seca da dieta e confrontar essas estimativas com os valores observados nos animais.

1.1 Referências Bibliográficas

- ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C.; GODOI, A. R.; CARMO, C. A.; EDUARDO, J. L. P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, suplemento especial, p. 260-258, 2008.
- ARAÚJO, S. A. C.; VÁSQUEZ, H. M.; COELHO DA SILVA, J. F.; DEMINICIS, B. B.; CAMPOS, P. R. S. S.; LISTA, F. N. Degradação ruminal e estimativa de consumo de genótipos de capim-elefante anão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 1, p. 18-24, 2010.
- BEUVINK, J. M. W.; SPOELSTRA, S. F. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms in vitro. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Amsterdam, v. 37, n. 4, p. 505-509, 1992.
- BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. In vitro gas production: a technique revisited. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Hoboken, v. 77, p. 24-34, 1997.
- BORGES, N. C.; SILVA, L. A. F.; FIORAVANTI, M. C. S.; CUNHA, P. H. J.; MORAES, R. R.; GUIMARÃES, P. L.; MARTINS, M. E. P. Avaliação do suco ruminal de bovinos "a fresco" e após 12 horas de conservação. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 57-63, 2002.
- CABRAL, L. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J. T.; PEREIRA, O. G.; VELOSO, R. G.; PEREIRA, E. S. Cinética ruminal das frações de carboidratos, produção de gás, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e NDT estimado da silagem de milho com diferentes proporções de grãos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 2332-2339, 2002.
- CNCPS The Cornell Net Carbohydrate and Protein System. Version 6.1.: Cornell University. Disponível em: <<http://www.cncps.cornell.edu/index.html>>. Acesso em: 10 março 2014.
- DIJKSTRA, J.; KEBREAB, E.; BANNINK, A.; FRANCE, J.; LÓPEZ, S. Application of the gas production technique to feed evaluation systems for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, p. 561-578, 2005.
- JENKINS, T. C.; WALLACE, R. L.; MOATE, P. J.; MOSLEY, E. E. Recent advances in bihydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 397-412, 2008.
- LÓPEZ, S.; FRANCE, J.; DHANOA, M. S.; MOULD, F.; DIJKSTRA, J. Comparison of mathematical models to describe disappearance curves obtained using the polyester bag technique for incubating feeds in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, p. 1875-1888, 1999.
- MAKKAR, H. P. S.; McSWEENEY, C. S. **Methods in gut microbial ecology for ruminants**. Netherlands: Springer, 2005. 225 p.
- McDOUGALL, E. I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemical Journal**, London, v. 43, n. 1, p. 99-109, 1948.

MERTENS, D. R. Rate and extent of digestion. In: DIJKSTRA, J; FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Ed.). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. 2. ed. Oxfordshire: CABI International, 2005. cap. 2, p. 13-47.

NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 8, p. 2051-2069, 1988.

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

RLM Ração de Lucro Máximo. Versão 3.2.: Integra Software. Disponível em: <<http://www.integrasoftware.com.br/rlm31/produto.php>>. Acesso em: 10 março 2014.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3551-3561, 1992.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets; II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

VALENTE, T. N. P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; QUEIROZ, A. C.; SAMPAIO, C. B.; GOMES, D. I. Evaluation of neutral detergent fiber contents in forages, concentrates and cattle feces ground at different particle sizes and using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 5, p. 1148-1154, 2011.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

PARÂMETROS CINÉTICOS *IN VITRO* DE ALIMENTOS E DIETAS CONTENDO TORTA DE ALGODÃO

RESUMO – Objetivou-se avaliar os efeitos de dietas contendo níveis de torta de algodão (TA) (0; 7; 14; 21 e 28 % na matéria seca - MS) fornecida ao animal doador de inóculo, efeito do animal e do período, sobre os parâmetros da degradação *in vitro* da MS de alimentos e das dietas. O experimento consistiu em duas etapas: a) cinco ovinos canulados no rúmen foram submetidos às dietas usando um delineamento em quadrado latino 5 x 5; b) os ingredientes dietéticos e as dietas foram incubados *in vitro* pela técnica de produção de gases. De acordo com o experimento *in vitro*, os níveis de TA na dieta causaram redução da produção de gás total ($P < 0,05$) dos alimentos avaliados, e redução da produção de gás da fração de rápida degradação ($P < 0,05$) para o farelo de soja (FS), TA e silagem de milho (SM), e da produção de gás da fração de lenta degradação para o FS e SM. As taxas de degradação (c_1 e c_2) foram influenciadas de forma cúbica ($P < 0,05$) pelos níveis de TA. Houve efeito de animal e período sobre a maioria dos parâmetros cinéticos. A dieta do animal, o animal e o período experimental afetam os parâmetros cinéticos da produção de gases.

Palavras-chave: produção de gás *in vitro*, ovinos, ruminantes, nutrição animal, *Gossypium hirsutum*.

IN VITRO KINETIC PARAMETERS OF FEEDSTUFFS AND DIETS CONTAINING COTTONSEED CAKE

ABSTRACT – The objective of this work was to evaluate the effects of cottonseed cake (CC) levels on the diets (0; 7; 14; 21 and 28 % dry matter basis - DM), inoculum donor, animal and period on *in vitro* DM digestion parameters of feedstuffs and diets. The trial was divided in two phases: a) five ruminally fitted wethers were submitted to diets according to a 5 x 5 Latin Square design; b) each feedstuff and diet were incubated by *in vitro* gas production technique. Increasing levels of CC in the diets of animal donor caused reduction in total gas production ($P < 0.05$) for all feedstuffs and also reduced gas production of rapidly digested fraction ($P < 0.05$) of soybean meal (SBM), CC and corn silage (CS). Additionally, the same behavior has been observed for slowly digested fraction of SBM and CS. Digestion rates (c_1 and c_2) were cubic influenced ($P < 0.05$) by CC. Animal and period effects have been observed for mostly kinetic parameters. The diet of animal donor, animal and period affects *in vitro* gas production.

Keywords: *in vitro* gas production, ovine, ruminant, animal nutrition, *Gossypium hirsutum*.

2.1 Introdução

O rúmen é o principal local onde ocorre a digestão dos polímeros dietéticos em ruminantes. A digestão neste compartimento é atribuída à ação da microbiota ruminal, que transforma os nutrientes complexos da dieta em ácidos graxos voláteis e proteína microbiana, os quais representam a principal fonte de energia e aminoácidos para esses animais (Van Soest, 1994). A digestão dos nutrientes no rúmen é dependente das características intrínsecas dos alimentos e da sua interação com a microbiota ruminal. O conhecimento das características cinéticas da degradação ruminal dos polímeros dietéticos é fundamental no processo de adequação de dietas, no sentido de se otimizar o uso eficiente de energia e de compostos nitrogenados pelo animal.

A técnica *in vitro* de produção de gases tem sido amplamente usada para avaliar o valor nutritivo de alimentos ou dietas usadas para os ruminantes. As vantagens desta técnica em relação ao método gravimétrico *in vitro* ou a técnica *in situ* residem no fato de não necessitar de animais canulados no rúmen, pois o inóculo pode ser obtido através de sonda esofágica ou pelo uso das fezes de animais (Mauricio et al., 2001). Ainda ocorre menor consumo de amostra, uma vez que o volume de gás é mensurado na mesma amostra ao longo do período de incubação; permite ainda estimar a taxa de degradação ruminal da fração solúvel dos alimentos, quer seja pela utilização de modelos bicompartimentais ou pela diferença da produção de gás entre a matéria seca e a fibra em detergente neutro (Doane et al., 1997); e finalmente é menos trabalhoso e consumidor de tempo do que a técnica *in situ* (Pell e Schofield, 1993).

Entretanto, inerente à própria técnica, algumas fontes de variação podem afetar os parâmetros cinéticos estimados e, com isso, inviabilizar o uso das informações obtidas a partir da produção de gás *in vitro* na avaliação de alimentos e formulação de dietas. Destas fontes de variação, as mais importantes parecem estar associadas ao animal doador do inóculo, considerando as possíveis diferenças existentes entre animais quanto a sua seletividade, mastigação, absorção, características físico-químicas no rúmen e, conseqüentemente, sua microbiota; da dieta ofertada ao animal durante o período e antes da coleta do inóculo, a qual pode afetar as características físico-químicas no rúmen e sua microbiota coletada para incubação; bem como os procedimentos usados para a conservação, inoculação,

preparo do meio e aspectos associados ao método *in vitro* utilizado (Rymer et al., 2005).

Considerando as fontes de variação acima citadas, a técnica *in vitro* de produção de gases tem elevado potencial para avaliar variações na disponibilidade de nutrientes, especialmente dos carboidratos de alimentos e dietas, bem como da presença de efeitos inibitórios (lipídeos) ao crescimento microbiano ou da concentração de compostos indigestíveis, os quais podem ocorrer em alguns alimentos específicos, como os coprodutos da produção de biodiesel. Neste sentido, no estado de Mato Grosso existe uma elevada disponibilidade de coprodutos da produção de biodiesel, com destaque para a torta de algodão. Estes ingredientes tem sido utilizados em dietas de animais ruminantes como fonte de proteína, energia e fibra, pois proporcionam redução do custo das dietas. Entretanto, os seus efeitos sobre o ambiente ruminal e digestão ainda não estão bem descritos, o que restringe o seu uso em níveis adequados (Abdalla et al., 2008).

Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito de níveis de torta de algodão na dieta do animal doador de inóculo, do próprio animal e período sobre os parâmetros cinéticos da produção de gás *in vitro*.

2.2 Material e Métodos

A fase experimental a campo foi realizada no setor de Ovinocultura da Fazenda Experimental da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), localizado à 15°51'19.80" latitude sul e 56°04'18.05" longitude oeste, município de Santo Antônio do Leverger, distante cerca de 33 km da capital do estado, Cuiabá. As incubações *in vitro* foram conduzidas simultaneamente ao experimento a campo, no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMT, localizada em Cuiabá, MT.

Na fase experimental a campo foram utilizados cinco borregos machos castrados, com predominância da raça Santa Inês, com peso médio corporal de 54,8 ± 7,11 kg, fistulados no rúmen, que foram mantidos em baias individuais de 4,06 m², cobertas, dotadas de bebedouro e comedouro. O experimento consistiu em um delineamento em quadrado latino 5 x 5, de cinco períodos experimentais de 15 dias cada, sendo os primeiros dez dias de cada período destinados à adaptação dos animais às dietas, e os cinco últimos destinados ao monitoramento do consumo e à coleta de amostras de alimentos e sobras, bem como de líquido ruminal para as incubações *in vitro*. Antes de serem confinados, os animais foram identificados, vacinados contra clostridioses, tratados contra endoparasitoses, casqueados e pesados.

As dietas foram compostas com 40 % de volumoso (silagem de milho) e 60 % de concentrado, sendo este último composto por milho moído, farelo de soja, ureia/sulfato de amônio (na proporção de 9:1), mistura mineral comercial e torta de algodão (TA) em níveis crescentes de 0; 7; 14; 21 e 28 % com base na matéria seca (MS) da dieta, e de acordo com os tratamentos experimentais. As dietas foram formuladas de modo a serem isoproteicas, com teor de proteína bruta (PB) de 16 % (NRC, 2007) e foram fornecidas duas vezes ao dia, às 8:00 h e às 16:00 h, na forma de dieta total permitindo-se 10 % de sobras diárias.

A composição bromatológica dos alimentos e das dietas experimentais estão demonstradas nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1. Composição bromatológica dos alimentos: milho moído (MI), farelo de soja (FS), torta de algodão (TA) e silagem de milho (SM)

Componente	Ingrediente			
	MI	FS	TA	SM
Matéria seca – MS ⁽¹⁾	90,85	91,16	94,00	29,11
Matéria mineral (% MS)	1,20	7,07	4,25	8,93
Matéria orgânica (% MS)	98,80	92,93	95,75	91,07
Proteína bruta (% MS)	8,24	54,01	30,20	6,23
Extrato etéreo (% MS)	5,39	1,24	10,00	2,32
Carboidratos totais (% MS)	85,17	37,68	55,55	82,52
Fibra em detergente neutro (% MS)	12,17	12,57	50,56	55,55
Fibra em detergente ácido (% MS)	3,03	9,60	38,49	37,32
FDNcp (% MS) ⁽²⁾	10,82	10,24	47,33	48,41
Carboidratos não fibrosos (% MS)	74,35	27,44	8,22	34,11
FDNi (% MS) ⁽³⁾	1,49	1,60	27,05	22,06
NIDN ⁽⁴⁾	10,24	3,17	17,10	16,68
NIDA ⁽⁵⁾	4,03	1,79	10,20	7,47

⁽¹⁾% na matéria natural. ⁽²⁾Fibra em detergente neutro tratada com alfa-amilase termoestável e corrigida para cinzas e proteína. ⁽³⁾Fibra em detergente neutro indigestível. ⁽⁴⁾Nitrogênio insolúvel em detergente neutro (% do N total). ⁽⁵⁾Nitrogênio insolúvel em detergente ácido (% do N total).

TABELA 2. Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais

Ingrediente	Dieta (% de torta de algodão na MS ⁽¹⁾)				
	0	7	14	21	28
Milho moído	41,4	37,2	33,6	29,4	25,2
Farelo de soja	16,2	13,2	10,2	7,2	4,2
Torta de algodão	0,0	7,2	13,8	21,0	28,2
Silagem de milho	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0
Ureia + sulfato de amônio (9:1)	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Mistura mineral ⁽²⁾	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Componente	Composição bromatológica (%)				
Matéria seca ⁽³⁾	65,93	66,50	66,38	66,81	66,63
Matéria mineral (% MS)	7,91	7,93	7,92	7,94	7,95
Matéria orgânica (% MS)	92,09	92,07	92,08	92,06	92,05
Proteína bruta (% MS)	16,17	16,37	16,45	16,65	16,86
Extrato etéreo (% MS)	3,36	3,81	4,25	4,70	5,16
Carboidratos totais (% MS)	74,37	73,66	73,14	72,43	71,72
Fibra em detergente neutro (% MS)	29,29	32,05	34,57	37,32	40,07
Fibra em detergente ácido (% MS)	24,81	27,17	29,31	31,66	34,02
FDNcp (% MS) ⁽⁴⁾	25,50	28,15	30,58	33,22	35,87
Carboidratos não fibrosos (% MS)	48,87	45,52	42,56	39,20	35,85
FDNi (% MS) ⁽⁵⁾	9,70	11,54	13,22	15,06	16,89
Nutrientes digestíveis totais ⁽⁶⁾	74,32	73,61	72,46	71,10	69,79

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Mistura mineral comercial para ovinos – níveis de garantia/kg: Ca, 177 g; P, 80 g; S, 20 g; Na, 108 g; Co, 40 mg; Cu, 550 mg; I, 60 mg; Se, 15 mg; Mn, 1200 mg; Zn, 3000 mg. ⁽³⁾% na matéria natural. ⁽⁴⁾Fibra em detergente neutro tratada com alfa-amilase termoestável e corrigida para cinzas e proteína. ⁽⁵⁾Fibra em detergente neutro indigestível. ⁽⁶⁾Estimado de acordo com Detmann et al. (2008).

Concomitantemente, na fase laboratorial foram realizadas cinco incubações *in vitro* pela técnica de produção de gases dos ingredientes (milho moído, farelo de soja, torta de algodão e silagem de milho) e dietas (0; 7; 14; 21 e 28 % de TA na MS da dieta), uma em cada período experimental, seguindo a fase experimental a campo, por meio de delineamento em quadrado latino 5 x 5. As incubações *in vitro* foram realizadas de acordo com as técnicas descritas por Pell e Schofield (1993), com algumas adaptações, as quais são descritas a seguir: foram usados frascos de vidro cor âmbar com capacidade de 120 mL, onde foram pesados aproximadamente 200 mg MS das amostras dos alimentos e das dietas.

Para a incubação *in vitro* dos ingredientes, o líquido ruminal (inóculo) foi obtido dos cinco ovinos alimentados com as dietas (4 horas após a alimentação) em cada período experimental, a fim de calcular o efeito do inóculo. Para as dietas contendo os diferentes níveis de TA, o líquido ruminal foi obtido exatamente do animal que era submetido ao mesmo nível de TA que seria incubado *in vitro*, em cada período experimental. Após a coleta do líquido ruminal, o mesmo foi acondicionado em garrafa térmica pré-aquecida e levado para o Laboratório de Nutrição Animal, onde foi filtrado em camada dupla de gaze, sendo toda a sua manipulação realizada sob aspensão de gás carbônico (CO₂) isento de oxigênio.

Aos frascos foram adicionados 24 mL de solução tampão de McDougall (McDougall, 1948), previamente reduzido com CO₂ (pH 6,8). Os frascos foram mantidos a 39 °C, e meia hora após, 6 mL de inóculo ruminal (sob aspensão de CO₂) proveniente dos ovinos do experimento a campo foram adicionados a estes frascos. Imediatamente após a adição do inóculo, os frascos receberam tampa de borracha, lacre de alumínio e foram colocados em banho-maria, com agitação orbital (38,6 rpm), também a 39 °C.

As leituras de pressão (psi – pressão por polegada quadrada) foram realizadas por meio de um transdutor de pressão (Datalogger Pressure[®], Press Data 800, LANA-CENA/USP, Piracicaba-SP) nos seguintes tempos: 2; 4; 6; 8; 10; 12; 24; 48; 72 e 96 horas. A conversão de psi para mL foi feita a partir da equação de regressão ($Y = a \pm bx$) em que o coeficiente “b” da equação possibilitou a correção e transformação de pressão (psi) em volume de gás (mL) corrigido para a pressão barométrica do dia da incubação (e por incubação) para todos os dados. Para isso, injetou-se volume conhecido de gás em frascos mantidos sob as mesmas condições das amostras incubadas. As pressões correspondentes aos volumes injetados foram

medidas, e utilizadas para a obtenção da equação de regressão entre pressão e volume de gás.

As amostras dos ingredientes dietéticos, concentrados, dietas e sobras foram submetidas à pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar com temperatura de 55 °C por 72 horas. Em seguida, essas amostras foram pesadas e moídas em moinho estacionário tipo Willey com peneira de 1,0 mm. O teor de MS foi determinado em estufa a 105 °C por 12 horas conforme AOAC (1990).

Posteriormente, todas as amostras foram analisadas quanto ao teor de matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), PB e extrato etéreo (EE) também de acordo com os métodos da AOAC (1990). Na análise de fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa-amilase estável ao calor (Mertens, 2002), assim como de fibra em detergente ácido (FDA), sendo os respectivos resíduos analisados para cinzas e compostos nitrogenados, conforme descrito por Licitra et al. (1996).

Os carboidratos totais (CT) foram calculados a partir da equação proposta por Sniffen et al. (1992):

$$CT = 100 - (\% PB + \% MM + \% EE)$$

Em razão da presença de ureia nas dietas, os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados conforme Hall (2000):

$$CNF = 100 - [(\% PB - \% PB \text{ da ureia} + \% \text{ de ureia}) + \% FDN_{cp} + \% EE + \% \text{ cinzas}]$$

onde FDN_{cp} é a fibra em detergente neutro, tratada com alfa-amilase termoestável e corrigida para cinzas e proteína.

O teor de NDT (nutrientes digestíveis totais) dos alimentos e dietas foi calculado de acordo com Detmann et al. (2008).

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

$$V(t) = Vf_1 / (1 + \exp(2 - 4 * c_1 * (T - L))) + Vf_2 / (1 + \exp(2 - 4 * c_2 * (T - L)))$$

onde V(t) é o volume total de gás (mL) acumulado no tempo t; Vf₁, o volume de gás (mL) oriundo da fração de rápida degradação; c₁, a taxa de degradação (h⁻¹) da fração de rápida degradação; T, o tempo (h); L, a latência (h); Vf₂, o volume de gás (mL) da fração de lenta degradação; c₂, a taxa de degradação (h⁻¹) da fração de lenta degradação, por meio do procedimento de modelos não lineares (PROC NLIN) do pacote estatístico SAS 9.2 (SAS Institute Inc., 2009).

Os dados de produção de volume de gás total (GT) e das frações de lenta

(Vf₂) e rápida (Vf₁) degradação ruminal, as taxas de degradação destas frações (c₂ e c₁) e a latência (L) foram submetidos à análise de variância e analisados usando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS 9.2 (SAS Institute Inc., 2009), considerando-se um delineamento em quadrado latino 5 x 5.

Os níveis de TA foram considerados como efeito fixo, enquanto que o animal e o período, como efeito aleatório. A opção LSMEANS foi utilizada para gerar as médias individuais para cada tratamento. Contrastes ortogonais foram utilizados para partição específica dos efeitos de níveis de TA em linear, quadrático, cúbico e quártico. Antecipa-se que em virtude da ausência do efeito quártico, este foi omitido das tabelas. Para o efeito de animal e período as comparações foram realizadas pela Diferença Mínima Significativa de Fisher. As significâncias foram declaradas a $P < 0,05$.

2.3 Resultados e discussão

Quando se utilizou inóculo proveniente dos animais alimentados com as dietas sem inclusão de TA, a maior produção de GT dos ingredientes utilizados foi verificada para o milho moído, seguido da silagem de milho, farelo de soja e torta de algodão (Tabela 3).

TABELA 3. Parâmetros cinéticos da degradação ruminal dos ingredientes dietéticos avaliados, estimados pela técnica *in vitro* de produção de gases usando líquido ruminal proveniente dos animais alimentados com dieta isenta de torta de algodão (TA)

Parâmetro Cinético	Ingredientes				EPM ⁽¹⁾	P valor
	Milho moído	Farelo de soja	Torta de algodão	Silagem de milho		
Vf ₁ (mL) ⁽²⁾	35,5567 a	30,5678 a	16,5543 b	19,0116 b	4,1315	<,0001
c ₁ (h ⁻¹) ⁽³⁾	0,1160	0,1678	0,5694	0,1388	0,2257	0,4264
L (h) ⁽⁴⁾	3,1879 a	0,5351 c	0,2787 c	2,1607 b	0,3087	<,0001
Vf ₂ (mL) ⁽⁵⁾	43,7354 a	23,4548 b	18,8399 b	39,1331 a	4,4623	<,0001
c ₂ (h ⁻¹) ⁽⁶⁾	0,0314 a	0,0240 ab	0,0153 c	0,0188 bc	0,0030	0,0029
GT (mL) ⁽⁷⁾	79,2066 a	53,9370 c	35,3086 d	58,0592 b	5,1888	<,0001
mL gás/mg MS ⁽⁸⁾	0,3960	0,2697	0,1765	0,2903	---	---
mL gás/mg CT ⁽⁹⁾	0,4650	0,7157	0,3178	0,3518	---	---

⁽¹⁾Erro padrão da média. ⁽²⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽³⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽⁴⁾Latência. ⁽⁵⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽⁶⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽⁷⁾Produção de gás total (Vf₁ + Vf₂). ⁽⁸⁾Matéria seca. ⁽⁹⁾Carboidratos totais. Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si, pelo teste de Diferença Mínima Significativa de Fisher, à 5 % de probabilidade (P < 0,05).

Embora o farelo de soja possua baixo teor de fibra em detergente neutro – FDN (12,57 % MS) e fibra em detergente neutro indigestível - FDNi (1,60 % MS) comparado a silagem de milho (55,55 e 22,06 % MS, respectivamente), a sua menor produção de gás em relação à silagem de milho deve-se ao seu elevado teor de PB. Cone e van Gelder (1999) observaram que a fermentação de proteínas causava redução da produção de gás *in vitro* da ordem de 2,48 mL g⁻¹ na MO, principalmente nas primeiras horas de incubação, uma vez que a maior parte da proteína faz parte da fração solúvel do alimento, podendo conduzir a uma incorreta interpretação dos dados.

A produção de gás *in vitro* é uma técnica relativamente sensível à variação da composição bromatológica dos alimentos ou dietas, sendo observada de modo geral, maior produção de gás para os ingredientes com elevado teor de CNF e baixo teor de FDN e FDNi, como é o caso do milho moído.

Percebe-se ainda na Tabela 3, que quando se usa inóculo ruminal dos animais que não recebiam TA na dieta, o milho moído apresentou o maior valor médio para a L, comparado aos demais alimentos. Embora o milho seja um ingrediente comum na dieta dos ovinos, provavelmente a microbiota ruminal destes animais não seja predominantemente representada por microrganismos amilolíticos e, portanto, ocorreu limitação inicial de células (enzimas também amilolíticas) para a degradação em máxima velocidade do milho, especialmente considerando que a proporção de volumoso:concentrado da dieta foi moderada (40 % de volumoso).

Os níveis de TA nas dietas (Tabela 4) tiveram efeito cúbico sobre as estimativas de Vf_1 , Vf_2 , e c_2 ($P < 0,01$), bem como sobre as estimativas de c_1 e L ($P < 0,05$), para o milho moído. No entanto, a produção de GT foi reduzida linearmente ($P < 0,01$) pelos níveis de TA na dieta do animal doador de inóculo, podendo ser notada diferença de aproximadamente 20 % entre a produção de GT do nível zero para o maior nível de inclusão da TA (28 %).

TABELA 4. Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* estimados para milho moído

Parâmetro cinético	Níveis de torta de algodão (% na MS ⁽¹⁾ da dieta)					EPM ⁽²⁾	P valor		
	0	7	14	21	28		L ⁽³⁾	Q ⁽⁴⁾	C ⁽⁵⁾
Vf_1 (mL) ⁽⁶⁾	35,7544	38,5073	31,4239	20,7742	38,6893	5,1712	0,3955	0,1092	0,0081
c_1 (h ⁻¹) ⁽⁷⁾	0,1145	0,1159	0,1236	0,1526	0,0926	0,0151	0,8732	0,0553	0,0337
L (h) ⁽⁸⁾	3,2130	3,5155	3,1995	2,7309	3,8093	0,4172	0,6607	0,2072	0,0238
Vf_2 (mL) ⁽⁹⁾	44,0444	32,4434	39,5636	47,3815	24,3836	5,1948	0,0681	0,1589	0,0005
c_2 (h ⁻¹) ⁽¹⁰⁾	0,0317	0,0287	0,0283	0,0350	0,0207	0,0032	0,0550	0,1041	0,0047
GT (mL) ⁽¹¹⁾	79,3574	70,9592	70,9771	68,3437	63,2591	5,4017	<,0001	0,5242	0,0439

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Erro padrão da média. ⁽³⁾Linear. ⁽⁴⁾Quadrático. ⁽⁵⁾Cúbico. ⁽⁶⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽⁷⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽⁸⁾Latência. ⁽⁹⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽¹⁰⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽¹¹⁾Produção de gás total.

Para o farelo de soja (Tabela 5), os níveis de TA nas dietas do animal doador causaram redução linear da produção de gás oriunda de Vf_1 ($P < 0,05$), de c_1 , Vf_2 e consequentemente, de GT ($P < 0,01$). Não houve efeito ($P > 0,05$) dos níveis de TA na dieta do animal doador sobre a L e c_2 . Semelhante o ocorrido com o milho moído, a produção de GT para o farelo de soja também foi reduzida linearmente pelos níveis de TA na dieta do animal doador de inóculo. Pode ser calculada uma produção de GT aproximadamente 24 % menor, com nível de inclusão de 28 % de TA, quando comparado com o nível zero de TA na dieta.

TABELA 5. Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* estimados para farelo de soja

Parâmetro cinético	Níveis de torta de algodão (% na MS ⁽¹⁾ da dieta)					EPM ⁽²⁾	P valor		
	0	7	14	21	28		L ⁽³⁾	Q ⁽⁴⁾	C ⁽⁵⁾
Vf ₁ (mL) ⁽⁶⁾	30,8078	27,5929	28,3855	27,5708	25,2348	2,4077	0,0176	0,9776	0,2355
c ₁ (h ⁻¹) ⁽⁷⁾	0,1083	0,1019	0,0904	0,0890	0,0831	0,0098	0,0039	0,6535	0,9788
L (h) ⁽⁸⁾	0,4955	0,5962	0,5081	0,7167	0,8986	0,2258	0,1146	0,5025	0,7828
Vf ₂ (mL) ⁽⁹⁾	23,3090	23,3090	18,9480	18,8948	15,5547	4,1165	0,0014	0,7313	0,8580
c ₂ (h ⁻¹) ⁽¹⁰⁾	0,0242	0,0173	0,0200	0,0288	0,0267	0,0071	0,4253	0,5162	0,3257
GT (mL) ⁽¹¹⁾	53,9526	50,9217	47,3069	46,6304	40,7895	4,5189	<,0001	0,5720	0,2660

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Erro padrão da média. ⁽³⁾Linear. ⁽⁴⁾Quadrático. ⁽⁵⁾Cúbico. ⁽⁶⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽⁷⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽⁸⁾Latência. ⁽⁹⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽¹⁰⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽¹¹⁾Produção de gás total.

Os níveis de TA na dieta causaram redução linear ($P < 0,05$) dos valores de Vf₁ e efeito cúbico sobre as estimativas de c₁, L, e c₂ ($P < 0,01$) e Vf₂ ($P < 0,05$) para a torta de algodão (Tabela 6). A produção de GT foi reduzida linearmente ($P < 0,01$) pelos níveis de TA na dieta do animal doador. Neste caso, a estimativa da produção de GT observada para a TA com a dieta do animal doador contendo 28 % de TA é cerca de 34 % menor que o valor estimado quando a dieta do animal doador não apresentava TA (T0).

TABELA 6. Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* estimados para torta de algodão

Parâmetro cinético	Níveis de torta de algodão (% na MS ⁽¹⁾ da dieta)					EPM ⁽²⁾	P valor		
	0	7	14	21	28		L ⁽³⁾	Q ⁽⁴⁾	C ⁽⁵⁾
Vf ₁ (mL) ⁽⁶⁾	17,0856	16,3711	15,4985	16,5011	7,1423	2,4974	0,0094	0,0773	0,1659
c ₁ (h ⁻¹) ⁽⁷⁾	0,0527	0,1142	0,1039	0,0406	0,1021	0,0264	0,6165	0,3728	0,0003
L (h) ⁽⁸⁾	0,3190	1,3165	0,5702	0,0628	0,5239	0,2735	0,2351	0,3162	0,0004
Vf ₂ (mL) ⁽⁹⁾	20,8354	26,6908	21,2208	15,5382	17,6398	3,7233	0,0515	0,4563	0,0345
c ₂ (h ⁻¹) ⁽¹⁰⁾	0,0702	0,0196	0,0069	0,0811	0,0208	0,0199	0,4261	0,2233	0,0006
GT (mL) ⁽¹¹⁾	37,7464	42,8746	36,6614	32,0394	24,7822	4,7284	0,0006	0,0528	0,3834

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Erro padrão da média. ⁽³⁾Linear. ⁽⁴⁾Quadrático. ⁽⁵⁾Cúbico. ⁽⁶⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽⁷⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽⁸⁾Latência. ⁽⁹⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽¹⁰⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽¹¹⁾Produção de gás total.

Os níveis de TA na dieta do animal doador de inóculo (Tabela 7) causaram redução linear de Vf₁, Vf₂ e da produção de GT ($P < 0,01$) da silagem de milho e tiveram efeito cúbico nas estimativas de c₁ ($P < 0,05$) e c₂ ($P < 0,01$), enquanto a L não foi afetada pelos níveis de TA. A diferença da produção de GT entre o nível zero e 28 % de TA na dieta é de cerca de 32 %.

TABELA 7. Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* estimados para silagem de milho

Parâmetro cinético	Níveis de torta de algodão (% na MS ⁽¹⁾ da dieta)					EPM ⁽²⁾	P valor		
	0	7	14	21	28		L ⁽³⁾	Q ⁽⁴⁾	C ⁽⁵⁾
Vf ₁ (mL) ⁽⁶⁾	19,1397	17,1866	15,3025	15,0199	13,0295	1,6479	<,0001	0,6355	0,5089
c ₁ (h ⁻¹) ⁽⁷⁾	0,1375	0,1516	0,1454	0,2086	0,1557	0,0197	0,0201	0,1623	0,0152
L (h) ⁽⁸⁾	2,2051	2,1571	2,0637	1,8000	2,4514	0,6325	0,8902	0,2896	0,3203
Vf ₂ (mL) ⁽⁹⁾	39,0235	32,3674	33,5724	30,0513	26,1119	3,2954	<,0001	0,9061	0,1033
c ₂ (h ⁻¹) ⁽¹⁰⁾	0,0188	0,0174	0,0181	0,0210	0,0186	0,0008	0,0988	0,9535	0,0003
GT (mL) ⁽¹¹⁾	58,1337	49,5193	48,8718	45,1131	39,1419	4,1397	<,0001	0,7474	0,0761

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Erro padrão da média. ⁽³⁾Linear. ⁽⁴⁾Quadrático. ⁽⁵⁾Cúbico. ⁽⁶⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽⁷⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽⁸⁾Latência. ⁽⁹⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽¹⁰⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽¹¹⁾Produção de gás total.

Ainda pode ser observado nas Tabelas 4 a 7, que os níveis de TA na dieta do animal doador tiveram diferentes efeitos sobre os parâmetros cinéticos da produção de gás *in vitro*, sendo em sua grande maioria, efeitos negativos. Esse comportamento pode ser explicado, em parte, por possíveis interações entre a microbiota coletada do animal doador, que é dependente basicamente da sua dieta, com os componentes nutritivos de cada alimento (PB, CT, FDN, CNF, etc.).

A torta de algodão apresenta maior teor de EE que os demais ingredientes dietéticos e possui ainda maior teor de FDN e FDNi que o milho e farelo de soja (Tabela 1), ingredientes cuja porcentagem é reduzida na dieta com o incremento dos níveis de TA. Portanto, pode-se inferir que as dietas com maior concentração de TA apresentam maior concentração de fatores de mais difícil digestão (FDN) e indigestíveis (FDNi), bem como maior proporção de compostos que possivelmente apresentem efeito tóxico à microbiota ruminal (ácidos graxos insaturados) (Jenkins et al. 2008). Lima (2012) verificou que dietas com níveis crescentes de TA promoveram redução da digestão aparente total da maior parte dos componentes nutricionais (MO, PB, CT, FDN e CNF). O autor atribuiu este efeito ao elevado teor de EE, FDN e FDNi das dietas com níveis crescentes de TA. Entretanto, não verificou efeito sobre o consumo dos componentes nutricionais.

Considerando que reduzida digestão dos componentes nutricionais pode implicar em limitação de nutrientes para crescimento microbiano ruminal, especialmente carboidratos e compostos nitrogenados (Russell et al., 1992), nos animais que recebiam dietas com maiores concentrações de TA, possivelmente havia menor concentração ou menor atividade da microbiota ruminal, bem como pode ter ocorrido profundas alterações no microbioma ruminal (Weimer et al., 2010).

O efeito do animal doador do inóculo foi verificado nas variáveis Vf_1 , L e GT ($P < 0,01$) e c_1 ($P < 0,05$), conforme apresentado na Tabela 8. A possível explicação para isso pode ser embasada considerando que diferentes animais podem apresentar distintas condições ruminais, causadas por alterações de comportamento alimentar (seletividade), bem como na taxa de ingestão, mastigação, produção de saliva, tamanho do rúmen, superfície absorviva ruminal e taxa de passagem, o que determinaria diversas condições físico-químicas no rúmen e, portanto, na sua microbiota (Weimer et al., 2010).

TABELA 8. Efeitos do animal sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gases das dietas

Animal	Parâmetros cinéticos					
	Vf_1 (mL) ⁽¹⁾	c_1 (h ⁻¹) ⁽²⁾	L (h) ⁽³⁾	Vf_2 (mL) ⁽⁴⁾	c_2 (h ⁻¹) ⁽⁵⁾	GT (mL) ⁽⁶⁾
1	21,7964 b	0,1448 a	2,4600 a	24,9962	0,0159	46,7926 b
2	27,0969 b	0,0820 bc	1,3215 b	25,0641	0,0196	52,1609 b
3	21,2474 b	0,1053 ab	2,3316 a	26,4533	0,0300	47,7007 b
4	40,2581 a	0,0573 c	1,4037 b	27,2966	0,0288	67,5547 a
5	22,9888 b	0,0883 bc	1,2270 b	26,2723	0,0248	49,2611 b
EPM ⁽⁷⁾	2,8050	0,0166	0,2743	2,5743	0,0044	3,9394
P valor	<,0001	0,0125	0,0035	0,9657	0,1459	0,0030

⁽¹⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽²⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽³⁾Latência. ⁽⁴⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽⁵⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽⁶⁾Produção de gás total. ⁽⁷⁾Erro padrão da média. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Diferença Mínima Significativa de Fisher, à 5 % de probabilidade ($P < 0,05$).

Desta forma, provavelmente houve diferença na concentração de microrganismos ou nos tipos de microrganismos coletados no inóculo ruminal de cada animal, o que teria proporcionalmente elevado o efeito sobre os eventos iniciais da produção de gás, tais como taxa de degradação de CNF, Vf_1 e L do que sobre c_2 e Vf_2 .

Com base no acima mencionado, Rymer et al. (1999) calcularam que a taxa de produção de gás *in vitro* mantinha uma relação de primeira ordem com a concentração de inóculo usada e Nagadi et al. (2000) recomendaram atividade microbiana mínima do inóculo de 94 mg de MS bacteriana / mL. Embora a atividade microbiana não tenha sido determinada no presente estudo, provavelmente o inóculo ruminal proveniente dos animais alimentados com TA, especialmente nos níveis mais elevados, apresentaram alterações na sua microbiota, as quais proporcionaram os efeitos sobre os parâmetros cinéticos da digestão *in vitro*.

Na maioria dos trabalhos onde se avalia a dieta do animal doador sobre os parâmetros cinéticos da produção de gás *in vitro*, basicamente utilizam-se dietas variando a relação volumoso:concentrado (Trei et al., 1970; Mertens et al., 1998; Nagadi et al., 2000). Entretanto, no presente trabalho a relação volumoso:concentrado foi mantida fixa (40:60), embora o teor de FDN tenha variado sensivelmente (de 29 % a 40 %, para as dietas com zero e 28 % de TA, respectivamente). Mertens et al. (1998) forneceram dietas à base de silagem de milho ou leucena (*Leucaena leucocephala*) para vacas leiteiras (com 24 e 32 % de FDN, respectivamente) e não observou efeito da dieta ofertada aos animais sobre a taxa de produção de gás, apenas para a produção de gás total.

Diferenças entre animais quanto à seletividade são muito comuns, especialmente em ovinos, os quais apresentam variações no padrão de seleção da dieta, onde alguns animais selecionam mais o concentrado enquanto outros preferem consumir o volumoso. Isso tem sido percebido em alguns experimentos (Lima, 2012; Rodrigues, 2012) e tal comportamento é comprovado pela avaliação das sobras dos animais, as quais se apresentam com mais volumoso para alguns animais e com mais concentrado para outros. Se os animais consomem preferencialmente concentrado, certamente terão uma população microbiana do rúmen distinta dos animais que optam pelo consumo preferencial de volumoso (fibra).

O efeito de período (Tabela 9) refere-se ao efeito do tempo decorrido durante o experimento, determinando diferenças nos parâmetros cinéticos *in vitro* de forma isolada do efeito da dieta e do animal. Esse tipo de efeito pode estar relacionado com variações nas condições ambientais (temperatura, umidade, luminosidade, precipitação, etc.) que certamente variam durante o experimento, as quais também podem afetar o comportamento dos animais (seletividade, consumo de MS e água, etc.), bem como pequenas variações que podem ter ocorrido na composição do volumoso e concentrado, com o avançar do experimento. Para as variáveis Vf_1 e c_1 verificou-se que não houve efeito significativo ($P > 0,05$).

TABELA 9. Efeito de período sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gases das dietas

Período	Parâmetros cinéticos					
	Vf ₁ (mL) ⁽¹⁾	c ₁ (h ⁻¹) ⁽²⁾	L (h) ⁽³⁾	Vf ₂ (mL) ⁽⁴⁾	c ₂ (h ⁻¹) ⁽⁵⁾	GT (mL) ⁽⁶⁾
1	22,7993	0,1233	1,4346 b	23,7366 bc	0,0153 b	46,5359 b
2	24,6974	0,0638	0,9336 b	19,2530 c	0,0491 a	43,9504 b
3	31,9224	0,0869	1,3544 b	26,0698 abc	0,0136 b	57,9921 a
4	24,1014	0,1146	2,2228 a	29,6530 ab	0,0226 b	53,7544 ab
5	29,8671	0,0891	2,7984 a	31,3701 a	0,0184 b	61,2371 a
EPM ⁽⁷⁾	2,9340	0,0174	0,2869	2,6927	0,0046	4,1206
P valor	0,1208	0,0918	0,0002	0,0192	<,0001	0,0166

⁽¹⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽²⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽³⁾Latência. ⁽⁴⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽⁵⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽⁶⁾Produção de gás total. ⁽⁷⁾Erro padrão da média. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Diferença Mínima Significativa de Fisher, à 5 % de probabilidade (P < 0,05).

É importante destacar que a avaliação de alimentos por intermédio da técnica *in vitro* de produção de gases apesar de ser precisa, pode ser afetada por aspectos relacionados ao animal doador do inóculo, tempo de coleta após a alimentação, conservação e manipulação do inóculo, tampão e meio de cultivo, temperatura de incubação (Rymer et al., 2005), bem como pela composição do alimento, a qual reside no principal objetivo quando da sua condução. Deve-se ponderar que os gases acumulados nos frascos de fermentação podem ser afetados por variações na composição dos alimentos, especialmente teores de proteína e lipídeos, considerando que a fermentação de proteínas gera menos gás (Cone e van Gelder, 1999) que a de carboidratos (2,4 mL / 1 % de PB) e que os lipídeos não são fermentados pela microbiota ruminal. Adicionalmente, variações na composição dos alimentos ou dietas, especialmente nas proporções de CNF e FDN, podem afetar a produção de gases por diferentes padrões de fermentação que determinem variações na relação acetato:propionato (Blümmel et al., 1997). Portanto, o necessário cuidado deve ser tomado no planejamento de experimentos *in vitro* por meio da técnica de produção de gases, considerando-se os aspectos e fontes de variação anteriormente mencionados.

Neste sentido, alguns autores tem apontado variações na técnica *in vitro* de produção de gases em função da frequência de amostragem do líquido ruminal, tempo de coleta e da diluição do líquido ruminal com tampão (Nagadi et al., 1999; Menke e Steingass, 1988; Pell e Schofield, 1993; Cone et al., 1996; Rymer et al., 1999).

Adicionalmente, a dieta do animal doador exerce forte influência sobre o ambiente químico dentro do rúmen e, desta forma, sobre a sua população microbiana (Weiss, 1994). Portanto, espera-se efeito da composição da dieta sobre a produção de gás total e os perfis de produção de gás (Trei et al., 1970; Menke e Steingass, 1988; Bonsi et al., 1995; Cone et al., 1996; Huntington et al., 1998; Das e Singh, 1998).

Considerando os efeitos de animal, dieta e período, sugere-se que na avaliação de alimentos pela técnica *in vitro* de produção de gases, seja usado líquido ruminal proveniente de pelo menos dois animais diferentes alimentados com dieta na qual contenha o alimento a ser avaliado, e a incubação seja repetida três vezes, a fim de se obter valores mais acurados e precisos, considerando que podem ocorrer variações na concentração de microrganismos ruminais ou sua atividade em função de diferentes períodos de incubação.

2.4 Conclusões

Os níveis de torta de algodão exercem efeito negativo sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gás, possivelmente por afetar a microbiota ruminal dos animais e sua atividade.

O animal doador de inóculo e o período experimental também afetam os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gás e, desta forma, devem ser considerados nesses tipos de experimentos.

2.5 Referências Bibliográficas

- ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C.; GODOI, A. R.; CARMO, C. A.; EDUARDO, J. L. P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, suplemento especial, p. 260-258, 2008.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS; K. HELRICH (Ed.). **Official methods of analysis**. 15th. ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists, 1990. 1298 p. 2 v.
- BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. In vitro gas production: a technique revisited. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Hoboken, v. 77, p. 24-34, 1997.
- BONSI, M. L. K.; OSUJI, P. O.; TUAH, A. K. Effect of supplementing teff straw with different levels of leucaena or sesbania leaves on the degradabilities of teff straw, sesbania, leucaena, tagasaste and vernonia and on certain rumen and blood metabolites in Ethiopian Menz sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 52, p. 101-129, 1995.
- CONE, J. W.; VAN GELDER, A. H. Influence of protein fermentation on gas production profiles. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 76, p. 251-264, 1999.
- CONE, J. W.; VAN GELDER, A. H.; VISSCHER, G. J. W.; OUDSHOORN, L. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 61, p. 113-128, 1996.
- DAS, A.; SINGH, G. P. Effect of different levels of berseem supplementation in donor animal diet on in vitro dry matter digestibility and gas production of wheat straw. **The Indian Journal of Animal Sciences**, New Delhi, v. 68, n. 12, p. 1267-1269, 1998.
- DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. C. Avaliação nutricional de alimentos ou de dietas? Uma abordagem conceitual. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 6., 2008, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2008. p. 21-52.
- DOANE, P. H.; PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. The effect of preservation method on the neutral detergent soluble fractions of forages. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 4, p. 1140-1148, 1997.
- HALL, M. B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. In: **Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis - A laboratory manual**. Gainesville: University of Florida, 2000. p. A25-A32. Bulletin 339.
- HUNTINGTON, J. A.; RYMER, C.; GIVENS, D. I. The effect of host diet on the gas production profile of hay and high-temperature dried grass. **Animal Science**, Cambridge, v. 67, p. 59-64, 1998.
- JENKINS, T. C.; WALLACE, R. L.; MOATE, P. J.; MOSLEY, E. E. Recent advances in biogydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 397-412, 2008.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 347-358, 1996.

LIMA, L. R. **Torta de algodão na dieta de cordeiros confinados**. 2012. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2012.

MAURICIO, R. M.; OWEN, E.; MOULD, F. L.; GIVENS, I.; THEODOROU, M. K.; FRANCE, J.; DAVIES, D. R.; DHANOA, M. S. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an in vitro gas production technique for evaluating forages. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 89, p. 33-48, 2001.

McDOUGALL, E. I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemical Journal**, London, v. 43, n. 1, p. 99-109, 1948.

MENKE, K. H.; STEINGASS, H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. **Animal Research Development**, Queensland, v. 28, n. 1, p. 7-55. 1988.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, Gaithersburg, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.

MERTENS, D. R.; WEIMER, P. J.; WAGHORN, G. C. Inocula differences affect in vitro gas production kinetics. In: DEAVILLE, E. R.; OWEN, E.; ADESOGAN, A. T.; RYMER, C.; HUNTINGTON, J. A.; LAWRENCE, T. L. J. (Ed.). **In vitro techniques for measuring nutrient supply to ruminants**. Edinburgh: BSAS, 1998. p. 95-98. Occasional publication 22.

NAGADI, S.; HERRERO, M.; JESSOP, N. S. Effect of frequency of ovine ruminal sampling on microbial activity and substrate fermentation. In: PROCEEDINGS OF THE BRITISH SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, 1999, Midlothian. **Proceedings...** Midlothian: BSAS, 1999. p. 154-154.

NAGADI, S.; HERRERO, M.; JESSOP, N. S. The influence of diet of the donor animal on the initial bacterial concentration of ruminal fluid and in vitro gas production degradability parameters. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 87, p. 231-239, 2000.

NRC – National Research Council, Committee on the nutrient requirements of small ruminants. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington, DC: The National Academies Press, 2007. 384 p.

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

RODRIGUES, D. N. **Torta de girassol na dieta de cordeiros confinados**. 2012. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2012.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3551-3561, 1992.

- RYMER, C.; HUNTINGTON, J. A.; GIVENS, D. I. Effects of inoculum preparation method and concentration, method of inoculation and pre-soaking the substrate on the gas production profile of high temperature dried grass. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 78, p. 199-213, 1999.
- RYMER, C.; HUNTINGTON, J. A.; WILLIAMS, B. A.; GIVENS, D. I. In vitro cumulative gas production techniques: history, methodological considerations and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, p. 9-30, 2005.
- SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT 9.2 User's guide**. 2 ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2009. 7886 p.
- SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 2980-2991, 1994.
- SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets; II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.
- TREI, J.; HALE, W. H.; THEURER, B. In vitro gas production from processed grain. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 30, p. 825-831, 1970.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.
- WEIMER, P. J.; STEVENSON, D. M.; MANTOVANI, H. C.; MAN, S. L. C. Host specificity of the ruminal bacterial community in the dairy cow following near-total exchange of ruminal contents. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 93, p. 5902-5912, 2010.
- WEISS, W. P. Estimation of digestibility of forages by laboratory methods. In: FAHEY Jr, G. C. (Ed.). **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison, WI: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 1994. cap. 16, p. 644-681.

PARÂMETROS CINÉTICOS DE ALIMENTOS E DIETAS EM FUNÇÃO DE NÍVEIS DE TORTA DE GIRASSOL

RESUMO – Objetivou-se avaliar a torta de girassol (TG) na dieta de ovinos sobre os parâmetros cinéticos da digestão da matéria seca (MS) de alimentos e dietas. O experimento consistiu em duas etapas: a) cinco ovinos canulados no rúmen foram submetidos às dietas contendo níveis de TG (0; 7; 14; 21 e 28 % na MS) usando um quadrado latino 5 x 5; b) cada alimento e dieta foi incubado *in vitro* pela técnica de produção de gases. Os níveis de TG causaram redução da produção de gás total (GT) para milho moído (MI), TG e silagem de milho (SM), redução da produção de gás da fração de rápida degradação (Vf_1) para farelo de soja (FS) e SM, e da produção de gás da fração de lenta digestão (Vf_2) para FS e TG. As taxas de digestão c_1 foram influenciadas de forma linear e quadrática ($P < 0,05$) pelos níveis de TG respectivamente para FS e SM, e c_2 de forma linear para FS e cúbica para TG e SM. Observou-se efeito de animal (Vf_1 , Vf_2 , e GT) e período (latência - L e Vf_2) sobre os parâmetros cinéticos. A dieta do animal, bem como o animal e o período experimental afetam os parâmetros cinéticos da produção de gás.

Palavras-chave: produção de gás *in vitro*, ovinos, ruminantes, nutrição animal, *Helianthus annuus*.

KINETICS PARAMETERS OF FOODS AND DIETS IN FUNCTION OF SUNFLOWER CAKE LEVELS

ABSTRACT – The objective of with this work was to evaluated sunflower cake (SC) in the wethers diets on kinetics parameters of dry matter (DM) digestion of feedstuffs and diets. The experiment was divided in two phases: a) five ruminally cannulated crossbreed wethers were arranged in a Latin 5x5 Square design in which treatments were according to SC levels on the diet (0; 7; 14; 21 e 28 % of DM basis), b) each feedstuff and diet were incubated by *in vitro* gas production technique. Increasing SC in the diet reduced total gas production (GT) for ground corn, SC and corn silage (CS). It was also observed reduction of Vf_1 for soybean meal (SBM) and CS, as well as of Vf_2 for SBM and SC. Digestion rates of c_1 were linearly and quadratic influenced for SBM and CS, respectively, according to SC levels. In addition, c_2 was linearly influenced for SBM and cubic for SC and CS. Animal effect was observed for Vf_1 , Vf_2 and GT and also for period had significant effect for latency - L and Vf_2 on kinetic parameters. Effects of the diet of animal donor, animal and experimental period affects gas production kinetics.

Keywords: *in vitro* gas production, ovine, ruminant, animal nutrition, *Helianthus annuus*.

3.1 Introdução

Com o intuito de se avaliar o valor nutritivo dos alimentos ou de dietas utilizadas para os animais ruminantes, a técnica *in vitro* de produção de gases (TIVPG) tem sido amplamente utilizada, em detrimento aos métodos gravimétrico *in vitro* ou a técnica *in situ*, pois como vantagens, apresenta o fato de não necessitar de animais preparados cirurgicamente (canulados no rúmen), uma vez que o inóculo pode ser obtido através da utilização de sonda esofágica, ou até mesmo, através do uso das fezes dos animais (Mauricio et al., 2001).

Adicionalmente, a TIVPG requer o uso de menor consumo/volume de amostras, uma vez que o volume de gás é mensurado na mesma amostra ao longo de todo o período de incubação; permite ainda estimar a taxa de degradação ruminal da fração solúvel dos alimentos, quer seja pela utilização de modelos bicompartimentais ou pela diferença da produção de gás entre a matéria seca (MS) e a fibra em detergente neutro (FDN) (Doane et al., 1997); e finalmente a TIVPG é menos trabalhosa e mais rápida, ou seja, demanda menor período de tempo para a sua execução do que a técnica *in situ* (Pell e Schofield, 1993).

Contudo, o uso das informações obtidas a partir da produção de gás *in vitro* na avaliação de alimentos e na formulação de dietas podem ser inviabilizadas por algumas fontes de variação inerentes à própria técnica, e que podem afetar os parâmetros cinéticos estimados. Dentre estas fontes de variação, o animal doador do inóculo pode ser considerado o mais importante, uma vez que devem ser consideradas as possíveis diferenças existentes entre os animais quanto a sua seletividade, mastigação, absorção, características físico-químicas no rúmen e, conseqüentemente, sua microbiota; a dieta ofertada ao animal durante o período e antes da coleta do inóculo, a qual também pode afetar as características físico-químicas no rúmen do animal e sua microbiota coletada para incubação; além dos procedimentos usados para a conservação, inoculação, preparo do meio e aspectos associados ao método *in vitro* utilizado (Rymer et al., 2005).

Apesar do seu potencial para avaliar a disponibilidade dos nutrientes em alimentos e dietas destinados aos animais ruminantes, a TIVPG tem sido pouco utilizada para avaliar dietas totais para animais ruminantes, principalmente aquelas que incluem coprodutos do biodiesel, os quais podem ter efeito marcante na digestibilidade dos nutrientes, particularmente da fibra. Neste sentido, deve ser

destacado que tem havido crescente interesse pelo uso da torta de girassol na dieta de ruminantes no Brasil, motivado pelo aumento da produção de biodiesel.

Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito de níveis de torta de girassol na dieta do animal doador de inóculo, do período e do próprio animal sobre os parâmetros cinéticos da produção de gás *in vitro*.

3.2 Material e Métodos

O experimento consistiu em duas fases. A primeira, a fase experimental a campo (75 dias) foi executada no setor de Ovinocultura da Fazenda Experimental da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), nas coordenadas de 15°51'19.80" latitude sul e 56°04'18.05" longitude oeste, no município de Santo Antônio do Leverger, que fica a cerca de 33 km da capital do estado, Cuiabá. Simultaneamente a esta, a fase laboratorial (segunda fase), consistiu das incubações *in vitro*, as quais foram conduzidas no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMT, localizada em Cuiabá, MT.

Na primeira fase, ou seja, no experimento a campo foram utilizados cinco carneiros machos castrados, adultos, com predominância da raça Santa Inês, dotados de cânula ruminal, com peso médio corporal de $65,59 \pm 6,53$ kg. Durante todo o experimento a campo, os animais foram mantidos em baias individuais de 4,5 m², cobertas, contendo comedouro e bebedouro, as quais foram higienizadas diariamente. Quinze dias antes do início do experimento, os animais foram identificados, vacinados contra clostridioses, tratados contra endoparasitoses (moxidectina a 1,0 %) e devidamente casqueados.

O planejamento experimental foi idealizado através de um delineamento em quadrado latino 5 x 5, consistindo de cinco períodos experimentais de 15 dias cada, sendo os primeiros dez dias de cada período destinados à adaptação dos animais às dietas, e os cinco últimos destinados ao monitoramento do consumo e à coleta de amostras de alimentos e sobras.

As dietas foram compostas com 40 % de volumoso (silagem de milho) e 60 % de concentrado, sendo este composto por milho moído, farelo de soja, ureia/sulfato de amônio (9:1), mistura mineral e torta de girassol (TG) em níveis crescentes de 0; 7; 14; 21 e 28 % com base na MS da dieta, sendo estes os tratamentos experimentais. As dietas foram balanceadas de forma a serem isoproteicas, com teor de proteína bruta (PB) de aproximadamente 14 % (NRC, 2007) e foram fornecidas duas vezes ao dia, às 8:00 h e às 16:00 h, na forma de dieta total permitindo-se 10 % de sobras diárias.

A composição bromatológica dos alimentos e das dietas experimentais estão demonstradas nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1. Composição bromatológica dos alimentos: milho moído (MI), farelo de soja (FS), torta de girassol (TG) e silagem de milho (SM)

Componente	Ingrediente			
	MI	FS	TG	SM
Matéria seca – MS ⁽¹⁾	90,92	91,73	94,78	29,17
Matéria mineral (% MS)	1,13	6,31	4,93	7,61
Matéria orgânica (% MS)	98,87	93,69	95,07	92,39
Proteína bruta (% MS)	8,36	53,89	25,60	6,05
Extrato etéreo (% MS)	3,95	1,13	11,24	2,79
Carboidratos totais (% MS)	86,56	38,66	58,23	83,56
Fibra em detergente neutro (% MS)	10,84	12,15	37,98	55,45
Fibra em detergente ácido (% MS)	3,73	8,52	26,81	35,07
FDNcp (% MS) ⁽²⁾	9,91	10,25	34,94	52,76
Carboidratos não fibrosos (% MS)	76,65	28,41	23,29	30,79
FDNi (% MS) ⁽³⁾	0,58	1,71	26,15	20,99
NIDN ⁽⁴⁾	8,51	3,05	9,67	17,55
NIDA ⁽⁵⁾	4,03	2,73	7,51	10,56

⁽¹⁾% na matéria natural. ⁽²⁾Fibra em detergente neutro tratada com alfa-amilase termoestável e corrigida para cinzas e proteína. ⁽³⁾Fibra em detergente neutro indigestível. ⁽⁴⁾Nitrogênio insolúvel em detergente neutro (% do N total). ⁽⁵⁾Nitrogênio insolúvel em detergente ácido (% do N total).

TABELA 2. Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais

Ingrediente	Dieta (% de torta de girassol na MS ⁽¹⁾)				
	0	7	14	21	28
Milho moído	44,30	40,30	36,32	32,32	28,33
Farelo de soja	13,60	10,60	7,59	4,58	1,57
Torta de girassol	0,00	7,00	14,00	21,00	28,00
Silagem de milho	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Ureia + sulfato de amônio (9:1)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Mistura mineral ⁽²⁾	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Componente	Composição bromatológica (%)				
Matéria seca ⁽³⁾	66,18	66,43	66,68	66,92	67,16
Matéria mineral (% MS)	6,20	6,31	6,42	6,53	6,64
Matéria orgânica (% MS)	93,80	93,69	93,58	93,47	93,36
Proteína bruta (% MS)	14,24	14,08	13,91	13,75	13,59
Extrato etéreo (% MS)	3,02	3,62	4,21	4,80	5,40
Carboidratos totais (% MS)	77,02	76,48	75,94	75,40	74,85
Fibra em detergente neutro (% MS)	28,64	30,50	32,36	34,22	36,08
Fibra em detergente ácido (% MS)	16,84	18,31	19,78	21,26	22,73
FDNcp (% MS) ⁽⁴⁾	26,89	28,63	30,37	32,12	33,86
Carboidratos não fibrosos (% MS)	50,13	47,85	45,57	43,28	41,00
FDNi (% MS) ⁽⁵⁾	8,89	10,64	12,40	14,15	15,91

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Mistura mineral comercial para ovinos – níveis de garantia/kg: Ca, 177 g; P, 80 g; S, 20 g; Na, 108 g; Co, 40 mg; Cu, 550 mg; I, 60 mg; Se, 15 mg; Mn, 1200 mg; Zn, 3000 mg. ⁽³⁾% na matéria natural. ⁽⁴⁾Fibra em detergente neutro tratada com alfa-amilase termoestável e corrigida para cinzas e proteína. ⁽⁵⁾Fibra em detergente neutro indigestível.

Na fase laboratorial, foram realizadas cinco incubações *in vitro* para os ingredientes e dietas, uma referente a cada período experimental, seguindo o ensaio da fase experimental a campo, ou seja, seguindo o delineamento em quadrado latino 5 x 5.

Adicionalmente, realizaram-se as incubações dos alimentos (milho moído, farelo de soja, torta de girassol e silagem de milho) e das dietas em função dos níveis de inclusão de TG (0; 7; 14; 21 e 28 %), as quais foram conduzidas pelo uso da TIVPG, conforme Pell e Schofield (1993), com algumas adaptações. Foram usados frascos de vidro cor âmbar com capacidade de 120 mL, onde foram pesados aproximadamente 200 mg MS dos ingredientes e das dietas experimentais.

Para a incubação *in vitro* dos ingredientes, o líquido ruminal (inóculo) foi obtido dos ovinos alimentados com a dieta (cerca de 4 horas após a alimentação) sem a adição de TG em cada período experimental, enquanto que para as dietas contendo os diferentes níveis de TG, o líquido ruminal foi obtido exatamente do animal que foi submetido ao mesmo nível de TG na dieta que seria incubado *in vitro*, em cada período experimental. Após a coleta do líquido ruminal, a qual foi realizada 4 horas após a alimentação da manhã, este foi em seguida acondicionado em garrafa térmica pré-aquecida e levado para o Laboratório de Nutrição Animal, onde foi filtrado em camada dupla de gaze, sendo toda a sua manipulação realizada sob aspersão de gás carbônico (CO₂) isento de oxigênio.

Aos frascos foram adicionados 24 mL de solução tampão de McDougall (McDougall, 1948), previamente reduzido com CO₂ (pH 6,8), mantidos a 39 °C, e meia hora após, 6 mL de inóculo ruminal (sob aspersão de CO₂) proveniente dos ovinos do experimento a campo. Imediatamente após a adição do inóculo, os frascos receberam tampa de borracha, lacre de alumínio e foram colocados em banho-maria, com agitação orbital (38,6 rpm), a 39 °C.

As leituras de pressão (psi – pressão por polegada quadrada) foram realizadas por meio de um transdutor de pressão (Datalogger Pressure[®], Press Data 800, LANA-CENA/USP, Piracicaba-SP) nos seguintes tempos: 2; 4; 6; 8; 10; 12; 24; 48; 72 e 96 horas. A conversão de psi para mL foi feita a partir da equação de regressão ($Y = a \pm bx$) em que o coeficiente “b” da equação possibilitou a correção e transformação de pressão (psi) em volume de gás (mL) corrigido para a pressão barométrica do dia. Para isso, injetou-se volume conhecido de gás em frascos mantidos sob as mesmas condições das amostras incubadas. As pressões

correspondentes aos volumes injetados foram medidas, e utilizadas para a obtenção da equação de regressão entre pressão e volume de gás.

Para determinação da composição bromatológica, as amostras dos ingredientes dietéticos, concentrados, dietas e sobras foram submetidas à pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar com temperatura de 55 °C por 72 horas. Em seguida, essas amostras foram pesadas e moídas em moinho estacionário tipo Willey com peneira de 1,0 mm. Posteriormente, foi determinado o teor de MS (secagem definitiva) em estufa a 105 °C por 12 horas, conforme AOAC (1990).

Após, todas as amostras foram analisadas quanto ao teor de matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), PB e extrato etéreo (EE) também de acordo com os métodos do AOAC (1990). Na análise de FDN, as amostras foram tratadas com alfa-amilase estável ao calor (Mertens, 2002), assim como de fibra em detergente ácido (FDA), sendo os respectivos resíduos analisados para cinzas e compostos nitrogenados, como descrito por Licitra et al. (1996).

Os carboidratos totais (CT) foram calculados a partir da equação proposta por Sniffen et al. (1992):

$$CT = 100 - (\% PB + \% MM + \% EE)$$

Em razão da presença de ureia nas dietas, os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados conforme Hall (2000):

$$CNF = 100 - [(\% PB - \% PB \text{ da ureia} + \% \text{ de ureia}) + \% FDN_{cp} + \% EE + \% \text{ cinzas}]$$

onde FDN_{cp} é a fibra em detergente neutro, tratada com alfa-amilase termoestável e corrigida para cinzas e proteína.

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

$$V(t) = Vf_1 / (1 + \exp(2 - 4 * c_1 * (T - L))) + Vf_2 / (1 + \exp(2 - 4 * c_2 * (T - L)))$$

onde V(t) é o volume total de gás (mL) acumulado no tempo t; Vf₁, o volume de gás (mL) oriundo da fração de rápida degradação; c₁, a taxa de degradação (h⁻¹) da fração de rápida degradação; T, o tempo (h); L, a latência (h); Vf₂, o volume de gás (mL) da fração de lenta degradação; c₂, a taxa de degradação (h⁻¹) da fração de lenta degradação, por meio do procedimento de modelos não lineares (PROC NLIN) do pacote estatístico SAS 9.2 (SAS Institute Inc., 2009).

Os dados de produção de volume de gás total (GT) e das frações de lenta (Vf₂) e rápida (Vf₁) degradação ruminal, as taxas de degradação destas frações (c₂ e

c_1) e a latência (L) foram submetidos à análise de variância e analisados usando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS 9.2 (SAS Institute Inc., 2009), considerando-se um delineamento em quadrado latino 5 x 5.

Os níveis de TG foram considerados como efeito fixo e animal e período como efeito aleatório. A opção LSMEANS foi utilizada para gerar as médias individuais para cada tratamento. Contrastes ortogonais foram utilizados para partição específica dos efeitos de níveis de TG em linear, quadrático, cúbico e quártico. Antecipa-se que em virtude da ausência do efeito quártico, este foi omitido das tabelas. Para o efeito de animal e período as comparações foram realizadas pela Diferença Mínima Significativa de Fisher. Significâncias foram declaradas a $P < 0,05$.

3.3 Resultados e Discussão

Numericamente, a maior produção de GT foi observada para o milho moído, seguido da torta de girassol, do farelo de soja, e finalmente silagem de milho, usando o inóculo ruminal proveniente dos animais que não receberam TG na dieta (Tabela 3), entretanto estes valores não diferiram estatisticamente ($P > 0,05$).

TABELA 3. Parâmetros cinéticos da degradação ruminal dos ingredientes dietéticos avaliados, estimados pela técnica *in vitro* de produção de gases usando líquido ruminal proveniente dos animais alimentados com dieta isenta de torta de girassol (TG)

Parâmetro Cinético	Ingredientes				EPM ⁽¹⁾	P valor
	Milho moído	Farelo de soja	Torta de girassol	Silagem de milho		
Vf ₁ (mL) ⁽²⁾	13,6369	10,7975	16,3637	6,4663	4,3602	0,4325
c ₁ (h ⁻¹) ⁽³⁾	0,1301 b	0,1083 bc	0,0826 c	0,1827 a	0,0172	<,0001
L (h) ⁽⁴⁾	2,6856 a	0,5641 b	1,0406 b	2,9366 a	0,5547	0,0034
Vf ₂ (mL) ⁽⁵⁾	17,7174 a	12,1651 b	10,2798 b	11,9848 b	1,4423	0,0035
c ₂ (h ⁻¹) ⁽⁶⁾	0,0305 a	0,0247 a	0,0118 b	0,0249 a	0,0035	0,0009
GT (mL) ⁽⁷⁾	31,3543	22,9626	26,6436	18,4512	3,7538	0,1159
mL gás/mg MS ⁽⁸⁾	0,3135	0,2296	0,2664	0,1845	---	---
mL gás/mg CT ⁽⁹⁾	0,3622	0,5940	0,4576	0,2208	---	---

⁽¹⁾Erro padrão da média. ⁽²⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽³⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽⁴⁾Latência. ⁽⁵⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽⁶⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽⁷⁾Produção de gás total (Vf₁ + Vf₂). ⁽⁸⁾Matéria seca. ⁽⁹⁾Carboidratos totais. Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si, pelo teste de Diferença Mínima Significativa de Fisher, à 5 % de probabilidade ($P < 0,05$).

Quando se utilizou inóculo ruminal proveniente dos animais que não receberam TG, o milho e a silagem de milho apresentaram o maior valor médio para a L, comparado aos demais alimentos (Tabela 3). Embora o milho seja um ingrediente comum da dieta dos ovinos, provavelmente a microbiota ruminal destes animais não seja predominantemente representada por microrganismos amilolíticos e, portanto, ocorreu limitação inicial de células (enzimas também amilolíticas) para a degradação em máxima velocidade do milho, também reforçado pelo fato da inclusão moderada de concentrado (60 % da dieta).

Os níveis de TG nas dietas de ovinos tiveram efeito quadrático sobre a produção de gás da fração Vf₁ ($P < 0,05$) e também sobre as estimativas de L ($P < 0,01$) para o milho moído (Tabela 4). Já as variáveis c₁, Vf₂ e c₂ não foram afetadas pelos níveis de TG na dieta. Embora GT também tenha sido reduzida linearmente ($P < 0,05$) pelos níveis de TG na dieta do animal doador, a diferença na

produção de gás entre a dieta com nível zero e a dieta com nível de inclusão de 28 % de TG é de apenas 8,22 %, quando comparado com o experimento de níveis de inclusão de torta de algodão (TA), conforme Toledo, 2015, cuja redução foi de aproximadamente 20 % da produção de GT, com o maior nível de inclusão desse alimento. Esse resultado pode ser explicado pela razão de que a TG possui menores teores de PB e FDN, e maiores teores de CNF, quando comparada a TA.

TABELA 4. Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* estimados para milho moído

Parâmetro cinético	Níveis de torta de girassol (% na MS ⁽¹⁾ da dieta)					EPM ⁽²⁾	P valor		
	0	7	14	21	28		L ⁽³⁾	Q ⁽⁴⁾	C ⁽⁵⁾
Vf ₁ (mL) ⁽⁶⁾	13,6369	11,9878	19,3145	16,0931	11,3371	2,4750	0,9409	0,0386	0,1365
c ₁ (h ⁻¹) ⁽⁷⁾	0,1301	0,1555	0,0767	0,1222	0,1350	0,0201	0,6912	0,1600	0,2480
L (h) ⁽⁸⁾	2,6856	3,7739	3,8067	3,9640	3,5167	0,4988	0,0107	0,0009	0,5378
Vf ₂ (mL) ⁽⁹⁾	17,7174	18,5580	10,6829	15,4201	17,4382	2,3090	0,5677	0,0554	0,3748
c ₂ (h ⁻¹) ⁽¹⁰⁾	0,0305	0,0335	0,0205	0,0277	0,0296	0,0032	0,3917	0,0942	0,2492
GT (mL) ⁽¹¹⁾	31,3543	30,5457	29,9974	31,1433	28,7752	0,9581	0,0476	0,5894	0,1142

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Erro padrão da média. ⁽³⁾Linear. ⁽⁴⁾Quadrático. ⁽⁵⁾Cúbico. ⁽⁶⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽⁷⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽⁸⁾Latência. ⁽⁹⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽¹⁰⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽¹¹⁾Produção de gás total.

Já para o farelo de soja, os níveis de TG nas dietas do animal doador causaram um aumento linear da produção de gás oriunda da fração Vf₁, bem como para a L (P < 0,01), enquanto que para c₁ (P < 0,05), c₂ e Vf₂ (P < 0,01) houve redução linear com o aumento dos níveis de TG na dieta (Tabela 5). Tal resultado pode ser explicado pela razão de que a TG possui menor teor de PB (a qual pode diminuir a produção de gases) e maior concentração de CT, em comparação ao farelo de soja. A diferença da produção de GT entre o nível zero e 28 % de TG na dieta é de aproximadamente 6 %, valor este considerando pequeno, se comparado aos 24 % observados para o efeito da TA sobre a mesma variável (Toledo, 2015).

TABELA 5. Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* estimados para farelo de soja

Parâmetro cinético	Níveis de torta de girassol (% na MS ⁽¹⁾ da dieta)					EPM ⁽²⁾	P valor		
	0	7	14	21	28		L ⁽³⁾	Q ⁽⁴⁾	C ⁽⁵⁾
Vf ₁ (mL) ⁽⁶⁾	10,7975	9,9375	13,6332	12,2462	14,2586	1,0076	0,0002	0,8028	0,6252
c ₁ (h ⁻¹) ⁽⁷⁾	0,1083	0,1203	0,0749	0,1020	0,0823	0,0134	0,0374	0,8121	0,7553
L (h) ⁽⁸⁾	0,5641	1,5892	1,0113	1,6808	1,6217	0,3242	0,0044	0,2886	0,2573
Vf ₂ (mL) ⁽⁹⁾	12,1651	9,7459	7,3733	8,9806	7,2114	0,8980	0,0001	0,0821	0,1981
c ₂ (h ⁻¹) ⁽¹⁰⁾	0,0246	0,0227	0,0135	0,0226	0,0141	0,0034	0,0086	0,5649	0,2016
GT (mL) ⁽¹¹⁾	22,9626	19,6834	21,0065	20,8371	21,4700	1,2822	0,3743	0,0122	0,0848

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Erro padrão da média. ⁽³⁾Linear. ⁽⁴⁾Quadrático. ⁽⁵⁾Cúbico. ⁽⁶⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽⁷⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽⁸⁾Latência. ⁽⁹⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽¹⁰⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽¹¹⁾Produção de gás total.

Os níveis de TG não tiveram efeito sobre as variáveis Vf₁ e c₁, mas causaram redução linear (P < 0,05) da produção de gás para Vf₂ e GT para TG (Tabela 6). Entretanto, os níveis de TG tiveram efeito quadrático (P < 0,01) e cúbico (P < 0,01), respectivamente sobre L e c₂. A estimativa da GT observada para a TG com a dieta do animal doador contendo 28 % de TG é cerca de 20 % menor que o valor estimado quando a dieta do animal doador não apresentava TG (nível de inclusão zero).

TABELA 6. Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* estimados para torta de girassol

Parâmetro cinético	Níveis de torta de girassol (% na MS ⁽¹⁾ da dieta)					EPM ⁽²⁾	P valor		
	0	7	14	21	28		L ⁽³⁾	Q ⁽⁴⁾	C ⁽⁵⁾
Vf ₁ (mL) ⁽⁶⁾	8,1819	9,3719	8,7936	8,3198	8,3385	0,6265	0,7313	0,3730	0,3053
c ₁ (h ⁻¹) ⁽⁷⁾	0,0907	0,0698	0,0656	0,1054	0,0768	0,0102	0,8210	0,4814	0,4814
L (h) ⁽⁸⁾	0,0520	0,6031	0,9126	0,8384	0,1430	0,2923	0,6694	0,0162	0,7021
Vf ₂ (mL) ⁽⁹⁾	11,3748	10,1422	11,2361	6,8604	6,9549	1,7417	0,0336	0,6564	0,6982
c ₂ (h ⁻¹) ⁽¹⁰⁾	0,0131	0,0065	0,0057	0,0192	0,0089	0,0034	0,7010	0,6030	0,0139
GT (mL) ⁽¹¹⁾	19,6506	18,9780	20,1884	14,8421	15,6434	1,9310	0,0290	0,5563	0,4260

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Erro padrão da média. ⁽³⁾Linear. ⁽⁴⁾Quadrático. ⁽⁵⁾Cúbico. ⁽⁶⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽⁷⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽⁸⁾Latência. ⁽⁹⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽¹⁰⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽¹¹⁾Produção de gás total.

Para a silagem de milho, os níveis de TG na dieta do animal doador causaram redução linear (P < 0,01) de Vf₁ e da produção de GT, mas tiveram efeito quadrático (P < 0,01) sobre as variáveis c₁, L e Vf₂ (Tabela 7). Efeito cúbico (P < 0,01) dos níveis de TG foi observado sobre c₂. A diferença na produção de GT entre o nível de inclusão zero e 28 % nesse caso é de apenas 8 %, valor este menor, se comparado

aos cerca de 32 % observados para o efeito da TA sobre a mesma variável (Toledo, 2015).

TABELA 7. Efeitos da dieta fornecida ao animal doador de inóculo sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* estimados para silagem de milho

Parâmetro cinético	Níveis de torta de girassol (% na MS ⁽¹⁾ da dieta)					EPM ⁽²⁾	P valor		
	0	7	14	21	28		L ⁽³⁾	Q ⁽⁴⁾	C ⁽⁵⁾
Vf ₁ (mL) ⁽⁶⁾	6,4663	6,9250	5,9054	6,1759	5,0771	0,4965	0,0004	0,0980	0,9089
c ₁ (h ⁻¹) ⁽⁷⁾	0,1827	0,1064	0,1673	0,1719	0,2151	0,0238	0,0067	0,0018	0,0445
L (h) ⁽⁸⁾	2,9366	4,1700	3,7229	3,2550	3,1337	0,4612	0,4945	0,0047	0,0152
Vf ₂ (mL) ⁽⁹⁾	11,9848	10,2587	11,4268	10,9069	11,8524	0,5313	0,6601	0,0012	0,1247
c ₂ (h ⁻¹) ⁽¹⁰⁾	0,0249	0,0204	0,0236	0,0249	0,0252	0,0014	0,0826	0,0342	0,0075
GT (mL) ⁽¹¹⁾	18,4512	17,1837	17,3394	16,9627	16,9295	0,7294	0,0050	0,1453	0,3530

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Erro padrão da média. ⁽³⁾Linear. ⁽⁴⁾Quadrático. ⁽⁵⁾Cúbico. ⁽⁶⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽⁷⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽⁸⁾Latência. ⁽⁹⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽¹⁰⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽¹¹⁾Produção de gás total.

Ainda observando as Tabelas 4 a 7, pode-se notar que os níveis de TG na dieta do animal doador tiveram diferentes efeitos sobre os parâmetros cinéticos da produção de gás *in vitro* e, diferente do observado para o efeito da TA (Toledo, 2015), para algumas variáveis e alimentos os efeitos foram positivos. Esse comportamento pode ser explicado, em parte, por possíveis interações entre a microbiota coletada do animal doador, dependente basicamente da sua dieta, com os componentes nutritivos de cada alimento (PB, CT, FDN, CNF, etc).

Conforme observado na Tabela 1, a TG apresenta maior teor de EE que os demais ingredientes dietéticos e também maior teor de FDN e FDNi (fibra em detergente neutro indigestível) que o milho e farelo de soja, ingredientes cuja porcentagem foi reduzida na dieta com o incremento dos níveis de TG. Apesar disso, para alguns alimentos, houve efeito positivo ou ausência de efeito da inclusão da TG, apesar deste alimento apresentar maior concentração de componentes de mais difícil digestão (FDN) e indigestíveis (FDNi), bem como maior proporção de compostos que possivelmente apresentem efeito tóxico à microbiota ruminal (EE). Rodrigues (2012) verificou que níveis crescentes de TG na dieta de cordeiros não afetaram a digestão aparente total de qualquer nutriente avaliado, entretanto Rodrigues et al. (2013) observaram redução do ganho médio diário com o aumento da inclusão de TG na dieta de cordeiros. A possível explicação para tal comportamento talvez seja em função de que os dados de digestibilidade foram obtidos com animais canulados no rúmen com maior peso corporal e menor

consumo de MS em relação ao peso corporal, enquanto os dados de desempenho foram obtidos em cordeiros jovens, não canulados, que apresentaram maior consumo de alimentos em relação ao peso corporal.

O efeito do animal doador do inóculo foi verificado nas variáveis Vf_1 , Vf_2 ($P < 0,01$) e GT ($P < 0,05$), (Tabela 8), pois diferentes animais podem apresentar diferentes condições ruminais, em função de diferenças no comportamento alimentar (seletividade), taxa de ingestão, mastigação, secreção salivar, volume ruminal, tamanho e concentração de papilas ruminais, bem como sua taxa de passagem de sólidos e líquidos, Essas variáveis podem afetar as condições físico-químicas no rúmen e, portanto, na sua microbiota (Weimer et al., 2010). Desta forma, provavelmente houve diferença na concentração de microrganismos ou nos tipos de microrganismos coletados no inóculo ruminal de cada animal, o que teria proporcionalmente elevado efeito sobre os eventos iniciais da produção de gás, tais como taxa de digestão de CNF, Vf_1 e L do que sobre os parâmetros c_2 e Vf_2 .

TABELA 8. Efeitos do animal sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gases das dietas

Animal	Parâmetros cinéticos					
	Vf_1 (mL) ⁽¹⁾	c_1 (h ⁻¹) ⁽²⁾	L (h) ⁽³⁾	Vf_2 (mL) ⁽⁴⁾	c_2 (h ⁻¹) ⁽⁵⁾	GT (mL) ⁽⁶⁾
2	8,0831 bc	0,1357	2,0690	13,0209 ab	0,0210	21,1040 b
4	9,8213 bc	1,4821	2,5274	11,6722 bc	0,0188	21,4934 ab
5	12,2927 a	0,0695	3,1461	10,9715 c	0,0180	23,2643 a
31	7,3266 c	0,0798	3,3975	13,4107 a	0,0224	20,7374 b
49	10,0383 ab	0,0893	2,4947	12,5096 ab	0,0193	22,5479 ab
EPM ⁽⁷⁾	0,8022	0,5872	0,3211	0,4766	0,0012	0,6062
P valor	0,0017	0,4116	0,0570	0,0083	0,1296	0,0412

⁽¹⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽²⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽³⁾Latência. ⁽⁴⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽⁵⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽⁶⁾Produção de gás total. ⁽⁷⁾Erro padrão da média. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Diferença Mínima Significativa de Fisher, à 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

A seletividade entre os animais é muito comum, especialmente em ovinos, os quais apresentam sensíveis diferenças nos padrões de seleção da dieta, onde alguns animais selecionam mais algum tipo de componente, como o concentrado enquanto outros preferem consumir o volumoso. Isso tem sido recorrentemente notado em alguns experimentos (Lima, 2012; Rodrigues, 2012) e tal comportamento comprovado pela avaliação das sobras das dietas dos animais, as quais apresentam-se com mais volumoso para alguns e com mais concentrado para

outros. Se alguns animais consomem preferencialmente concentrado, certamente terão uma população microbiana do rúmen distinta dos animais que optam pelo consumo preferencial de volumoso.

O efeito de período (Tabela 9) refere-se ao efeito do tempo decorrido durante o experimento, determinando diferenças nos parâmetros cinéticos *in vitro* de forma isolada do efeito da dieta e do animal. Esse tipo de efeito pode estar relacionado com variações nas condições ambientais (temperatura, umidade, luminosidade, precipitação, etc.) que certamente variam durante o experimento, as quais também podem afetar o comportamento dos animais (seletividade, consumo de MS e água, etc.), bem como pequenas variações que talvez tenham ocorrido na composição do volumoso e concentrado, com o avançar do experimento. Observou-se que apenas para as variáveis L e Vf₂ houve efeito significativo (P < 0,05). Esse tipo de efeito permite inferir que o uso de amostras de alimentos “padrão” em cada incubação é crucial para corrigir efeitos de período e animal.

TABELA 9. Efeito de período sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gases das dietas

Período	Parâmetros cinéticos					
	Vf ₁ (mL) ⁽¹⁾	c ₁ (h ⁻¹) ⁽²⁾	L (h) ⁽³⁾	Vf ₂ (mL) ⁽⁴⁾	c ₂ (h ⁻¹) ⁽⁵⁾	GT (mL) ⁽⁶⁾
1	10,0246	0,1028	1,9533 c	12,1158 ab	0,0195	22,1404
2	10,4794	1,3418	2,3864 bc	11,0021 b	0,0186	21,4815
3	8,8932	0,1168	2,5596 bc	12,9575 a	0,0208	21,8506
4	8,4557	0,1995	3,6221 a	12,7070 a	0,0214	21,1627
5	9,7090	0,0954	3,1133 ab	12,8027 a	0,0192	22,5118
EPM ⁽⁷⁾	0,8022	0,5872	0,3211	0,4766	0,0012	0,6062
P valor	0,4700	0,5019	0,0179	0,0411	0,5143	0,6247

⁽¹⁾Volume de gás da fração de rápida degradação. ⁽²⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽³⁾Latência. ⁽⁴⁾Volume de gás da fração de lenta degradação. ⁽⁵⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação. ⁽⁶⁾Produção de gás total. ⁽⁷⁾Erro padrão da média. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Diferença Mínima Significativa de Fisher, à 5 % de probabilidade (P < 0,05).

Vale destacar que a avaliação de alimentos por intermédio da TIVPG apesar de ser precisa, pode ser afetada por aspectos relacionados ao animal doador do inóculo, tempo de coleta após a alimentação, conservação e manipulação do inóculo, tampão e meio de cultivo e temperatura de incubação (Rymer et al., 2005), bem como pela composição do alimento, a qual reside no principal objetivo quando da sua condução. Entretanto, ponderando que os gases acumulados nos frascos de fermentação podem ser afetados por variações na composição dos alimentos,

especialmente teores de proteína e lipídeos, considerando que a fermentação de proteínas gera menos gás (Cone e van Gelder, 1999) que a de carboidratos (2,4 mL / 1 % de PB) e que os lipídeos não são fermentados pela microbiota ruminal. Adicionalmente, em função da sua composição, pode afetar a produção de gases por diferente padrão de fermentação, que determine variações na relação acetato:propionato (Blümmel et al., 1997).

3.4 Conclusões

Os níveis de torta de girassol na dieta do animal doador de inóculo tiveram efeito sobre os parâmetros cinéticos da produção de gás *in vitro*.

Os níveis de torta de girassol exercem diferentes efeitos sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gás, possivelmente por afetar a microbiota ruminal dos animais.

O animal doador de inóculo e o período experimental também afetaram os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gases.

3.5 Referências Bibliográficas

- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS; K. HELRICH (Ed.). **Official methods of analysis**. 15th. ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists, 1990. 1298 p. 2 v.
- BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. In vitro gas production: a technique revisited. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Hoboken, v. 77, p. 24-34, 1997.
- CONE, J. W.; VAN GELDER, A. H. Influence of protein fermentation on gas production profiles. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 76, p. 251-264, 1999.
- DOANE, P. H.; PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. The effect of preservation method on the neutral detergent soluble fractions of forages. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 4, p. 1140-1148, 1997.
- HALL, M. B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. In: **Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis - A laboratory manual**. Gainesville: University of Florida, 2000. p. A25-A32. Bulletin 339.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 347-358, 1996.
- LIMA, L. R. **Torta de algodão na dieta de cordeiros confinados**. 2012. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2012.
- MAURICIO, R. M.; OWEN, E.; MOULD, F. L.; GIVENS, I.; THEODOROU, M. K.; FRANCE, J.; DAVIES, D. R.; DHANOA, M. S. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an in vitro gas production technique for evaluating forages. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 89, p. 33-48, 2001.
- McDOUGALL, E. I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemical Journal**, London, v. 43, n. 1, p. 99-109, 1948.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, Gaithersburg, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.
- NRC – National Research Council, Committee on the nutrient requirements of small ruminants. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington, DC: The National Academies Press, 2007. 384 p.
- PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 76, p. 1063-1073, 1993.
- RODRIGUES, D. N. **Torta de girassol na dieta de cordeiros confinados**. 2012. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2012.

RODRIGUES, D. N.; CABRAL, L. S.; LIMA, L. R.; ZERVOUDAKIS, J. T.; GALATI, R. L.; OLIVEIRA, A. S.; COSTA, D. P. B.; GERON, L. J. V. Desempenho de cordeiros confinados, alimentados com dietas à base de torta de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, p. 426-432, 2013.

RYMER, C.; HUNTINGTON, J. A.; WILLIAMS, B. A.; GIVENS, D. I. In vitro cumulative gas production techniques: history, methodological considerations and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, p. 9-30, 2005.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT 9.2 User's guide**. 2 ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2009. 7886 p.

SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 2980-2991, 1994.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets; II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

TOLEDO, C. L. B. **Avaliação nutricional das tortas de algodão e girassol por meio da técnica *in vitro* de produção de gases**. 2015. 74 f. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2015.

WEIMER, P. J.; STEVENSON, D. M.; MANTOVANI, H. C.; MAN, S. L. C. Host specificity of the ruminal bacterial community in the dairy cow following near-total exchange of ruminal contents. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 93, p. 5902-5912, 2010.

SIMULAÇÃO DA DIGESTÃO DE DIETAS CONTENDO COPRODUTOS DO BIODIESEL PELA TÉCNICA *IN VITRO* DE PRODUÇÃO DE GASES

RESUMO – Objetivou-se com este trabalho simular a digestão da matéria orgânica (MO) de dietas contendo diferentes níveis de torta de algodão (TA) ou torta de girassol (TG) por meio de estimativas das taxas de digestão das frações da MO obtidas pela técnica *in vitro* de produção de gases (TIVPG) através da comparação com valores observados *in vivo*. Dois experimentos *in vivo* foram conduzidos a fim de avaliar os efeitos de níveis de inclusão da TA ou TG (0; 7; 14; 21 e 28 % na matéria seca - MS) sobre a digestão da MO, tendo sido usados cinco ovinos canulados no rúmen em cada um dos experimentos. As dietas e ingredientes dos experimentos *in vivo* foram incubadas *in vitro* pela técnica de produção de gases, permitindo estimar as taxas de digestão da fração solúvel e insolúvel da MO, as quais foram usadas para estimar a digestão da MO das dietas, sendo esses valores usados na simulação, por meio da sua regressão com os valores obtidos nos experimentos *in vivo*. A simulação dos valores preditos e observados para a digestão total da MO para os níveis de TA indicou semelhança para os valores de β_0 e β_1 , enquanto que para a TG o mesmo comportamento não ocorreu, sendo observada diferença significativa ($P > 0,05$) para β_0 e β_1 , ou seja os valores preditos não foram semelhantes aos observados. A simulação de todos os dados em conjunto (TA + TG) também não encontrou diferenças para β_0 e β_1 , o que permite inferir que TIVPG pode ser usada para avaliar a digestão total de dietas, por apresentar elevada sensibilidade à variação da disponibilidade de nutrientes de alimentos e dietas.

Palavras-chave: parâmetros cinéticos, ovinos, nutrição animal, *Gossypium hirsutum*, *Helianthus annuus*.

SIMULATION OF DIGESTION OF DIETS CONTAINING BIODIESEL BYPRODUCTS BY *IN VITRO* GAS PRODUCTION TECHNIQUE

ABSTRACT – The objective of this work was to simulate the digestion of organic matter (OM) of diets containing different levels of cottonseed cake (CC) or sunflower cake (SC) by estimation of digestion rates of OM fractions by *in vitro* gas production technique (IVGPT), which were compared to observed values. Two *in vivo* trials were carried out in order to evaluate the CC and SC levels (0; 7; 14; 21 e 28 % of dry matter - DM) on OM digestion, in which five ruminally fitted wethers were used. In addition, feedstuffs and diets used in the *in vivo* trials were incubated by IVPGT in order to access the digestion rates for soluble and insoluble fractions of OM, which have been used for estimate the OM digestion of diets. These values were used in simulation by its regression with values from *in vivo* trials. Simulation of predicted and observed of total digestion of organic matter for CC levels indicated similar values for β_0 e β_1 , while it was not observed for SC levels, where was observed difference ($P < 0.05$) for for β_0 e β_1 indicating differences among observed and predict values. However, when data from two trials used regressed together (CC and SC) we did not find for β_0 e β_1 , which permit to infer that IVGPT might be used to evaluate OM digestion for diets considering that this technique presents high sensitivity to variation in the nutrients availability on foods and diets.

Keywords: kinetic parameters, ovine, animal nutrition, *Gossypium hirsutum*, *Helianthus annuus*.

4.1 Introdução

A produção de algodão e girassol e a sua utilização para a produção de biodiesel tem sido uma alternativa para a redução no uso de combustíveis fósseis. No Brasil, o grão de algodão é a segunda fonte lipídica mais usada para esta finalidade, seguido do girassol, os quais geram respectivamente as tortas de algodão (TA) e de girassol (TG) como principais coprodutos. Essas tortas tem sido usadas na dieta de ruminantes como fonte de proteína, energia e fibra até o limite de 20 % da matéria seca (MS), objetivando manter o teor de lipídeos dessa dieta inferior a 6 % (Jenkins, 1993). Embora a presença de lipídeos aumente a concentração energética da TA e TG, podem ocorrer efeitos negativos destes compostos no ambiente ruminal, culminando com a redução da digestão da fibra.

O conhecimento do valor nutritivo dos alimentos é fundamental para processos de adequação de dietas destinadas à alimentação dos ruminantes. Entretanto, a experimentação com animais é dispendiosa, laboriosa e consumidora de muito tempo. Neste sentido, a técnica *in vitro* de produção de gases (TIVPG) tem sido amplamente utilizada para avaliar o valor nutritivo de alimentos para ruminantes (Pell e Schofield, 1993).

Os atuais sistemas de avaliação de dietas para os ruminantes necessitam de informações precisas e acuradas a respeito dos parâmetros cinéticos da digestão dos nutrientes em diferentes seções do trato gastrintestinal, especialmente no rúmen, já que este é o principal compartimento digestivo nestes animais. Entretanto, para que estas estimativas sejam precisas e acuradas e possam ser usadas nesses sistemas, torna-se necessária a simulação e validação dos métodos usados para obtê-las, por meio da sua comparação com valores obtidos no animal (Detmann et al., 2005).

Portanto, objetivou-se simular a digestão da MS de dietas contendo a torta de algodão ou de girassol utilizadas na alimentação de ovinos por meio da sua comparação com valores medidos no animal e avaliar a acurácia dessas estimativas.

4.2 Material e Métodos

A fase experimental a campo foi realizada no setor de Ovinocultura da Fazenda Experimental da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), localizado à 15°51'19.80" latitude sul e 56°04'18.05" longitude oeste, no município de Santo Antônio do Leverger, distante cerca de 33 km da capital do estado, Cuiabá. As incubações *in vitro* foram conduzidas simultaneamente ao experimento a campo, no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMT, localizado em Cuiabá, MT.

Foram realizados dois experimentos de digestibilidade (*in vivo*) no sentido de avaliar níveis de TA ou TG na dieta de ovinos em confinamento. Os dados relativos aos animais, dietas e amostragens dos ensaios de digestão constam em Lima (2012) e Rodrigues (2012). Os detalhes relativos às incubações pela técnica *in vitro* de produção de gases constam em Toledo (2015).

As dietas experimentais e sua composição são apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1. Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais usadas com torta de algodão

Ingrediente	Dieta (% de torta de algodão na MS ⁽¹⁾)				
	0	7	14	21	28
Milho moído	41,4	37,2	33,6	29,4	25,2
Farelo de soja	16,2	13,2	10,2	7,2	4,2
Torta de algodão	0,0	7,2	13,8	21,0	28,2
Silagem de milho	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0
Ureia + sulfato de amônio (9:1)	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Mistura mineral ⁽²⁾	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Componente	Composição bromatológica (%)				
Matéria seca ⁽³⁾	65,93	66,50	66,38	66,81	66,63
Matéria mineral (% MS)	7,91	7,93	7,92	7,94	7,95
Matéria orgânica (% MS)	92,09	92,07	92,08	92,06	92,05
Proteína bruta (% MS)	16,17	16,37	16,45	16,65	16,86
Extrato etéreo (% MS)	3,36	3,81	4,25	4,70	5,16
Carboidratos totais (% MS)	74,37	73,66	73,14	72,43	71,72
Fibra em detergente neutro (% MS)	29,29	32,05	34,57	37,32	40,07
Fibra em detergente ácido (% MS)	24,81	27,17	29,31	31,66	34,02
FDN _{cp} (% MS) ⁽⁴⁾	25,50	28,15	30,58	33,22	35,87
Carboidratos não fibrosos (% MS)	48,87	45,52	42,56	39,20	35,85
FDN _i (% MS) ⁽⁵⁾	9,70	11,54	13,22	15,06	16,89

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Mistura mineral comercial para ovinos – níveis de garantia/kg: Ca, 177 g; P, 80 g; S, 20 g; Na, 108 g; Co, 40 mg; Cu, 550 mg; I, 60 mg; Se, 15 mg; Mn, 1200 mg; Zn, 3000 mg. ⁽³⁾% na matéria natural. ⁽⁴⁾Fibra em detergente neutro tratada com alfa-amilase termoestável e corrigida para cinzas e proteína. ⁽⁵⁾Fibra em detergente neutro indigestível.

TABELA 2. Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais usadas com torta de girassol

Ingrediente	Dieta (% de torta de girassol na MS ⁽¹⁾)				
	0	7	14	21	28
Milho moído	44,30	40,30	36,32	32,32	28,33
Farelo de soja	13,60	10,60	7,59	4,58	1,57
Torta de girassol	0,00	7,00	14,00	21,00	28,00
Silagem de milho	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Ureia + sulfato de amônio (9:1)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Mistura mineral ⁽²⁾	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Componente	Composição bromatológica (%)				
Matéria seca ⁽³⁾	66,18	66,43	66,68	66,92	67,16
Matéria mineral (% MS)	6,20	6,31	6,42	6,53	6,64
Matéria orgânica (% MS)	93,80	93,69	93,58	93,47	93,36
Proteína bruta (% MS)	14,24	14,08	13,91	13,75	13,59
Extrato etéreo (% MS)	3,02	3,62	4,21	4,80	5,40
Carboidratos totais (% MS)	77,02	76,48	75,94	75,40	74,85
Fibra em detergente neutro (% MS)	28,64	30,50	32,36	34,22	36,08
Fibra em detergente ácido (% MS)	16,84	18,31	19,78	21,26	22,73
FDNcp (% MS) ⁽⁴⁾	26,89	28,63	30,37	32,12	33,86
Carboidratos não fibrosos (% MS)	50,13	47,85	45,57	43,28	41,00
FDNi (% MS) ⁽⁵⁾	8,89	10,64	12,40	14,15	15,91

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Mistura mineral comercial para ovinos – níveis de garantia/kg: Ca, 177 g; P, 80 g; S, 20 g; Na, 108 g; Co, 40 mg; Cu, 550 mg; I, 60 mg; Se, 15 mg; Mn, 1200 mg; Zn, 3000 mg. ⁽³⁾% na matéria natural. ⁽⁴⁾Fibra em detergente neutro tratada com alfa-amilase termoestável e corrigida para cinzas e proteína. ⁽⁵⁾Fibra em detergente neutro indigestível.

As previsões da digestão aparente total da matéria orgânica (DAPTMO) foram obtidas mediante a utilização da seguinte equação (Cabral et al., 2011):

$$\text{DAPTMO (kg/dia)} = \text{MODR} + \text{MODPOR} \quad (1)$$

onde MODR é a matéria orgânica da dieta digerida no rúmen; MODPOR é a matéria orgânica da dieta digerida após o rúmen.

A MODR foi calculada a partir da seguinte equação (Cabral et al., 2011):

$$\text{MODR} = \text{MOSDN ingerida} * k_d / (k_d + k_p) + \text{MOFDNcp ingerido} * k_d / (k_d + k_p) \quad (2)$$

onde MOSDN representa a matéria orgânica solúvel em detergente neutro; MOFDNcp, representa a matéria orgânica como fibra em detergente neutro corrigido para cinza e proteína; k_d , representa a taxa de digestão ruminal estimada para cada fração por intermédio da técnica *in vitro* de produção de gases; k_p , a taxa de passagem ruminal de cada fração.

Os valores de taxa de passagem ruminal da MOSDN e MOFDNcp utilizados para estimar a digestão ruminal e, conseqüentemente, para calcular o escape destas frações, foram obtidos de acordo com as equações apresentadas por Cannas e Van

Soest (2000).

Para estimar a MODPOR foram considerados valores de k_d e k_p , após o cálculo de MOSDN e MOFDNcp que escapavam do rúmen. Para estimar a digestão pós-ruminal, considerou-se o k_d neste local como sendo 90 % da taxa de digestão ruminal; k_{pi} , a taxa de passagem da matéria orgânica nos intestinos, sendo utilizado o valor de $0,125 \text{ h}^{-1}$ para a MOFDNcp (Detmann et al., 2001) e o dobro deste valor ($0,250 \text{ h}^{-1}$) para o k_p da MODSN.

A validação das predições relativas à digestão aparente total da matéria seca (g/dia), pela TIVPG, foi realizada de forma independente aos tratamentos, por intermédio do ajuste de regressão linear simples (modelo completo) dos valores preditos em relação aos valores observados. As estimativas dos parâmetros de regressão foram testadas sob as hipóteses: $H_0^{(a)}$: $\beta_0 = 0$ e $H_0^{(b)}$: $\beta_1 = 1$. Utilizou-se o pacote estatístico SAS 9.2 (SAS Institute Inc., 2009), adotando-se $\alpha = 0,05$.

As taxas de digestão das frações solúveis e insolúveis das dietas onde foram avaliados níveis de TA e TG são apresentadas nas Tabelas 3 e 4, respectivamente, utilizadas para estimar a digestão ruminal e pós-ruminal da matéria orgânica (MO).

TABELA 3. Valores médios das taxas de digestão estimadas para as frações de rápida e lenta degradação ruminal para as dietas em função dos níveis de inclusão de torta de algodão

Parâmetro cinético	Níveis de torta de algodão (% na MS ⁽¹⁾ da dieta)				
	0	7	14	21	28
$c_1 \text{ (h}^{-1}\text{)}^{(2)}$	0,0897	0,0887	0,0780	0,1711	0,0896
$c_2 \text{ (h}^{-1}\text{)}^{(3)}$	0,0219	0,0185	0,0192	0,0202	0,0161

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽³⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação.

TABELA 4. Valores médios das taxas de digestão estimadas para as frações de rápida e lenta degradação ruminal para as dietas em função dos níveis de inclusão de torta de girassol

Parâmetro cinético	Níveis de torta de girassol (% na MS ⁽¹⁾ da dieta)				
	0	7	14	21	28
$c_1 \text{ (h}^{-1}\text{)}^{(2)}$	0,1322	0,0707	0,0874	0,0727	0,1046
$c_2 \text{ (h}^{-1}\text{)}^{(3)}$	0,0222	0,0172	0,0179	0,0162	0,0193

⁽¹⁾Matéria seca. ⁽²⁾Taxa de degradação da fração de rápida degradação. ⁽³⁾Taxa de degradação da fração de lenta degradação.

4.3 Resultados e Discussão

Observando a correlação entre a digestibilidade aparente da MO predita (g/dia) a partir dos parâmetros cinéticos obtidos por intermédio da TIVPG e a digestão da MO observada *in vivo* (g/dia) em ovinos alimentados com dietas contendo níveis crescentes de TA (Figura 1), nota-se elevada frequência de pontos junto à reta da equação $Y = X$, o que sinaliza a acurácia das estimativas. Adicionalmente, usando o Model Evaluation System – MES (Tedeschi, 2006), não foi observado diferença significativa ($P > 0,05$) entre os valores preditos e observados tanto para o intercepto β_0 (aceita-se $H_0^{(a)}$) quanto para o coeficiente angular (aceita-se $H_0^{(b)}$: $\beta_1 = 1$), indicando que os valores preditos foram acurados na estimação dos valores observados.

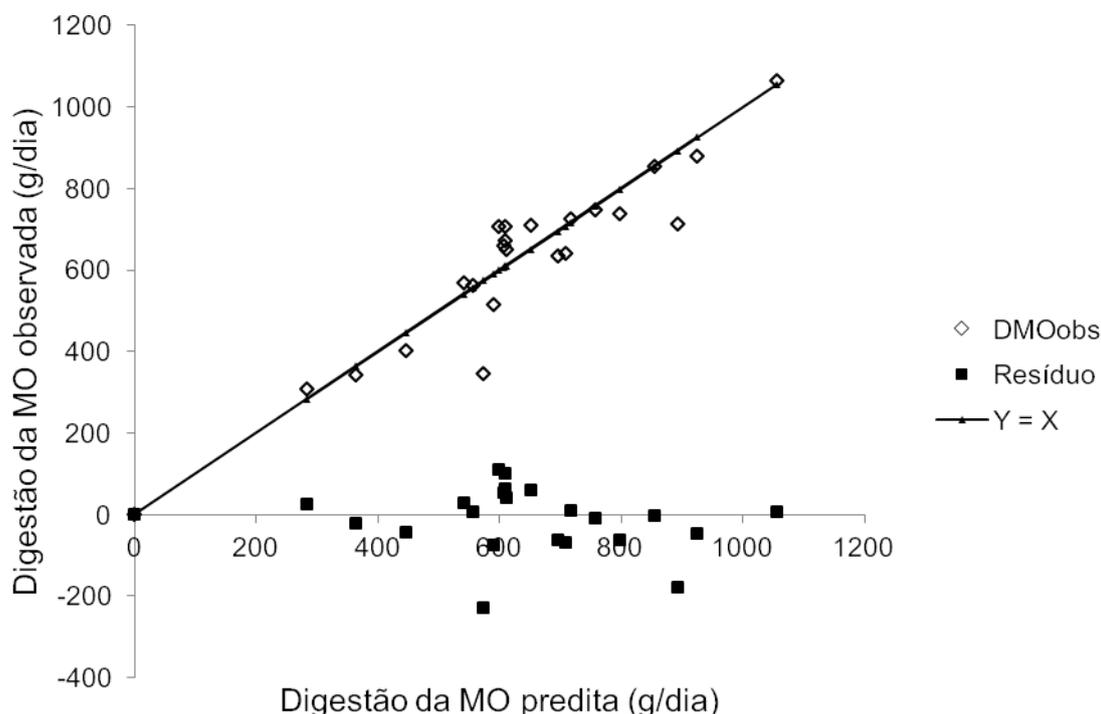


FIGURA 1. Correlação entre a digestão total da MO observada (*in vivo*) e digestão total da MO predita pelos parâmetros cinéticos estimados pela técnica *in vitro* de produção de gases para a torta de algodão. $P > 0,05$.

Diferentemente do observado para as dietas com níveis de TA, a simulação dos valores preditos e observados no MES (Tedeschi, 2006) para as dietas com níveis crescentes de TG, foi observado diferença significativa ($P < 0,05$) tanto para

β_0 quanto para β_1 , o que significa que os valores preditos não são semelhantes aos observados. Isso indica que as estimativas obtidas pela TIVPG não foram acuradas para prever a digestão da MO das dietas em função dos níveis de TG. Desta forma, na Figura 2, nota-se elevada frequência de pontos observados distantes da reta da equação $Y = X$, bem como elevada dispersão dos resíduos (valor predito menos o valor observado).

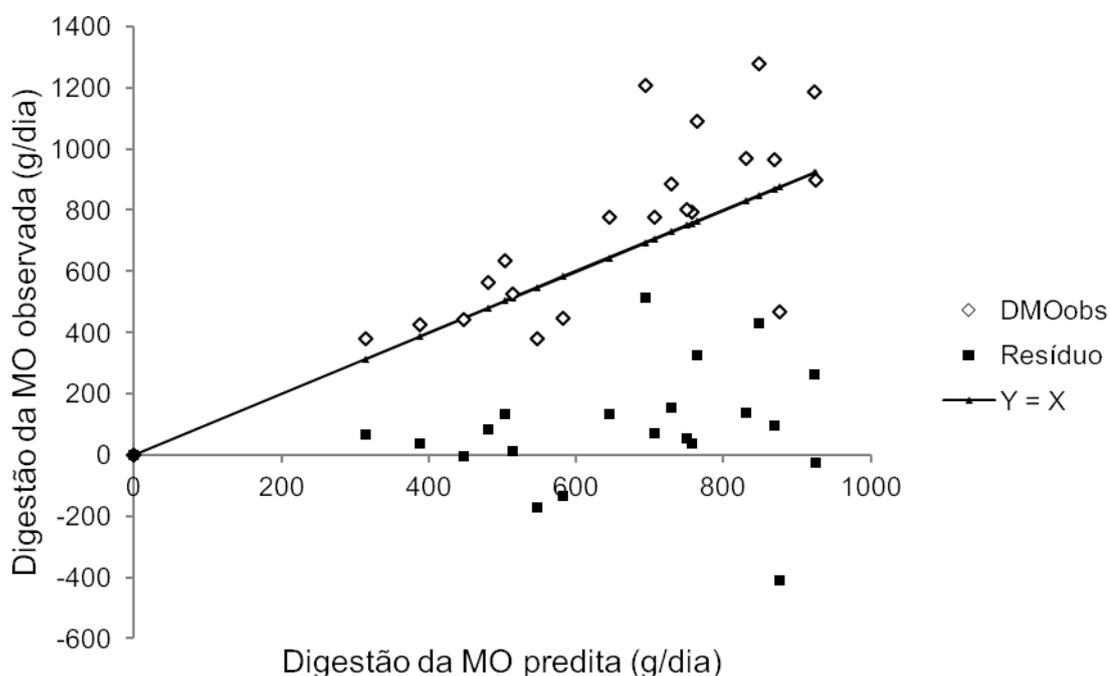


FIGURA 2. Correlação entre a digestão total da MO observada (*in vivo*) e digestão total da MO predita pelos parâmetros cinéticos estimados pela técnica *in vitro* de produção de gases para a torta de girassol. $P > 0,05$.

Na Figura 3 foram reunidos os dados dos dois experimentos, ou seja, dados de digestão da MO predita e observada para as dietas com níveis crescentes de TA, assim como os dados de digestão da MO predita e observada para as dietas com níveis crescentes de TG. Apesar de alguns pontos observados estarem fora da reta $Y = X$, bem como haver razoável número de resíduos dispersos, analisado os valores preditos e observados no MES, não foi identificada diferença significativa ($P < 0,05$) para β_0 e β_1 , o que indica acurácia das estimativas em prever os valores de digestibilidade da MO das dietas.

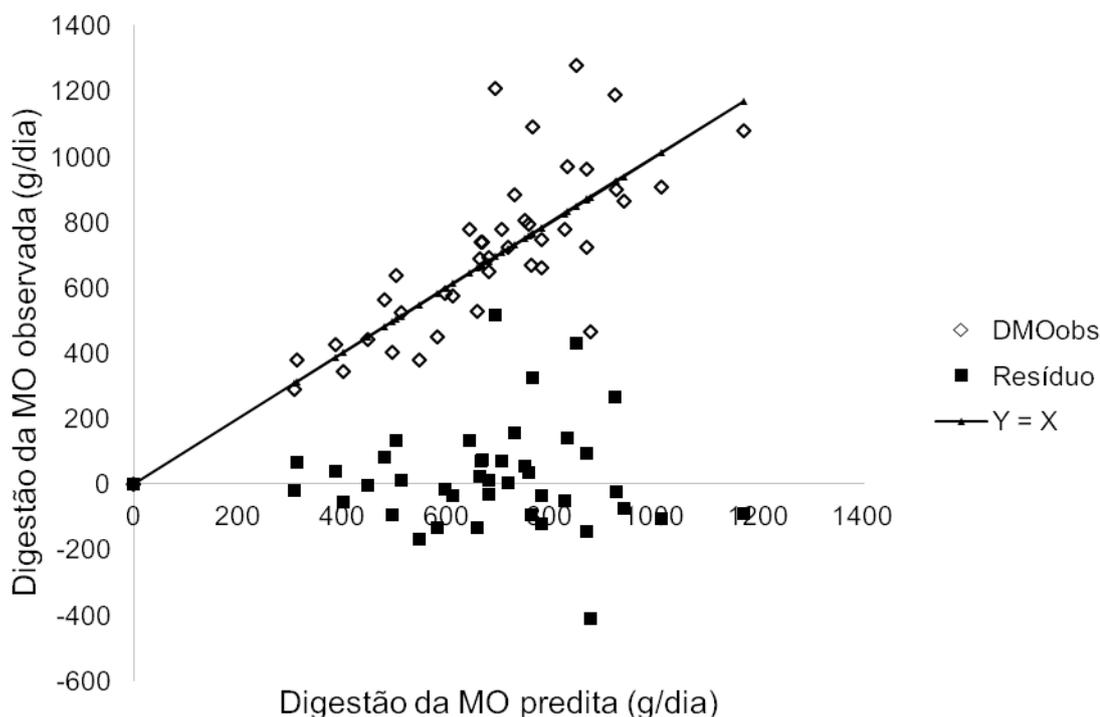


FIGURA 3. Correlação entre os valores preditos e observados para a digestão total da MO de dietas contendo níveis crescentes de torta de algodão e torta de girassol (dados analisados em conjunto). $P > 0,05$.

Detmann et al. (2005), avaliando a acurácia das estimativas obtidas pelo uso da TIVPG, verificaram superestimativas da degradação ruminal dos carboidratos totais. Entretanto, considerando que os autores supracitados trabalharam com estimativas de consumo, e não com consumo medido no animal, uma vez que se tratava de novilhos a pasto, pode-se inferir que as estimativas de consumo podem estar aumentadas e com isto, proporcionar superestimativas da quantidade de carboidratos totais digeridos no rúmen.

Neste caso, os referidos autores obtiveram as estimativas das taxas de digestão das frações dos carboidratos a partir de curvas de produção de gases de 120 horas, o que pode confundir a interpretação dos resultados, pois parte dos gases medidos em longos tempos de incubação podem refletir a autólise e reciclagem de compostos das células dos microrganismos e não mais os constituintes dos alimentos, tais como os carboidratos, conforme relatado por Cone e van Gelder (1999). Neste sentido, a utilização de dados obtidos a partir de tempos de incubação muito prolongados podem gerar subestimativas das taxas de digestão dos carboidratos dos alimentos, as quais não refletem os valores reais nos alimentos e dietas.

Huhtanen et al. (2008) verificaram que a digestibilidade *in vivo* da fibra em detergente neutro (FDN) de silagens de 15 gramíneas pode ser predita de forma acurada e precisa a partir de um sistema automatizado de mensuração da produção de gás *in vitro*. Cabral et al. (2011) constataram que o uso dos parâmetros cinéticos obtidos a partir do uso da TIVPG foi acurado para predizer a digestão ruminal e total dos carboidratos fibrosos (CF) em bovinos.

Contrariamente, Vieira et al. (2000) observaram subestimação da digestão ruminal dos CF para bovinos mantidos sob condições de pastejo, e atribuem às falhas na obtenção das estimativas dos parâmetros da cinética de degradação *in vitro* para os CF, por meio do método gravimétrico, assim como aos erros decorrentes da obtenção das estimativas das taxas de passagem. Considerando que estes autores obtiveram os valores para a taxa de passagem das partículas por intermédio do cromo mordantado à fibra, a taxa de passagem das partículas marcadas pode ser superior às partículas da fibra do alimento, uma vez que a extração com detergente neutro pode alterar a estrutura física da parede celular e a ligação com o cromo pode aumentar a densidade das partículas, fazendo com que as partículas marcadas escapem do rúmen de forma mais rápida do que as partículas não tratadas com cromo (Detmann et al., 2001).

De acordo com Mertens (1994), a variação na taxa de passagem da digesta do rúmen apresenta elevado efeito na predição da digestão dos CF, uma vez que estes últimos apresentam lenta taxa de digestão ruminal, sendo, portanto, grandemente afetados por pequenas variações na taxa de passagem ruminal e suas estimativas.

4.4 Conclusões

A simulação dos valores preditos com os observados relativos à digestão da MO das dietas com níveis crescentes de TA permitiu gerar estimativas acuradas, entretanto, o mesmo comportamento não foi observado quando foi feita a simulação para as dietas que envolveram a inclusão de níveis de TG.

Entretanto, a simulação dos valores preditos e observados reunindo os dados dos dois experimentos, ou seja, níveis de TA e de TG simultaneamente, permitiu identificar que as estimativas foram acuradas, não havendo diferença entre os valores preditos e observados.

A TIVPG apresenta elevada sensibilidade à variação na disponibilidade de nutrientes dos alimentos ou dietas, pois a produção de gás é responsiva ao aumento da quantidade de nutrientes disponíveis nos alimentos ou dietas. Portanto, esta técnica pode ser usada para avaliar a digestão total das dietas.

4.5 Referências Bibliográficas

CABRAL, L. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J. T.; GALATI, R. L.; SOUSA, D. P.; SOUZA, A. L. Simulation and validation of the ruminal digestion of carbohydrates in cattle from kinetic parameters obtained by *in vitro* gas production technique. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 1984-1990, 2011.

CANNAS, A.; VAN SOEST, P. J. Simple allometric models to predict rumen feed passage rate in domestic ruminants. In: McNAMARA, J. P.; FRANCE, J.; BEEVER, D. E. (Ed.). **Modeling nutrient utilization in farm animals**. Wallingford, UK: CAB International, 2000. cap. 4, p. 49-62.

CONE, J. W.; VAN GELDER, A. H. Influence of protein fermentation on gas production profiles. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 76, p. 251-264, 1999.

DETMANN, E.; CECON, P. R.; PAULINO, M. F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; VALADARES FILHO, S. C.; ARAÚJO, C. V. Estimação de parâmetros da cinética de trânsito de partículas em bovinos sob pastejo por diferentes seqüências amostrais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 222-230, 2001.

DETMANN, E., PAULINO, M. F.; CABRAL, L. S.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; ZERVOUDAKIS, J. T.; LANA, R. P.; LEÃO, M. I.; MELO, A. J. N. Simulação e validação de parâmetros da cinética digestiva em novilhos mestiços suplementados a pasto, por intermédio do sistema *in vitro* de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 2112-2122, 2005.

HUHTANEN, P.; SEPPÄLÄ, A.; OTS, M.; AHVENJÄRVI, S.; RINNE, M. *In vitro* gas production profiles to estimate extent and effective first-order rate of neutral detergent fiber digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 651-659, 2008.

JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 76, p. 3851-3863, 1993.

LIMA, L. R. **Torta de algodão na dieta de cordeiros confinados**. 2012. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2012.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY Jr, G. C. (Ed.). **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison, WI: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 1994. cap. 11, p. 450-493.

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

RODRIGUES, D. N. **Torta de girassol na dieta de cordeiros confinados**. 2012. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2012.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT 9.2 User's guide**. 2 ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2009. 7886 p.

TEDESCHI, L. O. Assessment of the adequacy of mathematical models. **Agricultural Systems**, Amsterdam, v. 89, n. 2, p. 225-247, 2006.

TOLEDO, C. L. B. **Avaliação nutricional das tortas de algodão e girassol por meio da técnica *in vitro* de produção de gases**. 2015. 74 f. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2015.

VIEIRA, R. A. M.; PEREIRA, J. C.; MALAFAIA, P. A. M.; QUEIROZ, A. C.; JORDÃO, C. P.; GONÇALVES, A. L. Simulação da dinâmica de nutrientes no trato gastrointestinal: aplicação e validação de um modelo matemático para bovinos a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 898-909, 2000.

5 CONCLUSÕES

Os níveis de torta de algodão exercem efeito negativo sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gás, possivelmente por afetar a microbiota ruminal dos animais e sua atividade.

Os níveis de torta de girassol exercem diferentes efeitos sobre os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gás, sendo positivos e negativos, possivelmente por afetar a microbiota ruminal dos animais e sua atividade.

O animal doador de inóculo e o período experimental tanto para a torta de algodão quanto para a torta de girassol, afetam os parâmetros cinéticos *in vitro* da produção de gás e, desta forma, devem ser considerados nesses tipos de experimentos.

A simulação dos valores preditos com os observados relativos à digestão da matéria orgânica das dietas com níveis crescentes de torta de algodão permitiu gerar estimativas acuradas, entretanto, o mesmo comportamento não foi observado para a simulação de dietas com inclusão de níveis de torta de girassol.

A simulação dos valores preditos e observados quando reunidos e analisados conjuntamente, ou seja, níveis de torta de algodão e girassol permitiu identificar que as estimativas foram acuradas, não havendo diferença entre os valores preditos e observados.

A técnica *in vitro* de produção de gases apresenta elevada sensibilidade à variação na disponibilidade de nutrientes dos alimentos ou dietas, pois a produção de gás é responsiva ao aumento da quantidade de nutrientes disponíveis nos alimentos ou dietas, podendo, portanto, ser usada para avaliar a digestão total das dietas.