

# Utilização de fezes (eqüina ou bovina) em substituição ao líquido ruminal como fonte de inóculo para determinação da digestibilidade *in vitro* de alimentos para ruminantes

Karina Toledo da Silva, Daniele Cristina da Silva, Geraldo Tadeu dos Santos\*, Claudete Regina Alcalde, Maximiliane Alavarse Zambom, Elisa Cristina Modesto e Carlos Eduardo Furtado

Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.

\*Autor para correspondência. e-mail: gtsantos@uem.br

**RESUMO.** O objetivo do experimento foi avaliar o uso das fezes de eqüino (FE) e de bovino (FB), obtidas diretamente do reto, como fonte de inóculo alternativo ao líquido ruminal (LR), para determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de acordo com a técnica descrita por Tilley e Terry, adaptada para o fermentador ruminal Daisy<sup>II</sup> (ANKOM<sup>®</sup> Technology). Foram utilizadas uma vaca da raça Holandesa, doadora de líquido ruminal e fezes, e uma égua da raça Percheron como doadora de fezes, recebendo ração concentrada, e com acesso a uma pastagem de grama-estrela (*Cynodon dactylon*). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com três tratamentos (LR, FB e FE) e quatro repetições. Foram utilizados sete alimentos: milho moído (MIM), triticales moído (TTM), casca do grão de soja (CGS), silagem do terço superior da rama de mandioca (SRM), feno de Alfafa (FAF), feno de *Tifton 85* (FTF) e feno de *Coast-cross* (FCC). O inóculo preparado com as fezes apresentou capacidade de degradar alimentos, porém com menor eficiência do que o líquido ruminal.

**Palavras-chave:** Daisy<sup>II</sup>, ANKOM<sup>®</sup>, digestibilidade, fezes, inóculo.

**ABSTRACT. The evaluation of the use equine and bovine feces as the source of inoculum for measure the feedstuffs *in vitro* dry matter digestibility.** The goal of work was to evaluate the utilization of equine (EF) and bovine feces (BF), obtained from the rectum, as the source of alternative inoculum to ruminal liquor (RL), for determinate the *in vitro* dry matter digestibility according to the technique described by Tilley and Terry, adapted to ruminal fermentation (DAISY<sup>II</sup>/ ANKOM<sup>®</sup>). One Holstein cow, donor of ruminal liquor and feces, and one Percheron mare with donor of feces were used, receiving concentrated ration and with access to a *Cynodon dactylon* sward. The completely randomized experimental designer was used with three treatments and four replications. Seven feedstuffs were used: corn ground (CGR), triticales ground (TTG), soybean hulls (SBH), superior third of cassava foliage silage (CFS), alfalfa hay (AFH), Tifton 85 hay (TFH) and Coast-cross hay (CCH). The inoculum prepared with feces presented ability of degradation, however with less efficiency related to the ruminal liquor.

**Key words:** Daisy<sup>II</sup>, ANKOM<sup>®</sup>, digestibility, feces, inoculum.

## Introdução

Para avaliar o valor nutricional de um alimento deve-se levar em consideração os processos fisiológicos, a ingestão, as perdas decorrentes da digestão, a absorção, o metabolismo e a eficiência que ocorrem no animal. A capacidade deste em utilizar os nutrientes do alimento é dada pela digestibilidade (Silva e Leão, 1979).

A digestibilidade de forragens, estimada pelo método convencional, ou seja, método *in vivo*, é a medida que apresenta o maior grau de confiança, porém é um processo oneroso e demorado, não permitindo a avaliação simultânea de grande número de alimentos testados (Pires, 1979).

Com o intuito de agilizar essa avaliação, foram criadas inúmeras técnicas, tais como *in vitro* e *in situ*, as quais tentam simular todas as etapas que ocorrem na digestão dos ruminantes. Embora essas técnicas apresentem sucesso, necessitam de animais fistulados para a retirada do inóculo ruminal, abreviando a sua vida útil e elevando o custo de manutenção.

O procedimento laboratorial mais utilizado é a incubação *in vitro* de amostras de alimentos em líquido ruminal, técnica descrita por Tilley e Terry (1963) e Johnson (1966). Algumas modificações foram introduzidas por diversos laboratórios (Osbourn e Terry, 1977; Nocek, 1985; Holden, 1999),

sendo normalmente empregados para a avaliação da digestibilidade dos mais variados tipos de alimentos.

Segundo Oliveira *et al.* (1993), a técnica da digestão *in vitro* tem sido largamente utilizada na análise dos mais variados tipos de alimentos fornecidos aos bovinos. Esse fato é observado em razão da praticidade na determinação dos resultados, uma vez que grande parte do processo é desenvolvida em laboratório. Essa técnica procura simular as condições naturais da digestão. Portanto, torna-se imprescindível que cada etapa da operação seja representativa do processo digestivo e reproduzida o mais fielmente possível, para que os resultados sejam confiáveis.

O uso da técnica *in vitro* para a predição da digestibilidade *in vivo*, é recomendada devido aos elevados coeficientes de correlação (Silva, 1990). Trata-se, pois, de um método que se possibilita comparar espécies ou cortes realizados em diferentes períodos de crescimento de um grande número de espécies forrageiras (Silva, 1990; Holden, 1999; Mabweesh *et al.*, 2000; Santos *et al.*, 2000).

Como alternativa de inóculo, o uso de fezes vem sendo usado com relativo sucesso. El Shaer *et al.* (1987) utilizaram fezes de carneiro como fonte de inóculo, obtendo alta correlação ( $r^2 = 0,98$ ) entre a digestibilidade aparente *in vivo* e *in vitro*, ao empregarem a técnica Tilley e Terry (1963).

A capacidade de degradação de alimentos volumosos, utilizando fezes bovinas como fonte de inóculo, também foi observada por Müller (2000), demonstrando que o inóculo possui grande potencial para ser utilizado como rotina laboratorial.

Gonçalves e Borba (1995) utilizando líquido ruminal de ovino com alimentação padronizada, líquido ruminal de bovino colhido no matadouro e fezes de ovino como fonte de inóculo, obtiveram melhores resultados com o líquido ruminal de ovino com dieta padronizada ( $r^2 = 0,86$ ), seguido das fezes de ovino ( $r^2 = 0,78$ ) e do líquido ruminal de bovinos obtido do matadouro ( $r^2 = 0,69$ ).

Akhter e Hossain (1998) verificando a substituição de líquido ruminal por fezes de bovinos na digestibilidade *in vitro*, encontraram valores absolutos de digestibilidade menores para o inóculo com fezes, apresentando, porém, alta correlação ( $r^2 = 0,95$ ) com o líquido ruminal.

Maurício *et al.* (1998) compararam o líquido de rúmen e de fezes de vacas como fonte de microrganismos para produção de gás *in vitro*, tendo encontrado o perfil de fermentação descrito pelas fezes com a "lag" superior ao líquido ruminal, provavelmente devido à baixa atividade ou concentração dos organismos fecais, mas com grande potencial como inóculo alternativo para a técnica *in vitro*, especialmente quando o líquido ruminal não está disponível.

Bueno *et al.* (1999) utilizaram líquido ruminal e fezes de bovinos e ovinos como fonte de inóculo para a técnica *in vitro* para produção de gases, técnica que vem se destacando muito como promissora na avaliação de alimentos para ruminantes. Isso demonstra que os ovinos também podem ser utilizados como doadores de inóculo para a técnica *in vitro*.

Os eqüinos têm ceco bastante desenvolvido e, à semelhança do rúmen, apresentam capacidade de digestão microbiana, o que possibilita o aproveitamento da celulose e da hemicelulose não-digeridas anteriormente. Os trabalhos com a utilização de fezes eqüinas, como fonte de inóculo para a digestibilidade *in vitro*, são, todavia, particularmente escassos. Lowman *et al.* (1999), estudando a utilização de fezes eqüinas como fonte de inóculo para estimar a digestibilidade *in vivo* e a energia digestível de alimentos para eqüinos, encontraram resultados satisfatórios na produção de gás *in vitro*, ao demonstrarem que o inóculo utilizado tem considerável potencial para predizer o valor nutritivo desses alimentos.

Os sistemas *in vitro* apresentam vantagens como a avaliação da digestibilidade de alimentos com rapidez, a uniformidade físico-química do local de fermentação e a conveniência de se manter poucos animais fistulados, porém não reproduzem perfeitamente o processo de digestão *in vivo*. A capacidade de predição e a aplicabilidade de técnicas *in vitro* podem resultar do grau de similaridade entre a técnica e o processo digestivo do ruminante. Sistemas *in vitro*, utilizando fluido ruminal e meio de cultura, tentam simular o processo anaeróbico de fermentação ruminal (Goering e Van Soest, 1975), sendo o meio de cultura normalmente uma solução tampão que simula a saliva do ruminante (McDougall, 1948).

No estudo da digestibilidade *in vitro*, existem várias fontes de variação (Johnson, 1966) que podem interferir na metodologia. Malafaia *et al.* (1997) concluíram que a maioria dos métodos *in vitro* pode apresentar falha, por não utilizar adequadamente o inóculo, os tampões, ou os equipamentos que garantam as condições de pH, anaerobiose, biomassa microbiana e nutrientes essenciais para a mesma.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar fezes de eqüinos ou de bovinos obtidas diretamente do reto, como fonte de inóculo para utilização na metodologia de determinação de digestibilidade *in vitro*, em substituição ao líquido de rúmen obtido através de fístula ruminal.

## Material e métodos

O presente trabalho foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e nos Laboratórios de Análises de Alimentos e Nutrição Animal e

Digestibilidade *in vitro* e Metabolismo Animal, do Departamento de Zootecnia da UEM, Maringá, Estado do Paraná.

### Tratamentos

Os tratamentos consistiram de 3 tipos de inóculo: líquido de rúmen de bovinos (LR) obtido por meio de fistula ruminal, fezes bovinas (FB) (diluição 200g de fezes/400mL de tampão) e fezes eqüinas (FE) (diluição 200g de fezes/400mL de tampão).

Os inóculos foram obtidos de 1 vaca de raça Holandesa preta e branca, com peso vivo de 513kg e de 1 égua da raça Percheron, com peso vivo de aproximadamente 950kg.

A vaca foi alojada em num estábulo do tipo "tie-stall" das 6h30min às 9h e das 14h às 17h. Permanecendo, durante o restante do dia em piquete com grama-estrela (*Cynodon dactylon*). A égua foi mantida em baia individual, nos mesmos horários da vaca, e durante o restante do dia, também permaneceu em piquete de grama-estrela. A ração concentrada foi fornecida em cocho de madeira, na quantidade de 1kg às 8h e 1kg às 16h, sendo composta por: casca do grão de soja (42,6%), farelo de trigo (29,0%), milho moído (19,5%), farelo de soja (16,6%), fosfato bicálcico (0,41%), calcário (0,20%), Rovimix (0,50%), Roligomix (0,20%). O sal mineral foi fornecido *ad libitum* e os animais tiveram livre acesso à água. Sendo esses, portanto, previamente adaptados à ração durante 7 dias antes do período de coletas.

Para avaliar a eficiência dos inóculos, foram usados 7 alimentos: milho moído (MIM), tritcale moído (TTM), casca do grão de soja (CGS), silagem do terço superior da rama de mandioca (SRM), feno de Alfafa (FAF), feno de *Tifton 85* (FTF) e feno de *Coast-cross* (FCC). Tais alimentos foram escolhidos pelo seu amplo emprego na alimentação animal na região do Norte do Estado do Paraná.

O líquido de rúmen foi colhido antes da primeira alimentação do animal, por meio de fistula ruminal. Para o inóculo proveniente da fistula ruminal, foi mantida uma proporção de 50% de material da fase sólida (colhida manualmente) e 50% de material líquido (colhido através de bomba de sucção). Em seguida, o inóculo foi transferido para a garrafa térmica pré-lavada e pré-aquecida a 39°C, adicionando-se CO<sub>2</sub> antes e após a colocação do inóculo líquido ruminal, juntamente com o material na fase sólida por aproximadamente 30 segundos, lacrando-se a garrafa para o transporte até o laboratório.

Quanto às fezes, a colheita foi realizada diretamente no reto, no mesmo horário da colheita de líquido de rúmen. Foram colhidos cerca de 1kg de fezes de cada espécie, sendo utilizadas para as diluições em solução tampão (saliva artificial) de 1:2. Após a colheita, as fezes foram colocadas em sacos plásticos devidamente identificados. Antes e após a colocação do material, nos recipientes, injetou-se

CO<sub>2</sub>, para, em seguida coloca-lo em uma caixa de isopor, revestida com papel alumínio no fundo e nas laterais, e com garrafas de vidro no seu interior, cheias de água a 39°C, para manter a temperatura.

Depois de fechada e lacrada com fita adesiva, a caixa foi transportada até o laboratório. O preparo dos inóculos foi feito de acordo com Tilley e Terry (1963) modificado conforme Santos *et al.* (2000) e adaptado ao fermentador ruminal Daisy<sup>II</sup>.

### Técnica

Para a determinação da digestibilidade *in vitro* foi utilizada a técnica descrita por Tilley e Terry (1963) adaptada para o Fermentador Ruminal Daisy<sup>II</sup>, o qual foi desenvolvido pela empresa ANKOM<sup>®</sup> Technology Corporation, N.Y., USA, conforme descrito por Santos *et al.* (2000). Os alimentos foram antecipadamente moídos em moinho do tipo faca (MARCONI<sup>®</sup>), provido de peneira com crivos de 1mm para os volumosos e 2,5mm para os alimentos concentrados, e pesados em duplicata contendo 0,25g de amostra (volumoso) e 0,5g de amostra (concentrado) em cada saco filtro de fibra F57 da ANKOM<sup>®</sup>, para seguida, serem acondicionados nos jarros providos dos inóculos.

Antes da utilização dos inóculos nos jarros, procedeu-se à homogeneização em separado no liquidificador pré-aquecido a 39°C, durante aproximadamente 30 segundos. Após a obtenção dos inóculos, o LR, os FB e as FE foram filtrados individualmente em pano de gaze dobrado quatro vezes e espremidos à mão até serem obtidos 400mL de cada inóculo para cada jarro. Adicionou-se CO<sub>2</sub> ao recipiente que recebeu os inóculos filtrados, ao liquidificador antes de ser usado, e também em cada jarro durante 30 segundos, após a colocação da solução tampão (1600mL/jarro), dos sacos filtro e do inóculo, para imediatamente fecha-los com tampa dotada de válvula de escape de gases. A temperatura foi mantida em 39°C e onde os sacos-filtro foram incubados por 48 horas nos jarros do Fermentador Ruminal Daisy<sup>II</sup>.

O método de 2 estágios foi completado pela adição de cerca de 30mL de HCl 6 N e 8g de pepsina (1:10.000) em cada jarro, mantendo a temperatura à 39°C por mais 24 horas. A pepsina foi dissolvida em 34mL de H<sub>2</sub>O destilada a 35°C durante cinco minutos em agitador e, em seguida, foi verificado o valor do pH (2 - 3,5).

No término desse período, os jarros foram drenados e os sacos lavados no próprio jarro fermentador, 5 a 6 vezes com água destilada. O gás contido nos sacos foi removido com delicada pressão das mãos sobre os mesmos. Os sacos foram secos a 105°C em estufa (Fanem modelo 315) por 24 horas para a secagem definitiva e determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS).

Após serem retirados da estufa, os sacos foram colocados em dissecador para atingirem a temperatura ambiente. Em seguida, foram pesados em balança analítica com precisão de 0,0001 g para se determinar a matéria seca (MS). A DIVMS foi calculada pela diferença da quantidade incubada do resíduo que ficou após a incubação, por meio da seguinte fórmula:

$$\text{DIVMS} = \frac{(\text{MS do alimento} - \text{MS do resíduo}) \times 100}{\text{MS do alimento}}$$

### Análises químicas

As amostras foram submetidas à determinação de matéria seca (MS) antes e após os períodos de incubação, conforme descrito por Silva (1990). Para os alimentos utilizados, foram determinados os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com a técnica de Van Soest (1991) e proteína bruta (PB) conforme Silva (1990). (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição química (em porcentagem) dos alimentos estudados

Alimento	MS <sup>1</sup>	PB	FDA	FDN
Milho moído	89,30	9,40	5,50	-
Triticale moído	89,10	14,80	4,70	-
Casca do grão de soja	89,70	12,00	50,70	68,60
Silagem rama de mandioca	23,00	22,40	33,10	48,20
Feno de Tifton 85	93,60	8,20	43,90	81,40
Feno de Coast cross	91,80	6,10	38,90	77,50
Feno de Alfafa	87,20	27,10	32,70	45,40

<sup>1</sup>MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDA: fibra em detergente ácido; FDN: fibra em detergente neutro

### Análises estatísticas

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com 3 tratamentos (LR, FB e FE) e 4 repetições (incubações). Os efeitos dos tratamentos foram estudados por análise de variância e os contrastes de médias pelo teste Tukey, por meio do Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (Saeg) desenvolvido pela UFV (1987).

### Resultados e discussão

Os valores médios para a DIVMS, obtidos de diferentes inóculos, LR, FB e FE, utilizando o Fermentador Ruminar Daisy<sup>II</sup>, estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Digestibilidade *in vitro* da MS (em porcentagem) de alimentos com o uso de diferentes inóculos

Alimento/Inóculo	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca						
	MIM <sup>4</sup>	TTM <sup>5</sup>	CGS <sup>6</sup>	SRM <sup>7</sup>	FAF <sup>8</sup>	FTF <sup>9</sup>	FCC <sup>10</sup>
LR <sup>1</sup>	89,69 a	90,09	81,43	63,15 a	72,09 a	67,66 a	62,26 a
FB <sup>2</sup>	88,35 ab	90,65	84,28	57,89 a	65,58 b	51,59 b	50,31 b
FE <sup>3</sup>	82,24 b	90,69	70,13	51,08 b	60,76 c	41,64 c	40,34 c
CV <sup>11</sup> (%)	3,94	2,41	9,55	5,58	3,75	8,28	5,40

Letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05); <sup>1</sup>LR: Líquido de Rúmen; <sup>2</sup>FB: Fezes Bovinas; <sup>3</sup>FE: Fezes Equinas; <sup>4</sup>MIM: Milho; <sup>5</sup>TTM: Triticale; <sup>6</sup>CGS: Casca do Grão de Soja; <sup>7</sup>SRM: Silagem Rama de Mandioca; <sup>8</sup>FAF: Feno de Alfafa; <sup>9</sup>FTF: Feno de Tifton 85; <sup>10</sup>FCC: Feno de Coast-cross; <sup>11</sup>CV: Coeficiente de variação

O maior e o menor valor encontrados para a DIVMS foram 90,69% e 40,34%, para TTM e FCC, respectivamente.

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que a DIVMS de MIM, quando foi utilizado LR como inóculo, foi diferente (p<0,05) em comparação a FE, enquanto que o valor observado com a utilização de FB não apresentou diferença entre os demais tratamentos. O valor referente à DIVMS de MIM, 89,69%, está próximo ao encontrado por Mabeesh *et al.* (2000), de 85,9%, utilizando líquido ruminal como inóculo no Fermentador Ruminar Daisy<sup>II</sup>. No entanto, esse valor é inferior ao verificado pelos mesmos autores, 92,2%, ao utilizarem a técnica Tilley e Terry (1963).

Machado (1999) utilizando fezes bovinas em diluição 200g/200mL, 100g/300mL (fezes/tampão) e líquido ruminal, encontrou os respectivos valores de 95,71%, 90,01% e 95,79%, os quais concordam com Zambom *et al.* (2001), os quais verificaram 95,70% de DIVMS para o milho, utilizando LR, porém esses valores são superiores aos encontrados neste trabalho.

Para TTM e CGS, a DIVMS foi semelhante (p>0,05) para os 3 tratamentos. No entanto, observou-se que SRM diferiu (p<0,05) somente quando se utilizou o inóculo FE. Quanto a FAF, FTF e FCC, foram observadas diferenças (p<0,05) entre os 3 tratamentos.

A CGS apresentou como DIVMS valores semelhantes (P>0,05), de 70,13% a 84,28%, discordando do valor encontrado por Zambom *et al.* (2001), que foi de 95,43%, diferindo também do valor de 63,39%, observado por Tambara *et al.* (1993).

O FAF apresentou uma DIVMS de 72,09%, 65,58% e 60,76% para os inóculos LR, FB e FE a qual foi maior que a de 58% e 53,6% observado por Mabeesh *et al.* (2000) ao utilizar as respectivas técnicas Tilley e Terry (1963) e Daisy<sup>II</sup>.

A DIVMS de 67,66% de FTF obtida, utilizando LR como inóculo, discorda dos valores obtidos por, Assis (1997), Mandebvu *et al.* (1999) e Gonçalves (2001), porquanto os mesmos chegaram a números inferiores, sendo esses, 62,87%, 61% e 59%.

O FCC apresentou uma DIVMS de 62,26%, aproximando-se dos valores encontrados por Berchielli *et al.* (1998), 50,06%, Rodrigues *et al.* (1998), 57,21% e Rosa e Fukushima (1994), 59,8% utilizando a técnica *in vitro* Tilley e Terry (1963). Entretanto, Palhano e Haddad (1992) e Assis (1997) observaram valores maiores, 67,30%, 64,91%, respectivamente.

Machado (1999) obteve resultados semelhantes para os fenos de Tifton 85 e Coast-cross, 51,61% e 57,98%, utilizando fezes bovinas em diluição 100/300 (fezes/tampão), enquanto Müller (2000) observou coeficientes menores, 28,82%, 38,42%, 38,17% para o Tifton 85 e 31,98%, 39,69%, 34,94% para o Coast-cross, utilizando a metodologia de Tilley e Terry (1963) modificada, com diluições de 100g,

200g e 300g de fezes/L de saliva. Tais resultados possivelmente ocorreram, devido a uma maior diluição, diminuindo, assim, a concentração dos microrganismos.

Os maiores valores de DIVMS, entre 82,69% e 90,69%, foram observados para os grãos (MIM e TTM) entre o que pode ser atribuído ao alto teor de carboidratos fermentáveis e ao baixo teor de fibra encontrados nesses alimentos.

Os fenos de gramíneas (FTF e FCC), bem como a SEM, apresentaram os menores valores para a DIVMS, sendo que para o FTF os valores variaram entre 41,64% e 67,66%, para o FCC, entre 40,34% e 62,26% e, para a SEM, entre 51,08% e 63,15%, o que possivelmente ocorreu em função do alto teor de fibra das gramíneas.

Para o FAF os resultados variaram entre 60,76% e 72,09%, sendo, no entanto, inferiores aos observados para a CGS, as quais variaram entre 70,13% e 81,43%, pois, segundo Quicke *et al.* (1959), a CGS é um resíduo de alto valor nutricional, e apesar de apresentar altos teores de FDN e FDA é de alta digestibilidade, podendo chegar a 90% e, segundo Hintz *et al.* (1964) pode ser considerada como alimento energético ao invés de volumoso. A alta digestibilidade da CGS deve-se à composição em celulose, hemicelulose e pectina existente na parede celular. Embora não exista enzima nos mamíferos que seja capaz de hidrolisar a pectina, a sua digestibilidade fica a cargo da ação microbiana (Maynard *et al.*, 1984).

As variações nos resultados de digestibilidade *in vitro* podem ser atribuídas a diversos fatores, tais como: o processamento das amostras, a diferença na composição química dos alimentos, o preparo da solução tampão, o manuseio dos equipamentos e a porosidade dos sacos de filtro.

Kern (1974), estudando as características químicas e microbiológicas da ingesta de bovinos e eqüinos, observou que as bactérias gram-positivas e negativas encontradas no cólon terminal e no rúmen de bovinos estão numericamente mais próximas do que quando comparadas às existentes no cólon terminal dos eqüinos. Igualmente, o pH da ingesta apresenta pouca variação entre o cólon terminal e o rúmen de bovinos, enquanto que o pH do cólon terminal de eqüinos apresentou uma maior variação. Esse fato pode explicar a maior degradação em geral dos alimentos que foram submetidos ao tratamento LR e FB, sendo que o inóculo FE foi o menos efetivo.

Segundo Van Soest (1994), os microrganismos fecais dos ruminantes desempenham funções semelhantes aos microrganismos do rúmen. Observou-se que independentemente dos diferentes valores observados, os microrganismos presentes tanto nas fezes bovinas quanto nas eqüinas são capazes de degradar os alimentos testados, de forma semelhante à que ocorre com o líquido ruminal,

concordando com os resultados obtidos por El Shaer *et al.* (1987), Gonçalves e Borba (1995) e Akhter e Hossain (1998). Isso possibilita o uso das fezes como inóculo, tornando o passo inicial para estudos mais aprofundados que busquem introduzir a técnica na rotina laboratorial, diminuindo os custos e os riscos quanto ao uso de animais fistulados.

## Conclusão

As fezes, tanto bovina quanto eqüina, mesmo apresentando-se menos efetivas, são capazes de degradar alimentos, ou seja, possuem grande potencial para serem utilizadas como fonte de inóculo em ensaios de digestibilidade *in vitro*.

## Referências

- AKHTER, S.; HOSSAIN, M. M. Cow faeces in *in vitro* digestibility assays of forages. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, Savoy, v.11, n.1, p.51-54, 1998.
- ASSIS, M. A. *Digestibilidade in vitro, degradabilidade in situ e composição química de gramíneas do gênero Cynodon submetidas ou não à adubação nitrogenada*. 1997. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1997.
- BERCHIELLI, T. T. *et al.* Avaliação da digestibilidade *in vitro* de capim Coast-cross (*Cynodon dactylon* (L.) Pers) comparando-se dois métodos de colheita. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35. 1998, Botucatu. *Anais...* Botucatu: SBZ, 1998a, p. 452-454.
- BUENO, I. C. S. *et al.* Uso de líquido ruminal e fezes de bovinos e ovinos como fonte de inóculo para a técnica *in vitro* de produção de gás. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36; 1999, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre: SBZ, 1999, p. 122.
- EL SHAER, H. M. *et al.* Use of faecal organism from sheep for the *in vitro* determination of digestibility. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, v.109, n.2, p.257-259, 1987.
- GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agriculture Handbook 379*. United States: Department of Agriculture, 1975.
- GONÇALVES, G. D. *Avaliação nutricional de gramíneas do gênero Cynodon*. 2001. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2001.
- GONÇALVES, L. M. B. O.; BORBA, A. E. S. Utilização de fontes de inóculo alternativas na determinação da digestibilidade *in vitro*. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v.2, n.2, p.29-36, 1995.
- HINTZ, H. F. *et al.* Effects of processing and feeding hay on the digestibility of soybean hulls. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v.62, p.887-903, 1964.
- HOLDEN, L. A. Comparison of methods of *in vitro* matter digestibility for ten feeds. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 82, n. 8, p. 1791-1794, 1999.
- JOHNSON, P. J. Techniques and procedures for *in vitro* and *in vivo* rumen studies. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v.25, p.855-875, 1966.

- KERN, D. L. Ponies versus steers, microbial mol chemical characteristics of intestinal ingesta. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v.38, n.3, p.559-564, 1974.
- LOWMAN, R. S. *et al.* Evaluation of an *in vitro* batch culture technique for estimating the *in vivo* digestibility and digestible energy content of equine feeds using equine faeces as the source of microbial inoculum. *Anim. Feed Sci. Technol.*, Amsterdam, v.80, p.11-27, 1999.
- MABJEESH, S. J. *et al.* *In vitro* methods for measuring the dry matter digestibility of ruminant feedstuffs: comparison of methods and inoculum source. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v.83, n.10, p.2289-2294, 2000.
- MACHADO, R. M. *Digestibilidade in vitro de alimentos com inóculo de líquido de rúmen ou fezes de bovinos*. 1999. Monografia (Trabalho de Graduação) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1999.
- MALAFIA, P. A. M. *Taxas de digestão das frações protéicas e de carboidratos de alimentos por técnicas in situ, in vitro e de produção de gases*. 1997. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.
- MANDEBVU, P. *et al.* Comparison of Tifton 85 and Coastal Bermuda grasses for yield, nutrient traits, intake and digestion by growing beef steers. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v.77, n.7, p.1572-1586, 1999.
- MAURICIO, R. M. *et al.* Uso de líquido do rúmen e fezes como fonte de inóculo para a técnica *in vitro* de produção de gás. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35;1998, Botucatu. *Anais...* Botucatu: SBZ, 1998, p.314-316.
- MAYNARD, L. A. *et al.* *Nutrição animal*. Rio de Janeiro, 1984. p.88-120.
- MCDUGALL, E. I. Studies on ruminant saliva. In The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.*, Colchester, v.43, p.99-109, 1948.
- MÜLLER, M. *Avaliação da técnica de inóculo fecal para determinação da digestibilidade in vitro*. 2000. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.
- NOCEK, J. E. Evaluation of specific variables affecting. *In situ* estimate of ruminant dry matter and protein digestion. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v.60, n.5, p.1347-1358, 1985.
- OLIVEIRA, M. D. S. *et al.* Efeito de métodos de coleta de fluido ruminal sobre a digestibilidade *in vitro* de alguns nutrientes de ração para bovinos. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v.22, n.5, p.794-800, 1993.
- OSBOURN, D. F.; TERRY, R. A. *In vitro* technique for the evaluation of ruminant feeds. *Proc. Nutr. Soc.*, London, v.36, n.2, p.219-225, 1977.
- PALHANO, A. L.; HADDAD, C. M. Exigências nutricionais e valor nutritivo de *Cynodon dactylon* (L.) Pers. Cv. Coast-cross nº1. *Pesq. Agropecu. Bras.*, Brasília, v.27, n.10, p.1429-1438, 1992.
- PIRES, M. B. G. Estabelecimento de um sistema de digestibilidade *in vitro* no Laboratório da equipe de Pesquisa em Nutrição animal da Secretaria de Agricultura do RS. *An. Téc. do IPZFO*, Porto Alegre, v.6, p.345-385, 1979.
- QUICKE, G. V. *et al.* Digestibility of soybean hulls and flakes and the *in vitro* digestibility of the cellulose in various milling by-products. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v.42, p.185-193, 1959.
- RODRIGUES, P. H. M. *et al.* Digestibilidade aparente com ovinos de duas gramíneas do gênero *Cynodon* [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.]. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35; 1998, Botucatu. *Anais...* Botucatu: SBZ, 1998, p. 312-314.
- ROSA, A. J. M.; FUKUSHIMA, R. S. Avaliação de dois métodos analíticos para a lignina e comparação com a digestibilidade de algumas gramíneas forrageiras. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 31; 1994, Maringá. *Anais...* Maringá: SBZ, 1994, p. 518.
- SANTOS, G. T. *et al.* Determinação da digestibilidade *in vitro* de gramíneas do gênero *Cynodon* com uso de diferentes metodologias. *Acta Scientiarum*, Maringá, v.22, n.3, p.761-764, 2000.
- SILVA, D. J. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1990.
- SILVA, J. F. C.; LEÃO, M. I. *Fundamentos de nutrição de ruminantes*. Piracicaba: Ed. Livroceres, 1979.
- TAMBARA, A. A. C. *et al.* 1993. Avaliação nutricional do grão de milho moído, da casca do grão de soja moída e de rações com a inclusão destes ingredientes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30; 1993, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: SBZ, 1993, p.459.
- TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.*, London, v. 18, n. 2, p. 104-111, 1963.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (Saeg), Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1987.
- VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. London: Cornell University, 1994.
- VAN SOEST, P. J. *et al.* Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. In: SYMPOSIUM CARBOHYDRATE METODOLOGY, METABOLISM, AND NUTRITIONAL IMPLICATIONS IN DAIRY CATTLE. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- ZAMBOM, M. A. *et al.* Valor nutricional da casca do grão de soja, farelo de soja, milho moído e farelo de trigo para bovinos. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 23, n. 4, p. 937-943, 2001.

Received on May 14, 2002.

Accepted on October 23, 2003.