**COMPARAÇÃO ENTRE FEZES E FLUIDO RUMINAL DE BOVINOS COMO
FONTE DE INÓCULO PARA DETERMINAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE *IN*
VITRO DE VOLUMOSOS**

GLAUCIA MARIA TOSI

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **WILSON ROBERTO SOARES MATTOS**

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura “Luiz de Queiroz”,
Universidade de São Paulo, para obtenção
do título de Mestre em Agronomia, Área de
Concentração: Ciência Animal e
Pastagens.

PIRACICABA

Estado de São Paulo – Brasil

Abril - 2001

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Tosi, Glaucia Maria

Comparação entre fezes e fluido ruminal de bovinos como fonte de inóculo para determinação da digestibilidade *in vitro* de volumosos / Glaucia Maria Tosi. - - Piracicaba, 2001.

62 p.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001.
Bibliografia.

1. Alimento volumoso 2. Bovino 3. Digestibilidade "in vitro" 4. Fezes 5. Fluido ruminal 6. Inóculo 7. Matéria orgânica 8. Matéria seca I. Título

CDD 636.084

Dedico

Aos meus pais,

Hugo e Rosa Helena

Aos meus irmãos

Marcelo e Paulo

Ofereço

Ao meu namorado

Vinicius

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos pela orientação, amizade e confiança a mim depositada.

Aos professores e funcionários do Departamento de Produção Animal da ESALQ/USP, que contribuíram de alguma forma para a realização da presente dissertação.

Ao Prof. Dr. Antonio Sérgio Ferrauda da FCAVJ/UNESP, pelo auxílio na elaboração das análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Sila Carneiro da Silva pela colaboração na elaboração do trabalho.

Aos colegas da ESALQ/USP, pela amizade e companheirismo durante o curso.

E a todas as pessoas que, acompanhando este trabalho, auxiliaram direta ou indiretamente para a sua realização.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS	x
RESUMO.....	xi
SUMMARY.....	xiii
1. INTRODUÇÃO	01
1.1 Objetivos	03
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1. Caracterização dos métodos de digestibilidade	04
2.2. Fontes alternativas de inóculo	07
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 Localização do experimento	14
3.2 Substratos	14
3.3 Experimentos	17
3.3.1 Experimento 1	17
3.3.2. Experimento 2	18
3.4. Metodologia empregada	18
3.5 Análise estatística	20

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1. Experimento 1	23
4.2. Experimento 2	31
5. CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
APÊNDICE	47

LISTA DE FIGURAS

Página

1	Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS para os substratos, no experimento 1	29
2	Digestibilidade <i>in vitro</i> da MO para os substratos, no experimento 1	30
3	Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS para os substratos, no experimento 2	36
4	Digestibilidade <i>in vitro</i> da MO para os substratos, no experimento 2	37

LISTA DE TABELAS

Página

1	Composição químico-bromatológica, dos alimentos utilizados como substratos na DIVMS e na DIVMO	16
2	Efeito dos substratos na digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca e da matéria orgânica	24
3	Efeito das dietas com as fontes de inóculo (fluído ruminal e fezes) na digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (%)	26
4	Efeito das dietas com as fontes de inóculo (fluído ruminal e fezes) na digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (%)	27
5	Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal) com os substratos na digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (%)	29
6	Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal) com os substratos na digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (%)	30
7	Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal – frescos e resfriados) na digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (%)	32
8	Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal – frescos e resfriados) na digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (%)	32
9	Efeito dos substratos na digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca e da matéria orgânica	33

10 Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal – frescos e resfriados) com os substratos na digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (%).....	35
11 Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal – frescos e resfriados) com os substratos na digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (%)	36

LISTA DE ABREVIATURAS

Subs	- substratos (alimentos)
BHPV	- bagaço hidrolisado sob pressão e vapor
DIVMO	- digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica
DIVMS	- digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
DMO	- digestibilidade da matéria orgânica
EE	- extrato etéreo
Exp	- dietas 1 e 2
FDA	- fibra insolúvel em detergente ácido
FDN	- fibra insolúvel em detergente neutro
FR	- fluído ruminal
FRF	- fluído ruminal fresco
FRR	- fluído ruminal resfriado
FZ	- fezes
FZF	- fezes frescas
FZR	- fezes resfriadas
MM	- matéria mineral
MO	- matéria orgânica
MS	- matéria seca
PB	- proteína bruta
r	- coeficiente de correlação
r^2	- coeficiente de determinação
SM	- silagem de milho
Trat	- fontes de inóculo

COMPARAÇÃO ENTRE FEZES E FLUIDO RUMINAL DE BOVINOS COMO FONTE DE INÓCULO PARA DETERMINAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DE VOLUMOSOS

Autora: Gláucia Maria Tosi

Orientador: Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos

RESUMO

O presente trabalho foi composto de dois experimentos com o objetivo de se determinar a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da matéria orgânica (DIVMO), variando-se substratos, fontes de inóculo, dietas, e as interações entre esses fatores.

No experimento 1 foram comparados fezes e fluido ruminal como fonte de inóculo no sistema de fermentação *in vitro* Tilley & Terry (1963), modificado por Goering & Van Soest (1970). As fontes de inóculo foram coletadas frescas, de uma vaca Jersey, recebendo dieta constituída de feno à vontade e farelo de soja, na quantidade de 1kg por dia (dieta 1) em duas refeições, e de uma vaca holandesa em lactação, recebendo dieta constituída de 54,5% de concentrado (61,5% de milho, 32,5% de farelo de soja, 4,5% de núcleo mineral e 1,5% de uréia), 31,5 % de silagem de milho e 14 % de cana-de-açúcar (dieta 2), também em duas refeições. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial: 7x2x2, sendo 7 substratos, 2 fontes de inóculo e 2 dietas, perfazendo um total de 28 tratamentos e 3

repetições. Houve diferenças significativas ($P < 0,05$) na DIVMS e na DIVMO dos substratos quando a fonte de inóculo fluído ruminal foi proveniente dos animais alimentados com diferentes dietas (dieta 1 e dieta 2). O mesmo não ocorreu quando se utilizou as fezes como fonte de inóculo. Verificou-se ainda que o fluído ruminal foi mais eficiente que as fezes como inóculo ($P < 0,05$).

No experimento 2, foram comparados fezes e fluído ruminal (frescos e resfriados) como fonte de inóculo no mesmo sistema de fermentação *in vitro* do experimento 1. As fontes de inóculo foram coletadas frescas, de uma vaca Jersey não lactante, conforme dieta e manejo descritos anteriormente. O delineamento utilizado também foi o inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial: 7×4 , sendo 7 substratos e 4 fontes de inóculo, perfazendo um total de 28 tratamentos e 3 repetições. Para os valores de DIVMS e de DIVMO dos substratos com os dois inóculos testados, verificou-se que os inóculos de fezes frescas e resfriadas proporcionaram valores inferiores ($P < 0,05$), diferindo significativamente do fluído ruminal fresco e resfriado, possivelmente devido à sua maior “lag-phase”; o resfriamento não alterou os valores de digestibilidade, não apresentando diferenças em relação aos inóculos frescos. Verificou-se ainda que o fluído ruminal foi mais eficiente que as fezes tanto para inóculo fresco como resfriado ($P < 0,05$).

COMPARISON OF BOVINE FAECES AND RUMINAL FLUID USED AS INOCULUM TO DETERMINE *IN VITRO* ROUGHAGE DIGESTIBILITY

Author: Gláucia Maria Tosi

Adviser: Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos

SUMMARY

Two experiments were done to compare dry matter (DMIVD) and organic matter (OMIVD) *in vitro* digestibilities of seven different substrates, using rumen fluid or faeces as inoculum and two diets. In the first experiment faeces and ruminal fluid were compared as inocula sources in the *in vitro* fermentation system (Tilley & Terry, 1963) modified by Goering & Van Soest (1970). Fresh inocula were collected from both a Jersey cow been fed a hay plus 1 Kg soybean meal diet (diet 1) and a Holstein-Friesian cow on a 54.5% concentrate (61.5% corn, 32.5% soybean meal, 4.5% mineral and 1.5% urea), 31.5% corn silage, and 14% sugar cane diet (diet 2). Both diets were offered twice daily. The experimental design was a randomized 7X2X2 factorial design (7 substrates, 2 inocula, 2 diets, and 3 replicates). In the second experiment fresh and frozen faeces and rumen fluid were compared as inoculum source, both collected from the Jersey cow. The experimental design was a randomized 7X4 factorial design (7 substrates, 4 inocula and 3 replicates). Diet fed and the *in vitro* system used were the same as experiment 1. There was a significantly ($P<0.05$) diet effect on both DMIVD and OMIVD when ruminal fluid was used as inoculum. No differences were found when faeces were used as inoculum. DMIVD and OMIVD values were significantly higher ($P<0.05$) when rumen fluid

was compared to faeces as a source of inoculum. In the second experiment DMIVD and OMIVD were significantly lower ($P < 0.05$) when both fresh and frozen faeces when compared to fresh and frozen rumen fluid as sources of inoculum. There were no differences in both DMIVD and OMIVD when fresh and frozen inocula (rumen fluid and faeces) were compared.

1. INTRODUÇÃO

A digestibilidade aparente da matéria seca é um dos parâmetros usados mais importantes na determinação do valor nutritivo de um alimento. Sua determinação *in vivo* é trabalhosa e consome grandes quantidades de alimentos, além de apresentar limitações associadas com a manutenção de animais. Como alternativa a essas limitações, sistemas *in vitro* foram desenvolvidos e modificados ao longo dos últimos anos, por serem precisos, mais rápidos e acurados, além de serem usados como alternativa para avaliação de grandes quantidades de alimentos.

Os sistemas *in vitro* usados na atualidade são aqueles baseados no método de Tilley & Terry (1963), modificado por Goering & Van Soest (1970), e o sistema de monitoramento computadorizado de produção de gás (Menke et al., 1979; Pell & Schofield, 1993; Theodorou et al., 1994; Blümmel et al., 1997). O primeiro método é composto por duas fases: a primeira envolve a fermentação anaeróbica por 48h, e a segunda a digestão ácida com pepsina por mais 48h. No segundo método, após 48h de fermentação, o resíduo é tratado com reagente neutro por uma hora, reduzindo-se substancialmente o

tempo da análise. O terceiro método consiste na mensuração do volume dos gases produzidos quando o alimento é fermentado através da ação de microrganismos ruminais em ambiente controlado artificialmente para garantir similaridade às condições ruminais *in vivo*.

Para qualquer dos métodos usados pode-se usar como fonte de inóculo fluído ruminal ou enzimas, sendo que estas possuem alto custo. Entretanto, para se usar fluído ruminal como fonte de inóculo, há necessidade do uso de animais canulados no rúmen, o que também é oneroso e de manutenção problemática em muitos casos. Além disso, a colocação de cânula é um procedimento cirúrgico que tem enfrentado crescente contestação nos campos ético e de proteção animal.

Fontes alternativas de inóculo têm sido testadas para prover microrganismos similares àqueles obtidos no fluído ruminal. As fezes têm se mostrado promissoras neste aspecto, pois estas possuem microrganismos ruminais viáveis para fermentação *in vitro*. De fato, El Shaer et al. (1987) utilizaram fezes de ovinos como fonte de inóculo, obtendo alta correlação ($r = 0,98$) entre DMO na determinação *in vivo* e *in vitro* (Tilley & Terry, 1963).

Justifica-se, assim, a necessidade de se estudar essa possibilidade e também de se testar possíveis fontes de variação associadas com esse tipo de inóculo, tais como: animais, dieta e tipo de inóculo (fresco ou resfriado).

1.1. Objetivos

A finalidade do presente trabalho, num primeiro ensaio foi o de comparar fezes bovinas frescas e fluído ruminal fresco como fonte de inóculo em sistema de fermentação *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica de sete alimentos, pelo método de Tilley & Terry (1963), modificado por Goering & Van Soest (1970). Um segundo ensaio comparou fezes bovinas frescas com as mesmas resfriadas e fluído ruminal fresco com resfriado como fonte de inóculo no mesmo sistema de fermentação *in vitro* com os mesmos sete alimentos e também pelo método de Tilley & Terry.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Caracterização dos métodos de digestibilidade

A avaliação de alimentos para ruminantes por muito tempo foi feita com base na sua composição química. Porém, alimentos com caracterização química semelhante não geram necessariamente, desempenho animal semelhante, indicando que o aproveitamento das diferentes frações nutritivas desses alimentos ocorre de modo diferenciado ou o nível de consumo é variável.

Embora o método de análise proximal – sistemas de Weende e Van Soest – ainda seja bastante utilizado, maior interesse foi dado a métodos que pudessem avaliar os alimentos. Levando-se em consideração o modo como os ruminantes aproveitariam esses alimentos. Notadamente a partir da década de 1960, os métodos mais utilizados são *in vivo*, *in situ* (Orskov & McDonald, 1979), *in vitro* (Tilley & Terry, 1963), *in vitro* modificado (Goering e Van Soest, 1970) e *in vitro* com produção de gases (Menke et al., 1979).

Embora o método *in vivo* seja o mais usado para a determinação da digestibilidade de alimentos, ele é oneroso, envolve grande quantidade de

alimentos, é muito demorado e não apropriado para testar grande número de alimentos. Já a digestibilidade *in vitro* da matéria seca é altamente correlacionada com a digestibilidade *in vivo* (Van Soest, 1994). O sistema *in vitro* é útil para avaliação de rotina de grande número de forragens, e produz resultados com alta precisão e repetibilidade (Barnes, 1965).

A técnica *in situ* mede o desaparecimento de material quando incubado no rúmen. Esse desaparecimento, no entanto, pode ocorrer por diversos fatores (solubilização, hidrólise, fermentação ou perdas de material particulado). Já a técnica *in vitro* de produção de gases mede um produto final do processo fermentativo gerado pela ação microbiana. Outras técnicas *in vitro* para avaliação de alimentos (Tilley & Terry, 1963 e *in vitro* modificado por Goering e Van Soest, 1970) também se baseiam, assim como o método *in situ*, em métodos gravimétricos, ou seja, no desaparecimento do substrato.

A produção de gases como já foi descrito anteriormente também pode ser usada para estimar a digestibilidade *in vitro* de alimentos. Para se obter informação sobre a taxa de degradação de alimentos, a quantidade de gás produzida *in vitro* tem sido obtida em função do tempo de fermentação (Meer et al., 1988 & Xiong et al., 1990).

Bueno et al. (2000), utilizando-se da técnica desenvolvida por Theodorou et al. (1994), realizaram um ensaio para determinar, paralelamente à produção de gases, a degradabilidade *in vitro* do substrato sujeito à fermentação, e compararam com a degradabilidade *in situ* dos mesmos

alimentos, conforme descrito por Orskov e McDonald (1979). A degradabilidade *in vitro* mostrou alta correlação com a técnica *in situ*, tanto para MS ($r^2 = 0,81$; $P < 0,01$), quanto para MO ($r^2 = 0,84$; $P < 0,01$).

A técnica de fermentação *in vitro* proposta por Tilley & Terry (1963) tem sido largamente utilizada para estimar a digestibilidade *in vivo*. Nessa técnica há vários fatores que podem ser causas de variação nos resultados, tais como: quantidade de amostra, tempo de fermentação, fonte de inóculo, espécie animal, tipo de dieta e pH do meio, além das diferenças entre as marchas analíticas adotadas por diversos laboratórios (Church & Petersen, 1960; Grant et al., 1974).

Segundo Bueno et al. (1999b), a digestibilidade *in vitro* das gramíneas utilizadas como substratos em ensaio onde foram testadas duas fontes de inóculo, fluído ruminal e fezes de ovinos e bovinos, apresentou valores muito semelhantes quando comparada entre si e com a digestibilidade obtida *in vivo* apresentou correlações elevadas e sempre superiores a 0,90.

Em uma comparação de três métodos *in vitro*, um enzimático e dois microbianos para estimativa da digestibilidade da matéria seca de alimentos para ruminantes, Omed et al. (1989) observaram que o método microbiano, baseado em fezes de ovelhas utilizadas como fonte de inóculo, foi tão efetivo quanto o método microbiano que usou fluído ruminal para determinar a digestibilidade *in vitro* da MS.

2.2. Fontes alternativas de inóculo

Sabe-se que quantidades substanciais de celulose e hemicelulose são fermentadas no intestino grosso de ruminantes, e que muitas das espécies de microrganismos do rúmen também são recuperadas naquele local (Van Soest, 1987; Mann & Orskov, 1973). Sendo assim, El Shaer et al. (1987), na tentativa de eliminar o uso de animais canulados, desenvolveram um sistema para determinação de digestibilidade *in vitro* usando fezes de ovelhas como fonte de inóculo, obtendo alta correlação ($r = 0,98$) com a digestibilidade *in vivo*. Nsahlai & Umunna (1996), usando ovinos canulados no rúmen, também compararam fezes e fluído ruminal como fontes de inóculo para determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca através do método de produção de gases, e concluíram que o inóculo de fezes subestimou a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e a taxa de produção de gases quando comparado com o fluído ruminal. Tal fato deve ter ocorrido porque a massa microbiana no início da fermentação foi provavelmente menor do que a observada no fluído ruminal. As altas relações microrganismos-substrato após 48h de incubação sugeriram que fezes de ovelhas poderiam substituir o inóculo de fluído ruminal quando as incubações eram prolongadas a 48h ou mais.

Akhter (1994), citado por Maurício et al. (1998a), usou fezes de bovinos como fonte de microrganismos para técnica de digestibilidade *in vitro* – Tilley & Terry (1963), e encontrou microrganismos fecais que foram capazes

de degradar forragens e ao mesmo tempo obteve valores de digestibilidade menores que os obtidos com fluído ruminal como fonte de inóculo. Além disso, alta correlação ($r^2 = 0,90$) entre essas fontes de inóculo foi observada.

Jones & Barnes (1996) desenvolveram um ensaio com o objetivo de comparar fezes e fluído ruminal de bovinos como fonte de inóculo para a determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (Tilley & Terry, 1963), utilizando como substratos quatorze leguminosas tropicais. Os autores observaram que os valores de digestibilidade *in vitro* da MS usando fezes como inóculo foram linearmente correlacionados com os valores obtidos com fluído ruminal ($r = 0,982$; $P < 0,01$). Portanto, as fezes tiveram valores de digestibilidade significativamente menores ($P < 0,01$; 3,5% unidades) do que os obtidos com fluído ruminal.

Maurício et al. (1998a), comparando líquido ruminal e fezes de bovinos como fonte de microrganismos para a técnica *in vitro* de produção de gases e o perfil de fermentação de dois substratos (gramínea e palha de trigo), observaram que a produção acumulada de gases durante 93h de fermentação foi semelhante para os dois inóculos testados ($P > 0,05$). O perfil de fermentação descrito pelas fezes apresentou uma “lag-phase” superior ao fluído ruminal, provavelmente devido à baixa atividade ou concentração dos microrganismos fecais. Embora as fezes tenham produzido quantidade de gases e matéria orgânica degradável ligeiramente inferior à do fluído ruminal, pode-se concluir

que as fezes possuem grande potencial como inóculo alternativo para as técnicas de digestibilidade *in vitro*.

Em experimento conduzido com bovinos para comparar fluído ruminal e fezes como fontes de inóculo para técnica *in vitro* de produção de gases e utilizando doze gramíneas como substrato, Maurício et al. (1998c) compararam os valores obtidos com a digestibilidade *in vivo* da matéria orgânica e com a digestibilidade *in vitro* pelo método -Tilley & Terry. Correlação significativa foi obtida com a produção de gases entre os dois inóculos comparados em termos de digestibilidade da MO, embora o coeficiente de determinação tenha sido baixo ($r^2 = 0,55$, $P < 0,01$); valores obtidos usando inóculo de fezes, foram menores do que os obtidos com fluído ruminal. Já a digestibilidade da matéria orgânica estimada com fluído ruminal, foi altamente relacionada ($P < 0,01$), para ambos os métodos *in vivo* ($r^2 = 0,95$) e *in vitro* ($r^2 = 0,84$), entretanto estimativas feitas com fezes também foram significativamente relacionadas ($r^2 = 0,56$) para digestibilidade *in vivo* e para digestibilidade *in vitro* ($r^2 = 0,54$).

Nsahlai & Umunna (1996) relataram que a produção de gases usando fezes de ovinos como inóculo foi altamente relacionada com a produção de gases obtida com inóculo de fluído ruminal, particularmente depois de 48 horas de incubação ($r^2 = 0,85$). A digestibilidade *in vitro* da matéria seca obtida com inóculo de fezes também apresentou relação positiva ($r^2 = 0,88$) com a que foi obtida usando-se fluído ruminal. Os autores também

compararam ambas as fontes de inóculo centrifugada ou filtrada, observando que valores da digestibilidade *in vitro* da matéria seca obtidos com fluido ruminal centrifugados ou filtrados, foram positivamente relacionados ($r^2 = 0,61$), ao passo que quando o inóculo de fezes foi usado, a correlação foi menor ($r^2 = 0,47$). No entanto, quando o tratamento com solução de detergente neutro no método modificado de Tilley & Terry (1963) é utilizado, ele tem a finalidade de hidrolizar microrganismos e agentes solúveis antes da filtração. Nesse processo, dificuldades técnicas são encontradas durante a filtração e um procedimento simples, como a centrifugação, pode ser útil. Sendo assim, quando os passos de hidrólise e filtração são substituídos por centrifugação, a massa microbiana contamina resíduos não digeridos. Consequentemente, a centrifugação tende a subestimar a digestibilidade *in vitro* da matéria seca entre filtração e centrifugação. A variação entre esses procedimentos foi, porém, maior quando a digestibilidade *in vitro* da matéria seca foi estimada através do uso do inóculo de fezes integrado à centrifugação. A razão para isso não é clara e essa variação pode desencorajar o uso da centrifugação no caso do uso do inóculo de fezes.

Ovinos são comumente usados em ensaios de metabolismo e os dados obtidos são normalmente extrapolados para bovinos. Sendo assim, Bueno et al. (1999b) verificaram essa extrapolação e testaram diferentes fontes de inóculo, fluido ruminal e fezes de bovinos e ovinos, para a técnica *in vitro* de produção de gases. Eles constataram que as correlações entre inóculos, para

diferentes parâmetros (produção de gases, “lag time”, digestibilidade *in vitro*), sempre apresentaram $r^2 > 0,90$ ($P < 0,05$), sugerindo que os ovinos podem ser utilizados como doadores de inóculo para a técnica *in vitro* de produção de gases, e os resultados obtidos seriam semelhantes aqueles obtidos com bovinos.

A especificidade dos microrganismos quanto ao material que eles atacam é um fato reconhecido, porém é difícil conciliar a dieta dos animais doadores de microrganismos para o preparo de inóculo usado em técnicas *in vitro* de avaliação de diferentes alimentos simultaneamente. Sendo assim, Bueno et al. (1999a) avaliaram as diferenças entre os perfis de fermentação microbiana quando os inóculos vêm de animais alimentados com diferentes dietas, usando ovinos adultos como doadores e alimentados com três dietas diferentes. Não constataram diferenças entre os parâmetros estudados (DIVMO, produção total de gases e “lag time”) para os três inóculos testados. Por esses resultados concluíram que as dietas dos animais doadores não teriam que ser específicas para a utilização dos microrganismos em técnicas *in vitro* de avaliação de alimentos.

Akhter et al. (1999) investigaram o efeito de diferentes dietas na atividade de fezes usadas como inóculo na técnica de digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica de sete forragens pelo método Tilley & Terry e observaram que os valores de digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica, obtidos quando a dieta fornecida era feno, foram maiores do que os valores obtidos quando as

dietas fornecidas eram concentrado ou mistura de feno mais concentrado, mas com uma alta correlação ($r^2 = 0,959$) para feno; (0,952) para concentrado e (0,901) para feno mais concentrado, respectivamente. Demonstrando assim, que o tipo de dieta não afetou a fonte de inóculo – fezes para determinação da digestibilidade *in vitro*.

Aiple et al. (1992) reportaram evidências de que os valores da produção de gás *in vitro* foram similares para os inóculos fluído ruminal e fezes de ovelha, que foram diluídas entre 2 e 5 % com base na matéria seca. Já El-Meadaway et al. (1998), usando bovinos, compararam a eficácia dos inóculos fluído ruminal e solução de fezes com vários níveis de diluição 3, 6 a 9 % para determinação da digestibilidade *in vitro* e da produção de gases. Concluíram que a digestibilidade *in vitro* da matéria seca com os inóculos fluído ruminal ou solução de fezes diluída a 3% não foram diferentes ($P>0,05$). Em contraste, com soluções de fezes diluídas a 6 ou 9% obtiveram valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca menores ($P<0,05$) do que os obtidos com fluído ruminal.

Em estudos com animais, quando a coleta de fontes de inóculo é realizada a longa distância dos laboratórios, um considerável tempo entre a amostragem e a utilização pode ser prejudicial. Assim, foi desenvolvida uma metodologia para evitar esse transtorno. Dehority & Grubb (1980) realizaram 29 experimentos com fluido ruminal resfriado ou não para observação da contagem de colônias de bactérias, e concluíram que quando fluído ruminal foi resfriado a 0°C por 6h, ocorreu aumento de 35% no número de colônias de

bactérias quando comparado com o fluido ruminal não resfriado. Baseado nesses dados, o resfriamento por 6h a 0°C foi subsequentemente usado como procedimento padrão. Sendo assim, o aumento no número de colônias de bactérias foi devido à alteração ou quebra na adesão de célula-célula e célula-partícula.

Dehority & Grubb (1980) também observaram em um de seus experimentos que no inóculo proveniente de ovelhas alimentadas com 60% de milho e 40% de feno, houve aumento (12%) no número de colônias de bactérias quando o fluido ruminal foi resfriado por 8h, e foi significativamente menor (8,8%) após 24h de resfriamento. Já no inóculo de ovelhas alimentadas somente com feno, o aumento no número de colônias de bactérias também foi significativo (13,7%) após 8h de resfriamento do fluido ruminal, e para amostras resfriadas por 24h houve uma ligeira diminuição (9,6%). A mudança no número de bactérias observada com o resfriamento foi quase sempre maior.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização do experimento

O trabalho foi realizado no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Produção Animal na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, localizada no município de Piracicaba, Estado de São Paulo.

3.2. Substratos

Foram utilizados sete alimentos como substratos para determinação da digestibilidade *in vitro*:

- Capim elefante, variedade napier (*Pennisetum purpureum*, Schum.), utilizado como controle - padrão, cortado aos 12 dias de idade no mês de janeiro a uma altura de 10 cm do solo– área de 10 m².

- Capim Tanzânia (*Panicum maximum*, Jacq.), cortado aos 40 dias de idade no mês de fevereiro a uma altura de 10 cm do solo— área de 4 m².
- Capim Brachiaria (*Brachiaria decumbens*, Stapf.), cortado aos 30 dias de idade no mês de março a uma altura de 10 cm do solo— área de 10 m².
- Capim Tifton 85 (*Cynodon dactylon*, (L.) Pers.), cortado aos 30 dias de idade no mês de março a uma altura de 10 cm do solo – área de 4 m².
- Capim elefante, variedade napier (*Pennisetum purpureum*, Schum.), cortado aos 40 dias de idade no mês de fevereiro a uma altura de 10 cm do solo— área de 10 m².
- Cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*, L.), variedade RB 72454;
- Bagaço de cana-de-açúcar hidrolisado (BHPV);
- Silagem de milho (*Zea mays*, L.), coletada no silo do Departamento de Produção Animal da Esalq.

Em todos os capins foram feitos cortes de uniformização a 10 cm do solo e adubação a lanço, com a fórmula 25-00-25 (N-P-K), na quantidade de 280 Kg por hectare.

Os alimentos foram coletados no campo experimental do Departamento de Produção Animal - ESALQ, secos em estufa por 48h a 65°C,

moídos em moinho de martelo com peneira de 1mm, armazenados e posteriormente usados como substratos. Foram pesados 500 mg de cada substrato e colocados em tubos de ensaio em duplicatas para determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica. As análises químico-bromatológicas de todos os substratos foram executadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Produção Animal da ESALQ, segundo a AOAC (1970), para a determinação da MS, MO, proteína e extrato etéreo, e de acordo com Goering & Van Soest (1970), para fibra insolúvel em detergente neutro e fibra insolúvel em detergente ácido (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição químico-bromatológica dos alimentos utilizados como substratos na DIVMS e na DIVMO.

Alimentos	MS (%)	MM	FDN	FDA	PB	EE
		% na MS				
Cana	92,78	3,27	46,10	28,97	2,53	0,55
Napier	91,66	15,35	58,30	35,15	12,53	1,88
SM	92,87	5,29	50,68	28,98	8,42	2,60
Tanzânia	92,56	12,89	68,88	37,72	8,65	1,20
Tifton 85	93,53	8,78	76,79	37,34	11,16	1,22
BHPV	95,29	12,20	62,56	61,88	2,23	0,54
Brachiaria	92,62	11,11	59,62	30,65	12,91	1,70
Napier - padrão	92,37	12,81	57,90	32,06	13,84	2,14

3.3. Experimentos

3.3.1. Experimento 1

No experimento 1 o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial, sendo 7 substratos, 2 fontes de inóculo e 2 dietas, perfazendo um total de 28 tratamentos com 3 repetições.

Foram comparados fezes e fluído ruminal como fonte de inóculo no sistema de fermentação *in vitro* Tilley & Terry (1963), modificado por Goering & Van Soest (1970). As fontes de inóculo foram coletadas frescas, antes da alimentação matinal, de uma vaca Jersey não lactante canulada no rúmen, recebendo dieta constituída de feno à vontade e farelo de soja na quantidade de 1kg por dia (dieta 1) em duas refeições: às 8:00h e às 18:00h. Foram também coletados inóculos, antes da alimentação matinal, de uma vaca holandesa em lactação canulada no rúmen, para a qual foi fornecida uma dieta constituída de 54,5% de concentrado (61,5% de milho, 32,5% de farelo de soja, 4,5% de núcleo mineral e 1,5% de uréia), 31,5% de silagem de milho e 14 % de cana-de-açúcar (dieta 2), também às 8:00h e às 18:00h. Observou-se o efeito de dieta, inóculos e substratos na determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica dos sete substratos estudados.

3.3.2. Experimento 2

Já no experimento 2, o delineamento utilizado também foi o inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial, sendo 7 substratos e 4 fontes de inóculo, perfazendo um total de 28 tratamentos com 3 repetições.

Foram comparados fezes e fluído ruminal (frescos e resfriados) como fonte de inóculo no mesmo sistema de fermentação *in vitro* do experimento 1. As fontes de inóculo foram coletadas frescas antes da alimentação matinal, da mesma vaca Jersey, com dieta e manejo descritos anteriormente (experimento 1). Metade das amostras de fezes e fluído ruminal foram inoculadas imediatamente após a coleta e a outra metade foi resfriada por 6h a 0°C seguindo-se metodologia descrita por Dehority & Grubb (1980). Passadas as 6h, procedeu-se a inoculação, como proposto por Tilley & Terry (1963). Observou-se também o efeito entre inóculos - fezes e fluído ruminal frescos e resfriados e o efeito de substratos na determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica dos sete substratos estudados.

3.4. Metodologia empregada

O sistema de fermentação *in vitro* utilizado foi o de Tilley & Terry (1963), onde a pepsina-HCl foi substituída por extração de FDN, modificado por Goering & Van Soest (1970).

O fluido ruminal foi coletado via cânula ruminal, filtrado em camada dupla de pano de queijo e transferido para garrafa térmica, onde foi feito o borbulhamento com dióxido de carbono (CO₂) para manter as condições anaeróbicas.

As fezes dos animais doadores foram coletadas diretamente do reto dos animais, misturadas com saliva artificial (McDouglas, 1948) no liquidificador, na proporção de 1:1 com base no peso, e borbulhadas com CO₂ (El Shaer et al., 1987). A mistura foi filtrada em camada dupla de pano de queijo e diluída novamente com saliva artificial para obtenção de uma solução a 3% (El-Meadaway et al., 1998). A essa solução de fezes foi acrescentada uma solução de uréia a 3% (30 ml do filtrado + 1000 ml de saliva artificial + 30 ml da solução de uréia) e novamente foi feito o borbulhamento com CO₂ por 5 minutos. Após estes procedimentos, foram acrescentados 12 ml de fluido ruminal ou solução diluída de fezes + 10 ml de saliva artificial nos tubos de ensaio com os substratos, previamente pesados em duplicatas, para inoculação por 48h a 39°C (Tilley & Terry, 1963). Nas primeiras 12h de incubação o pH foi checado a cada 3h e reajustado quando necessário para 6,8. Passadas as 48h de incubação, adicionou-se 1 ml de tolueno em cada tubo de ensaio para encerrar a digestão. Em seguida, os resíduos foram tratados com detergente neutro por 1h (Goering & Van Soest, 1970) e filtrados em cadinhos. Estes foram secos em estufa a 100°C por 24h, e pesados para

determinação da DIVMS (%). Após a incineração da amostra em mufla a 550°C por 24h e repesagem dos cadinhos, foi determinada a DIVMO (%).

3.5. Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do Procedimento de Modelos Lineares Gerais do pacote estatístico SAS Institute, Software (SAS/STAT, 1995), versão 6.12.

O esquema de análise de variância utilizado no experimento 1 foi o seguinte.

Causa da Variação	Graus de Liberdade
Dietas	1
Fontes de Inóculo	1
Substratos	6
Dietas x F. Inóculo	1
Dietas x Substratos	6
F. Inóculo x Substratos	6
Dietas x F. Inóculo x Substratos	6
Resíduo	56
Total	83

O modelo matemático para análise da variância do experimento 1 foi o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial: 7x2x2.

$$\gamma_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + v_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha v)_{ik} + (\beta v)_{jk} + (\alpha\beta v)_{ijk} + e_{ijk}$$

γ_{ijk} = é o valor observado referente a digestibilidade in vitro, em %, do nível i do fator fontes de inóculo, do nível j do fator substratos, e do nível k do fator dieta,

μ = média esperada;

α_i = é o efeito do nível i do fator fontes de inóculo;

β_j = é o efeito do nível j do fator substratos;

v_k = é o efeito do nível k do fator dieta;

$(\alpha\beta)_{ij}$ = é o efeito da interação entre o nível i de fontes de inóculo, com o nível j substratos;

$(\alpha v)_{ik}$ = é o efeito da interação entre o nível i de fontes de inóculo, com nível k dieta;

$(\beta v)_{jk}$ = é o efeito da interação entre o nível j substratos, com nível k dieta;

$(\alpha\beta v)_{ijk}$ = é o efeito da interação entre o nível i de fontes de inóculo, com o nível j substratos e com o nível k dieta;

e_{ijk} = erro aleatório com efeito do acaso;

O esquema de análise de variância utilizado no experimento 2 foi o seguinte.

Causa da Variação	Graus de Liberdade
Fontes de Inóculo	3
Substratos	6
F. Inóculo x Substratos	18
Resíduo	56
Total	83

O modelo matemático para análise da variância do experimento 2, foi o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial: 7x4.

$$\gamma_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ij}$$

γ_{ij} = é o valor observado referente a digestibilidade in vitro, em %, do nível i do fator fontes de inóculo, e do nível j do fator substratos;

μ = média esperada;

α_i = é o efeito do nível i do fator fontes de inóculo;

β_j = é o efeito do nível j do fator substratos;

$(\alpha\beta)_{ij}$ = é o efeito da interação entre o nível i de fontes de inóculo, com o nível j substratos;

e_{ij} = erro aleatório com efeito do acaso;

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento 1

Os resultados obtidos para DIVMS, provenientes de inóculos testados de animais alimentados com diferentes dietas, não foram estatisticamente significativos. Já os resultados obtidos para DIVMO, apresentaram diferenças significativas $P < 0,05$ (59,88% para dieta 1 e 57,33% para dieta 2). Os resultados encontrados diferiram daqueles obtidos por Bueno et al. (1999a), onde animais alimentados com dietas diferenciadas não apresentaram diferenças entre os parâmetros estudados (DIVMO, produção total de gases e "lag time") para os inóculos testados.

As médias de DIVMS e de DIVMO dos substratos foram comparadas entre si, e se apresentam na Tabela 2, onde valores significativamente maiores para os substratos napier, brachiaria, cana-de-açúcar e silagem de milho podem ser observados. Para médias de DIVMS, os substratos tanzânia e tifton 85 apresentaram valores significativamente menores, porém superiores ao obtido com bagaço ($P < 0,05$). Já para médias de

DIVMO, tanzânia, tifton 85 e bagaço apresentaram valores significativamente menores ($P < 0,05$), do que os demais substratos.

Tabela 2 – Efeito dos substratos na digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica.

Substratos	DIVMS	DIVMO
	%	
Bagaço (BHPV)	44,81 ^d	52,67 ^b
Brachiaria	64,05 ^{ab}	62,63 ^a
Cana-de-açúcar	62,58 ^{ab}	63,17 ^a
Napier	67,05 ^a	66,29 ^a
Silagem de milho	62,10 ^b	62,14 ^a
Tanzânia	55,04 ^c	53,02 ^b
Tifton 85	51,91 ^c	50,33 ^b

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

O efeito das fontes de inóculo na DIVMS, apresentaram diferenças significativas, 69,39% para fluído ruminal e 47,05% para fezes. Para DIVMO, também diferiram significativamente sendo 71,54% para fluído ruminal e 45,67% para fezes, provavelmente devido à maior “lag-phase” quando se usa fezes como inóculo. Dados semelhantes foram encontrados por Maurício et al. (1998a), onde as fezes utilizadas como inóculo produziram quantidade de gases e matéria orgânica degradável inferior à do fluído ruminal; o perfil de fermentação observado pelas fezes apresentou uma “lag-phase” mais prolongada do que a do fluído ruminal, provavelmente devido à baixa atividade

ou concentração de microrganismos fecais. Akhter et al. (1999), também obtiveram valores de DIVMO significativamente maiores ($P < 0,01$) quando foi usado fluído ruminal (57,1%) como fonte de inóculo, do que quando foi usado fezes (42,6%). Segundo El-Meadaway et al. (1998), produtos resultantes da fermentação com inóculo de fezes, podem ser diferentes daqueles obtidos com inóculo de fluído ruminal, devido a população de bactérias ser diferente em cada inóculo.

No desdobramento das interações entre as dietas e os inóculos (fezes e fluído ruminal), observou-se diferença significativa. Os valores obtidos são apresentados na Tabela 3 para DIVMS e na Tabela 4 para DIVMO. Akhter et al. (1999), encontraram dados semelhantes, isto é, médias de DIVMO provenientes de inóculo de fezes de animais alimentados com feno, foram maiores ($P < 0,05$) do que quando usados inóculo de fezes provenientes de animais alimentados com concentrado, ou da mistura de feno + concentrado. As médias de DIVMO foram 41,3% para feno, 39,1% para concentrado e 37,1% para feno + concentrado. Quando a DIVMO foi medida usando como inóculo fluído ruminal, a média foi 56,7% para dieta feno + concentrado, significativamente maior do que os valores encontrados quando usado o inóculo de fezes. Maurício et al. (1999), comparando fluído ruminal e fezes de bovinos, no Reino Unido e no Brasil, como fontes de microrganismos para produção de gases *in vitro* com doze forragens temperadas; os animais no Reino Unido foram alimentados com silagem de capim e concentrado (60:40) e

no Brasil com feno de baixa qualidade e pouco concentrado. Os valores de produção de gases obtidos na fermentação *in vitro* com fluído ruminal foram de 242 ml e 190 ml e com fezes de 189 ml e 211 ml, no Reino Unido e no Brasil, respectivamente. Estes resultados demonstram que a qualidade da dieta do animal doador pode influenciar as diferenças entre fluído ruminal e fezes.

O perfil de fermentação dos microrganismos presentes nos inóculos dificilmente terá a mesma característica em dias alternados, também influenciado pela dieta consumida pelos animais. Já Dehority & Grubb (1976), encontraram mudanças na contagem de colônias de bactérias, variando consideravelmente entre dias no mesmo animal, mas estas mudanças parecem não estar associadas com o tipo de dieta.

Tabela 3 – Efeito das dietas com as fontes de inóculo (fluído ruminal e fezes) na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (%).

Dieta 1*		Dieta 2**	
FZ	FR	FZ	FR
46,15 ^a	71,43 ^b	47,94 ^a	67,36 ^c

Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

* feno + farelo de soja.

** Silagem + cana + concentrado.

Tabela 4 – Efeito das dietas com as fontes de inóculo (fluido ruminal e fezes) na digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (%).

Dieta 1*		Dieta 2**	
FZ	FR	FZ	FR
44,61 ^a	75,15 ^b	46,73 ^a	67,93 ^c

Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

* feno + farelo de soja.

** Silagem + cana + concentrado.

O desdobramento das interações das fontes de inóculo (fezes e fluido ruminal) com os substratos, podem ser observadas para DIVMS na Tabela 5 e para DIVMO na Tabela 6. Para médias de DIVMS os substratos bagaço, tanzânia e tifton 85 foram os que apresentaram valores significativamente inferiores quando o inóculo de fezes foi usado. No entanto, para inóculo de fluido ruminal o substrato bagaço foi o que diferiu significativamente ($P < 0,05$) dos demais na DIVMS. Já para DIVMO o substrato tifton 85 seguido pelo tanzânia e pelo bagaço, foram os que apresentaram valores significativamente inferiores ($P < 0,05$), para fonte de inóculo fezes. Portanto as médias obtidas com inóculo de fezes sempre foram inferiores às obtidas com fluido ruminal. Divergindo dos resultados encontrados por, El-Meadaway et al. (1998), que relataram valores obtidos para DIVMS usando como inóculo solução de fezes frescas diluída a 3%, similares aos obtidos com fluido ruminal como fonte de inóculo, quando o substrato é de boa qualidade, mas não de qualidade inferior como a palha de cevada. Por outro lado, reportadas pelos mesmos autores, as médias da DIVMS do grão de cevada,

trevo da Persia (Persian clover), alfafa e bromegrass obtidas também com solução de fezes frescas diluída a 3% e fluído ruminal não diferiram significativamente ($P>0,05$). Maurício et al. (1998b), trabalhando com palha de trigo, feno de gramínea e dez diferentes gramíneas de clima temperado, observaram grande variação para DIVMO entre os substratos utilizados e também relataram valores de produção de gases de 148 a 190 ml para fluído ruminal e 146 a 195 ml para fezes, evidenciando a similaridade de resultados de produção de gases entre os dois inóculos testados. Maurício et al. (1998a), também apresentaram dados da interação fontes de inóculo com substratos para DIVMO com produção de gases e obtiveram resultados que diferiram significativamente ($P<0,05$). Valores significativamente maiores foram obtidos para gramíneas secas (212 ml) tanto para fluído ruminal como para fezes usados como fontes de inóculo, do que para palha tratada com amônia, (192 ml) para fluído ruminal e (185 ml) para fezes, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por Manyuchi et al. (1991), com gramíneas tropicais, onde o inóculo de fezes apresentou valores de digestibilidade *in vitro* significativamente menores do que os obtidos com fluído ruminal, provavelmente devido ao curto tempo de digestão (48 vs. 72h) e também pelo fato da uréia não ter sido adicionada na digestão.

As representações gráficas da DIVMS e da DIVMO para os substratos, encontram-se nas Figuras 1 e 2 respectivamente.

Tabela 5 – Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluido ruminal) com os substratos na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (%).

Substratos	Fontes de Inoculo	
	Fezes	Fluído Ruminal
Bagaço (BHPV)	32,63 ^{xa}	56,99 ^{ya}
Brachiaria	52,89 ^{xb}	75,21 ^{ybd}
Cana-de-açúcar	56,12 ^{xb}	69,05 ^{ybc}
Napier	55,91 ^{xb}	78,19 ^{yd}
Silagem de milho	52,87 ^{xb}	71,33 ^{ybcd}
Tanzânia	42,23 ^{xc}	67,85 ^{ybc}
Tifton 85	36,69 ^{xac}	67,13 ^{yc}

x, y, nas linhas, médias seguidas por letras iguais, na mesma linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

a, b, c, d, nas colunas, médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Figura 01 - Digestibilidade *in vitro* da MS para os substratos, no experimento 1.

Tabela 6 – Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluido ruminal) com os substratos na digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (%).

Substratos	Fonte de Inóculos	
	Fezes	Fluído Ruminal
Bagaço (BHPV)	38,26 ^{xa}	67,08 ^{ya}
Brachiaria	49,88 ^{xb}	75,37 ^{ybc}
Cana-de-açúcar	55,60 ^{xb}	70,73 ^{yab}
Napier	53,39 ^{xb}	79,20 ^{yc}
Silagem de milho	51,43 ^{xb}	72,84 ^{yabc}
Tanzânia	37,92 ^{xa}	68,11 ^{yab}
Tifton 85	33,21 ^{xa}	67,45 ^{ya}

x, y, nas linhas, médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

a, b, c, nas colunas, médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Figura 02 - Digestibilidade *in vitro* da MO para os substratos, no experimento 1.

4.2. Experimento 2

Os valores de DIVMS e de DIVMO, para os dois inóculos fezes e fluído ruminal frescos e resfriados, estão apresentados nas Tabelas 7 e 8 respectivamente. Observa-se que os valores obtidos foram significativamente menores quando se usou fezes como inóculo, provavelmente devido à "lag-phase" mais prolongada neste caso, como já mencionado anteriormente. O resfriamento não alterou os valores de digestibilidade quando se usou ambos os inóculos. Circunstancial evidência suporta a hipótese que o armazenamento das fontes de inóculo por 6h a 0°C, parece não alterar a adesão de bactérias a célula-célula e célula-partícula, mantendo os valores de digestibilidade similares (Dehority & Grubb, 1980). Dados com fontes de inóculo já descritos anteriormente foram encontrados por Maurício et al. (1998a), onde as fezes utilizadas como inóculo deram origem a uma quantidade de gases e matéria orgânica degradável inferior à do fluído ruminal, o perfil de fermentação descrito pelas fezes apresentou uma "lag-phase" mais prolongada do que a do fluído ruminal, provavelmente devido à baixa atividade ou concentração de microorganismos fecais. Akhter et al. (1999), também obtiveram valores de DIVMO significativamente maiores ($P < 0,01$) quando foi usado como fonte de inóculo fluído ruminal (57,1%), do que quando foi usado fezes (42,6%). El-Meadaway et al. (1998), concluíram que produtos resultantes da fermentação

com inóculo de fezes, podem ser diferentes daqueles obtidos com inóculo de fluído ruminal, devido a diferença na população de bactérias em cada inóculo.

Tabela 7 – Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal – frescos e resfriados) na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (%).

Fontes de Inóculo			
FR Fresco	FR Resfriado	FZ Frescas	FZ Resfriadas
67,22 ^a	66,25 ^a	47,24 ^b	47,47 ^b

Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Tabela 8 – Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal – frescos e resfriados) na digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (%).

Fontes de Inóculo			
FR Fresco	FR Resfriado	FZ Frescas	FZ Resfriadas
71,78 ^a	68,40 ^a	48,91 ^b	48,16 ^b

Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

As médias de DIVMS e de DIVMO dos substratos foram comparadas entre si, e podem ser observadas na Tabela 9. Os substratos tanzânia e tifton 85 diferiram significativamente ($P < 0,05$) dos outros substratos para DIVMS. O bagaço apresentou a menor média, diferindo significativamente de todos os substratos. Com relação a DIVMO os substratos tanzânia, tifton 85 e bagaço foram inferiores aos demais ($P < 0,05$).

Tabela 9 – Efeito dos substratos na digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica.

Substratos	DIVMS	DIVMO
	%	
Bagaço (BHPV)	42,68 ^c	51,94 ^c
Brachiaria	62,42 ^a	64,41 ^a
Cana-de-açúcar	62,19 ^a	64,23 ^a
Napier	62,74 ^a	62,33 ^{ab}
Silagem de milho	62,07 ^a	61,97 ^{ab}
Tanzânia	55,50 ^b	57,00 ^{bc}
Tifton 85	51,71 ^b	53,32 ^c

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

O desdobramento dos substratos dentro das diferentes fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal), podem ser observadas para DIVMS e para DIVMO nas Tabelas 10 e 11 e suas representações gráficas nas Figuras 3 e 4, respectivamente. As maiores médias de DIVMS para o inóculo de fezes frescas como resfriadas foram obtidas com o substrato cana-de-açúcar (58,06 e 57,18%, respectivamente), e somente diferiram significativamente dos substratos tifton 85 e bagaço. Já para o inóculo fluído ruminal resfriado a média superior foi a do substrato brachiaria (73,50%), e para fluído ruminal fresco foi a do substrato napier (76,35%), que somente diferiram do substrato bagaço ($P < 0,05$).

Todavia, as maiores médias de DIVMO para o inóculo de fezes frescas (56,95%) foi para o substrato brachiaria e para fezes resfriadas (60,68%) foi para o substrato cana-de-açúcar. Já para o inóculo fluído ruminal fresco e resfriado a média superior foi a do substrato napier (78,22% e 74,30%) respectivamente, que não diferiram dos demais substratos.

Portanto as médias obtidas com inóculo de fezes sempre foram inferiores as obtidas com fluído ruminal. Divergindo dos resultados encontrados, El-Meadaway et al. (1998), que relataram valores obtidos para DIVMS usando como inóculo solução de fezes frescas diluída a 3%, similares aos obtidos com fluído ruminal como fonte de inóculo, quando o substrato é de boa qualidade, mas não de qualidade inferior como a palha de cevada. Por outro lado, reportadas pelos mesmos autores, as médias da DIVMS do grão de cevada, trevo da Persia (Persian clover), alfafa e bromegrass obtidas também com solução de fezes frescas diluída a 3% e fluído ruminal não diferiram significativamente ($P>0,05$). Maurício et al. (1998b), trabalhando com palha de trigo, feno de gramínea e dez diferentes gramíneas de clima temperado, observou grande variação para DIVMO entre os substratos utilizados e relatou também valores de produção de gases de 148 a 190 ml para fluído ruminal e 146 a 195 ml para fezes, evidenciando a similaridade de resultados de produção de gases entre os dois inóculos testados. Maurício et al. (1998a), também apresentaram dados da interação fontes de inóculo com substratos para DIVMO com produção de gases e obtiveram resultados que diferiram

significativamente ($P < 0,05$). Valores significativamente maiores foram obtidos para gramíneas secas (212 ml) tanto para fluído ruminal como para fezes usados como fontes de inóculo, do que para palha tratada com amônia (192 ml) para fluído ruminal e (185 ml) para fezes, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por Manyuchi et al. (1991), com gramíneas tropicais, onde inóculo de fezes apresentou valores de digestibilidade *in vitro* menores do que os obtidos com fluído ruminal, provavelmente devido ao curto tempo de digestão (48 vs. 72h) e também pelo fato da uréia não ter sido adicionada na digestão.

Tabela 10 – Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal – frescos e resfriados) com os substratos na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (%).

Substratos	Fontes de Inóculo			
	FZR	FZF	FRR	FRF
Bagaço (BHPV)	32,09 ^{xa}	33,13 ^{xa}	54,14 ^{ya}	51,34 ^{ya}
Brachiaria	55,26 ^{xb}	50,59 ^{xbc}	73,50 ^{yb}	70,32 ^{yb}
Cana-de-açúcar	57,18 ^{xb}	58,06 ^{xb}	63,38 ^{xab}	70,14 ^{xb}
Napier	51,21 ^{xbc}	50,38 ^{xbc}	73,02 ^{yb}	76,35 ^{yb}
Silagem de milho	52,71 ^{xb}	53,88 ^{xb}	70,64 ^{yb}	71,05 ^{yb}
Tanzânia	45,17 ^{xab}	44,81 ^{xab}	67,83 ^{yb}	64,19 ^{yab}
Tifton 85	38,65 ^{xac}	39,83 ^{xac}	61,21 ^{yab}	67,15 ^{yb}

x, y nas linhas; médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

a, b, c, nas colunas; médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Figura 03 – Digestibilidade *in vitro* da MS para os substratos, no experimento 2

Tabela 11 – Efeito das fontes de inóculo (fezes e fluído ruminal – frescos e resfriados) com os substratos na digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (%).

Substratos	Fontes de Inóculo			
	FZR	FZF	FRR	FRF
Bagaço (BHPV)	40,57 ^{xac}	39,27 ^{xa}	60,49 ^{ya}	67,43 ^{ya}
Brachiaria	55,82 ^{xab}	56,95 ^{xybc}	72,13 ^{xya}	72,73 ^{xya}
Cana-de-açúcar	60,68 ^{xb}	56,90 ^{xbc}	67,60 ^{xa}	71,76 ^{xa}
Napier	51,33 ^{xab}	45,46 ^{xab}	74,30 ^{ya}	78,22 ^{ya}
Silagem de milho	51,26 ^{xab}	52,14 ^{xab}	70,87 ^{ya}	73,59 ^{ya}
Tanzânia	42,66 ^{xac}	48,86 ^{xab}	67,71 ^{ya}	68,76 ^{ya}
Tifton 85	34,81 ^{xc}	42,78 ^{xac}	65,72 ^{ya}	69,96 ^{ya}

x, y nas linhas; médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

a, b, c, nas colunas; médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Figura 04 - Digestibilidade *in vitro* da MO para os substratos, no experimento 2.

5 – CONCLUSÕES

- Médias de DIVMS e de DIVMO obtidas com inóculo de fezes sempre foram inferiores em relação às obtidas com inóculo de fluído ruminal.
- Fezes de bovinos tem potencial como fonte alternativa de microrganismos ruminais viáveis para diferentes técnicas de fermentação.
- A qualidade da dieta do animal doador pode influenciar as diferenças entre os inóculos, fluído ruminal e fezes.
- O resfriamento das fontes de inóculo não alteraram os valores de digestibilidade, não apresentando diferenças em relação as fontes de inóculo frescas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIPLE, K. P.; STEINGASS, H.; MENKE, K. H. Suitability of a buffered faecal suspension as the inoculum in the Hohenheim gas test. 1. Modification of the method and its ability in the prediction of organic matter digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeds compared with rumen fluid as inoculum. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 67, p. 57-66, 1992.
- AKHTER, S.; OWEN, E.; THEODOROU, M. K.; BUTLER, E. A.; MINSON, D. J. Bovine faeces as a source of micro-organisms for the *in vitro* digestibility assay of forages. **The Journal of the British Grassland Society**, v. 54, n. 3, p. 219-226, 1999.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 11. ed. Washington, 1970. 1015p.

BARNES, R. F. Use of *in vitro* fermentation techniques for estimating forage digestibility and intake. **Agronomy Journal**, v. 57, n.1, p. 213-216, 1965.

BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. In vitro gas production a technique revisited. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.77, p. 14-34, 1997.

BUENO, I. C. S.; GOBBO, S. P.; ABDALLA, A. L.; CABRAL FILHO, S. L. S. A comparison between *in situ* and *in vitro* measurement of rumen degradability of Brazilian feeds (Compact disc). In: ANNUAL MEETING OF THE BRITISH SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, Scarborough, 2000. **Proceedings**. Scarborough: BSAS, 2000.

BUENO, I. C. S.; ABDALLA, A. L.; CABRAL FILHO, S. L. S.; MOULD, F. L.; OWEN, E. Efeito de três diferentes dietas no inóculo usado para a técnica *in vitro* de produção de gases (Compact disc). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., Porto Alegre, 1999. **Anais**. Porto Alegre: SBZ, 1999a.

BUENO, I. C. S.; ABDALLA, A. L.; CABRAL FILHO, S. L. S.; OWEN, E.; MOULD, F. L.; MACHADO, M. C.; GOBBO, S. P. Uso de líquido ruminal e fezes de bovinos e ovinos como fonte de inóculo para a técnica *in vitro* de produção de gases (Compact disc). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., Porto Alegre, 1999. **Anais**. Porto Alegre: SBZ, 1999b.

CHURCH, D. C.; PETERSEN, R. G. Effect of several variables on *in vitro* rumen fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 43, n. 1, p. 81-92, 1960.

DEHORITY, B. A.; GRUBB, J. A. Basal medium for the selective enumeration of rumen bacteria utilizing specific energy sources. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 32, p. 703-710, 1976.

DEHORITY, B. A.; GRUBB, J. A. Effect of short-term chilling of rumen contents on viable bacterial numbers. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 39, n. 2, p.376-381, 1980.

EL-MEADAWAY, A.; MIR, Z.; MIR, P. S.; ZAMAN, M. S.; YANKE, L. J. Relative efficacy of inocula from rumen fluid or faecal solution for determining *in vitro* digestibility and gas production. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 78, n. 4, p. 673-679, 1998.

EL SHAER, H. M.; OMED, H. M.; CHAMBERLAIN, A. G. Use of faecal organisms from sheep for the *in vitro* determination of digestibility. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, p. 257-259, 1987.

GOERING, N. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis**: apparatus, reagents, procedures and some applications. Washington: USDA, 1970. 20p.

GRANT, R. J.; VAN SOEST, P. J.; MCDOWELL, R. E. Influence of rumen fluid source and fermentation time on *in vitro* true dry matter digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 57, n. 2, p. 1201-1205, 1974.

JONES, R. J.; BARNES, P. *In vitro* digestibility assessment of tropical shrub legumes using rumen fluid or faecal fluid as the inoculum source. **The Journal of the Tropical Grassland Society of Australia**, v. 30, p. 374-377, 1996.

MANN, S. O.; ORSKOV, E. R. The effect of rumen and post-rumen feeding of carbohydrate on the caecal microflora of sheep. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 36, p. 475-484, 1973.

MANYUCHI, B.; RUSIKE, E.; CHAKOMA, C. Comparison of the use of rumen fluid or dung as a source of microbial inoculum for the digestion of forages *in vitro*. **Zimbabwe Journal of Agricultural Research**, v. 29, p. 17-25, 1991.

MAURÍCIO, R. M.; MOULD, F. L.; OWEN, E. Comparison of rumen liquor and faeces from cows as sources of microorganisms for the *in vitro* gas production technique. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 5, p. 569-572, 1998a.

MAURÍCIO, R. M.; ABDALLA, A. L.; VITTI, D. M. S. S.; OWEN, E.; GIVENS, I.; BUENO, I. C. S.; CABRAL FILHO, S. L. S. 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., Botucatu, 1998. **Anais**. Botucatu. SBZ, 1998b. p. 314-316.

MAURÍCIO, R. M.; OWEN, E.; ABDALLA, A. L.; BUENO, I. C. S.; MOULD, F. L.; GILMOUR, S.; THEODOROU, M.K. Comparison of rumen liquor and faeces, in UK and Brazil, as sources of microorganisms for *in vitro* gas production for assessing twelve forages. In: ANNUAL MEETING OF THE BRITISH SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, Scarborough, 1999. **Proceedings**. Scarborough: BSAS, 1999. p.147.

- MAURÍCIO, R. M.; ABDALLA, A. L.; MOULD, F. L.; ALTAF, U. R.; SMITH, T.; OWEN, E.; GIVENS, D. I.; DHANOA, M. S.; THEODDOROU, M. K. Bovine rumen liquor and faeces as source of microorganisms for the *in vitro* gas production technique assessed using twelve graminaceous forages. In: THE WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 8., Seoul, 1998. **Proceedings:** contributed papers. Seoul: National University, 1998c. v. 1, p. 604-605.
- McDOUGALL, E.I. Studies on ruminant saliva. I. Composition and output of sheep saliva. **Biochemistry Journal**, v.43, p. 99-109, 1948.
- MEER, V. J. M.; WEVER, G.; BEDIYE, S. Rumen bacteria for evaluation of enzymatically changed animal feeds and genetic varieties of fodder plants. **Analytica Chimica Acta**, v. 213, p. 177-185, 1988.
- MENKE, K. H.; RAAB, L.; SALEWSKI, A.; STAINGASS, H.; FRITZ, H.; SCHNEIDER, W. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. **Journal of Agricultural Science**, v. 93, p. 217-222, 1979.

NSAHLAI, I. V.; UMUNNA, N.N. Comparison between reconstituted sheep faeces and rumen fluid inocula and between *in vitro* and *in sacco* digestibility methods as predictors of intake and *in vivo* digestibility. **Journal of Agricultural Science**, v. 126, p. 235-248, 1996.

OMED, H. M.; AXFORD, R. F. E.; CHAMBERLAIN, A. G.; GIVENS, D. I. A comparison of three laboratory techniques for the estimation of the digestibility of feedstuffs for ruminants. **Journal of Agricultural Science**, v. 113, p. 35-39, 1989.

ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rates of passage. **Journal of Agricultural Science**, v. 92, p. 499-503, 1979.

PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 4, p. 1063-1073, 1993.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT: User's guide (Release 6.11)**. Cary, 1995. 430p.

THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M.S.; McALLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 48, p. 185-197, 1994.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v. 18, p. 104-111, 1963.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**: ruminant metabolism, nutritional strategies, the cellulolytic fermentation and the chemistry of forages and plant fibers. Ithaca: Cornell University Press. 1987. 373p.

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

XIONG, Y.; BARTLE, S. J.; PRESTON, R. L.; MENG, Q. Estimating starch availability and protein degradation of steam-flaked and reconstituted sorghum grain through a gas production test. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 6, p. 3880-3885, 1990.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 – Médias de DIVMS e DIVMO, Experimento 1.

Dieta	Fontes de Inóculo	Repetições	Substratos	DIVMS	DIVMO
E1	FRuminal	1	Cana	73,23	77,60
E1	FRuminal	2	Cana	70,14	72,81
E1	FRuminal	3	Cana	69,29	73,07
E1	FRuminal	1	Napier	80,71	83,57
E1	FRuminal	2	Napier	78,11	79,43
E1	FRuminal	3	Napier	78,48	81,94
E1	FRuminal	1	Silagem	73,87	78,03
E1	FRuminal	2	Silagem	71,59	73,45
E1	FRuminal	3	Silagem	69,13	72,51
E1	FRuminal	1	Brachiaria	79,01	82,37
E1	FRuminal	2	Brachiaria	84,75	85,16
E1	FRuminal	3	Brachiaria	71,41	73,38
E1	FRuminal	1	Tifton 85	76,22	79,18
E1	FRuminal	2	Tifton 85	64,41	63,54
E1	FRuminal	3	Tifton 85	67,45	68,70
E1	FRuminal	1	Tanzânia	74,57	77,36
E1	FRuminal	2	Tanzânia	66,38	67,62
E1	FRuminal	3	Tanzânia	68,56	71,25
E1	FRuminal	1	Bagaço	62,97	74,65
E1	FRuminal	2	Bagaço	63,98	70,45
E1	FRuminal	3	Bagaço	55,76	72,06
E1	FEZES	1	Cana	53,36	52,34
E1	FEZES	2	Cana	55,98	56,83
E1	FEZES	3	Cana	56,47	55,98
E1	FEZES	1	Napier	60,07	54,89
E1	FEZES	2	Napier	51,41	46,55
E1	FEZES	3	Napier	58,84	54,64
E1	FEZES	1	Silagem	51,14	49,93
E1	FEZES	2	Silagem	54,28	53,79
E1	FEZES	3	Silagem	53,56	51,60
E1	FEZES	1	Brachiaria	56,84	52,36
E1	FEZES	2	Brachiaria	51,35	48,04
E1	FEZES	3	Brachiaria	50,03	44,73
E1	FEZES	1	Tifton 85	35,47	36,99
E1	FEZES	2	Tifton 85	37,44	34,43
E1	FEZES	3	Tifton 85	33,50	29,24
E1	FEZES	1	Tanzânia	35,89	30,37
E1	FEZES	2	Tanzânia	39,64	38,75

continua...

Dieta	Fontes de Inóculo	Repetições	Substratos	DIVMS	DIVMO
E1	FEZES	3	Tanzânia	36,13	31,42
E1	FEZES	1	Bagaço	32,51	37,66
E1	FEZES	2	Bagaço	33,02	37,32
E1	FEZES	3	Bagaço	32,30	38,93
E2	FRuminal	1	Cana	68,75	69,09
E2	FRuminal	2	Cana	65,68	65,09
E2	FRuminal	3	Cana	67,21	66,74
E2	FRuminal	1	Napier	76,97	76,98
E2	FRuminal	2	Napier	78,66	77,55
E2	FRuminal	3	Napier	76,22	75,70
E2	FRuminal	1	Silagem	74,60	75,10
E2	FRuminal	2	Silagem	68,77	67,78
E2	FRuminal	3	Silagem	70,01	70,18
E2	FRuminal	1	Brachiaria	76,05	75,43
E2	FRuminal	2	Brachiaria	71,32	70,57
E2	FRuminal	3	Brachiaria	68,69	65,32
E2	FRuminal	1	Tifton 85	71,94	70,91
E2	FRuminal	2	Tifton 85	60,29	58,61
E2	FRuminal	3	Tifton 85	62,48	63,76
E2	FRuminal	1	Tanzânia	68,53	68,21
E2	FRuminal	2	Tanzânia	64,70	60,93
E2	FRuminal	3	Tanzânia	64,38	63,31
E2	FRuminal	1	Bagaço	58,02	62,42
E2	FRuminal	2	Bagaço	44,70	59,88
E2	FRuminal	3	Bagaço	56,50	63,01
E2	FEZES	1	Cana	55,87	55,56
E2	FEZES	2	Cana	58,27	56,69
E2	FEZES	3	Cana	56,74	56,20
E2	FEZES	1	Napier	49,38	52,93
E2	FEZES	2	Napier	62,41	57,29
E2	FEZES	3	Napier	53,35	53,06
E2	FEZES	1	Silagem	53,86	53,49
E2	FEZES	2	Silagem	52,71	50,36
E2	FEZES	3	Silagem	51,64	49,42
E2	FEZES	1	Brachiaria	49,65	45,61
E2	FEZES	2	Brachiaria	58,78	54,07
E2	FEZES	3	Brachiaria	50,72	54,46
E2	FEZES	1	Tifton 85	36,56	31,70
E2	FEZES	2	Tifton 85	38,87	33,81
E2	FEZES	3	Tifton 85	38,32	33,07

continua...

Dieta	Fontes de Inóculo	Repetições	Substratos	DIVMS	DIVMO
E2	FEZES	1	Tanzânia	47,55	42,83
E2	FEZES	2	Tanzânia	46,84	41,50
E2	FEZES	3	Tanzânia	47,31	42,66
E2	FEZES	1	Bagaço	32,45	42,00
E2	FEZES	2	Bagaço	33,32	32,21
E2	FEZES	3	Bagaço	32,15	41,42

APÊNDICE 2 – Médias de DIVMS e DIVMO, Experimento 2.

Fontes de Inóculo	Repetições	Substratos	DIVMS	DIVMO
Fruminal congel.	1	Cana	64,84	78,46
Fruminal congel.	2	Cana	67,95	68,51
Fruminal congel.	3	Cana	57,34	55,83
Fruminal congel.	1	Napier	76,83	77,08
Fruminal congel.	2	Napier	77,83	77,91
Fruminal congel.	3	Napier	64,41	67,90
Fruminal congel.	1	Silagem	69,37	69,97
Fruminal congel.	2	Silagem	71,09	71,93
Fruminal congel.	3	Silagem	71,47	70,71
Fruminal congel.	1	Brachiaria	72,79	71,18
Fruminal congel.	2	Brachiaria	75,06	75,02
Fruminal congel.	3	Brachiaria	72,65	70,19
Fruminal congel.	1	Tifton 85	58,96	64,55
Fruminal congel.	2	Tifton 85	65,36	67,95
Fruminal congel.	3	Tifton 85	59,30	64,67
Fruminal congel.	1	Tanzânia	68,40	67,80
Fruminal congel.	2	Tanzânia	68,74	69,67
Fruminal congel.	3	Tanzânia	66,35	65,67
Fruminal congel.	1	Bagaço	58,10	59,72
Fruminal congel.	2	Bagaço	53,14	63,44
Fruminal congel.	3	Bagaço	51,19	58,30
Fruminal fresco	1	Cana	73,61	75,61
Fruminal fresco	2	Cana	69,55	69,10
Fruminal fresco	3	Cana	67,25	70,57
Fruminal fresco	1	Napier	77,27	80,18
Fruminal fresco	2	Napier	79,03	76,89
Fruminal fresco	3	Napier	72,76	77,59
Fruminal fresco	1	Silagem	74,53	76,20
Fruminal fresco	2	Silagem	73,06	72,20
Fruminal fresco	3	Silagem	65,57	72,37
Fruminal fresco	1	Brachiaria	73,54	75,58
Fruminal fresco	2	Brachiaria	67,28	67,92
Fruminal fresco	3	Brachiaria	70,13	74,69
Fruminal fresco	1	Tifton 85	69,32	72,42
Fruminal fresco	2	Tifton 85	62,31	64,22
Fruminal fresco	3	Tifton 85	69,83	73,25
Fruminal fresco	1	Tanzânia	67,65	73,34
Fruminal fresco	2	Tanzânia	62,10	66,20

continua...

Fontes de Inóculo	Repetições	Substratos	DIVMS	DIVMO
Fruminal fresco	3	Tanzânia	62,82	66,75
Fruminal fresco	1	Bagaço	50,87	66,05
Fruminal fresco	2	Bagaço	51,82	70,78
Fruminal fresco	3	Bagaço	51,32	65,47
FEZES congel.	1	Cana	56,99	69,72
FEZES congel.	2	Cana	58,03	56,59
FEZES congel.	3	Cana	56,53	55,72
FEZES congel.	1	Napier	53,92	64,01
FEZES congel.	2	Napier	50,62	45,69
FEZES congel.	3	Napier	49,09	44,30
FEZES congel.	1	Silagem	50,30	49,71
FEZES congel.	2	Silagem	54,86	53,08
FEZES congel.	3	Silagem	52,96	51,00
FEZES congel.	1	Brachiaria	63,99	62,41
FEZES congel.	2	Brachiaria	53,68	54,10
FEZES congel.	3	Brachiaria	48,10	50,95
FEZES congel.	1	Tifton 85	38,28	35,52
FEZES congel.	2	Tifton 85	40,07	36,02
FEZES congel.	3	Tifton 85	37,59	32,88
FEZES congel.	1	Tanzânia	54,70	52,22
FEZES congel.	2	Tanzânia	40,66	39,56
FEZES congel.	3	Tanzânia	40,16	36,21
FEZES congel.	1	Bagaço	29,39	36,79
FEZES congel.	2	Bagaço	32,90	43,18
FEZES congel.	3	Bagaço	33,99	41,74
FEZES frescas	1	Cana	55,84	54,95
FEZES frescas	2	Cana	57,91	56,16
FEZES frescas	3	Cana	60,44	59,58
FEZES frescas	1	Napier	47,11	42,42
FEZES frescas	2	Napier	50,63	45,46
FEZES frescas	3	Napier	53,40	48,50
FEZES frescas	1	Silagem	53,08	51,03
FEZES frescas	2	Silagem	54,52	52,95
FEZES frescas	3	Silagem	54,03	52,44
FEZES frescas	1	Brachiaria	43,91	48,62
FEZES frescas	2	Brachiaria	50,26	62,98
FEZES frescas	3	Brachiaria	57,59	59,25
FEZES frescas	1	Tifton 85	30,24	36,03
FEZES frescas	2	Tifton 85	44,29	46,88
FEZES frescas	3	Tifton 85	44,95	45,43
FEZES frescas	1	Tanzânia	42,29	45,79

continua...

Fontes de Inóculo	Repetições	Substratos	DIVMS	DIVMO
FEZES frescas	2	Tanzânia	48,74	55,70
FEZES frescas	3	Tanzânia	43,40	45,09
FEZES frescas	1	Bagaço	32,25	35,55
FEZES frescas	2	Bagaço	31,64	45,33
FEZES frescas	3	Bagaço	35,49	36,94

APÊNDICE 3 – Interação entre dietas e fontes de inóculo, DIVMS, Experimento 1.

EXP	TRAT	LSMEAN	i/j	1	2	3	4
E1	FEZES	46.1538095	1	.	0.0001	0.4024	0.0001
E1	FRuminal	71.4295238	2	0.0001	.	0.0001	0.0038
E2	FEZES	47.9404762	3	0.4024	0.0001	.	0.0001
E2	FRuminal	67.3557143	4	0.0001	0.0038	0.0001	.

APÊNDICE 4 – Interação entre dietas e fontes de inóculo, DIVMO, Experimento 1.

EXP	TRAT	LSMEAN	i/j	1	2	3	4
E1	FEZES	44.6090476	1	.	0.0001	0.2756	0.0001
E1	FRuminal	75.1490476	2	0.0001	.	0.0001	0.0001
E2	FEZES	46.7304762	3	0.2756	0.0001	.	0.0001
E2	FRuminal	67.9319048	4	0.0001	0.0001	0.0001	.

APÊNDICE 5 – Interação entre fontes de inóculo e substratos, DIVMS, Experimento 1.

TRAT	SUBS	LSMEAN	Number
FEZES	Bagaco	32.6250000	1
FEZES	Brachiar	52.8950000	2
FEZES	Cana	56.1150000	3
FEZES	Napier	55.9100000	4
FEZES	Silagem	52.8650000	5
FEZES	Tanzania	42.2266667	6
FEZES	Tifton85	36.6933333	7
FRuminal	Bagaco	56.9883333	8
FRuminal	Brachiar	75.2050000	9
FRuminal	Cana	69.0500000	10
FRuminal	Napier	78.1916667	11
FRuminal	Silagem	71.3283333	12
FRuminal	Tanzania	67.8533333	13
FRuminal	Tifton85	67.1316667	14

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0024	0.8102	0.0001	0.0001
2	0.0001	.	0.9591	0.9756	1.0000	0.0004	0.0001	0.8038	0.0001
3	0.0001	0.9591	.	1.0000	0.9561	0.0001	0.0001	1.0000	0.0001
4	0.0001	0.9756	1.0000	.	0.9736	0.0001	0.0001	1.0000	0.0001
5	0.0001	1.0000	0.9561	0.9736	.	0.0005	0.0001	0.7960	0.0001
6	0.0024	0.0004	0.0001	0.0001	0.0005	.	0.3619	0.0001	0.0001
7	0.8102	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.3619	.	0.0001	0.0001
8	0.0001	0.8038	1.0000	1.0000	0.7960	0.0001	0.0001	.	0.0001
9	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	.
10	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.2105
11	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.9774
12	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.8559
13	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0003	0.0565
14	0.0001	0.0001	0.0002	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0010	0.0222

i/j	10	11	12	13	14
1	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
2	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
3	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002
4	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002
5	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
6	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
7	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
8	0.0001	0.0001	0.0001	0.0003	0.0010
9	0.2105	0.9774	0.8559	0.0565	0.0222
10	.	0.0048	0.9981	1.0000	0.9997
11	0.0048	.	0.1004	0.0008	0.0002
12	0.9981	0.1004	.	0.9288	0.7762
13	1.0000	0.0008	0.9288	.	1.0000
14	0.9997	0.0002	0.7762	1.0000	.

APÊNDICE 6 – Interação entre fontes de inóculo e substratos, DIVMO, Experimento 1.

TRAT	SUBS	LSMEAN	Number
FEZES	Bagaco	38.2566667	1
FEZES	Brachiar	49.8783333	2
FEZES	Cana	55.6000000	3
FEZES	Napier	53.3933333	4
FEZES	Silagem	51.4316667	5
FEZES	Tanzania	37.9216667	6
FEZES	Tifton85	33.2066667	7
FRuminal	Bagaco	67.0783333	8
FRuminal	Brachiar	75.3716667	9
FRuminal	Cana	70.7333333	10
FRuminal	Napier	79.1950000	11
FRuminal	Silagem	72.8416667	12
FRuminal	Tanzania	68.1133333	13
FRuminal	Tifton85	67.4500000	14

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	1.0000	0.5523	0.0001	0.0001
2	0.0001	.	0.3509	0.9359	1.0000	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
3	0.0001	0.3509	.	0.9989	0.8125	0.0001	0.0001	0.0002	0.0001
4	0.0001	0.9359	0.9989	.	0.9997	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
5	0.0001	1.0000	0.8125	0.9997	.	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
6	1.0000	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	.	0.6579	0.0001	0.0001
7	0.5523	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.6579	.	0.0001	0.0001
8	0.0001	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	.	0.0221
9	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0221
10	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.9161	0.6814
11	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.8874
12	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.3397	0.9959
13	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	1.0000	0.0793
14	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	1.0000	0.0357

i/j	10	11	12	13	14
1	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
2	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
3	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
4	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
5	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
6	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
7	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
8	0.9161	0.0001	0.3397	1.0000	1.0000
9	0.6814	0.8874	0.9959	0.0793	0.0357
10	.	0.0177	0.9993	0.9943	0.9612
11	0.0177	.	0.2040	0.0004	0.0001
12	0.9993	0.2040	.	0.6538	0.4459
13	0.9943	0.0004	0.6538	.	1.0000
14	0.9612	0.0001	0.4459	1.0000	.

APÊNDICE 7– Interação entre fontes de inóculo e substratos, DIVMS, Experimento 2.

TRAT	SUBS	LSMEAN	Number
FC	Bagaco	32.0933333	1
FC	Brachiar	55.2566667	2
FC	Cana	57.1833333	3
FC	Napier	51.2100000	4
FC	Silagem	52.7066667	5
FC	Tanzania	45.1733333	6
FC	Tifton85	38.6466667	7
FF	Bagaco	33.1266667	8
FF	Brachiar	50.5866667	9
FF	Cana	58.0633333	10
FF	Napier	50.3800000	11
FF	Silagem	53.8766667	12
FF	Tanzania	44.8100000	13
FF	Tifton85	39.8266667	14
FRC	Bagaco	54.1433333	15
FRC	Brachiar	73.5000000	16
FRC	Cana	63.3766667	17
FRC	Napier	73.0233333	18
FRC	Silagem	70.6433333	19
FRC	Tanzania	67.8300000	20
FRC	Tifton85	61.2066667	21
FRF	Bagaco	51.3366667	22
FRF	Brachiar	70.3166667	23
FRF	Cana	70.1366667	24
FRF	Napier	76.3533333	25
FRF	Silagem	71.0533333	26
FRF	Tanzania	64.1900000	27
FRF	Tifton85	67.1533333	28

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.0001	0.0001	0.0002	0.0001	0.0669	0.9758	1.0000	0.0005
2	0.0001	.	1.0000	1.0000	1.0000	0.4332	0.0031	0.0001	0.9998
3	0.0001	1.0000	.	0.9922	0.9999	0.1445	0.0005	0.0001	0.9739
4	0.0002	1.0000	0.9922	.	1.0000	0.9910	0.0982	0.0007	1.0000
5	0.0001	1.0000	0.9999	1.0000	.	0.9019	0.0305	0.0002	1.0000
6	0.0669	0.4332	0.1445	0.9910	0.9019	.	0.9769	0.1410	0.9980
7	0.9758	0.0031	0.0005	0.0982	0.0305	0.9769	.	0.9974	0.1514
8	1.0000	0.0001	0.0001	0.0007	0.0002	0.1410	0.9974	.	0.0013
9	0.0005	0.9998	0.9739	1.0000	1.0000	0.9980	0.1514	0.0013	.
10	0.0001	1.0000	1.0000	0.9604	0.9983	0.0772	0.0002	0.0001	0.9082
11	0.0006	0.9996	0.9634	1.0000	1.0000	0.9989	0.1734	0.0016	1.0000
12	0.0001	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.7171	0.0111	0.0001	1.0000
13	0.0878	0.3640	0.1125	0.9816	0.8552	1.0000	0.9883	0.1791	0.9950
14	0.8775	0.0092	0.0015	0.2160	0.0778	0.9984	1.0000	0.9690	0.3091
15	0.0001	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.6637	0.0087	0.0001	1.0000
16	0.0001	0.0006	0.0040	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
17	0.0001	0.8214	0.9876	0.1299	0.3244	0.0006	0.0001	0.0001	0.0832
18	0.0001	0.0010	0.0063	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
19	0.0001	0.0096	0.0498	0.0002	0.0008	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
20	0.0001	0.0975	0.3284	0.0030	0.0122	0.0001	0.0001	0.0001	0.0017
21	0.0001	0.9926	1.0000	0.4505	0.7557	0.0053	0.0001	0.0001	0.3330
22	0.0002	1.0000	0.9941	1.0000	1.0000	0.9883	0.0896	0.0006	1.0000
23	0.0001	0.0129	0.0642	0.0003	0.0011	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

24	0.0001	0.0151	0.0736	0.0003	0.0014	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002
25	0.0001	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
26	0.0001	0.0066	0.0357	0.0001	0.0005	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
27	0.0001	0.6712	0.9503	0.0722	0.2031	0.0003	0.0001	0.0001	0.0444
28	0.0001	0.1559	0.4559	0.0058	0.0220	0.0001	0.0001	0.0001	0.0032

i/j	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0.0001	0.0006	0.0001	0.0878	0.8775	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
2	1.0000	0.9996	1.0000	0.3640	0.0092	1.0000	0.0006	0.8214	0.0010
3	1.0000	0.9634	1.0000	0.1125	0.0015	1.0000	0.0040	0.9876	0.0063
4	0.9604	1.0000	1.0000	0.9816	0.2160	1.0000	0.0001	0.1299	0.0001
5	0.9983	1.0000	1.0000	0.8552	0.0778	1.0000	0.0001	0.3244	0.0001
6	0.0772	0.9989	0.7171	1.0000	0.9984	0.6637	0.0001	0.0006	0.0001
7	0.0002	0.1734	0.0111	0.9883	1.0000	0.0087	0.0001	0.0001	0.0001
8	0.0001	0.0016	0.0001	0.1791	0.9690	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
9	0.9082	1.0000	1.0000	0.9950	0.3091	1.0000	0.0001	0.0832	0.0001
10	.	0.8839	1.0000	0.0585	0.0006	1.0000	0.0092	0.9985	0.0141
11	0.8839	.	1.0000	0.9970	0.3447	1.0000	0.0001	0.0713	0.0001
12	1.0000	1.0000	.	0.6439	0.0308	1.0000	0.0001	0.5531	0.0002
13	0.0585	0.9970	0.6439	.	0.9994	0.5882	0.0001	0.0004	0.0001
14	0.0006	0.3447	0.0308	0.9994	.	0.0246	0.0001	0.0001	0.0001
15	1.0000	1.0000	1.0000	0.5882	0.0246	.	0.0002	0.6091	0.0003
16	0.0092	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002	.	0.4254	1.0000
17	0.9985	0.0713	0.5531	0.0004	0.0001	0.6091	0.4254	.	0.5224
18	0.0141	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001	0.0003	1.0000	0.5224	
19	0.0971	0.0001	0.0026	0.0001	0.0001	0.0034	1.0000	0.9292	1.0000
20	0.4974	0.0013	0.0334	0.0001	0.0001	0.0415	0.9961	0.9999	0.9989
21	1.0000	0.2981	0.9232	0.0037	0.0001	0.9462	0.1190	1.0000	0.1643
22	0.9676	1.0000	1.0000	0.9769	0.1998	1.0000	0.0001	0.1416	0.0001
23	0.1224	0.0001	0.0036	0.0001	0.0001	0.0046	1.0000	0.9549	1.0000
24	0.1385	0.0001	0.0043	0.0001	0.0001	0.0055	1.0000	0.9658	1.0000
25	0.0006	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	1.0000	0.0724	1.0000
26	0.0716	0.0001	0.0018	0.0001	0.0001	0.0023	1.0000	0.8848	1.0000
27	0.9892	0.0375	0.3887	0.0002	0.0001	0.4405	0.5931	1.0000	0.6914
28	0.6390	0.0026	0.0575	0.0001	0.0001	0.0706	0.9833	1.0000	0.9938

i/j	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
2	0.0096	0.0975	0.9926	1.0000	0.0129	0.0151	0.0001	0.0066	0.6712
3	0.0498	0.3284	1.0000	0.9941	0.0642	0.0736	0.0002	0.0357	0.9503
4	0.0002	0.0030	0.4505	1.0000	0.0003	0.0003	0.0001	0.0001	0.0722
5	0.0008	0.0122	0.7557	1.0000	0.0011	0.0014	0.0001	0.0005	0.2031
6	0.0001	0.0001	0.0053	0.9883	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0003
7	0.0001	0.0001	0.0001	0.0896	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
8	0.0001	0.0001	0.0001	0.0006	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
9	0.0001	0.0017	0.3330	1.0000	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001	0.0444
10	0.0971	0.4974	1.0000	0.9676	0.1224	0.1385	0.0006	0.0716	0.9892
11	0.0001	0.0013	0.2981	1.0000	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0375
12	0.0026	0.0334	0.9232	1.0000	0.0036	0.0043	0.0001	0.0018	0.3887
13	0.0001	0.0001	0.0037	0.9769	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002
14	0.0001	0.0001	0.0001	0.1998	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
15	0.0034	0.0415	0.9462	1.0000	0.0046	0.0055	0.0001	0.0023	0.4405
16	1.0000	0.9961	0.1190	0.0001	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.5931
17	0.9292	0.9999	1.0000	0.1416	0.9549	0.9658	0.0724	0.8848	1.0000
18	1.0000	0.9989	0.1643	0.0001	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.6914
19	.	1.0000	0.5664	0.0002	1.0000	1.0000	0.9957	1.0000	0.9797
20	1.0000	.	0.9727	0.0034	1.0000	1.0000	0.7514	1.0000	1.0000
21	0.5664	0.9727	.	0.4762	0.6349	0.6719	0.0119	0.4810	1.0000

22	0.0002	0.0034	0.4762	.	0.0003	0.0003	0.0001	0.0001	0.0794
23	1.0000	1.0000	0.6349	0.0003	.	1.0000	0.9910	1.0000	0.9892
24	1.0000	1.0000	0.6719	0.0003	1.0000	.	0.9870	1.0000	0.9926
25	0.9957	0.7514	0.0119	0.0001	0.9910	0.9870	.	0.9986	0.1302
26	1.0000	1.0000	0.4810	0.0001	1.0000	1.0000	0.9986	.	0.9598
27	0.9797	1.0000	1.0000	0.0794	0.9892	0.9926	0.1302	0.9598	.
28	1.0000	1.0000	0.9926	0.0065	1.0000	1.0000	0.6161	1.0000	1.0000

i/j	28
1	0.0001
2	0.1559
3	0.4559
4	0.0058
5	0.0220
6	0.0001
7	0.0001
8	0.0001
9	0.0032
10	0.6390
11	0.0026
12	0.0575
13	0.0001
14	0.0001
15	0.0706
16	0.9833
17	1.0000
18	0.9938
19	1.0000
20	1.0000
21	0.9926
22	0.0065
23	1.0000
24	1.0000
25	0.6161
26	1.0000
27	1.0000
28	.

APÊNDICE 8 – Interação entre fontes de inóculo e substratos, DIVMO, Experimento 2.

TRAT	SUBS	LSMEAN	Number
FC	Bagaco	40.5700000	1
FC	Brachiar	55.8200000	2
FC	Cana	60.6766667	3
FC	Napier	51.3333333	4
FC	Silagem	51.2633333	5
FC	Tanzania	42.6633333	6
FC	Tifton85	34.8066667	7
FF	Bagaco	39.2733333	8
FF	Brachiar	56.9500000	9
FF	Cana	56.8966667	10
FF	Napier	45.4600000	11
FF	Silagem	52.1400000	12
FF	Tanzania	48.8600000	13
FF	Tifton85	42.7800000	14
FRC	Bagaco	60.4866667	15
FRC	Brachiar	72.1300000	16
FRC	Cana	67.6000000	17
FRC	Napier	74.2966667	18
FRC	Silagem	70.8700000	19
FRC	Tanzania	67.7133333	20
FRC	Tifton85	65.7233333	21
FRF	Bagaco	67.4333333	22
FRF	Brachiar	72.7300000	23
FRF	Cana	71.7600000	24
FRF	Napier	78.2200000	25
FRF	Silagem	73.5900000	26
FRF	Tanzania	68.7633333	27
FRF	Tifton85	69.9633333	28

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.1051	0.0036	0.6979	0.7092	1.0000	0.9998	1.0000	0.0525
2	0.1051	.	1.0000	1.0000	1.0000	0.3095	0.0018	0.0471	1.0000
3	0.0036	1.0000	.	0.8894	0.8822	0.0173	0.0001	0.0013	1.0000
4	0.6979	1.0000	0.8894	.	1.0000	0.9442	0.0477	0.4780	0.9999
5	0.7092	1.0000	0.8822	1.0000	.	0.9485	0.0499	0.4898	0.9998
6	1.0000	0.3095	0.0173	0.9442	0.9485	.	0.9807	1.0000	0.1793
7	0.9998	0.0018	0.0001	0.0477	0.0499	0.9807	.	1.0000	0.0007
8	1.0000	0.0471	0.0013	0.4780	0.4898	1.0000	1.0000	.	0.0219
9	0.0525	1.0000	1.0000	0.9999	0.9998	0.1793	0.0007	0.0219	.
10	0.0543	1.0000	1.0000	0.9999	0.9999	0.1844	0.0007	0.0227	1.0000
11	1.0000	0.7610	0.1072	0.9997	0.9998	1.0000	0.7156	0.9993	0.5752
12	0.5614	1.0000	0.9522	1.0000	1.0000	0.8755	0.0278	0.3506	1.0000
13	0.9648	0.9959	0.5192	1.0000	1.0000	0.9993	0.2022	0.8634	0.9731
14	1.0000	0.3257	0.0188	0.9512	0.9552	1.0000	0.9771	1.0000	0.1905
15	0.0042	1.0000	1.0000	0.9073	0.9009	0.0198	0.0001	0.0015	1.0000
16	0.0001	0.0549	0.5815	0.0021	0.0020	0.0001	0.0001	0.0001	0.1095
17	0.0001	0.5254	0.9962	0.0564	0.0540	0.0001	0.0001	0.0001	0.7162
18	0.0001	0.0123	0.2503	0.0004	0.0003	0.0001	0.0001	0.0001	0.0275
19	0.0001	0.1180	0.7854	0.0056	0.0053	0.0001	0.0001	0.0001	0.2162
20	0.0001	0.5061	0.9953	0.0525	0.0502	0.0001	0.0001	0.0001	0.6979
21	0.0001	0.8250	1.0000	0.1698	0.1636	0.0003	0.0001	0.0001	0.9373
22	0.0001	0.5540	0.9973	0.0627	0.0600	0.0001	0.0001	0.0001	0.7423

23	0.0001	0.0370	0.4792	0.0013	0.0012	0.0001	0.0001	0.0001	0.0765
24	0.0001	0.0693	0.6448	0.0028	0.0026	0.0001	0.0001	0.0001	0.1351
25	0.0001	0.0006	0.0240	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0014
26	0.0001	0.0205	0.3438	0.0006	0.0006	0.0001	0.0001	0.0001	0.0443
27	0.0001	0.3395	0.9732	0.0260	0.0248	0.0001	0.0001	0.0001	0.5197
28	0.0001	0.1931	0.8949	0.0110	0.0105	0.0001	0.0001	0.0001	0.3295

i/j	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0.0543	1.0000	0.5614	0.9648	1.0000	0.0042	0.0001	0.0001	0.0001
2	1.0000	0.7610	1.0000	0.9959	0.3257	1.0000	0.0549	0.5254	0.0123
3	1.0000	0.1072	0.9522	0.5192	0.0188	1.0000	0.5815	0.9962	0.2503
4	0.9999	0.9997	1.0000	1.0000	0.9512	0.9073	0.0021	0.0564	0.0004
5	0.9999	0.9998	1.0000	1.0000	0.9552	0.9009	0.0020	0.0540	0.0003
6	0.1844	1.0000	0.8755	0.9993	1.0000	0.0198	0.0001	0.0001	0.0001
7	0.0007	0.7156	0.0278	0.2022	0.9771	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
8	0.0227	0.9993	0.3506	0.8634	1.0000	0.0015	0.0001	0.0001	0.0001
9	1.0000	0.5752	1.0000	0.9731	0.1905	1.0000	0.1095	0.7162	0.0275
10	.	0.5844	1.0000	0.9750	0.1958	1.0000	0.1061	0.7076	0.0266
11	0.5844	.	0.9977	1.0000	1.0000	0.1196	0.0001	0.0007	0.0001
12	1.0000	0.9977	.	1.0000	0.8877	0.9622	0.0039	0.0929	0.0007
13	0.9750	1.0000	1.0000	.	0.9995	0.5517	0.0003	0.0102	0.0001
14	0.1958	1.0000	0.8877	0.9995	.	0.0214	0.0001	0.0001	0.0001
15	1.0000	0.1196	0.9622	0.5517	0.0214	.	0.5489	0.9945	0.2283
16	0.1061	0.0001	0.0039	0.0003	0.0001	0.5489	.	1.0000	1.0000
17	0.7076	0.0007	0.0929	0.0102	0.0001	0.9945	1.0000	.	0.9977
18	0.0266	0.0001	0.0007	0.0001	0.0001	0.2283	1.0000	0.9977	.
19	0.2105	0.0001	0.0102	0.0008	0.0001	0.7575	1.0000	1.0000	1.0000
20	0.6892	0.0006	0.0868	0.0094	0.0001	0.9932	1.0000	1.0000	0.9982
21	0.9336	0.0032	0.2547	0.0382	0.0004	1.0000	0.9988	1.0000	0.9501
22	0.7340	0.0008	0.1025	0.0115	0.0001	0.9960	1.0000	1.0000	0.9967
23	0.0740	0.0001	0.0025	0.0002	0.0001	0.4477	1.0000	1.0000	1.0000
24	0.1311	0.0001	0.0052	0.0004	0.0001	0.6124	1.0000	1.0000	1.0000
25	0.0014	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0210	0.9995	0.7209	1.0000
26	0.0428	0.0001	0.0012	0.0001	0.0001	0.3168	1.0000	0.9996	1.0000
27	0.5107	0.0003	0.0448	0.0042	0.0001	0.9654	1.0000	1.0000	0.9999
28	0.3220	0.0001	0.0198	0.0016	0.0001	0.8755	1.0000	1.0000	1.0000

i/j	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
2	0.1180	0.5061	0.8250	0.5540	0.0370	0.0693	0.0006	0.0205	0.3395
3	0.7854	0.9953	1.0000	0.9973	0.4792	0.6448	0.0240	0.3438	0.9732
4	0.0056	0.0525	0.1698	0.0627	0.0013	0.0028	0.0001	0.0006	0.0260
5	0.0053	0.0502	0.1636	0.0600	0.0012	0.0026	0.0001	0.0006	0.0248
6	0.0001	0.0001	0.0003	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
7	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
8	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
9	0.2162	0.6979	0.9373	0.7423	0.0765	0.1351	0.0014	0.0443	0.5197
10	0.2105	0.6892	0.9336	0.7340	0.0740	0.1311	0.0014	0.0428	0.5107
11	0.0001	0.0006	0.0032	0.0008	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0003
12	0.0102	0.0868	0.2547	0.1025	0.0025	0.0052	0.0001	0.0012	0.0448
13	0.0008	0.0094	0.0382	0.0115	0.0002	0.0004	0.0001	0.0001	0.0042
14	0.0001	0.0001	0.0004	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
15	0.7575	0.9932	1.0000	0.9960	0.4477	0.6124	0.0210	0.3168	0.9654
16	1.0000	1.0000	0.9988	1.0000	1.0000	1.0000	0.9995	1.0000	1.0000
17	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.7209	0.9996	1.0000
18	1.0000	0.9982	0.9501	0.9967	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.9999
19	.	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.9915	1.0000	1.0000
20	1.0000	.	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.7387	0.9997	1.0000
21	1.0000	1.0000	.	1.0000	0.9955	0.9995	0.4070	0.9804	1.0000

22	1.0000	1.0000	1.0000	.	1.0000	1.0000	0.6941	0.9994	1.0000
23	1.0000	1.0000	0.9955	1.0000	.	1.0000	0.9999	1.0000	1.0000
24	1.0000	1.0000	0.9995	1.0000	1.0000	.	0.9986	1.0000	1.0000
25	0.9915	0.7387	0.4070	0.6941	0.9999	0.9986	.	1.0000	0.8777
26	1.0000	0.9997	0.9804	0.9994	1.0000	1.0000	1.0000	.	1.0000
27	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.8777	1.0000	.
28	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.9663	1.0000	1.0000

i/j	28
1	0.0001
2	0.1931
3	0.8949
4	0.0110
5	0.0105
6	0.0001
7	0.0001
8	0.0001
9	0.3295
10	0.3220
11	0.0001
12	0.0198
13	0.0016
14	0.0001
15	0.8755
16	1.0000
17	1.0000
18	1.0000
19	1.0000
20	1.0000
21	1.0000
22	1.0000
23	1.0000
24	1.0000
25	0.9663
26	1.0000
27	1.0000
28	.