

AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE INTESTINAL DA PROTEÍNA DO CAPIM ELEFANTE, PELOS MÉTODOS "IN SITU" E "IN VITRO", EM TRÊS IDADES DE CORTE¹

AUTORES

JOÃO PAULO GUIMARÃES SOARES², TELMA TERESINHA BERCHIELLI³, LUIZ JANUÁRIO MAGALHÃES AROEIRA⁴, FERMINO DERESZ⁴, PEDRO BRAGA ARCURY⁴, RUI DA SILVA VERNEQUE⁴

¹ Parte da tese de Doutorado em Zootecnia na FCAV/UNESP-Jaboticabal do primeiro autor financiada pela FAPESP

² Pesquisador da Embrapa Rondônia. BR 364-Km 5,5 Porto Velho -RO- CEP:78900-970 Email: jpsoares@cpafro.embrapa.br

³ Professor do Departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP-Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. CEP: 14884-900 Jaboticabal -SP, Email: ttberchi@fcav.unesp.br. Pesquisador do CNPq.

⁴ Pesquisadores da Embrapa Gado de Leite. Rua Eugênio do Nascimento, n.º 610, CEP: 36038-330, Emails: laroeria@cnpqgl.embrapa.br; deresz@cnpqgl.embrapa.br, pba1@cnpqgl.embrapa.br, rsverneq@cnpqgl.embrapa.br, Pesquisadores do CNPq.

RESUMO

A digestibilidade intestinal da proteína não-degradada no rúmen (DIPNDR) do capim-elefante, em três idades de corte, foi avaliada, utilizando a técnica do saco de náilon móvel ("in situ") e o método de três estádios "in vitro". Foram utilizados seis novilhos mestiços Holandês x Zebu, confinados, canulados no rúmen e no duodeno ingerindo exclusivamente, capim-elefante picado nas idades de 30, 45 e 60 dias de crescimento num delineamento em blocos ao acaso. Para avaliação da DIPNDR pelo método dos sacos de náilon móveis, após a incubação ruminal, amostras do resíduo do capim foram moídas a 1 mm e colocadas em sacos de náilon medindo 3 x 5 cm e infundidos no duodeno. A avaliação pelo método dos três estádios "in vitro", foi feita incubando 5 g de amostra do capim-elefante no rúmen dos animais durante 16 horas. Amostras de 15 mg de N do resíduo ruminal foram colocadas em tubos de digestão de 50 mL e incubados em solução com HCL-pepsina-pancreatina durante 25 horas. A porcentagem de proteína degradada no rúmen (PDR) e não-degradada no rúmen (PNDR) foram de 41,1% e 58,9%; 59,5% e 40,4%; 56,1% e 43,9% para as idades de 30, 45 e 60 dias de crescimento do capim-elefante, respectivamente. A DIPNDR obtida pelos métodos de "in situ" e "in vitro" foi semelhante ($P>0,05$) para os cortes de 60 dias (29% e 22,6%, respectivamente). Para a idade de corte de 30 (47,6% e 21,6%) e 45 dias (38,3% e 16,9%) os valores foram diferentes ($P<0,05$) para os métodos "in situ" e "in vitro", respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE

Nitrogênio, proteína degradada no rúmen, proteína não degradada no rúmen, resíduo ruminal, sacos de nylon móveis

TITLE

EVALUATION OF INTESTINAL PROTEIN DIGESTIBILITY OF ELEPHANTGRASS CUT AT THREE GROWING TIMES, USING IN VITRO AND IN VIVO METHODS.

ABSTRACT

The intestinal digestibility of elephant grass ruminally undegraded protein (RUPID) at three cutting ages, was evaluated using the mobile nylon bag technique "in situ" and the three stages "in vitro" method. Six crossbred Holstein X Zebu steers cannulated in the rumen and duodenum were kept confined. The animals were fed exclusively with chopped elephantgrass cut at 30, 45 and 60 days on randomized block design. To evaluate the RUPID using the mobile nylon bags, 1 mm-sieve milled elephantgrass samples were put into 3 x 5 cm nylon bags, rumen incubated and then introduced into the duodenum. The "in vitro" evaluation by the three stages method was performed incubating 5 g elephantgrass samples in the rumen for 16 hours. Sample of 15 mg of N from the ruminal residue were transferred into 50 mL digestion tubes and incubated for 25 h in a HCL-pepsin-pancreatin solution. The percentage of rumen degraded protein (RDP) and rumen undegraded protein (RUP) were 41.1% and 58.9%; 59.5% and 40.4%; 56.1% and 43.9% respectively, for elephantgrass at growing ages 30, 45 e 60 days. The RUPID value was similar ($P>0.05$) between the "in situ" and "in vitro"

methods for the 60 days growing ages cutting (28.9% and 22.6%) respectively. For the cuttings at 30 (47.6% and 21.6%) and 45 growing days (38.3% and 16.9%) there were difference ($P < .05$) between the "in situ" and "in vitro" methods.

KEYWORDS

Nitrogen, RDP, RUP, ruminal residue, mobile nylon bag

INTRODUÇÃO

Várias pesquisas em nutrição de ruminantes têm verificado a importância tanto da digestão de carboidratos, como da contribuição de proteína microbiana para suprir os requisitos de proteína animal. O balanceamento adequado entre a matéria orgânica fermentável no rúmen (MOFR) e a utilização do nitrogênio, visa a maior disponibilidade de aminoácidos para absorção no intestino delgado (Berchielli, 1994).

Por outro lado, acredita-se que os valores de digestibilidade intestinal são dependentes da quantidade e da taxa de MOFR, que está relacionada principalmente com a relação volumoso:concentrado na dieta (Berchielli, 1994). No entanto, sabe-se que a eficiência de síntese de proteína está relacionada apenas, com a percentagem de volumoso na dieta.

A determinação da digestibilidade pós-ruminal da proteína não-degradada no rúmen pela técnica de sacos de náilon móveis tem fornecido a maioria dos resultados observados na literatura, porém é laboriosa, cara e requer tratamento especial (Londoño-Hernandez et al. 2002). Para superar estes problemas, Calsamiglia e Stern (1995) desenvolveram a técnica de três estádios in vitro que se apresenta como um método de fácil aplicabilidade e que demanda menor tempo para obtenção dessas estimativas.

O objetivo deste trabalho foi comparar a digestibilidade intestinal da proteína do capim-elefante com 30, 45 e 60 dias de crescimento, pela técnica do saco de náilon móvel ("in situ"), com o método de três estádios "in vitro".

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no setor de digestibilidade e no laboratório de análises de alimentos, do Departamento de Zootecnia, da FCAV/UNESP-Jaboticabal no período de julho à novembro de 2000.

Foram utilizados seis bovinos mestiços Holandês x Zebu, canulados no rúmen e duodeno com peso médio de 450 kg. Durante todo o período experimental, os animais permaneceram confinados, em baias individuais. Os animais receberam o capim-elefante picado (3-4 cm) como dieta exclusiva, cortado aos 30, 45 e 60 dias de crescimento, fornecido "ad libitum", duas vezes ao dia, em quantidade suficiente para manter sobras de 10-15%.

O experimento foi dividido em três períodos de avaliação com duração de 30 dias cada um, sendo dez para a adaptação dos animais às dietas, dez para a avaliação da degradabilidade ruminal e digestibilidade intestinal pela técnica do saco de náilon móvel, e dez dias para avaliação da digestibilidade "in vitro". A degradabilidade "in situ" do capim-elefante no rúmen foi determinada segundo metodologia descrita por Aroeira et al. (1993) e as estimativas da digestibilidade intestinal da proteína pelo método do saco de náilon móvel no rúmen segundo metodologia descrita por Londoño-Hernandez et al. (2002).

A avaliação pelo método dos três estádios in vitro (Calsamiglia e Stern, 1995), foi feita incubando 5 g de amostra do capim-elefante no rúmen dos animais por 16 horas. Amostras de 15 mg de N do resíduo ruminal foram colocadas em tubos de digestão de 50 mL e incubados em solução com HCL-pepsina-pancreatina durante 25 horas.

Os cálculos da porcentagem de degradação ruminal foram realizados de acordo com as seguintes equações: A degradabilidade ruminal (PDR) foi calculada da seguinte forma: $PDR = 100 \{1 - [(\text{nitrogênio incubado} - \text{nitrogênio residual}) / \text{nitrogênio incubado}] \times 6,25\}$.

A digestibilidade intestinal, em porcentagem, pelo método de três estádios "in vitro" foi calculada como a quantidade de N digerido após incubação com HCL-pepsina e pancreatina multiplicado pelo fator 6,25, dividido pela quantidade incubada e multiplicado por 100, e a proteína não

degradada no rúmen (PNDR) como: $PNDR = 100 - PDR$.

A digestibilidade intestinal ainda foi calculada segundo as recomendações do AFRC (1992) descrita pela fórmula $DPNDR = 0,9 (PNDR) - 6,25 NIDA$, onde: DPNDR, seria a digestibilidade da proteína não-degradada no rúmen; NIDA, nitrogênio insolúvel da fibra em detergente ácido, 0,9-digestibilidade intestinal constante para a proteína bruta no intestino.

Foram feitas determinações de matéria seca (MS), as leituras do nitrogênio (N) pelo aparelho LECO®, fibra em detergente neutro (FDN), em detergente ácido (FDA), nitrogênio insolúvel em FDN (NIDIN) e FDA (NIDA), seguindo os procedimentos de Van Soest et al. (1991). O cálculo da proteína insolúvel em FDN (PIDN) e FDA (PIDA) foi feito multiplicando-se o valor de NIDIN e NIDA pelo fator 6,25. Os métodos foram comparados através do teste "t", a 5% de probabilidade utilizando-se o delineamento em blocos ao acaso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição bromatológica dos alimentos avaliados encontra-se na Tabela 1. Foram observadas variações nas diferentes idades de corte do capim-elefante para todas as variáveis de degradação da proteína bruta. Entretanto, não foram realizadas comparações estatísticas das variáveis entre tratamentos. As taxas de degradação (c) e degradabilidades efetivas (DE) foram de 3,2%/h e 62,9%, para o capim-elefante de 30 dias, de 3,2%/h e 58,7% para o capim-elefante de 45 dias e de 2,9%/h e 58,2% para capim-elefante de 60 dias.

As maiores porcentagens de PDR, foram encontradas para as idades de corte de 45 dias (59,5%) e 60 dias (56,1%), ambas semelhantes entre si ($P > 0,05$). Estas foram superiores ($P < 0,05$) àquela obtida para o corte de 30 dias de crescimento (41,1%). Consequentemente, para a PNDR, foram observados valores de 40,4% e 43,9% para os capins cortados, com 45 e 60 dias de crescimento, respectivamente. Para o capim cortado aos 30 dias de crescimento foram observados valores de 58,9% (Figura 1). De maneira geral, é possível que em função da composição química do capim-elefante, mais especificamente dos elevados teores de NIDA e PIDA (Tabela 1), que são indisponíveis para fermentação dos microorganismos, tenha ocorrido redução da degradação ruminal da proteína, aumentando a porcentagem de PNDR. Entretanto, os resultados apresentados estão próximos aos obtidos por Londoño Hernandes et al. (2002), que relataram valores para a PDR de 48,8% e de 49,1% e de PNDR de 51,2% e 50,3%, respectivamente, para o capim-braquiária e feno de capim-tifton, utilizando o método de três estádios in vitro.

Maior digestibilidade intestinal foi encontrada para o capim-elefante cortado com 30 dias de crescimento (47,6%), sendo esse valor, próximo ao encontrado também por Londoño Hernandes et al. (2002) de 46,7 % para o capim-brachiária e capim-tifton (46,7%). Contudo, a literatura reporta, para volumosos, valores inferiores (28%) de digestibilidade para a proteína não-degradada no rúmen.

Embora os resultados do presente estudo tenham sido semelhantes aos encontrados na literatura, é possível que as condições de clima, época do ano, adubação, além do manejo utilizado para o capim-elefante possam ter influenciado estas estimativas.

Quando comparadas as digestibilidades intestinais da proteína não-degradada no rúmen dos diferentes métodos nas diferentes idades de cortes do capim-elefante, pelo teste de t (Figura 1), observou-se que o método dos sacos de náilon móveis resultou em maiores digestibilidades ($P < 0,05$) dos cortes de 30 e 45 dias de crescimento, em relação ao método dos três estágios. Entretanto, foram encontradas digestibilidades próximas nos dois métodos para o corte com 60 dias de idade. Os valores de DIPNDR (%) obtido pelo método in situ foram o que mais se aproximaram dos calculados pelo AFRC (1992).

Acredita-se que os valores obtidos pelo método "in situ" apesar de estarem mais próximos ao preconizado pelo AFRC (1992), possam estar sendo superestimados em função da contaminação microbiana nos sacos de náilon. Assim como, aqueles estimados pelo AFRC (1992), apresentam valores elevados, pois o mesmo, considera a digestibilidade intestinal da proteína como um valor constante de 90%. Entretanto, o método de três estádios in vitro apresentou valores próximos aos

preconizados pela literatura que considera a digestibilidade intestinal da proteína bruta de volumosos de 28%.

Contudo, foi observado efeito entre os cortes do capim-elefante. Embora os cortes com 45 e 60 dias tenham maiores PIDA e NIDA, apresentaram menores PNDR (Figura 1). Por isto é possível que outras características da forragem e dos métodos avaliados podem ter influenciado a utilização da proteína bruta no rúmen, como a taxa de redução de partículas, o tempo de colonização dessas, assim como a taxa de saída de digesta ruminal, e que não são consideradas neste trabalho, assim como a porcentagem de umidade presente no capim.

CONCLUSÕES

A digestibilidade intestinal da proteína não degradada no rúmen (DIPNDR) dos alimentos avaliados foi afetada pelos diferentes cortes do capim-elefante. Foram encontradas estimativas próximas entre os métodos "in situ" e "in vitro" para o capim cortado aos 60 dias de crescimento.

O método de três estádios "in vitro" pode ser considerado mais eficiente na determinação da degradação ruminal e da DIPNDR por apresentar metodologia mais controlada, eliminando possíveis contaminações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC.. Nutritive requirements of ruminant animals: protein. Nutrition Abstract Review. B., v. 62, n.12, p.787-817,1992.
2. AROEIRA, L. J. M.; SILVEIRA, M.I.; LIZIEIRE, R.S. et al.. Degradabilidade no rúmen e taxa de passagem da cana de açúcar mais uréia, do farelo de algodão e do farelo de arroz em novilhos mestiços Europeu-zebu. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 22, n.4, p. 552-564,1993.
3. BERCHIELLI, T.T. . Efeito da relação volumoso: concentrado sobre a partição da digestão, a síntese de proteína microbiana, produção de ácidos gráxos voláteis e o desempenho de novilhos em confinamento. Belo Horizonte: Escola de Veterinária / UFMG, 1994, 104f. Tese (Doutorado em Ciência Animal)- Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1994.
4. CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. A three-step in vitro procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. Journal of Animal Science v.73, n.5, p.1459-1465, 1995.
5. LONDOÑO HERNÁNDEZ, F. I.; VALADARES FILHO, S.C.; LANA, R.P. et al. Avaliação de dois métodos in vitro para determinar a cinética ruminal e a digestibilidade intestinal da proteína de vários alimentos. Revista Brasileira de Zootecnia. V.31, n.1,p.256-266, 2002.
6. VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

Tabela 1 - Teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), nitrogênio insolúvel em FDN (NIDN), FDA (NIDA), proteína insolúvel em FDN (PIDN) e FDA (PIDA) do capim-elefante picado, cortado com 30, 45 e 60 dias de idade no período de janeiro a março de 2000.

Idade (dias)	Variáveis em (%) da MS							
	MS	PB	FDN	FDA	NIDN	NIDA	PIDN	PIDA
30	12,8	11,4	62,9	32,6	0,36	0,33	2,3	2,1
45	15,9	10,5	65,5	33,2	0,90	0,80	5,6	5,0
60	18,2	9,1	70,1	35,8	1,11	0,86	6,9	5,4

Figura 1 - Estimativas do percentual de proteína degradada no rúmen (PDR), que escapa à degradação ruminal (PNDR) e digestibilidade intestinal (DIPNDR) obtidas para o capim-elefante cortado nas idades de 30 , 45 e 60 dias de crescimento, utilizando o método do saco de náilon móvel no rúmen (*is*) e o método de três estádios *in vitro* (*iv*).

