**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Degradabilidade *in situ* da matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro e ácido e digestibilidade *in vitro* da cana-de-açúcar fresca ou ensilada e silagem de milho em diferentes ambientes ruminais

Vanessa Pillon dos Santos

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba

2006

Vanessa Pillon dos Santos

Zootecnista

Degradabilidade *in situ* da matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro e ácido e digestibilidade *in vitro* da cana-de-açúcar fresca ou ensilada e silagem de milho em diferentes ambientes ruminais

Orientadora:

Prof. Dr. **CARLA MARIS MACHADO BITTAR**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba

2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Santos, Vanessa Pillon dos

Degradabilidade *in situ* da matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro e ácido e digestibilidade *in vitro* da cana-de-açúcar fresca ou ensilada e silagem de milho em diferentes ambientes ruminais / Vanessa Pillon dos Santos. - - Piracicaba, 2006.
75 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.
Bibliografia.

1. Alimentação animal 2. Cana-de-açúcar 3. Fermentação 4. Inoculação 5. Matéria seca do alimento 6. Nutrição animal 7. Ração balanceada 8. Silagem I. Título

CDD 636.2085

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

A toda minha família, em especial aos meus pais JOSÉ VICENTE e APARECIDA que me fizeram olhar o mundo de uma perspectiva humilde e simplista, me auxiliando com os seus conselhos a encontrar o melhor caminho.

A todos os meus familiares em especial aos meus irmãos, CRISTIANO e LUANA, meus avós FERDINANDO (*in memorian*) e ROSA PILLON, MANOEL e ROSITA SANTOS. Aos meus tios ROGÉRIO e CLÁUDIA, meus primos ANNA LUÍSA e CADU e minha afilhada BÁRBARA BARBOSA pelo incentivo e pelos momentos de alegria.

Ao meu primo RONALDO GALETTI PILLON (*in memorian*) pela lição de luta e coragem, demonstrando que nunca se deve desistir dos objetivos traçados, mesmo que os caminhos sejam dolorosos, pois o que não nos mata nos fortalece.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus, a quem sempre recorri em momentos de necessidade, e fui atendida, tendo meus pedidos realizados.

A Dra. Carla Maris Machado Bittar pela orientação, condução do projeto, acompanhamento e principalmente paciência em todas as atividades desenvolvidas durante o curso, e pela grande amizade construída.

À Comissão de Apoio a Pesquisa (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos Profs. Dr. Luiz Gustavo Nussio e Wilson Mattos, pela co-orientação, auxílio e por suas valiosas experiências durante o decorrer do curso.

À Escola de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ), especialmente ao Departamento de Zootecnia – Setor de Ruminantes.

Ao Prof. Dr. Gerson Barreto Mourão, do Departamento de Ciências Exatas da USP/ESALQ, pelo grande auxílio, sugestões, paciência e amizade durante a realização das análises estatísticas dos dados.

As amigas Marília Gabriela Faustino e Kátia de Oliveira que me incentivaram desde o início e me ensinaram que nem sempre o melhor é se desesperar e sim que o final chega na hora certa.

Ao funcionário do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia, Carlos César Alves, pela amizade e colaboração durante as análises laboratoriais e no decorrer do curso.

As novas amizades encontradas em Piracicaba que participaram da rotina diária tanto nas horas felizes como das tristes Maity Zopollatto (Puki), Lucas Silveira Ferreira, Jhones Onorino Sarturi e Thaís Soeiro.

Aos amigos e companheiros profissionais da equipe de “Conservação de Forragens”, Oscar Queiroz (Ataq), Patrick Schmidt, Sergio Gil (Porcão), José Guillermo Muñoz Maldonado, Lucas José Mari, José Leonardo Ribeiro, Mateus Castilho (Biribol), Bruna Mattos, Marta Junqueira, Mariele Camargo, Solidete Paziani pelo apoio, amizade, companheirismo e auxílio na condução das atividades durante o curso. Ao estagiário Alexandre Carvalho e todos aqueles que passaram pelo Departamento durante a condução dos experimentos.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Zootecnia pelos ensinamentos.

A funcionaria Tânia pelo carinho e amizade.

Às amigas Camila Figueiredo e Carolina Barbosa, bem como os amigos Marcelo Santos e Tiago, a minha cunhada Mônica e cunhado Rodrigo Molaro que participaram mesmo distantes, de toda ou parte da minha trajetória.

Aos moradores (as) da República “Van House” que me ensinaram que sempre manter a harmonia do ambiente é a melhor forma para se viver: Marília Faustino, Gregori Ferrão, Jean Gabriel, Lucas Ferreira, Rafaela Carareto (Sakudida) e Ana Luiza.

Aos animais, Efetanta, Paquita e Mimosa que foram pacientes durante a condução do experimento.

A todos que, de alguma forma, fizeram parte desta fase, participando direta ou indiretamente na realização dos trabalhos ou simplesmente dividindo momentos fora do ambiente de trabalho.

MUITO OBRIGADA!

***"MUITOS DE NOSSOS SONHOS PARECEM IMPOSSÍVEIS, DEPOIS
IMPROVÁVEIS, DEPOIS INEVITÁVEIS"***

CHRISTOPHER REEVE

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 DESENVOLVIMENTO.....	17
2.1 Revisão Bibliográfica.....	17
2.1.1 Fermentação ruminal e parâmetros ruminais	17
2.1.1.1 Potencial hidrogênio iônico.....	17
2.1.1.2 Tempo de colonização das partículas no rúmen	19
2.1.1.3 Ácidos graxos de cadeia curta.....	19
2.1.2 Determinação da degradabilidade ruminal <i>in situ</i>	20
2.1.3 Determinação da digestibilidade <i>in vitro</i>	25
2.1.4 Cana-de-açúcar fresca e ensilada na alimentação de ruminantes.....	26
2.1.5 Silagem de milho (<i>Zea mays</i> L.).....	28
2.2 Material e métodos.....	30
2.2.1 Local do experimento	30
2.2.2 Animais utilizados e rações experimentais.....	30
2.2.3 Desenho experimental.....	32
2.2.4 Determinação da degradabilidade <i>in situ</i>	32
2.2.5 Parâmetros ruminais	34
2.2.6 Determinação da digestibilidade <i>in vitro</i>	35
2.2.7 Análises estatísticas.....	36
2.2.7.1 Parâmetros ruminais	36
2.2.7.2 Degradabilidade <i>in situ</i>	36
2.2.7.1 Digestibilidade <i>in vitro</i>	37
2.3 Resultados e Discussão.....	38

2.3.1 Parâmetros ruminais	38
2.3.2 Degradabilidade <i>in situ</i>	44
2.3.2.1 Degradabilidade da matéria seca	44
2.3.2.2 Degradabilidade da matéria orgânica	50
2.3.2.3 Degradabilidade da fibra em detergente neutro e ácido	54
2.3.3 Digestibilidade <i>in vitro</i>	61
3 CONCLUSÕES	65
REFERÊNCIAS	66
APÊNDICE	74

RESUMO

Degradabilidade *in situ* da matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro e ácido e digestibilidade *in vitro* da cana-de-açúcar fresca ou ensilada e silagem de milho em diferentes ambientes ruminais

O presente trabalho teve como objetivo determinar a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e matéria orgânica (DIVMO) e as degradabilidades *in situ* (DIS) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente neutro (FDA) da cana-de-açúcar *in natura* (CF) e ensilada (SC), bem como da silagem de milho em diferentes ambientes ruminais, utilizando a técnica *in situ macro-bag*. Para a DIVMS, DIVMO e a degradabilidade *in situ* foram utilizadas duas vacas não lactantes com peso médio de 450 kg. As rações fornecidas aos animais foram formuladas de maneira a se obter diferentes ambientes ruminais, através da inclusão de diferentes volumosos: CF ou SC. A DIS da MS, MO, FDN e FDA da CF, SC e SM foram avaliadas utilizando-se sacos com porosidade de 50 µm, com medidas de 20 x 40 cm (*macro-bag*), sendo os volumosos incubados sem prévio processamento (secagem e moagem) nos horários 0, 12, 24, 48, 72, 96 horas. Os tratamentos consistiram de um arranjo hierárquico 3x2 (três volumosos dentro de dois ambientes ruminais) com medidas repetidas nos mesmos animais. Foram também colhidas amostras de fluido ruminal para a avaliação do ambiente ruminal resultante de cada ração experimental, com base na determinação do pH, nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com medidas repetidas no tempo. Diferenças significativas foram observadas para a concentração molar total dos AGCC nos diferentes tratamentos (P<0,05). O horário de colheita afetou significativamente a concentração molar do ácido acético, total dos AGCC, e o pH ruminal. Foram observadas diferenças significativas (P<0,05) para as frações solúveis (A), potencialmente degradáveis (B), não degradáveis (C) e degradação potencial (DP) da MS dos volumosos avaliados nos diferentes ambientes ruminais. As variáveis de degradação da MO foram afetadas de forma significativa pelos tratamentos (P<0,05), exceto para a taxa de degradação (c%/h), cuja média foi de 2,1%/h. Diferenças significativas (P<0,05) foram observadas para a FDN e FDA, apenas para a fração A dos alimentos incubados nos diferentes ambientes ruminais com médias de 9,11 e 2,66%, respectivamente. Os inóculos utilizados para o ensaio da digestibilidade *in vitro* foram colhidos dos animais alimentados com as rações para obter os diferentes ambientes ruminais. Os resultados demonstram que as digestibilidades *in vitro* da CF, SC e SM foram maiores (60,82; 68,36 e 71,79%, respectivamente) quando inoculados no ambiente referente à SC aditivada com *Lactobacillus buchneri* comparando com o ambiente composto pela CF (53,90; 54,54 e 62,02%). De modo geral, o ambiente ruminal resultante do fornecimento de rações contendo SC foi benéfico à degradabilidade e à digestibilidade dos alimentos estudados. A técnica *in situ macro-bag* pode ser utilizada para o estudo das frações A, B e C, assim como para a estimativa da DP e efetiva da CF, SC e SM.

Palavra-chave: Carboidratos estruturais; Degradabilidade efetiva; Degradabilidade potencial; Fermentação; Inoculo; *Macro-bag*

ABSTRACT

***In situ* dry matter, organic matter, neutral and acid detergent fiber degradability and *in vitro* digestibility of green chopped or ensiled sugar cane and corn silage under different ruminal conditions**

The objectives of this study were to determine the *in vitro* dry matter (DMIVD) and organic matter (OMIVD) digestibilities and *in situ* degradability (ISD) of dry matter (DM), organic matter (OM), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) of green chopped sugar cane (GCSC) or sugar cane silage (SCS), as well as corn silage (CS) under different ruminal conditions. For *in vitro* digestibility and *in situ* degradability trials, two dry Holstein cows were used (live weight of 450 kg). Diets were formulated to obtain different ruminal conditions by inclusion of two forage sources: GCSC or SCS. The ISD of DM, OM, NDF and ADF were evaluated by using 20 x 40 cm nylon bags (*macro-bag*), with 50 μ m of porosity. Forages sources were incubated without previous sample processing (drying and grinding) during 0, 12, 24, 48, 72 and 96h. Treatments consisted of a 3x2 hierarchy design (three forages and two ruminal conditions), with repeated measurements in both animals. Rumen fluid sample were taken to evaluate ruminal parameters regarding of each experimental diet, based on pH, ammonia-N (N-NH₃) and short chain fatty acids (SCFA). The experimental design was a randomized block with time-measurements sampling. Treatments had a significant effect ($P < 0.05$) on the total SCFA molar concentrations. Sampling time affected significantly the molar concentrations of acetic acid and total SCFA, and the ruminal pH. Differences were also observed ($P < 0.05$) for the soluble fraction (A), potentially degradable fraction (B), undegradable fraction (C) and potentially DM degradability (PD) of forages sources evaluated under different ruminal conditions. Organic matter degradability variables were also significantly affected by treatments ($P < 0.05$), except for the degradation rate (%/h), which averaged 2.1%/h. Significant differences ($P < 0.05$) were observed for NDF and ADF only in A fraction of both forages sources under different ruminal conditions, with mean values of 9.11 and 2.66%, respectively. The inocula used for the *in vitro* digestibility trial were collected from the animals fed with the experimental rations in order to achieve the different ruminal conditions, aiming to different ruminal conditions. The *in vitro* digestibilities of GCSC, SCS and CS were higher (60.82; 68.36 e 71.79, respectively) when inoculated in the ruminal conditions containing SCS added with *Lactobacillus buchneri* (SCS), as compared to GCSC (53.90; 54.54 e 62.02%). In conclusion, for the *in situ* as well for the *in vitro* trial, the SCS ration resulted in improved ruminal condition for the degradability and digestibility of the evaluated forages. The *macro-bag* protocol might be used for the A, B and C fractions studies, as well as for the potential and effective degradability estimation of GCSC, SCS and CS.

Keywords: Effective degradability; Fermentation; Inoculums; *Macro-bag*; Potential degradability; Structural carbohydrates

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Detalhes do *macro-bag*, fixação dos sacos (A) por meio da linha na corrente (B) e incubação (C) em animal fistulado..... 33
- Figura 2 - Evolução temporal das concentrações ruminais de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) total, pH e nitrogênio amoniacal (N-NH_3), no fluido ruminal de vacas alimentadas com rações contendo cana-de-açúcar fresca e ensilada.....39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes nas rações experimentais oferecidas e composição químico-bromatológica	31
Tabela 2 - Composição químico-bromatológica dos volumosos incubados	34
Tabela 3 - Concentração molar dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), pH e concentração de nitrogênio amoniacal no fluido ruminal de vacas alimentadas com rações contendo cana-de-açúcar fresca ou ensilada.....	38
Tabela 4 - Variáveis de degradabilidade <i>in situ</i> da matéria seca da cana-de-açúcar fresca, da silagem de cana e da silagem de milho em diferentes ambientes ruminais	44
Tabela 5 - Variáveis de degradabilidade <i>in situ</i> da matéria orgânica da cana-de-açúcar fresca, da silagem de cana e da silagem de milho em diferentes ambientes ruminais	50
Tabela 6 - Variáveis de degradabilidade <i>in situ</i> da fibra em detergente neutro da cana-de-açúcar fresca, da silagem de cana e da silagem de milho em diferentes ambientes ruminais.....	55
Tabela 7 - Variáveis de degradabilidade <i>in situ</i> da fibra em detergente ácido da cana-de-açúcar fresca, da silagem de cana e da silagem de milho em diferentes ambientes ruminais.....	59
Tabela 8 - Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca e da matéria orgânica dos volumosos provenientes de diferentes ambientes ruminais.	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- A** – fração solúvel
- AGCC** – ácidos graxos de cadeia curta
- ATP** – adenosina trifosfato
- B** – fração potencialmente degradável
- C** – fração não degradável
- c (%/h)** – constante da taxa de degradação da fração B
- CF** – cana-de-açúcar *in natura*
- CHOs** – carboidratos solúveis
- C2** – ácido acético
- C3** – ácido propiônico
- C4** – ácido butírico
- C2:C3** – relação acético:propiônico
- DE** – degradabilidade efetiva
- DP** – degradabilidade potencial
- EPM** – erro padrão da média
- FDA** – fibra em detergente neutro
- FDN** – fibra em detergente ácido
- MO** – matéria orgânica
- MS** – matéria seca
- MV** – matéria verde
- N** – nitrogênio
- NAD** – nicotinamida adenina dinucleotídeo
- N-NH₃** – nitrogênio-amoniaco
- NNP** – nitrogênio não protéico
- PB** – proteína bruta.
- pH** – potencial hidrogênio iônico
- SC** – silagem de cana-de-açúcar aditivada com *Lactobacillus buchneri*
- SM** – silagem de milho
- ufg/g** – unidades formadoras de colônia por grama

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, os volumosos compõem a maior parte da ração para os ruminantes, sendo uma das principais fontes de energia para bovinos, caprinos e ovinos. O desempenho desses animais está associado diretamente com a ração fornecida ou indiretamente com o valor nutricional dos alimentos.

Dentre os volumosos tropicais mais utilizados, a cana-de-açúcar merece destaque, sendo utilizada por pecuaristas em rações na forma *in natura*, principalmente por apresentar alta produtividade, baixo custo por tonelada de matéria seca (MS) e capacidade de manter seu valor nutritivo durante a época de baixa disponibilidade de forragem nos pastos.

Entretanto, seu emprego é limitado pela dificuldade do fornecimento diário na forma fresca e picada, por apresentar problemas relacionados aos tratos culturais escalonados nas áreas cultivadas, riscos de incêndio do canavial e algumas limitações nutricionais.

Neste sentido, a conservação deste volumoso por meio da ensilagem aparece como alternativa dentro do sistema de produção de ruminantes. Trabalhos recentes têm demonstrado a viabilidade dessa estratégia quando a forragem é ensilada com aditivos que possam inibir a fermentação alcoólica desse material, minimizando as perdas de matéria seca devido à produção de CO₂ no processo de conservação.

Dentre as gramíneas utilizadas para a ensilagem, a de uso tradicional é a planta de milho, que proporciona boa produtividade e alto valor nutritivo potencial. A planta de milho apresenta composição bromatológica adequada para a confecção de silagem de boa qualidade como teores de MS variando entre 30 e 35%, teor mínimo de carboidratos solúveis de 3% e baixo poder tampão, características essas que favorecem a fermentação microbiana dentro do silo.

Os fatores nutricionais que podem influenciar o desempenho animal são mensurados com base em algumas variáveis como a composição químico-bromatológica dos alimentos que compõem a ração, bem como a digestibilidade, a cinética de digestão e degradação, e o consumo voluntário dos alimentos. Nesse sentido, a avaliação da degradabilidade e da digestibilidade de forragens tropicais faz-

se necessária para aumentar o banco de dados dos sistemas de formulação de rações para bovinos, e também por apresentarem grande variação quanto à sua composição bromatológica.

Dentre as várias técnicas para avaliação dos alimentos para ruminantes, a degradabilidade e a digestibilidade dos principais nutrientes podem ser estimadas por diferentes métodos, sendo os mais utilizados as determinações *in situ* e *in vitro*, respectivamente.

O primeiro método apresenta vantagem pelo fato do processo de degradação ocorrer em condições reais presentes no rúmen. A metodologia *in situ* é amplamente utilizada em estudos de nutrição, por constituir-se uma técnica relativamente rápida que visa observar o desaparecimento das frações de nutrientes dos alimentos no decorrer do tempo. A metodologia *in vitro*, por outro lado, simula o processo de digestão que ocorre no rúmen, abomaso e intestino para estimar quantitativamente, a taxa e a extensão da digestão, semelhante aos obtidos pela metodologia *in vivo*.

Vários fatores afetam os resultados obtidos por esses métodos como, por exemplo, a qualidade e a porosidade do tecido de náilon utilizado para a confecção dos sacos, sua área disponível, os processos físicos e/ou térmicos pelos quais são processadas as amostras, o tamanho da partícula das amostras, a quantidade de amostra incubada, os horários de incubação e a ração fornecida ao animal que participará dos ensaios. Com vistas à redução de erro experimental, e possibilidade da comparação de resultados, esses parâmetros foram padronizados.

O pH ruminal, variável que interfere tanto na degradabilidade, quanto na digestibilidade das forragens, está relacionado diretamente com os produtos finais da fermentação, principalmente com a concentração molar dos ácidos orgânicos e a concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) no líquido ruminal. Sendo que, os ácidos orgânicos resultantes da fermentação dos carboidratos representam a maior fonte de energia para os ruminantes.

Neste sentido, o presente trabalho objetivou determinar a digestibilidade *in vitro* e a degradabilidade *in situ* da MS, matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) da cana-de-açúcar *in natura* ou ensilada, bem

como da silagem de milho em diferentes ambientes ruminais, utilizando a técnica *macro-bag*.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 Fermentação ruminal e parâmetros ruminais

O resultado de atividades físicas e microbianas que convertem componentes das rações em produtos finais favoráveis como ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), proteína microbiana e vitamina B, bem como produtos desfavoráveis como o gás metano (CH_4) e carbônico (CO_2), e ainda alguns compostos que podem ser prejudiciais como a amônia e o nitrato, é denominado fermentação ruminal (CHURCH, 1988).

Algumas características fisiológicas dos ruminantes beneficiam o crescimento da população microbiana no rúmen. Dentre elas os processos de mastigação e salivação, que auxiliam no tamponamento do ambiente ruminal, a ruminação e a remoção dos gases (CH_4 e CO_2) produzidos pelo processo de digestão dos alimentos ingeridos. Assim, esses processos são responsáveis pela manutenção do pH, temperatura, anaerobiose para o crescimento microbiano (CHURCH, 1988).

A fermentação pré-gástrica permite aos ruminantes o aproveitamento de energia proveniente de componentes fibrosos, além de converter nitrogênio não protéico (NNP) da ração em proteína verdadeira de alto valor biológico (ALLEN, 1996).

2.1.1.1 Potencial hidrogênio iônico (pH)

Além da importância das frações degradáveis no rúmen, o pH ruminal tem recebido atenção considerável devido ao seu efeito sobre mecanismos que explicam reduções na ingestão e digestibilidade de volumosos, resultantes da suplementação energética (ÍTAVO et al., 2002). É certo que, a atividade microbiana e suas funções durante a fermentação ruminal podem ser controladas pelo pH ruminal.

Reduções de pH ruminal associadas à suplementação energética a partir dos grãos, poderiam explicar reduções na digestibilidade e ingestão de volumosos (CATON; DHUYVETTER, 1997). Lana; Russell e Van Amburgh (1998) demonstram que o pH

ruminal pode ser ainda alterado pela produção de CH_4 , concentração de AGCC e N-NH_3 .

Segundo Strobel e Russel (1986), os valores médios de pH se encontram entre 5,5 e 7,2, embora baixos valores possam ser observados logo após a ingestão de rações ricas em concentrado, devido à sua rápida taxa de fermentação. Esses autores ainda relatam que valores de pH abaixo de 6,0 podem inibir bactérias celulolíticas (fermentadoras de celulose) e reduzir, significativamente, a eficiência da síntese microbiana. Consequentemente, valores de pH abaixo de 6,0 podem aumentar o tempo de colonização das partículas dos alimentos pelos microrganismos ruminais para a degradação da parede celular, reduzindo a digestão dos alimentos (VAN SOEST, 1994).

Van Soest (1994) ainda relata que muitos microrganismos podem cessar o seu crescimento quando o pH se encontrar entre 5,0 e 5,5, principalmente as bactérias celulolíticas. Por outro lado, alguns microrganismos apresentam capacidade de sobreviver em ambientes ruminais com alta concentração de íons hidrogênio (H^+), ou seja, baixo pH. Entretanto, animais alimentados exclusivamente com volumosos podem apresentar variação de pH entre 6,2 e 7,0, promovendo, assim, ambiente ruminal ideal para o crescimento de microrganismos celulolíticos (ØRSKOV, 1986).

Segundo Church (1988), a manutenção do pH pode ocorrer pelo aumento no tamponamento por meio da saliva, pelo aumento no consumo de água ou pela diminuição da produção de ácidos. A produção de saliva é importante para o mecanismo de remoção de H^+ , no fluido ruminal, que ocorre pela ligação de carbonato ao H^+ , formando CO_2 e água.

Quando Bugrwald-Balstad et al. (1995), compararam rações à base de concentrado e volumoso, oferecidas *ad libitum*, observaram reduções e variações diurnas consideráveis no pH ruminal, associadas ao fornecimento de concentrado. Variações similares também foram observadas por Pereira et al. (2001), quando avaliaram efeitos da adição de uréia em rações à base de cana-de-açúcar, verificando que o pH do líquido ruminal diminuiu linearmente após a alimentação.

2.1.1.2 Tempo de colonização das partículas no rúmen

Com a ingestão dos alimentos, os microrganismos ruminais podem associar-se ou aderir-se às partículas dos alimentos em tempos variáveis. As bactérias e protozoários aderem às partículas por volta de cinco minutos após a ingestão dos alimentos. A aderência dos microrganismos ao substrato é o passo inicial no processo de digestão, que apenas se inicia quando os microrganismos penetram na superfície das partículas dos alimentos, de modo que possam acessar seus substratos (VALADARES FILHO; PINA, 2006).

Segundo Russel (2002), as bactérias aderidas às partículas dos alimentos podem ser divididas em fraca e fortemente adesivas. Essa adesão ao substrato é realizada por meio de mecanismos específicos que requerem adesinas e/ou receptores e ainda, alguns mecanismos químicos, tais como ligações de Van Der Waals. As bactérias ruminais não aderem à superfície das partículas de forragem devido a presença de ceras. A adesão ocorre no interior do material, o qual é de mais fácil degradação. Assim, a degradação das partículas ocorre do interior das partículas para o exterior (RUSSEL, 2002).

Portanto, a velocidade que os microrganismos aderem e penetram a essas barreiras físicas é traduzido pelo tempo de colonização ou *lag time*, que caracteriza a digestão ruminal de vários alimentos (McALLISTER, 1994).

2.1.1.3 Ácidos graxos de cadeia curta

Os ácidos orgânicos produzidos no rúmen são provenientes principalmente de carboidratos consumidos pelos ruminantes, ou seja, polímeros de glucose que aparecem principalmente na forma de celulose ou amido. Portanto, para que esses carboidratos participem da fermentação é necessário que sejam hidrolisados no rúmen (NUSSIO; CAMPOS; LIMA, 2006).

A fermentação dos carboidratos é a principal fonte de energia para a formação de adenosina trifosfato (ATP), que é utilizada para manutenção e crescimento dos microrganismos. Durante a fermentação, os carboidratos são digeridos pelos

microrganismos em hexoses, pentoses e ácido urônicos. A fermentação da hexose resulta em dois moles de piruvato, com produção de duas ATPs e duas nicotinamidas adeninas dinucleotídeos na sua forma reduzida (NADH_2) (CHURCH, 1988).

A principal via de fermentação das hexoses é a glicolítica, onde são gastos dois moles de ATP para fosforilar uma hexose, formando quatro ATPs durante a conversão de duas trioses fosfato em dois piruvatos, com uma produção líquida de dois ATPs e dois NADH_2 , para cada mol de hexose fermentada. Entretanto, o piruvato produzido é rapidamente convertido nos principais AGCC, como acetato, propionato e butirato (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000).

As proporções encontradas entre os AGCC são bem variáveis e estão associadas com a população microbiana e a diversidade de alimentos consumidos pelos ruminantes. Geralmente, esses valores são estáveis, apresentando proporção molar aproximadamente de 65:25:10 para acetato:propionato:butirato em rações que apresentam maiores quantidades de volumosos em sua constituição, e de 50:40:10 para rações ricas em concentrado (CHURCH, 1988).

2.1.2 Determinação da degradabilidade ruminal *in situ*

A aplicação da técnica *in situ* para a estimativa da degradabilidade ruminal não é recente, sendo descrita pela primeira vez no final da década de 30 por Quin et al. (1938), utilizando sacos de seda, e novamente por McAnally em 1942 apud Ørskov (2000). Entretanto, sua padronização e validação somente ocorreram recentemente.

A técnica *in situ* com sacos de tecido de náilon vem sendo utilizada para a avaliação da degradabilidade ruminal dos alimentos de maneira mais freqüente desde a década de 70, com base nos estudos realizados por Mehrez; Ørskov e McDonald (1977).

Além de ser uma técnica rápida e de fácil execução (ØRSKOV, 2000) a técnica *in situ*, requer uma pequena quantidade de amostra do alimento, permitindo o contato íntimo do mesmo com o ambiente ruminal em condições reais de pH, tamponamento, oferta de substrato, população microbiana, entre outros. Nesse caso os alimentos não são submetidos aos eventos digestivos (mastigação, ruminação e passagem), mas a

análise comparativa pode ser realizada (ØRSKOV; McDONALD, 1979; ØRSKOV; HOVELL, 1980).

Desta maneira, não existindo melhor forma de simulação ruminal para um determinado regime alimentar, a determinação *in situ*, também denominada *in sacco*, tem como objetivo determinar a taxa de degradação ou o desaparecimento das frações dos alimentos. As amostras são colocadas em sacos de tecido náilon e incubadas no rúmen de animais providos de cânula ruminal permanente durante determinados períodos de tempo (NOZIÈRE; MICHALET-DOREAU, 2000). As cânulas são implantadas nos animais por meio de processo cirúrgico, possibilitando o manuseio de amostras e alimentos no rúmen (BERCHIELLI; GARCIA; OLIVEIRA, 2006).

Atualmente, as informações referentes ao perfil de degradação ruminal dos alimentos que compõem as rações dos ruminantes são de elevada importância para que as respostas econômicas resultantes de modificações biológicas sejam elucidadas.

As curvas de desaparecimento de cada fração dos alimentos retratam a cinética de degradação ruminal. Dessa maneira, a descrição da taxa e da extensão da digestão é importante para explicar as relações existentes entre a ingestão, a digestão e o desempenho de ruminantes (ØRSKOV, 1982).

Segundo Mertens (1993), a mensuração quantitativa desses parâmetros depende do ajuste de alguns modelos para descrição de processos biológicos reais da digestão, como a adaptação de alguns métodos, delineamentos experimentais, acurácia para a coleta de dados e estimativas dos parâmetros resultantes da cinética ruminal.

Um modelo exponencial foi sugerido por Ørskov e McDonald (1979), com a finalidade de auxiliar o estudo da degradação de nutrientes de forrageiras no rúmen em função do tempo, a partir de uma equação sugerida com base no princípio de desaparecimento do material durante a incubação. Esse modelo, amplamente utilizado, permite obter valores de degradabilidades potenciais, efetivas e taxas de degradação.

As curvas de degradação para os alimentos segundo o modelo proposto por Mehrez; Ørskov e McDonald (1977); Ørskov e McDonald (1979), seguindo recomendações propostas por Nocek e Kohn (1988), são obtidas pela seguinte equação (1):

$$DP = a + b (1 - e^{-ct}) \quad (1)$$

onde,

DP = degradabilidade potencial estimada (%);

a = interseção da curva no tempo zero, podendo ser interpretada como fração rapidamente solúvel (% do original), também denominado *washing loss*;

b = fração insolúvel em água, porém potencialmente degradável do alimento (% do original);

c = constante da taxa de degradação da fração b (%/hora);

e = logaritmo natural, que representa o tempo de colonização dos microrganismos das partículas dos alimentos, para o início da degradação microbiana (*lag time*);

t = tempo de incubação (horas);

Para se calcular a degradabilidade efetiva (DE) dos alimentos, resultados estes mais próximos dos valores reais de degradação são inseridos valores conhecidos da taxa de passagem do alimento, pelo trato gastrointestinal, sendo a equação (2) utilizada:

$$DE = a + [(b \times c) / (c + kp)] \quad (2)$$

onde,

DE = degradabilidade efetiva (%);

a = interseção da curva no tempo zero, podendo ser interpretada como fração rapidamente solúvel (% do original), também denominado *washing loss*;

b = fração insolúvel em água, porém potencialmente degradável do alimento (% do original);

c = constante da taxa de degradação da fração b (%/hora).

kp = representa a taxa de passagem da digesta do rúmen (%/hora).

De acordo com essas equações, a degradação dos alimentos nos compartimentos do trato gastro intestinal é resultante de dois parâmetros competitivos que atuam simultaneamente, a taxa de passagem e a taxa de degradação. O conceito

de degradabilidade efetiva é utilizado quando se inclui a taxa de passagem do alimento no cálculo da degradabilidade (ALLEN, 1993).

A mensuração da degradabilidade no rúmen, sem considerar a taxa de passagem, pode superestimar a extensão da degradação, já que as partículas dos alimentos estão sujeitas à passagem para o compartimento seguinte antes de serem completamente degradadas, o que não ocorre na determinação *in situ* (ØRSKOV, 1982).

No Brasil, a técnica *in situ* tem sido utilizada com sucesso para a determinação da degradação da MS, MO, proteína bruta (PB) e ainda das frações de parede celular (FDN e FDA) dos alimentos fornecidos aos ruminantes (ALCÂNTARA et al., 1989; AROEIRA et al., 1993; CARMO et al., 2001; EZEQUIEL et al., 2001; GIMENES et al. 2006; SCHMIDT, 2006).

No entanto, devido à falta de padronização da técnica, a metodologia *in situ* apresenta alguns fatores que devem ser observados como, porosidade e qualidade do tecido utilizado para a confecção dos sacos, a determinação do número de horários de incubação, a quantidade e o tamanho de partícula das amostras, o tipo de rações fornecidas aos animais, o processamento dos alimentos, entre outros (NOCEK, 1985; HUNTINGTON; GIVENS, 1995; VANZANT; COCHORAN; TITGEMEYER, 1998; NOZIÈRE; MICHALET-DOREAU, 2000).

Nozière e Michalet-Doreau (2000) descreveram que a maior variação entre os dados resultantes dessa técnica está relacionada com a baixa capacidade de gerar repetibilidade, devido à dificuldade encontrada na tentativa de padronização do método.

Quanto a porosidade e a qualidade dos sacos de tecido náilon, recomenda-se a utilização de tecido com poros que permitam a entrada dos microrganismos no interior dos sacos, remoção dos produtos finais da degradação e redução das perdas de amostras não degradadas. Alguns autores indicam como ideal uma porosidade de 45 a 50 µm, porém esses dados são bem variáveis, entre 15 e 35 µm (HUNTINGTON; GIVENS, 1995).

A determinação do número de horários de incubação requeridos para o estudo da extensão potencial da degradação dependerá do tipo de alimento e da fração a ser avaliada. Lusk et al. (1962) apud Huntington e Givens (1995), avaliando a

degradabilidade de forragens, determinaram que quando o objetivo é analisar a degradação da proteína e frações rapidamente fermentáveis (amido), os tempos de incubação podem ser de 0, 2, 4, 8, 16, 24 e 48 horas. No caso da degradação de forragens os tempos seriam de 0, 4, 8, 16, 24, 48, 72 e 96 horas. No entanto, essa variável pode ser alterada conforme o objetivo do estudo.

Nocek (1988) sugeriu que a quantidade de amostra por área útil do saco a ser utilizada deve ser de aproximadamente 10 a 20 mg/cm². Entretanto, assim como no caso da porosidade, esses valores ainda não são bem elucidados (VANZANT; COCHORAN; TITGEMEYER, 1998).

Quanto à ração fornecida aos animais que irão participar dos ensaios, é importante que o ambiente ruminal esteja adaptado aos ingredientes a serem avaliados, para que os microrganismos se desenvolvam, colonizem e degradem de forma eficiente os ingredientes a serem incubados (BERCHIELLI; GARCIA; OLIVEIRA, 2006).

As amostras dos alimentos avaliados são secas, geralmente em estufa, com o intuito de reduzir modificações na composição decorrente da respiração e ações de enzimas. Na seqüência as amostras são moídas com o objetivo de facilitar a homogeneização e simular os processos de mastigação, sendo as peneiras de 2,5 a 5 mm as mais utilizadas. Entretanto, a secagem e a temperatura nas quais são processados os alimentos podem influenciar a natureza e o conteúdo de vários constituintes dessas amostras. Huntington e Givens (1995) sugeriram que forragens e silagens, por apresentarem elevados teores de componentes voláteis, podem ser moídas ainda congeladas, evitando a secagem.

Como alternativa de avaliação da degradabilidade de forragens conservadas tem-se a determinação *in situ* utilizando-se o *macro-bag*. Nesta técnica, os alimentos são incubados em sua forma *in natura*, sem secagem ou moagem, de maneira a reduzir perdas dos componentes solúveis e ácidos orgânicos (HUNTINGTON e GIVENS, 1995).

Andrae et al. (2001), realizaram ensaios de digestibilidade *in vivo* e *in situ* da MS, FDN e FDA, com o objetivo de avaliar híbridos de milho, maturidade da planta no momento da colheita e de diferentes processamentos mecânicos, utilizando a técnica *macro-bag* (25 x 30 cm). A quantidade de amostra utilizada foi de 20 g de MS para cada

tratamento na sua forma *in natura*. Os tempos de incubação foram de 0, 8, 16, 24, 48 e 96 horas, os autores observaram que o desaparecimento da MS, FDN e FDA apresentaram-se consistentes quando comparados com as respostas *in vivo*.

2.1.3 Determinação da digestibilidade *in vitro*

A qualidade nutricional dos alimentos pode ser definida por sua composição químico-bromatológica e digestibilidade. A digestibilidade *in vitro* deve ser adequada quanto à representação do processo de digestão que ocorre no rúmen, abomaso e intestino, estimando quantitativamente a taxa de digestão, semelhantemente ao que ocorre na digestibilidade *in vivo*. Assim como a determinação da degradabilidade *in situ* a digestibilidade *in vitro* também exige a manutenção de animais providos de cânula ruminal (TILLEY; TERRY, 1963; VAN SOEST, 1967; GOERING; VAN SOEST, 1970).

A metodologia proposta por Tilley e Terry (1963) é a mais utilizada para a predição da digestibilidade *in vitro* e simula a digestão ruminal por 48 horas, seguida por digestão de pepsina e ácido fraco (pH 2,0).

Com o propósito de aproximar o que ocorre na digestão pós-ruminal, Van Soest (1967) substituiu a digestão com pepsina proposta por Tilley e Terry (1963) pela solução de detergente neutro, que demonstrou resultados mais próximos do que ocorreria na digestibilidade *in vivo*, denominada então digestibilidade *in vitro* verdadeira.

As frações a serem obtidas a partir da técnica *in vitro* correspondem à digestibilidade da MS e da matéria orgânica (MO). Neste sentido, o método *in vitro* não se destina à avaliação da composição química dos componentes bromatológicos dos alimentos.

A técnica *in vitro* consiste em manter amostras de alimentos em contato com o líquido ruminal (inóculo) no interior de um tubo de ensaio, onde se procura reproduzir o processo de fermentação ruminal, ou seja, presença de microrganismos, anaerobiose, temperatura, poder tampão e pH, durante 24 a 48 horas (SILVA; QUEIROZ, 2002).

No entanto, os fatores que afetam os resultados obtidos por essa técnica estão relacionados com a fonte de fibra fornecida aos animais doadores de fluído ruminal, à limitação quanto à reprodução das condições de movimentação do alimento, o pH do

inóculo utilizado e o tamanho de partícula da amostra incubada. Dentre esses fatores, as maiores variações observadas na técnica *in vitro* estão relacionadas com a redução do pH do inóculo, que pode afetar a digestibilidade da fibra, uma vez que os microrganismos celulolíticos são sensíveis à queda do pH (CHERNEY; SICILIANO-JONES; PELL, 1993).

Varel e Kreikemeier (1995), comparando as técnicas *in vitro* e *in vivo*, observaram diferenças nos resultados obtidos para tempo de colonização, taxa e extensão de digestão e associaram essa diferença à menor concentração de microrganismos.

2.1.4 Cana-de-açúcar fresca e ensilada na alimentação de ruminantes

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é utilizada há muito tempo como cultura forrageira por pecuaristas brasileiros, e vem assumindo papel fundamental desde a década de 50 como fonte de volumoso suplementar, principalmente em estabelecimentos produtores de leite.

Na época de baixa disponibilidade de forragem nas pastagens, a cana-de-açúcar se encontra com bom valor nutritivo, o qual se mantém durante um longo período de tempo. Isso permite o seu fornecimento aos animais, sem que ocorra a redução de desempenho.

Entretanto, fora do período da safra, a utilização da cana-de-açúcar na alimentação animal sofre restrições por apresentar menor valor nutritivo, principalmente devido ao baixo teor de sacarose (PEDROSO, 2003). A cana-de-açúcar apresenta alto teor de carboidratos solúveis, que são rapidamente fermentados no rúmen, porém é associada à baixa degradação ruminal da fibra, atribuída ao baixo teor de proteína desse alimento (CARMO et al., 2001).

Devido a restrições relacionadas à colheita diária, ao risco de incêndio e à redução da qualidade da cana na entressafra, existe grande demanda por informações sobre a ensilagem deste volumoso. Essa técnica permite cortes de grandes áreas em um curto espaço de tempo, quando a cana apresentará melhor qualidade nutricional.

Contudo, quando esta forragem é ensilada sem aditivos, ocorre fermentação alcoólica, resultando em perdas excessivas de MS e de valor nutritivo durante a conservação (SCHMIDT, 2006). Como observado por Preston; Hinojosam e Martinez (1976) pode haver redução de aproximadamente 30% de carboidratos solúveis na composição da massa ensilada em relação à cana fresca.

Avaliando as perdas de MS e valor nutritivo na ensilagem da cana-de-açúcar sem aditivos, Pedroso (2003) observou que aos 45 dias após a ensilagem, a cana-de-açúcar atingiu a maior perda de MS (29,20%) passando de 35% MS na ensilagem para 26% MS na amostragem aos 45 dias, acompanhada de redução de 25% da digestibilidade *in vitro* verdadeira (65 para 47%). Sobre a DIVMS da silagem de cana-de-açúcar, Schmidt et al. (2003) verificaram valor de 63,38%, semelhante ao encontrado por Pedroso (2003) (62,90%).

Alcântara et al. (1989), estudando o efeito da ensilagem da cana-de-açúcar com hidróxido de sódio (NaOH), silagem de cana não tratada e cana fornecida fresca, observaram que o desaparecimento *in situ* da MS após 24 horas de incubação no rúmen de ovinos foi de 55,6; 50,2 e 62,7%, respectivamente.

Em experimento conduzido com bovinos, Ezequiel et al. (2001) estudaram o efeito da ensilagem da cana-de-açúcar *in natura*, hidrolisada e hidrolisada fenada. Foram verificadas diferenças significativas para as degradabilidades potencial e efetiva da MS entre a cana-de-açúcar *in natura* e hidrolisada, com valores de 84,40 e 61,60% e 54,40 e 58,60%, respectivamente. Em trabalho subsequente, Ezequiel et al. (2005) concluíram que o tratamento alcalino com hidróxido de sódio, com ou sem fenação, melhorou a digestibilidade no trato digestivo total, sendo esta 80,2% versus 58,6% da cana-de-açúcar *in natura*.

A taxa de degradação *in situ* da MS da cana-de-açúcar encontrada por Carmo et al. (2001) foi de 3,34%/h, semelhante ao encontrado por Aroeira et al. (1993) (3,20%/h), porém diferente do observado por Valadares-Filho et al. (1990) e Pereira et al. (1996) que encontraram valores de 0,20%/h e 2,00%/h, respectivamente.

Os dados de degradação da fibra da cana-de-açúcar encontrados na literatura são bem variáveis. Carmo et al. (2001), avaliando a degradação potencial da FDN da cana-de-açúcar, determinaram o valor de apenas 29,23% com 72 horas de incubação.

Diferentemente, Aroeira et al. (1993) registraram o valor de 41,60% de degradabilidade da parede celular da cana-de-açúcar, incubada em animais suplementados com farelo de algodão ou arroz.

Para degradação efetiva da FDA, com taxa de passagem de 2%/h, não foram observadas diferenças significativas para silagem não aditivada, aditivadas com uréia a 0,5% na matéria verde (MV), benzoato de sódio a 1% na MV, silagens inoculadas com *L. plantarum* e *L. buchneri*, sendo observado valores de 31,00; 28,60; 27,40; 29,80; 30,40%, respectivamente (SCHMIDT, 2006). Schmidt (2006) ainda demonstrou que a relação molar acético:propiónico (C2:C3) no rúmen, foi maior quando bovinos de corte foram alimentados com silagem de cana-de-açúcar inoculada com *L. plantarum* (3,56:1) quando comparado com a adição de uréia (2,96:1). Silveira et al. (2002) observaram em bovinos alimentados com silagem de cana-de-açúcar aditivada com uréia relação C2:C3 ruminal, bastante superior (5,2:1).

Pereira et al. (2001) verificaram comportamento quadrático sobre a concentração de N-NH₃ ruminal, em bovinos alimentados com ração à base de cana-de-açúcar *in natura*, observando valores de 16,90 e 14,40 mg de N/100 mL de fluído ruminal, logo após o fornecimento da dieta.

2.1.5 Silagem de milho (*Zea mays* L.)

Dentre as várias gramíneas utilizadas para a ensilagem, o milho apresenta características interessantes, que permitem o preparo de silagem de boa qualidade, como a concentração adequada de carboidratos e o baixo poder tampão (PINTO et al., 1999; DIAS, 2002).

Inúmeros são os fatores a serem observados na avaliação da qualidade da silagem de milho. Na última década, esta avaliação era realizada somente com base na porcentagem de grãos na MS, os quais são mais digestíveis do que as folhas e hastes. Assim, o aumento de sua proporção na silagem resultaria em aumento na qualidade dessa forragem (SILVA et al., 1997).

Segundo Rentero (1998), para a produção de uma silagem de milho de boa qualidade não se deve somente considerar a porcentagem de grãos na massa ensilada,

mas também as demais proporções das frações (colmo, folha, palhas e sabugo). Os modelos de previsão de qualidade da silagem devem ser estabelecidos com base em dois fatores: porcentagem de grãos na massa ensilada (% na MS) e valor nutritivo da porção haste+folhas (% da digestibilidade verdadeira *in vitro*) (NUSSIO; MANZANO, 1999).

Comparando dois métodos para determinação da degradabilidade ruminal em caprinos, Gonçalves et al. (2001) observaram que as incubações *in situ* e *in vitro* resultaram em curvas de degradação da MS semelhantes em seus formatos para a silagem de milho. Os valores apresentados são similares para a fração solúvel em água quando o pH do inóculo foi de 6,55 (57,39 e 56,98%, respectivamente). Desta forma, os autores concluem que as técnicas podem ser aplicadas com confiabilidade para prever os parâmetros estudados.

Em relação à degradabilidade ruminal de nutrientes na silagem de milho, Brondani et al. (2003), registraram valores para a degradação potencial da MS, FDN, FDA e PB de 73,90; 50,30; 49,00 e 89,30%, respectivamente, quando a silagem foi incubada em bovinos. Brito et al. (2001) e Rossi Júnior et al. (1997) encontraram resultados para a degradabilidade da PB, de 82,10 e 95,45%, respectivamente.

Morais et al. (1996a), em pesquisa com bovinos alimentados com silagem de milho, observaram valores para as frações solúveis, potencialmente degradáveis e não degradável da MS de 30,80; 40,10 e 29,00% e para FDN de 22,90; 41,20 e 35,90%, respectivamente, utilizando a técnica *in situ*.

Estudando a degradabilidade ruminal em bovinos canulados no rúmen, Brito et al. (2001) avaliaram os parâmetros de degradação *in situ* da silagem de milho. Os valores médios encontrados para a degradabilidade efetiva da MO, PB e carboidratos totais foram de 52,00; 71,40 e 47,60%, respectivamente, quando se considerou taxa de passagem de 5%/h.

Andrae et al. (2001) avaliaram os efeitos de híbridos de milho, maturidade da planta na colheita e processamentos mecânicos sobre a degradabilidade utilizando a técnica *in situ macro-bag*. Estes autores observaram valores médios de 74,38; 52,45 e 48,02%, para a degradabilidade da MS, FDN e FDA, respectivamente.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Local do experimento

O experimento foi desenvolvido no Departamento de Zootecnia – Setor de Ruminantes e Laboratório de Bromatologia, da Universidade de São Paulo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ), no período de junho a dezembro de 2005.

2.2.2 Animais utilizados e rações experimentais

Foram utilizadas duas vacas Holandesas não lactantes, com peso médio de 450 kg, providas de cânula ruminal permanente. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais do tipo *tie-stall*, com 1,05 m de largura e 2,10 m de comprimento, com piso cimentado e providas de bebedouro automático e comedouro.

As rações experimentais eram isoprotéicas e isoenergéticas, formuladas segundo o NRC (2001), para animais com produção potencial de 30 kg de leite/dia, embora os animais não estivessem em lactação. Essa ração foi utilizada uma vez que um experimento conexo de desempenho de vacas leiteiras foi conduzido concomitantemente (QUEIROZ, 2006), sendo de interesse os dados do presente trabalho.

Essas rações, com relação volumoso:concentrado de 40:60, foram fornecidas aos animais a cada período experimental, de maneira a se obter diferentes ambientes ruminais. As rações variavam conforme a fonte de volumoso: cana-fresca (CF) ou silagem de cana (SC). Na Tabela 1 estão apresentados a proporção dos ingredientes e a composição químico-bromatológica das rações experimentais.

Durante o experimento os animais receberam as rações experimentais duas vezes ao dia (8:00 e 18:00 horas) em quantidade suficiente para permitir cerca de 10% de sobras. Os volumosos e os concentrados foram pesados separadamente e homogeneizados para cada animal individualmente no momento do fornecimento das rações.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes nas rações experimentais oferecidas e composição químico-bromatológica

Ingredientes	Matéria Seca (%)	
	Cana fresca	Silagem de cana
Cana fresca picada	40,00	-
Silagem de cana	-	40,00
Milho grão moído	8,00	8,00
Polpa cítrica peletizada	12,90	12,90
Caroço de algodão	10,00	10,00
Farelo de algodão	12,00	12,00
Farelo de soja	14,02	14,02
Bicarbonato de sódio	0,70	0,70
Premix mineral-vitamínico	2,38	2,38
Composição bromatológica		
Matéria seca	45,24	44,33
Matéria mineral	4,96	5,56
Proteína bruta	9,55	8,56
Fibra em detergente neutro	50,27	49,51
Fibra em detergente ácido	31,82	31,62

A silagem de cana-de-açúcar fornecida aos animais foi retirada de um silo tipo poço, tendo sido confeccionada com a utilização do inoculante bacteriano Lalsilcana®, constituído pela cepa *L. buchneri* 40788. De acordo com as especificações do produto, dois gramas (g) do produto foram diluídos em água para garantir a inoculação de 5×10^4 unidades formadoras de colônia por grama (ufc/g) em uma tonelada de MV de forragem.

A cana-de-açúcar fresca foi colhida em uma área pertencente a USP/ESALQ, em dias intercalados, sendo a picagem realizada no momento do fornecimento aos animais. A planta inteira era picada em picadora estacionária regulada para corte de tamanho de partícula de aproximadamente 1,0 cm.

2.2.3 Desenho experimental

Em cada ambiente ruminal, resultantes do fornecimento das diferentes rações, foram incubados os três volumosos estudados: cana-de-açúcar fresca, cana-de-açúcar ensilada com aditivo e silagem de milho.

Os tratamentos consistiram de um arranjo hierárquico 3 x 2 (três volumosos dentro de dois ambientes ruminais), com medidas repetidas nos mesmos animais.

2.2.4 Determinação da degradabilidade *in situ*

A degradabilidade *in situ* da MS, matéria orgânica (MO) e fração fibrosa (FDN e FDA) da CF, SC e da SM foram avaliadas utilizando-se sacos de tecido náilon com poros de aproximadamente de 50 µm, com medidas de 20 x 40 cm (*macro-bag*). Foram incubadas aproximadamente 70 g dos volumosos (aproximadamente 20 g de MS), os quais foram acondicionados *in natura*, ou seja, sem prévia moagem ou secagem (HUNGTINGTON e GIVENS, 1995).

Antes da incubação a cana-de-açúcar foi picada em picadora estacionária regulada para corte de tamanho de partícula de 1,0 cm. As silagens de cana e de milho eram alocadas nos sacos da forma como foram retirados do silo, com tamanho médio de partículas de 1,0 a 1,5 cm.

Conforme sugerido por Campos; Nussio e Nussio (2004), os sacos foram pesados e o seu peso vazio foi anotado. A coleta das amostras e as pesagens dos alimentos para todos os tempos foram realizadas no dia anterior ao início das incubações, em balança semi-analítica, com precisão de duas casas decimais.

Após a pesagem, os sacos foram selados para fechamento e amarrados ao meio com a utilização de linha de náilon com espessura de 0,6 mm. Os sacos eram então congelados e retirados aproximadamente uma hora antes do horário de incubação, para que as amostras alcançassem à temperatura ambiente.

No dia da incubação os sacos foram fixados aos elos de uma corrente por meio da própria linha, de forma seqüencial (fileiras), sendo os mesmos imersos no conteúdo ruminal e a corrente ancorada à cânula (Figura 1).

Figura 1 – Detalhes do *macro-bag*, fixação dos sacos (A) por meio da linha na corrente (B) e incubação (C) em animal fistulado

Os sacos foram incubados em triplicata em ordem cronológica reversa, nos tempos 0, 12, 24, 48, 72 e 96 horas, realizando-se a retirada desses simultaneamente. Os sacos referentes ao tempo zero não foram incubados no rúmen dos animais, porém, foram lavados simultaneamente aos demais. Dessa forma, para cada alimento foram utilizados 18 sacos (seis tempos x três repetições) totalizando 54 sacos por tratamento, sendo estes incubados em cada ambiente ruminal.

Após a retirada dos sacos do rúmen, os mesmos foram lavados imediatamente em máquina de lavar (“tanquinho”) com água corrente, até que a água não apresentasse sinais de resíduo do conteúdo ruminal, ou seja, até que se tornasse límpida.

Foi retirado o excesso de água com uma leve pressão manual nos sacos, os quais foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 48 horas para posterior pesagem.

Os resíduos obtidos das triplicatas de cada tempo foram moídos em moinho tipo Willey providos de peneira com malha de 1 mm de diâmetro, para as determinações químico-bromatológicas. Foram determinados os teores de MS a 105°C por 12 horas e MO a 600°C segundo Campos; Nussio e Nussio (2004), FDN e FDA segundo Van Soest; Robertson e Lewis (1991), com base no método seqüencial com a utilização do aparelho ANKOM Fiber Analyzer (ANKOM® Technology Corp.), conforme descrito por Holden (1999) para cada repetição.

Os resultados das determinações bromatológicas das frações MS, MO, FDN e FDA foram utilizados para posterior cálculo da taxa de desaparecimento dos nutrientes, conforme proposto por Mehrez; Ørskov e McDonald (1977); Ørskov e McDonald (1979), seguindo recomendações propostas por Nocek e Kohn (1988). Na análise dos dados, quando um valor negativo foi observado para a fração B, este foi considerado como zero (0).

As taxas de passagem da fase sólida de 2, 5, e 8%/hora foram utilizadas seguindo sugestões de Huntington e Givens (1995), uma vez que no presente experimento não foram mensuradas as taxas de passagem dos alimentos.

As mesmas análises foram realizadas nos alimentos antes da incubação, para futuras correções e cálculo da taxa de desaparecimento. As médias da composição químico-bromatológicas dos alimentos dos dois tratamentos antes da incubação se encontram apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição químico-bromatológica dos volumosos incubados

Composição bromatológica	Volumosos ¹		
	CF	SC	SM
Matéria seca (%)	29,89	31,34	27,48
Cinzas (% MS)	2,98	3,17	4,13
Fibra em detergente neutro (% MS)	58,73	55,25	62,28
Fibra em detergente ácido (% MS)	36,82	36,44	31,85

¹Volumosos: CF = cana-de-açúcar fresca; SC = silagem de cana-de-açúcar; SM = silagem de milho

2.2.5 Parâmetros ruminais

Para a avaliação do ambiente ruminal resultante de cada ração experimental, amostras de fluido ruminal foram colhidas a cada duas horas durante um período de 12 horas a começar do horário de fornecimento da ração (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas).

Conforme proposto por Campos; Nussio e Nussio (2004) as amostras foram colhidas de vários pontos do rúmen, sendo filtradas em quatro camadas de pano (fralda). Uma alíquota de fluido ruminal de aproximadamente 200 mL teve o pH medido

imediatamente em potenciômetro digital (DIGIMED® - DMPH2) sendo subdividida em duas amostras para armazenamento (-2°C) e posterior determinação dos AGCC e N-NH₃.

Para a determinação do teor de N-NH₃ uma das amostras foi descongelada e centrifugada a 12000 x *g*, a 4°C durante 20 minutos. Uma alíquota sobrenadante foi utilizada para a determinação, seguindo o método colorimétrico proposto por Chaney e Marbach (1962), adaptado para leitura em leitor de microplaca (BIO-RAD, Hercules, CA, EUA), utilizando-se filtro para absorvância de 550 nm (CAMPOS; NUSSIO, NUSSIO, 2004).

A partir do fluído da outra amostra foram determinadas as concentrações dos AGCC (ácidos acético, propiônico e butírico). A amostra foi igualmente descongelada e centrifugada, sendo 800 µL do sobrenadante, juntamente com 200 µL de ácido fórmico e 100 µL de padrão interno adicionados à um frasco para leitura e mantidos congelados. Os frascos foram descongelados no momento da realização da leitura em temperatura ambiente. As leituras foram realizadas conforme descrito por Campos; Nussio e Nussio (2004), em cromatógrafo líquido-gasoso, CLG (Hewlett Packard® 5890 series II), equipado com braço mecânico HP e Integrator 3396 série II (Hewlett Packard Company®).

2.2.6 Determinação da digestibilidade *in vitro*

Os alimentos e os animais doares de fluído ruminal utilizados no ensaio da digestibilidade *in vitro* foram os mesmos que participaram do ensaio de degradabilidade *in situ*. Os alimentos avaliados foram a CF, SC, SM e ainda um alimento padrão (capim elefante), fornecido pelo Laboratório de Bromatologia da USP-ESALQ, cuja digestibilidade era conhecida e utilizada para possíveis correções.

Das amostras coletadas para o ensaio de degradabilidade *in situ*, uma porção foi separada para a determinação da digestibilidade *in vitro* da MS e MO. As amostras foram submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 48 horas. Após secagem, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey providos de peneira com malha de 1 mm de diâmetro.

As amostras moídas foram pesadas em quadruplicatas em tubos de ensaio de 100 mL e incubadas seguindo a metodologia proposta por Goering e Van Soest (1970). Entretanto, os inóculos utilizados foram os mesmos referentes a cada ração experimental do ensaio de degradabilidade *in situ*, ou seja, animais alimentados com a cana-de-açúcar *in natura* ou ensilada.

Dessa maneira, foram realizadas coletas de fluído ruminal por meio da fistula seguindo metodologia sugerida por Campos; Nussio e Nussio (2004). Durante a incubação com duração de 48 horas, o pH foi medido em potenciômetro digital DIGIMED® (DMPH2) e corrigido para 6,0 durante as oito primeiras horas após a incubação, em intervalos de uma hora.

Embora, a metodologia padrão recomende correção até seis horas após a incubação, adotou-se o período de oito horas devido os inóculos apresentarem em sua constituição altos teores de concentrado. Após 48 horas cessou-se a fermentação com adição de tolueno, sendo então determinado o FDN de cada tubo para a determinação da digestibilidade *in vitro* verdadeira da MS e da MO (GOERING; VAN SOEST, 1970).

2.2.7 Análises estatísticas

2.2.7.1 Parâmetros ruminais

As variáveis dos parâmetros ruminais foram analisadas por meio da análise de covariância do procedimento MIXED do programa estatístico SAS (2000). Foi avaliada a interação entre os ambientes ruminais (rações experimentais) e os parâmetros ruminais (pH, N-NH₃, C2, C3, C4, relação C2:C3 e concentração total dos AGCC). Para a comparação de médias das interações que apresentaram diferenças significativas foi utilizado o teste t de Student ao nível de 5% de probabilidade.

2.2.7.2 Degradabilidade *in situ*

Em cada ambiente ruminal, resultantes do fornecimento das diferentes rações, foram incubados os três volumosos testados: cana-de-açúcar fresca, cana-de-açúcar

ensilada com aditivo e a silagem de milho. Os tratamentos consistiram de um arranjo hierárquico 3 x 2 (três volumosos dentro de dois ambientes ruminais), com medidas repetidas nos mesmos animais.

Os dados de degradabilidade da MS, MO, FDN e FDA, foram analisadas estatisticamente considerando a estrutura de covariância simétrica composta, com o uso do procedimento MIXED do programa estatístico SAS 9.1, tal estrutura de covariância foi utilizada devido à presença de medidas repetidas. O mesmo permite ainda avaliar a homogeneidade das variâncias e ajustar para as covariâncias das amostras. O modelo matemático incluiu os efeitos de ambiente ruminal, volumoso dentro de ambiente ruminal e efeito de animal, além do erro experimental. Os resultados são apresentados como médias ajustadas pelo método dos quadrados mínimos.

Seguindo a equação exponencial proposta por Mehrez e Ørskov (1977), com recomendações propostas por Nocek e Kohn (1988). As fontes incluídas no modelo foram às frações A (fração solúvel em água), B (fração potencialmente degradável), C (fração não degradável), taxa de degradação (c%/h), degradação potencial (DP) e degradação efetiva (DE) nas taxas de passagens de 2; 5 e 8%/h.

Foi avaliada a interação entre os ambientes ruminais (rações experimentais) e o alimento incubado (CF, SC e SM). Quando a interação não foi significativa, utilizou-se a probabilidade dos efeitos principais. Para a comparação de médias das interações que apresentaram diferenças significativas, utilizou-se o teste t de Student a 5% de probabilidade.

2.2.7.1 Digestibilidade *in vitro*

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso. Os dados foram analisados de forma a obter a análise de variância entre os alimentos e a interação entre o alimento e os inóculos pelo procedimento GLM do pacote estatístico SAS (2000), as médias foram verificadas através do lsmeans/pdiff ao nível de 5% de significância.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Parâmetros ruminais

As médias dos parâmetros ruminais avaliados para os diferentes ambientes ruminais (tratamentos), horários de coleta (tempo) e a interação tratamento versus (vs) tempo são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Concentração molar dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), pH e concentração de nitrogênio amoniacal no fluido ruminal de vacas alimentadas com rações contendo cana-de-açúcar fresca ou ensilada

Parâmetros ¹	Tratamentos ²		Média	EPM ³	P ⁴		
	CF	SC			Tratamento	Tempo	Interação
AGCC (mM)							
C2	57,71	58,94	58,33	0,70	0,3521	0,0005	0,0007
C3	23,85	26,37	25,11	1,44	0,3150	0,4987	0,8166
C4	15,67	20,17	17,92	1,74	0,2011	0,5186	0,8159
Relação C2:C3	2,47	2,35	2,41	0,11	0,5255	0,3387	0,9312
AGCC total (mM)	96,09	104,21	100,15	0,94	0,0313	0,0010	0,0007
pH	6,35	6,34	6,35	0,12	0,9057	0,0075	0,8210
N-NH ₃ (mg/dL)	15,05	11,21	13,13	4,02	0,3207	0,9434	0,8064

¹Parâmetros - AGCC: concentração molar dos ácidos graxos de cadeia curta; C2: ácido acético; C3: ácido propiônico, C4: ácido butírico.

²Rações contendo cana-de-açúcar fresca (CF) ou silagem de cana-de-açúcar aditivada (SC);

³EPM - erro padrão da média.

⁴P< - valores menores que 0,05 são estatisticamente diferentes pelo Teste de t de Student.

Embora não tenha ocorrido diferença significativa na concentração molar dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) individualmente, a ração contendo silagem de cana apresentou maior concentração molar de AGCC total. Diferenças significativas (P<0,05) entre os tratamentos foram observadas para a concentração total de AGCC. O fator tempo afetou de forma significativa a concentração molar do ácido acético (C2) e total dos ácidos graxos, bem como o pH ruminal.

O horário de coleta (tempo), assim como a interação tempo vs tratamento afetou de forma significativa as concentrações molares dos AGCC totais e C2. A concentração molar dos ácidos propiônico (C3) e butírico (C4) apresentou comportamento temporal semelhante. Variações nas concentrações molares de AGCC podem afetar a digestão e/ou o desaparecimento de alimentos, principalmente quando ocorrem em coincidência com grande variação de pH, como observado neste estudo.

A Figura 2 apresenta a evolução temporal das concentrações molares dos AGCC individualmente, assim como as concentrações totais, o pH e a concentração de N-NH₃ ruminal de acordo com os tratamentos.

Figura 2 - Evolução temporal das concentrações ruminiais de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) total, pH e nitrogênio amoniacal (N-NH₃), no fluido ruminal de vacas alimentadas com rações contendo cana-de-açúcar fresca e ensilada

Quando se avaliou a concentração do C2 o valor médio encontrado foi de 57,71 mM na ração contendo cana-de-açúcar fresca e 58,94 mM na ração contendo silagem de cana, tratamento este que apresentou a maior concentração total dos AGCC (Tabela 3). Alcântara et al. (1989), observaram menores concentrações de C2 para animais alimentados com cana-de-açúcar fresca quando comparado com animais que se alimentaram com silagem de cana.

Ainda que diferenças significativas não fossem observadas entre os tratamentos de animais alimentados com cana-de-açúcar e silagem de cana (58,32 mM) para as concentrações de C2 no fluído ruminal, o tempo e a interação tempo vs tratamento afetaram significativamente este parâmetro. Na figura 2 observa-se um pico de C2 duas horas após os animais terem consumido a ração contendo silagem de cana. Quando os animais se alimentaram das rações constituídas de CF esse pico ocorreu aproximadamente seis horas após a alimentação.

É provável, que as maiores concentrações de C2 no ambiente ruminal dos animais consumindo a ração contendo SC, se devem ao fato da silagem de cana ter em sua constituição maiores concentrações de C2, resultante da fermentação heterolática (*L. buchneri*) que ocorre durante o processo de ensilagem (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991). Assim, maiores quantidades de C2 são disponibilizados no rúmen quando a silagem aditivada é consumida pelos animais.

Quando Schmidt (2006) alimentou bovinos com silagens de cana-de-açúcar com ou sem aditivos, os valores encontrados para a concentração do C2, dentro dos tratamentos foram semelhantes aos observados neste estudo (60,9 mM).

Segundo Church (1988), concentrações molares de C2 próximas às observadas no presente ensaio, são ideais para que ocorra digestão da celulose pelas bactérias celulolíticas e a fermentação dos carboidratos solúveis pelos microrganismos sacarolíticos.

Burgwald-Balstad et al. (1995), observaram concentração de C3 (28,7 mM) e C4 (10,4 mM) no fluído ruminal de vacas alimentadas com rações contendo feno, próximos aos observados no presente estudo. Os resultados sugerem a presença majoritária de microrganismos celulolíticos e não amilolíticos que teriam como função produzir o acetato, como principal produto da fermentação.

No trabalho de Schmidt (2006) com bovinos alimentados com silagem de cana aditivadas com *L. plantarum*, uréia e benzoato foram observadas diferenças significativas para a relação C2:C3 de 3,56:1; 2,96:1; 3,02:1, respectivamente. Embora não tenham ocorrido diferenças estatísticas entre os tratamentos para a relação C2:C3 no presente ensaio. Semelhança pode ser observada quando se compara esses valores com os resultados obtidos por Schmidt (2006) quando utilizou uréia como aditivo. Essa similaridade dos dados com a silagem de cana aditivada com uréia pode ter ocorrido pelo fato das rações, utilizadas no presente estudo, serem constituídas de caroço de algodão e farelo de soja, disponibilizando maiores teores de proteína bruta (PB) e N-NH₃ ruminal, tornando o ambiente ruminal similar ao relatado por Schmidt (2006).

No presente estudo os tratamentos, o fator tempo (horário de coleta) e a interação tempo vs tratamento influenciaram a concentração total dos AGCC de forma significativa. A maior concentração molar dos AGCC foi constatada no fluído ruminal dos animais que receberam silagem de cana-de-açúcar aditivada com *L. buchneri* (104,21 mM), sendo que para os animais que se alimentaram de cana-de-açúcar fresca essa concentração total foi de 96,09 mM.

As maiores concentrações molares dos AGCC do ambiente ruminal dos animais que consumiram a ração contendo SC, se deve provavelmente a elevada proporção dos ácidos orgânicos presente em volumosos conservados, decorrente do consumo dos carboidratos pelas bactérias durante o processo de fermentação do material ensilado.

No trabalho conduzido por Schmidt (2006) foram observadas diferenças significativas sobre a concentração total dos AGCC apenas para os tratamentos e o fator tempo (horário de coleta). A maior concentração molar total dos AGCC foi observada no fluído ruminal de animais alimentados com silagem de cana aditivada com uréia (100,8 mM), quando comparado com animais alimentados com silagem de cana aditivada com *L. buchneri* (97,1 mM).

Os produtos intermediários formados a partir da digestão da parede celular são os monossacarídeos, sendo esses as hexoses (glucoses e frutoses) e as pentoses (arabinose e xilose). Cullen; Harmon e Nagaraja (1986) por meio da técnica de digestibilidade *in vitro*, estudaram a relação entre os carboidratos solúveis de vários

açúcares, grãos e subprodutos, sobre o abaixamento do pH. Os autores verificaram que o pH é reduzido, principalmente pela fermentação das pentoses provenientes da digestão da hemicelulose e pectina.

O valor médio de pH não foi afetado pelos tratamentos, sendo a média geral de 6,35. Segundo Van Soest (1994) este valor, não deve exercer influência negativa sobre o crescimento de bactérias fermentadoras de celulose. Ainda, no presente estudo não foi observado nenhuma ocorrência de acidoses e/ou laminites, embora os animais tenham consumido grande quantidade de ingredientes concentrados. O maior aporte de energia a partir do fornecimento de concentrado contribui para uma rápida fermentação e, conseqüentemente, declínio no pH (NOCEK, 1997).

Entretanto, o horário de coleta influenciou o pH ruminal de forma significativa, como pode ser observado na Figura 2. A queda do pH ocorreu duas horas após o fornecimento das rações experimentais pela manhã (tempo 2) e a tarde (tempo 12), confirmando o que normalmente ocorre após a ingestão de alimentos (STROBEL; RUSSEL, 1986). Porém, o declínio do pH logo após as refeições, ocorreu mais precocemente quando os animais foram alimentados com rações contendo SC. É provável que a influência da alta concentração de ácidos orgânicos presente na SC, disponibilize maiores quantidades desses ácidos no rúmen, os quais são responsáveis pela queda do pH.

Os menores valores de pH (5,88) observados podem ser considerados o limiar fisiológico para os ruminantes. Alcântara et al. (1989), alimentando ovinos com cana-de-açúcar fresca, ensilada e ensilada com aditivos, relataram que esses valores são típicos de dietas que apresentam em sua constituição grandes quantidades de cana-de-açúcar, possivelmente pela menor salivação.

Segundo Church (1988) os valores de pH ruminal podem ser mantidos através do poder de neutralização exercido pela saliva, a qual apresenta importante mecanismo de remoção do íon H^+ do conteúdo ruminal, pois contém carbonato que ligado ao H^+ forma CO_2 e água. No entanto, a menor produção de saliva decorrente da ingestão de rações constituídas de cana-de-açúcar pode explicar as reduções do pH ruminal.

Valores médios observados para as concentrações de $N-NH_3$ ruminal nos diferentes ambientes ruminais, não foram estatisticamente diferentes para nenhum dos

efeitos estudados e apontam flutuações diurnas entre 5,28 e 17,05 mg/dL (Figura 2), com média de 13,13 mg/dL (Tabela 3).

Estes dados demonstram que as rações fornecidas atenderam a exigência para o crescimento microbiano como descrito por Satter e Slytter (1974), de 5 mg de N-NH₃/dL no fluído ruminal como quantidade mínima adequada para promover a máxima síntese microbiana. Contudo, os resultados não condizem com os relatados por Mehrez; Ørskov e McDonald (1977), que afirmam que a atividade fermentativa microbiana ocorre quando o N-NH₃ alcança valores entre 19 e 23 mg de N-NH₃/dL de fluído ruminal. Entretanto, como no presente trabalho, Pereira et al. (2001) também observaram maiores concentrações de nitrogênio amoniacal (16,90 mg N-NH₃/dL) três horas após alimentar novilhos com dietas constituídas de cana-de-açúcar aditivada com uréia.

Segundo Huntington e Archibeque (1999), são principalmente as bactérias celulolíticas que tem a preferência pelo nitrogênio (N) disponível no rúmen. De acordo com a Figura 2, quando o pH ruminal se manteve entre 6,0 e 6,2, ambiente este considerado adequado para o crescimento de bactérias celulolíticas, as concentrações de N-NH₃ foram diminuídas, possivelmente devido à utilização do N ruminal pelas bactérias.

Embora diferenças estatísticas para a concentração de N-NH₃ fossem esperadas, não houve efeito de tratamento para essa variável. O menor teor de proteína das rações constituídas de silagem de cana, decorrente da proteólise comumente advinda do processo de conservação das forragens, deveria ter reduzido a concentração de N-NH₃ ruminal deste tratamento. É provável que essas diferenças não foram encontradas devido ao comportamento observado para o pH ruminal de ambos os tratamentos (Figura 2).

2.3.2 Degradabilidade *in situ*

2.3.2.1 Degradabilidade da matéria seca

Os resultados das variáveis de degradabilidade *in situ* da fração MS da cana-de-açúcar fresca (CF), cana-de-açúcar ensilada (SC) e da silagem de milho (SM) incubadas em diferentes ambientes ruminais estão apresentados na Tabela 4. Foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) para as frações solúveis (A), potencialmente degradável (B), não degradável (C) e ainda para a degradação potencial (DP) dos alimentos avaliados.

Tabela 4 - Variáveis de degradabilidade *in situ* da matéria seca da cana-de-açúcar fresca, da silagem de cana e da silagem de milho em diferentes ambientes ruminais

	Tratamentos ¹						EPM ⁴
	CF			SC			
Alimentos ²	CF	SC	SM	CF	SC	SM	
Variáveis ³	Matéria Seca						
A (%)	43,69 ^a	31,56 ^c	37,84 ^b	30,71 ^c	35,34 ^{bc}	34,79 ^{bc}	1,31
B (%)	16,33 ^c	31,40 ^b	31,92 ^b	32,70 ^b	30,65 ^b	43,07 ^a	2,98
C (%)	39,99 ^a	37,05 ^a	30,25 ^a	36,60 ^a	34,02 ^a	22,15 ^b	2,59
c (%/h)	0,64	2,85	3,06	4,03	3,35	2,63	0,46
DP	51,27 ^c	60,56 ^b	67,79 ^{ab}	62,68 ^b	64,63 ^b	73,91 ^a	2,59
DE (kp=2%/h)	47,71	49,90	56,89	52,49	54,43	58,86	2,13
DE (kp=5%/h)	45,58	42,97	49,76	45,24	48,94	49,34	2,23
DE (kp=8%/h)	44,93	39,85	46,52	41,61	45,81	45,22	2,11

¹ Rações contendo cana-de-açúcar fresca (CF) ou silagem de cana aditivada (SC);

² Alimentos: CF: cana-de-açúcar fresca; SC: silagem de cana aditivada; SM: silagem de milho;

³ Variáveis: A%: fração solúvel em água; B%: fração potencialmente degradável; C%: fração não degradável, c%/h: taxa de degradação; DP: degradação potencial; DE: degradação efetiva nas taxas de passagens de 2; 5 e 8%/h.

⁴ EPM: erro padrão da média;

^{a,b,c} Médias seguidas de letras diferentes, na linha, são estatisticamente diferentes pelo teste t de Student ($P < 0,05$).

Embora não tenham ocorrido diferenças significativas no pH ruminal, foram observadas diferenças para a fração A. O maior valor da fração solúvel da MS (43,69%) foi observado quando a CF foi incubada no rúmen de animais alimentados com rações contendo cana-de-açúcar fresca.

Estes valores são próximos aos observados por Aroeira et al. (1993), que incubaram a cana-de-açúcar fresca com 1% de uréia em bovinos suplementados com farelo de algodão ou de arroz. Os autores observaram média da fração A para a MS de 54,40%.

A maior solubilidade da MS no presente estudo foi observada para a cana-de-açúcar fresca, proveniente do tratamento CF. Embora, os sacos que resultam os valores da fração A não fossem incubados, os mesmos foram lavados simultaneamente, com os demais sacos retirados do rúmen dos animais que se alimentaram com a ração contendo CF. A maior fração A da CF, em relação aos outros alimentos incubados em ambos os tratamentos, pode ter ocorrido devido ao alto teor de açúcares solúveis deste volumoso, principalmente sacarose. A CF disponibiliza maiores quantidades desses açúcares no rúmen, quando comparados com a silagem de cana, uma vez que no processo de ensilagem esses carboidratos são consumidos (McDONALD; HENDERSON; HERON, 1991).

Porém, questionamento sobre um possível erro experimental foi levantado sobre o desaparecimento das frações da CF. Embora os dados da CF incubado no tratamento CF seja o que mais se diferenciou dos demais, ao analisar as repetições dos resíduos, observam-se resultados consistentes (Apêndice A).

No presente ensaio a fração A para a silagem de milho nos dois tratamentos foi superior (36,31%) ao encontrado por Gimenes et al. (2006) (23,51%), que incubaram esse volumoso seguindo a metodologia padrão da técnica *in situ*. Essa diferença pode ter ocorrido devido à diferença entre as metodologias *in situ* utilizadas. Dessa maneira, no presente ensaio os alimentos foram incubados na sua forma *in natura*, ou seja, sem prévia secagem e moagem seguindo recomendações propostas por Huntington e Givens (1995). De acordo com a metodologia *in situ macro-bag* utilizada, é provável que tenha ocorrido a lavagem dos açúcares solúveis que se encontra em maiores

quantidades no material *in natura*, comparado com os alimentos que foram secos e moídos a cinco mm.

Diferenças significativas também foram observadas para a fração potencialmente degradável (B) ($P < 0,05$). O menor valor foi observado para a CF incubada no tratamento contendo CF (16,33%) e o maior para a SM incubada no tratamento SC (43,07%).

A fração B da CF encontrada no presente ensaio se assemelha com o encontrado por Aroeira et al. (1993) quando a cana-de-açúcar aditivada com 1% de uréia foi incubada no rúmen de bovinos suplementados com farelo de arroz (17,60%). Contudo, no presente estudo a menor fração degradável da CF pode estar relacionada à maior fração solúvel (A), que foi superior no ambiente contendo a CF.

Na Tabela 4 pode-se observar que a CF incubada no rúmen de animais consumindo silagem de cana, apresentou maior fração degradável da MS que quando incubada no tratamento CF. Estes resultados sugerem um possível efeito dos carboidratos reduzindo a degradação das frações dos alimentos (HOOVER, 1986), devido a uma maior concentração de açúcares solúveis no rúmen dos animais consumindo a CF.

Os valores observados para a fração B para a SC nos dois tratamentos corroboram com os resultados encontrados por Schmidt (2006), que incubou a silagem de cana aditivada com *L. buchneri* em bovinos, observando valor de 32,40%.

A maior fração B da MS da silagem de milho no tratamento SC se deve possivelmente ao seu alto teor de amido, visto que a silagem foi confeccionada utilizando-se a planta inteira contendo, portanto, em sua constituição alta quantidade de grãos. Por outro lado, este alimento não apresentou o mesmo comportamento quando foi incubado no tratamento CF. É provável que a quantidade de açúcares solúveis adicionados ao ambiente ruminal por meio da ingestão da ração contendo CF possa ter inibido a digestão de amido e conseqüentemente, a degradação da fração B da MS. Possivelmente por não ser carboidrato tão prontamente disponível para a fermentação e apresentar taxa de degradação inferior à dos CHOS (NOCEK; TAMMINGA, 1991).

Foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) para a fração não degradável (C) da MS, sendo a menor fração C observada para a SM incubada no

tratamento SC (22,15%), os demais alimentos apresentaram média de 35,58% da fração não degradável, não sendo diferentes entre eles. A fração C observada para a SM corrobora com o encontrado por Moraes et al. (1996b). Estes autores observaram valores para a fração C de 25,20 e 24,70%, para silagem de milho com alto ou baixo teor de MS, respectivamente.

Embora a SM tenha apresentado o menor valor da fração C quando incubada no tratamento SC, seu valor quando incubada no tratamento CF não foi diferente do observado para os outros alimentos. Esse dado, associado ao valor da fração potencialmente degradável (B), da SM incubada no tratamento CF demonstra que este ambiente ruminal prejudicou sua degradação, provavelmente devido ao efeito dos CHOs inibindo a digestão do amido, descrito anteriormente.

No presente trabalho pode-se observar que quanto menores foram as frações de C para os alimentos, maiores são as frações degradáveis (B), visto que a fração B é obtida da subtração de $100\% - (A\% + C\%)$. Geralmente, o valor da fração C da MS não é apresentado na literatura em estudos sobre a degradação dos alimentos *in situ*, pelo fato desses mesmos trabalhos utilizarem softwares matemáticos mecanicistas que realizam alguns ajustes para a estimativa das variáveis de degradação, principalmente das frações A e B, a exemplo do programa *Fit Curve* (HOVELL, 2006).

A taxa de degradação (c%/h) não foi influenciada pelos ambientes ruminais, mesmo que a CF quando incubada no tratamento CF tenha apresentando menor taxa de degradação (0,64%/h). A análise dos dados das repetições dos resíduos dos sacos individualmente apresentou-se consistente como pode ser observada no Apêndice A. No entanto, esse valor é superior ao observado por Valadares-Filho et al. (1990), que determinaram a degradabilidade *in situ* de vários alimentos em vacas após o pico de lactação, e observaram taxa de degradação de 0,21%/h. Porém, a média da taxa de degradação de 2,76%/h para CF, SC e SM se assemelha com o observado por Aroeira, et al. (1993); Schmidt (2006) e Gimenes et al. (2006) para a CF, SC e SM, respectivamente.

A degradação potencial dos alimentos obtida a partir da equação proposta por Mehrez e Ørskov (1997); Ørskov e McDonald (1979), onde $DP = a + b (1 - e^{-ct})$ estão demonstradas na Tabela 4. Foram verificadas diferenças significativas ($P < 0,05$) para a

DP da MS dos alimentos avaliados nos diferentes ambientes ruminais. As maiores degradações potenciais foram observadas para a SM incubada em ambos os tratamentos (CF e SC), muito embora a SM incubada no tratamento CF não tenha diferido da CF incubada na SC ou da SC incubada nos dois tratamentos. Os valores observados para a SM estão próximos ao relatado por Gimenes et al. (2006) que foi de 75,40% de DP quando incubou a SM em bovinos adultos alimentados com silagem de milho sem aditivos.

O menor valor observado ($P < 0,05$) para a degradação potencial foi para a CF incubada no ambiente ruminal contendo CF (51,27%). Embora sendo o menor valor encontrado neste ensaio, a DP da CF foi superior ao demonstrado por Valadares-Filho et al. (1990) que observaram valores de DP para a cana-de-açúcar fresca de 42,30% incubado em vacas que receberam rações com 55% de silagem de milho e 45% de concentrado. A maior DP da CF ocorreu provavelmente devido ao tempo total de incubação utilizado por Valadares-Filho et al. (1990), que foi de 48 horas, contra as 96 horas utilizadas no presente ensaio.

Após a ruminação, as partículas dos alimentos no rúmen, dependendo do seu tamanho de partícula, tendem a passar para o compartimento seguinte, evento esse denominado taxa de passagem (kp). No entanto, a DP é estimada sem a inserção da kp na equação proposta por Mehrez e Ørskov (1997); Ørskov e McDonald (1979), sendo assim a degradabilidade efetiva dos alimentos (CF, SC e SM) incubados nos diferentes ambientes ruminais foram calculadas seguindo recomendações propostas por Huntington e Givens (1995) com a adoção das taxas de passagens de 2, 5 e 8%/h.

Não foram observadas diferenças significativas para nenhum dos alimentos (CF, SC e SM) incubados pela técnica *in situ macro-bag* nos diferentes ambientes ruminais em relação à degradabilidade efetiva (DE) para as taxas de passagens estudadas (2, 5 e 8%/h). De acordo com a Tabela 4 pode-se observar que as degradações efetivas foram menores que as degradabilidade potenciais, em decorrência da não inclusão das taxas de passagens para o cálculo da DP.

A média da degradação efetiva de 53,40% da MS da CF em ambos os ambientes ruminais a partir das taxas de passagens sugeridas (2, 5, 8%/h), foi superior ao encontrado por Valadares-Filho et al. (1990), que incubaram por 48 horas a cana-

de-açúcar no rúmen de vacas em lactação, suplementadas com concentrado. Os autores encontraram DE para a taxa de passagem de 5%/h de 39,70%, visto que a DE é considerada o resultado real da degradação das frações dos alimentos. Porém, quando Aroeira et al. (1993) suplementou bovinos com farelo de arroz ou algodão e incubaram a cana-de-açúcar com 1% de uréia por 72 horas, os valores encontrados foram superiores (63,90%) aos obtidos no presente ensaio (53,40%). Entretanto, os autores, assim como a maioria dos dados reportados na literatura, realizaram a incubação destes alimentos após sua prévia secagem e moagem em peneiras de cinco mm. O que aumenta a degradabilidade dos alimentos devido a maior superfície de contato para adesão das bactérias nas partículas dos alimentos.

Essas variações encontradas entre os experimentos também podem ser atribuídas a diferenças na composição bromatológica dos alimentos incubados, principalmente das frações FDN e FDA. É sabido que maiores teores dessas frações podem influenciar negativamente a degradação da MS. Outra fonte de variação entre os ensaios pode estar relacionada aos diferentes horários de incubação.

Schmidt (2006) incubou silagens de cana-de-açúcar com e sem aditivos (uréia, benzoato, *L. buchneri* e *L. plantarum*) por 96 horas, em bovinos canulados e observou diferenças significativas entre os tratamentos para a DE nas taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h. No entanto, a média dos resultados de Schmidt (2006) (42,36%) se assemelha com a obtida neste ensaio (46,97%).

A média da degradabilidade efetiva da SM incubada nos diferentes ambientes ruminais para a taxa de passagem de 5%/h foi de 49,55%. No entanto, quando Gimenes et al. (2006), incubaram a silagem de milho no rúmen de bovinos por 144 horas, o valor observado para a DE para a taxa de passagem de 5%/h foi de 42,76%, valor esse inferior ao observado no presente estudo.

Os resultados demonstram que a degradação da MS da silagem de milho não foi prejudicada quando incubada tanto no ambiente contendo CF, como no ambiente SC. Contudo quando se utilizou a técnica *in situ macro-bag*, o tempo necessário para a obtenção do mesmo resultado encontrado por Gimenes et al. (2006) seria o de 96 horas.

2.3.2.2 Degradabilidade da matéria orgânica

As frações A, B, C, taxa de degradação (c%/h), a degradação potencial (DP) e as degradabilidades efetivas (DE) da matéria orgânica (MO) com as respectivas taxas de passagens de 2, 5 e 8%/h da CF, SC e SM incubados nos diferentes ambientes ruminais, estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Variáveis de degradabilidade *in situ* da matéria orgânica da cana-de-açúcar fresca, da silagem de cana e da silagem de milho em diferentes ambientes ruminais

	Tratamentos ¹						
	CF			SC			EPM ⁴
Alimentos ²	CF	SC	SM	CF	SC	SM	
Variáveis ³	Matéria Orgânica						
A (%)	65,43 ^{ab}	53,31 ^c	74,41 ^a	62,57 ^{bc}	53,80 ^c	75,99 ^a	2,68
B (%)	0,00 ^b	14,34 ^a	15,60 ^a	9,78 ^a	14,68 ^a	14,71 ^a	2,44
C (%)	39,24 ^a	32,35 ^a	10,00 ^b	27,66 ^a	31,53 ^a	9,31 ^b	2,81
c (%/h)	1,00	2,11	4,12	0,74	3,08	1,55	0,76
DP	62,32 ^b	64,74 ^b	89,63 ^a	67,64 ^b	67,50 ^b	87,11 ^a	2,88
DE (kp=2%/h)	63,71 ^b	60,39 ^b	84,86 ^a	65,30 ^b	62,53 ^b	82,44 ^a	2,30
DE (kp=5%/h)	64,53 ^b	57,59 ^b	81,44 ^a	63,92 ^b	59,27 ^b	79,60 ^a	2,19
DE (kp=8%/h)	64,82 ^b	56,40 ^b	79,71 ^a	63,47 ^b	57,79 ^b	78,50 ^a	2,23

¹ Rações contendo cana-de-açúcar fresca (CF) ou silagem de cana aditivada (SC);

² Alimentos: CF: cana-de-açúcar fresca; SC: silagem de cana aditivada; SM: silagem de milho;

³ Variáveis: A%: fração solúvel em água; B%: fração potencialmente degradável; C%: fração não degradável, c%/h: taxa de degradação; DP: degradação potencial; DE: degradação efetiva nas taxas de passagens de 2; 5 e 8%/h;

⁴ EPM: erro padrão da média;

^{a,b,c} Médias seguidas de letras diferentes, na linha, são estatisticamente diferentes pelo teste t de Student (P<0,05).

Diferenças significativas foram observadas para todas as variáveis, exceto para a taxa de degradação (c%/h). Os maiores valores da fração A foram observados para a SM incubada em ambos os tratamentos (74,41 e 75,99%). Estes valores, no entanto, não foram significativamente diferentes da fração A da MO da CF incubada no

tratamento CF, o qual também não foi diferente da CF, quando incubada no ambiente contendo a SC. De maneira geral, os alimentos apresentaram degradabilidade da fração A da MO de mesma ordem ou similares não importando o tratamento, ou seja, o ambiente ruminal.

A fração A da SC (53,56%) incubadas nos dois ambientes ruminais são superiores ao encontrado por Schmidt (2006) (30,10%) que incubou SC aditivada com *L. buchneri* em bovinos canulados. Contudo, Gimenes et al. (2006) encontraram valores para a fração solúvel da MO da silagem de milho incubada em bovinos canulados de 18,46%, sendo este valor inferior ao observado no presente estudo (75,20%).

Borges et al. (2000), evidenciaram o mesmo comportamento para a degradação da MS e MO, quando incubaram o bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado durante 72 horas, em carneiros alimentados com dietas constituídas de bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado.

Os valores das frações A, B e C da MO são bastante diferentes daqueles existentes na literatura. Geralmente, as variáveis de degradação da MO seguem o mesmo comportamento observado para MS (BORGES et al., 2000; GIMENES et al., 2006; SCHMIDT, 2006). Entretanto, no presente estudo este padrão não foi observado, possivelmente pela variabilidade nos teores de minerais (cinzas) dos alimentos avaliados e também pelo alto teor de CHOs presentes nas dietas, embora essa variável não tenha sido mensurada laboratorialmente.

A MO da CF incubada no tratamento CF apresentou valor negativo para a fração B, portanto, nesse caso, o procedimento adotado foi substituir esse valor negativo por zero. É provável que esse comportamento ocorreu devido a vários fatores, como: i) maior solubilidade da fração A que deprimiu relativamente a fração B; ii) na CF, contaminação do material incubado com outras partículas ou contaminação microbiana pode ter ocorrido, aumentando a fração C. No entanto, é possível que a fração C, estimada a partir do resíduo dos sacos de náilon referente ao tempo 96 horas, da CF incubada no tratamento CF tenha subestimado o valor da fração B, resultando valor negativo.

A hipótese mais provável está associada a algum erro experimental não identificado no presente estudo, fato esse devido as triplicatas dos sacos apresentarem pouca variação entre elas (Apêndice A).

Os valores encontrados para os outros alimentos no presente ensaio, foram inferiores aos observados por Schmidt (2006) e Gimenes et al. (2006), que encontraram fração B de 30,10% para a silagem de cana aditivada com *L. buchneri* e 59,27% para a silagem de milho incubada em bovinos, respectivamente.

Khalili e Huhtanen (1991), com o objetivo de avaliar o parâmetro com maior predisposição em deprimir a digestão da fibra (pH ruminal e CHOs), incubaram silagem de capim por 96 horas em bovinos canulados no rúmen, alimentados com uma ração controle constituída de silagem de capim, cevada e farelo de semente de colza. Com suplementação com sucrose, ou bicarbonato de sódio, além de infusões contínuas de sucrose intra-ruminal. Os autores observaram que o desaparecimento e a taxa de degradação (c%/h) da MS, FDN e FDA foram maiores quando a silagem foi incubada nos animais que receberam a ração controle, do que naqueles que eram suplementados com sucrose na ração diária ou com infusão intra-ruminal e bicarbonato.

Portanto, quando a CF foi incubada no tratamento contendo o próprio alimento como ocorreu para a CF e a SC, uma possível depressão na degradação dessa fração pode ter sido potencializada. Este efeito pode ser explicado pelo alto teor de carboidratos facilmente fermentáveis no rúmen causando uma depressão na degradação da MS, conseqüentemente da MO, FDN e FDA. É provável que esse efeito seja decorrente de uma redução na taxa de degradação (1,00%/h), como foi observado no presente ensaio, principalmente para a CF.

Na Tabela 5 nota-se que as diferenças significativas para a fração C foram observadas apenas para a SM incubada em ambos os tratamentos, a qual apresentou a menor fração não degradável (C). Esses valores são semelhantes aos relatados por Gonçalves et al. (2001) que incubaram a silagem de milho em cabras alimentadas com diferentes relações concentrado:volumoso e observaram média da fração C de 13,58%.

A menor fração C para a SM já era esperada, devido a sua composição bromatológica (Tabela 1). A SM apresenta alta porcentagem de grãos, altamente

fermentescíveis no rúmen, e uma menor fração de parede celular insolúvel em detergente ácido, resultando em um alimento de mais fácil degradação. A CF e a SC avaliadas nos diferentes ambientes ruminais não foram diferentes entre si apresentando uma maior porcentagem dessa fração (23,70%). Estes valores também condizem com os resultados das análises químico-bromatológicas que revelaram 36,82 e 36,44% de FDA para a CF e a SC, respectivamente.

Não foram observadas diferenças para as taxas de degradação (c%/h) para nenhum dos alimentos incubados nos diferentes ambientes ruminais. Embora a amplitude dos dados tenha sido grande, os resultados se mostram confiáveis por apresentarem um reduzido erro padrão da média (0,76).

A média dos valores obtidos para c%/h da MO foi de 2,10%, semelhante ao observado para a taxa de degradação da MS (2,76%), mas inferior ao observado por outros autores que avaliaram a taxa de degradação da MS da CF, SC e SM (AROEIRA et al., 1993; SCHMIDT, 2006; GIMENES et al. 2006), os valores observados foram de 3,14; 3,49 e 2,82%/h, respectivamente. Os dados encontrados no presente estudo evidenciam que os volumosos avaliados proporcionaram uma taxa de degradação mais lenta, que possivelmente ocorreu pela metodologia *in situ* utilizada.

Geralmente quando se utiliza a técnica padrão, os alimentos antes de serem incubados passam pelo processo de secagem e moagem a 5 mm. Esse procedimento resulta em menores tamanhos de partículas, conseqüentemente aumentando a superfície de contato das partículas com o conteúdo ruminal, que possivelmente resulta em uma maior taxa de degradação (RUSSEL, 2002).

Portanto, os resultados obtidos no presente estudo demonstram uma falha da técnica *in situ macro-bag* para a avaliação da taxa de degradação. Mesmo porque quando se utiliza a técnica padrão, as bactérias ruminais apresentam uma maior superfície de contato disponível para a adesão nas partículas. Diferente de quando se incuba o volumoso *in natura*, ou seja, os alimentos não são secos e o tamanho das partículas pode variar de 1,0 a 1,5 cm.

A silagem de milho incubada nos diferentes ambientes ruminais, apresentou maior degradabilidade potencial (DP) e efetivas (kp = 2, 5 e 8%/h) da MO (Tabela 5), quando comparadas com a CF e SC em ambos os ambientes ruminais. Possivelmente,

a menor DP e conseqüentemente as degradações efetivas da CF e SC, ocorreram devido a menor taxa de degradação, principalmente quando a CF foi incubada no tratamento SC. A menor taxa de degradação da CF está relacionada com o alto conteúdo das paredes celulares e a baixa digestibilidade dessa fibra, que resulta também em um menor consumo deste volumoso.

Entretanto, na Tabela 5 pode-se observar que mesmo não havendo diferenças significativas para as taxas de degradação, a SC apresenta tendência em ter uma maior taxa de degradação, conseqüentemente uma maior DP quando incubada em ambos os ambientes ruminais.

Da mesma forma, como para as outras frações da degradabilidade da MO, a DP e as degradabilidades efetivas se mostram superiores aos dados encontrados na literatura (SCHMIDT, 2006; GIMENES et al., 2006).

2.3.2.3 Degradabilidade da fibra em detergente neutro e ácido

Diferenças significativas ($P < 0,05$) foram observadas apenas para a fração A da CF, SC e SM incubados em diferentes ambientes ruminais quando se avaliou a degradabilidade *in situ* utilizando a técnica *macro-bag* dos carboidratos estruturais que incluem a FDN. Os resultados referentes à fração A estão apresentados na Tabela 6, assim como as demais variáveis (B, C, c%/h, DP e as degradabilidades efetivas para kp de 2, 5 e 8%/h).

A maior fração solúvel foi observada para a CF incubada no tratamento contendo a CF (19,81%), entretanto esse resultado não foi diferente da SM incubada em ambos os ambientes ruminais (15,54 e 11,68%). Embora tenha havido grandes diferenças numéricas, o tratamento SC proporcionou ambiente ruminal que não alterou a fração A dos alimentos (CF, SC e SM) de forma significativa.

Ezequiel et al. (2001), avaliaram as frações solúvel, insolúvel, potencialmente degradável e não degradável, a taxa de degradação e as degradabilidades potencial e efetivas da FDN da cana-de-açúcar *in natura* em bovinos canulados. Este autor obteve valor para a fração A da FDN de 0,00%, valor esse inferior ao encontrado no presente ensaio. Essa diferença possivelmente ocorreu devido às diferenças entre as técnicas *in*

situ utilizadas. No presente estudo, os alimentos foram incubados na sua matéria original (*in natura*), o que provavelmente disponibilizou maiores quantidades de CHOs, durante a lavagem dos sacos, acarretando em uma maior solubilidade.

Tabela 6 - Variáveis de degradabilidade *in situ* da fibra em detergente neutro da cana-de-açúcar fresca, da silagem de cana e da silagem de milho em diferentes ambientes ruminais

	Tratamentos ¹						EPM
	CF			SC			
Alimentos ²	CF	SC	SM	CF	SC	SM	
Variáveis ³	Fibra em Detergente Neutro						
A (%)	19,81 ^a	0,00 ^c	15,54 ^{ab}	5,99 ^{bc}	1,68 ^{bc}	11,68 ^{ab}	2,54
B (%)	18,68	39,52	40,82	36,47	42,72	40,41	10,21
C (%)	61,53	60,48	43,65	57,54	55,60	46,91	8,80
c (%/h)	0,40	2,75	3,10	4,01	2,88	2,46	0,51
DP	26,05	35,78	54,25	41,56	41,64	47,80	7,53
DE (kp=2%/h)	22,08	22,71	40,31	30,14	26,85	33,24	4,56
DE (kp=5%/h)	21,28	14,15	31,12	22,04	17,27	24,28	3,14
DE (kp=8%/h)	20,76	10,32	26,91	18,02	12,97	20,59	2,69

¹ Rações contendo cana-de-açúcar fresca (CF) ou silagem de cana aditivada (SC);

² Alimentos: CF: cana-de-açúcar fresca; SC: silagem de cana aditivada; SM: silagem de milho;

³ Variáveis: A%: fração solúvel em água; B%: fração potencialmente degradável; C%: fração não degradável, c%/h: taxa de degradação; DP: degradação potencial; DE: degradação efetiva nas taxas de passagens de 2; 5 e 8%/h.

⁴ EPM: erro padrão da média;

^{a,b,c} Médias seguidas de letras diferentes, na linha, são estatisticamente diferentes pelo teste t de Student (P<0,05).

A fração solúvel da FDN encontrada para a SC aditivada com *L. buchneri* em ambos os ambientes ruminais foi de 0,84%, valor esse inferior ao observado por Schmidt (2006) de 7,95%. O resultado encontrado neste ensaio demonstrou que a fração FDN é praticamente insolúvel, de forma que baixos valores para a fração A deveriam ocorrer normalmente.

Gonçalves et al. (2001), avaliaram a silagem de milho incubada em cabras e encontraram solubilidade da FDN de 0,00%, assim como também observado por

Gimenes et al. (2005). Entretanto, a fração solúvel da FDN da SM incubada em ambos os ambientes ruminais foi em média 13,61%. Valor esse observado possivelmente devido ao relatado anteriormente para o alimento CF.

No presente ensaio, embora solubilidade das frações FDN fosse observada, deveria teoricamente ser próxima de zero, por não ser uma fração solúvel em água. Esses resultados se devem provavelmente a perda de partículas diminutas em função da lavagem dos sacos do tempo zero. Mesmo incubando os volumosos em sua matéria original e sem moagem em sacos de tecido náilon dentro dos padrões recomendados por Huntington e Givens (1995).

Quando se avaliou a degradabilidade da fração B e C diferenças significativas entre os alimentos incubados em ambos os ambientes ruminais, não foram observadas. Embora a CF incubada no tratamento CF tenha apresentado menor valor (18,68%), este não foi diferente dos outros tratamentos. É provável que o comportamento observado para a CF ocorreu pela grande quantidade de CHOs no ambiente ruminal CF, prejudicando de alguma forma o resultado da avaliação.

Visto que para a fração B da MO da CF quando incubada no tratamento CF foi encontrado valor igual à zero, o mesmo não ocorreu quando se avaliou a fração B da FDN e FDA. No entanto os valores, nesse caso confirmam um possível problema experimental na determinação dessa fração (Tabela 5).

Ezequiel et al. (2001) encontraram degradação da fração B e C da cana-de-açúcar de 37,76 e 62,24%, respectivamente, sendo esses resultados semelhantes ao observado para a CF incubada no ambiente ruminal contendo a SC (36,47 e 57,54%, respectivamente). Ainda assim, os resultados encontrados para o desaparecimento da fração B da SC em ambos os ambientes ruminais (41,12%) se assemelham com os valores observados por Schmidt (2006) (34,50%).

No entanto, os valores médios observados no presente estudo, das frações B e C da SM (40,62 e 45,28%), foram diferentes dos valores observados por Gimenes et al. (2005), para a fração B (71,62%) e C (30,25%).

As variações das degradações das frações B e C, observados no presente estudo quando comparadas à literatura, podem ser decorrentes da variação da composição bromatológica dos alimentos, da forma como esses alimentos foram

incubados (técnicas) e principalmente da constituição da dieta fornecida aos animais, resultando em possíveis diferenças dos ambientes ruminais.

As taxas de degradações (c%/h) da fração FDN dos alimentos incubados não foram afetadas pelos tratamentos ($P>0,05$), sendo observada média de 2,6%/h. Este valor revelou relativamente lenta taxa de digestão da FDN, o que é normalmente observado. Ezequiel et al. (2001), que incubaram a cana-de-açúcar *in natura* em bovinos, observaram taxa de degradação de 0,69%/h, semelhante ao observado para a CF incubada no tratamento CF.

Schmidt (2006) incubou a silagem de cana em bovinos canulados e observou taxa de degradação da SC de 3,31%/h, sendo esse resultado semelhante ao encontrado no presente ensaio quando a SC foi incubada nos diferentes ambientes ruminais (2,82%/h). Da mesma forma, quando Gimenes et al. (2006), avaliaram a cinética de degradação da silagem milho em bovinos canulados, observaram taxa de degradação de 2,68%/h. Esse valor corrobora com a taxa de degradação observada para a SM incubada em ambos os ambientes ruminais (2,78%/h).

É provável que a lenta taxa de degradação se deva a maior fração não degradável (lignina e sílica) na composição dos alimentos, limitando a utilização da fração FDN pelos microrganismos presentes no rúmen. Ainda assim, as rações fornecidas aos animais, que eram constituídas por uma alta relação concentrado:volumoso, poderiam levar ao crescimento majoritário de uma população bacteriana amilolítica, mesmo que diferenças significativas entre os tratamentos para o pH ruminal não fossem observadas.

As degradabilidades potencial da FDN da CF, SC e SM (Tabela 6) estimada a partir do modelo não linear proposto por Mehrez e Ørskov (1997); Ørskov e McDonald (1979), onde $DP = a + b (1 - e^{-ct})$ não foram diferentes entre os tratamentos, sendo a média obtida de 37,18%. A partir dos resultados pode se observar uma tendência para significância, porém devido ao número de amostras reduzidos um alto erro padrão da média foi resultante (7,53).

Ezequiel et al. (2001) avaliaram a DP da FDN da cana-de-açúcar *in natura* e Schmidt (2006), a silagem de cana inoculada com *L. buchneri*, e encontraram valores de 18,20% e 42,00%, respectivamente. Ao comparar esses resultados sem levar em

consideração as médias obtidas, observar-se similaridade aos encontrados no presente estudo apenas para a silagem de cana, nos diferentes ambientes ruminais (35,78 e 41,64%, respectivamente).

Quando se avalia os resultados obtidos para a CF para todos os componentes e variáveis de degradabilidade estimadas, grande diferença pode-se observar na comparação com os dados da literatura. Esse evento indica que um novo modelo, linear ou não para o desaparecimento das frações da CF deva ser estudado, uma vez que a degradação das frações dos vários volumosos em determinados ambientes ruminais, não foram semelhantes.

Nenhuma diferença estatística foi encontrada para as degradabilidades efetivas dos alimentos avaliados para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h, sendo observadas médias de 29,22; 21,69 e 18,26%/h, respectivamente. Porém, como observado em outros trabalhos, conforme se aumenta a taxa de passagem, a degradabilidade efetiva dos alimentos é diminuída.

Conforme a Tabela 6, as médias das degradabilidades efetivas dos alimentos corroboram com a média observada por Schmidt (2006) que avaliou o efeito de aditivos químicos e microbianos sobre a degradação da fração FDN da silagem de cana-de-açúcar, encontrando média para a DE 2, 5 e 8%/h de 29,4; 22,2 e 19,2%/h, respectivamente. Como ocorreu para a DP, não foram observadas diferenças significativas para as degradações efetivas da fração FDN. Como já sugerido, estudo de novos modelos ou adequação desses com o intuito de estimar as curvas de degradação para alimentos que apresentem em sua constituição maiores quantidade de CHOs, são necessários.

A análise dos dados para as variáveis de degradabilidade *in situ* dos carboidratos estruturais presentes na fração FDA apresentou diferenças significativas ($P < 0,05$) apenas para a fração A dos alimentos incubados nos diferentes ambientes ruminais (Tabela 7), assim demonstrando o mesmo comportamento observado para a fração FDN.

Como já esperado, a maior fração solúvel encontrada para a FDA foi da CF incubada no tratamento CF, sendo o valor de 12,37%. Contudo, os demais alimentos não foram diferentes entre si quando incubados em ambos os ambientes ruminais,

apresentando média de 0,72%, valor esse próximo de zero seguindo o comportamento normalmente encontrado para as frações solúveis que correspondem à FDA.

Tabela 7 - Variáveis de degradabilidade *in situ* da fibra em detergente ácido da cana-de-açúcar fresca, da silagem de cana e da silagem de milho em diferentes ambientes ruminais

	Tratamentos ¹						EPM
	CF			SC			
Alimentos ²	CF	SC	SM	CF	SC	SM	
Variáveis ³	Fibra em Detergente Ácido						
A (%)	12,37 ^a	0,00 ^b	2,12 ^b	0,08 ^b	0,78 ^b	0,64 ^b	1,41
B (%)	20,54	34,76	37,91	35,38	39,62	56,37	5,59
C (%)	67,10	65,24	59,98	64,55	59,61	43,00	5,92
c (%/h)	1,03	3,04	2,16	3,48	3,39	2,27	0,65
DP	20,88	32,03	34,84	34,20	38,77	49,45	4,36
DE (kp=2%/h)	17,15	20,83	21,47	22,55	25,6	29,87	3,31
DE (kp=5%/h)	14,88	13,30	13,30	14,61	16,71	17,76	2,62
DE (kp=8%/h)	14,08	9,81	9,99	10,81	12,51	12,77	2,21

¹ Rações contendo cana-de-açúcar fresca (CF) ou silagem de cana aditivada (SC);

² Alimentos: CF: cana-de-açúcar fresca; SC: silagem de cana aditivada; SM: silagem de milho;

³ Variáveis: A%: fração solúvel em água; B%: fração potencialmente degradável; C%: fração não degradável, c%/h: taxa de degradação; DP: degradação potencial; DE: degradação efetiva nas taxas de passagens de 2; 5 e 8%/h.

⁴ EPM: erro padrão da média;

^{a,b} Médias seguidas de letras diferentes, na linha, são estatisticamente diferentes pelo teste t de Student (P<0,05).

Para a CF incubada no tratamento SC o valor obtido se assemelha ao encontrado por Ezequiel et al. (2001) que avaliaram a degradabilidade *in situ* da fração solúvel dos carboidratos fibrosos da fração FDA em bovinos canulados. Porém os resultados observados por Schmidt (2006) sobre a fração A da FDA são superiores aos observados no presente ensaio. Em relação a SM as pesquisas já são mais avançadas e geralmente os autores encontram solubilidade das frações que compõem os carboidratos estruturais (FDN e FDA) equivalentes à zero (GONÇALVES et al., 2001; GIMENES et al., 2006).

As frações potencialmente degradáveis, não degradáveis e a taxa de degradação da fração B da CF, SC e SM dos constituintes da parede celular (FDA) não foram afetadas pelos diferentes ambientes ruminais ($P < 0,05$). Estas variáveis apresentaram o mesmo comportamento obtido para a FDN, lembrando que a diferença entre essas duas frações é apenas a fração representada pela hemicelulose.

Quando a CF foi incubada no rúmen dos animais alimentados com rações constituídas de CF e SC, não foram observadas diferenças estatísticas, sendo as frações B, C e a taxa de degradação (c%/h) da FDA de 27,96%; 65,83% e 2,25%/h, respectivamente. Ezequiel et al. (2001), avaliaram a cinética de degradação da cana-de-açúcar *in natura* e verificaram teores semelhantes das frações B e C (29,65 e 70,34%, respectivamente). Assim como para a taxa de degradação da MO, o mesmo comportamento foi observado para a FDA quando a CF foi incubada em ambos os ambiente ruminais. Os resultados obtidos no presente ensaio não corroboram com os dados da literatura, como os de Ezequiel et al. (2001) (0,49%/h).

Não foram observadas diferenças estatísticas para a fração B e a taxa de degradação (c%/h) da SC incubada em diferentes ambientes ruminais, sendo os valores encontrados de 34,76%; 39,62%; e 3,04; 3,39%/h, respectivamente. Quando se compara com os dados mais recentes encontrados na literatura, os valores observados no presente estudo se assemelham com os observados por Schmidt (2006). Dessa forma, os valores observados para a fração B e a taxa de degradação da FDA de silagens de cana com ou sem aditivos foram de 36,3% e 3,15%/h, respectivamente.

Os resultados obtidos para a CF e SC para as frações da FDA no diferentes ambientes ruminais podem ser estimados a partir da utilização a técnica *in situ macro-bag*. Mesmo que diferenças entre as técnicas possam ser encontradas, cuidados devem ser tomados quando se pretende avaliar a taxa de degradação dos alimentos.

Assim, como para a FDN, não foram observadas diferenças significativas para as degradabilidades potencial da FDA para todos os alimentos. Como já esperado, semelhança entre as duas frações (FDN e FDA) foram observadas, sendo os valores de 41,18 e 35,03%, respectivamente. As degradabilidades efetivas da fração FDA não foram diferentes estatisticamente para a CF, SC e SM em ambos os ambiente ruminais, sendo a DE estimada para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h de 22,91;

15,09; 11,66%. No entanto, o mesmo comportamento foi observado para a DE da FDN nas diferentes taxas de passagem.

O pH ruminal é considerado o maior responsável em deprimir a digestão da fibra (HOOVER, 1986). Entretanto, no presente estudo, uma vez que não foram observadas diferenças significativas neste parâmetro ruminal, a concentração de CHOs nas rações constituídas de cana-de-açúcar fresca foi o fator que reduziu a digestibilidade dos nutrientes. Conforme observado por Queiroz (2006), a quantidades de CHOs pode ser aproximadamente 10% superior para a cana fresca quando comparada à silagem de cana.

2.3.3 Digestibilidade *in vitro*

As médias da digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) e MO (DIVMO) do capim elefante (CE) utilizado como padrão interno, da cana-de-açúcar fresca (CF), da silagem de cana (SC) e da silagem de milho (SM) submetidos a diferentes inóculos ruminais, estão apresentados na Tabela 8. Foram observadas diferenças significativas para a DIVMS e DIVMO dos alimentos incubados nos diferentes inóculos ruminais.

Os resultados demonstram que as digestibilidades do CE, CF, SC e SM foram maiores (66,24; 60,82; 68,36 e 71,79%, respectivamente) quando inoculados no ambiente ruminal resultante do fornecimento de SC aditivada com *L. buchneri* para o animal doador, comparando-se com o ambiente resultante da ração contendo CF (52,57; 53,90; 54,54 e 62,02%). É provável que este resultado se deva pelo fato de grande parte dos aditivos inoculantes apresentarem em sua composição, a associação de bactérias lácticas e enzimas derivadas de subprodutos microbianos. Estes microrganismos produzem celulasas, hemicelulasas, amilases, glicoamilases e proteases que podem promover a digestão de carboidratos estruturais e não estruturais, produzindo açúcares solúveis utilizados como substratos para a fermentação láctica (PATRIZINI et al., 2004).

Os dados observados por Pedroso (2003) para a DIVMS de silagem de cana tratada com aditivos químicos ou microbianos, são inferiores (55,80%) aos observados

neste trabalho (68,36 %), provavelmente devido a diferente fonte de inóculo utilizada para a incubação.

Tabela 8 - Digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica dos volumosos provenientes de diferentes ambientes ruminais

Volumosos ²	Tratamentos ¹		ID ³ (%)	EPM ⁴
	Cana Fresca	Silagem de Cana		
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca				
CE	52,57 ^{bB}	66,24 ^{aB}	13,67	0,916
CF	53,90 ^{bB}	60,82 ^{aC}	6,90	0,987
SC	54,54 ^{bA}	68,36 ^{aB}	13,82	0,916
SM	62,02 ^{bA}	71,79 ^{aA}	9,77	1,100
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica				
CE	54,13 ^{bC}	67,63 ^{aB}	13,5	0,939
CF	53,45 ^{bC}	61,21 ^{aC}	7,76	1,010
SC	60,38 ^{bB}	68,64 ^{aB}	8,26	0,939
SM	62,65 ^{bA}	71,89 ^{aA}	9,24	1,130

¹ Inóculos provenientes de vacas consumindo ração contendo cana-de-açúcar fresca (CF) ou ensilada (SC);

² Volumosos: CE = capim elefante; CF = cana-de-açúcar fresca; SC = silagem de cana-de-açúcar; SM = silagem de milho.

³ ID = Incremento da digestibilidade.

⁴ EPM = erro padrão da média.

^{a,b} Médias nas linhas seguidas de mesmas letras minúsculas não diferem entre si (P < 0,05) pelo teste de médias Ismeans.

^{A,B,C} Médias nas colunas seguidas de mesmas letras maiúsculas não diferem entre si (P < 0,05) pelo teste de médias Ismeans.

Alcântara et al. (1989), estudando o efeito do desaparecimento *in situ* da MS da cana-de-açúcar fresca por 24 horas encontraram valor de 62,70%, sendo este correspondente ao encontrado no presente estudo, quando a cana-de-açúcar foi incubada no ambiente SC (60,82%), e superior ao encontrado com a utilização do inóculo contendo CF (53,90%). Essa menor DIVMS da CF pode ter ocorrido devido à cana-de-açúcar apresentar limitações no ponto de vista nutricional relacionado aos baixos teores de proteína bruta, e alta concentração de CHOs o que poderia limitar a

sua degradação. Porém, o valor encontrado para a digestibilidade pode ser considerado intermediário em termos nutricionais.

Conforme esperado, a silagem de milho apresentou os maiores valores de digestibilidade quando comparada aos outros volumosos, independente da fonte de inóculo utilizada. Os valores observados estão próximos aos valores observados por Moraes et al. (1996a), que utilizou fonte de inóculo tradicional. Com a utilização do inóculo SC, foram observados aumentos significativos na DIVMS de 13,67; 6,90; 13,83 e 9,77% para o CE, CF, SC e SM, respectivamente, quando comparado com o inóculo CF (Tabela 8).

Os resultados da digestibilidade obtidos para o alimento padrão (CE) seguindo o protocolo proposto por Goering e Van Soest (1970) são de 62,73% para a DIVMS e 64,25 % para a DIVMO (dados do Laboratório de Bromatologia da USP-ESALQ). Esses valores quando comparados com a determinação da digestibilidade utilizando o inóculo CF foram subestimados tanto para a DIVMS como para a DIVMO (52,57 e 54,13%, respectivamente). Diferente do ocorrido quando a fonte de inóculo era a SC, onde as determinações da DIVMS e DIVMO foram superestimadas (66,24 e 67,63%, respectivamente).

Cherney; Siciliano-Jones e Pell (1993) relatam que o pH ruminal pode variar de 5,5 a 7,2. Valores de pH abaixo de 5,2 podem reduzir a digestibilidade da MS devido à inibição de bactérias celulolíticas no ambiente ruminal, situação comum em rações com altos teores de concentrado. É provável que, embora tenham sido realizados ajustes no pH durante a incubação, a população microbiana original já tivesse menor participação de bactérias celulolíticas em sua composição, o que deve ter sido mais marcante para CF.

O mesmo comportamento foi observado para a DIVMO, sendo encontradas maiores valores para CE, CF, SC e SM (67,63; 61,21; 68,64 e 71,89%, respectivamente) quando incubados com inóculo contendo SC comparados aos valores observados com inóculo CF (54,13; 53,45; 60,38 e 62,65%).

Campos; Nussio e Sarmento (2005) avaliaram a digestão *in vitro* da MO da cana-de-açúcar combinadas com doses crescentes de sacarose, incubada com inóculo padrão, e obtiveram média da DIVMO de 53,15%. No entanto, esse valor é inferior ao

observado no presente estudo quando a CF foi incubada no inóculo resultante do conteúdo ruminal dos animais que se alimentaram de SC (61,21%). Todavia, quando a CF foi incubada no inóculo CF, os valores para a DIVMO no presente estudo (53,45%) se assemelha com os dados da literatura.

É provável, que mais uma vez como observado no ensaio de degradabilidade *in situ*, tenha havido efeito dos carboidratos solúveis presentes no ambiente ruminal dos animais alimentados com a cana-de-açúcar fresca, sobre a depressão da digestão da fibra, visto que a DIVMS e a DIVMO dos alimentos incubados no inóculo SC foram superiores.

Porém, quando Schmidt (2006) avaliou a DIVMO da silagem de cana sem aditivos o valor encontrado foi de 52,00%. Esse valor é inferior ao observado no presente estudo quando a SC foi incubada em ambos os inóculos, tendo sido observados valores de 60,38 e 68,64%, respectivamente. Os resultados encontrados para a SC demonstram que independentemente do inóculo utilizado, os valores para a DIVMO foram superestimados.

Pinto et al. (1999), avaliaram a digestibilidade *in vivo* da MO da SM encontraram valor de 72,99%. No entanto, quando se compara o método *in situ* do presente estudo, com o *in vivo*, semelhança entre os valores podem ser observadas apenas quando a SM foi incubada no inóculo SC (71,89%). Embora, críticas sejam feitas quando se compara esses métodos, vale ressaltar que o objetivo das duas técnicas é avaliar a digestibilidade total dos alimentos ao longo do trato gastrointestinal.

Houve um incremento positivo na DIVMO quando os alimentos foram incubados no ambiente SC, sendo eles 13,50; 7,76; 8,26 e 9,24 % para o CE, CF, SC e SM, respectivamente. Esse comportamento deve ter ocorrido pelas mesmas razões já discutidas para a DIVMS.

3 CONCLUSÕES

A técnica *in situ macro-bag* pode ser utilizada para o estudo das frações solúveis, potencialmente degradável e não degradável, assim como para a estimativa da degradabilidade potencial e efetiva de volumosos como as silagens de cana e milho e da cana-de-açúcar fresca. Entretanto, são necessários mais estudos para a padronização da metodologia.

No entanto, a técnica *in situ macro-bag* não foi eficiente em estimar o desaparecimento da MO, principalmente quando se avalia a fração A e a taxa de degradação.

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica não devem ser determinadas utilizando-se diferentes inóculos quando o objetivo for comparar alimentos, uma vez que pode haver super ou subestimativas dos valores em relação à metodologia padrão.

De modo geral, tanto para o ensaio *in situ* como para o *in vitro*, mesmo que na digestibilidade *in vitro* o pH tenha sido corrigido, o ambiente ruminal resultante do fornecimento de rações contendo SC foi benéfico à degradabilidade e à digestibilidade dos alimentos estudados.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, E.; AGUILERA, A.; ELLIOTT, R.; SHIMADA, A. Fermentation and utilization by lambs of sugar cane harvested fresh and ensiled with and without NaOH. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 23, n. 4, p. 323-331, 1989.
- ALLEN, M.S. Troubleshooting silage-based ration problems: Ruminal fermentation of fiber and starch. In: SILAGE PRODUCTION: FROM SEED TO ANIMAL NATIONAL SILAGE PRODUCTION CONFERENCE, 1993, Syracuse. **Proceedings ...** Ithaca: NRAES, 1993. p. 186-195.
- ALLEN, M.S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 74, p. 3063-3075, 1996.
- ANDRAE, J.G.; HUNT, C.W.; PRITCHARD, G.T.; KENNINGTON, L.R.; HARRISON, J.H. Effect of hybrid, maturity, and mechanical processing of corn silage on intake and digestibility by beef cattle. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 79, p. 2268–2275, 2001.
- AROEIRA, L.J.M.; SILVEIRA, M.I.; LIZIERE, R.S.; MATOS, L.L.; FIGUEIRA, D.G. 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 x zebu. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 552-564, 1993.
- BERCHIELI, T.T.; GARCIA, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELI, T.T.; PIRES, A.A.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. cap.14, p. 397-418.
- BORGES, I.; GONÇALVES, L.C.; MORAIS, M.G.; ZEOULA, L.M.; FRANCO, G.L. Influência da dieta sobre o desaparecimento *in situ* da matéria seca, da matéria orgânica e da fibra em detergente neutro do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 3, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352000000300012&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 28 nov. 2006.
- BRITO, R.M.; SAMPAIO, A.A.M.; ROUTMAN, K.S.; CERQUEIRA, A.A.; FERNANDES, A.R.M. Comparação de sistemas para nutrição de bovinos nas diferentes fases do modelo de produção intensiva de carne. 5. Fermentação ruminal: degradação *in situ* da silagem de milho e milho grão. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: SBZ, 2001. 1 CD-ROM.
- BRONDANI, I.L.; SAMPAIO, A.A.M.; RESTLE, J.; GALATI, R.L.; MENEZES, L.F.G.; SANTOS, A.P.; LEITE, D.T.; NÖRNBERG, J.L. Degradabilidade da silagem de milho e de dietas completas com dois níveis de energia testadas em duas raças bovinas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais ...** Santa Maria: SBZ, 2003. 1 CD-ROM.

BURGWALD-BALSTAD, L.A.; CATON, J.S.; BURKE, V.I.; OLSON, K.C. Influence of forage level and naloxone injection on feed intake, digestion, and plasma hormone and metabolite concentrations in dairy heifers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.73, p. 2677-2686, 1995.

CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2004. 135 p.

CAMPOS, F.P.; NUSSIO, L.G.; SARMENTO, P. Doses e fontes de açúcares solúveis sobre a digestão *in vitro* da cana-de-açúcar e dos monossacarídeos da parede celular. In: ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais ...** Goiânia: SBZ, 2005. 1 CD-ROM.

CARMO, C.A.; BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; ZEOULA, N.M.B.L. Degradabilidade da Matéria Seca e Fibra em Detergente Neutro da Cana-de-açúcar (*Saccharum* ssp) com Diferentes Fontes de Proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 30, n. 6, supl. 1, p. 2123-2133, 2001.

CATON, J.S.; DHUYVETTER, D.V. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 75, p. 533-542, 1997.

CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Washington, v.8, p.130-137, 1962.

CHERNEY, D.J.R.; SICILIANO-JONES, J.; PELL, A.N. Forage *in vitro* dry matter digestibility as influenced by fiber source in the donor cow diet. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 71, p. 1335-1338, 1993.

CHURCH, D.C. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1988. 564 p.

CULLEN, A.J.; HARMON, D.L.; NAGARAJA, T.G. *In vitro* fermentation of sugars, grains, and by-product feeds in relation to initiation of ruminal lactate production. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 69, p. 2616-2621, 1986.

DIAS, F.N. **Avaliação dos parâmetros agrônômicos e nutricionais em híbridos de milho (*Zea mays* L.) para silagem**. 2002. 95 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

EZEQUIEL, J.M.B.; GALATI, R.L.; GASTALDI, K.A.; QUEIROZ, M.A.A.; MENDES, A.R.; FEITOSE, J.V. Degradabilidade da matéria seca e pH ruminal em bovinos alimentados com cana de açúcar *in natura*, hidrolisada ou hidrolisada fenada. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: SBZ, 2001. 1 CD-ROM.

EZEQUIEL, J.M.B.; QUEIROZ, M.A.A.; GALATI, R.L.; MENDES, A.R.; PEREIRA, E.M.O.; NASCIMENTO FILHO, C.F.; V.F.; FEITOSA, J.V. Processamento da cana-de-açúcar: efeitos sobre a digestibilidade, o consumo e a taxa de passagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 34, n. 5, p. 1704-1710, 2005.

GIMENES, A.L.G.; MIZUBUTI, I.Y.; MOREIRA, F.M.; PEREIRA, E.P.; RIBEIRO, E.L.A.; MORI, R.M. Degradabilidade *in situ* de silagens de milho confeccionadas com inoculante bacteriano e/ou enzimático. **Acta Scientiarum - Animal Science**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 11-16, 2006.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. **Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some applications**. Washington: ARS, 1970.112 p.

GONÇALVES, A.L.; LANA, R.P.; RODRIGUES, M.T.; VIEIRA, R.A.M.V.; QUEIROZ, A.C.; HENRIQUE, D.S. Degradabilidade ruminal da matéria seca e da fibra em detergente neutro de alguns volumosos utilizados na alimentação de cabras leiteiras, submetidas a dietas com diferentes relações volumoso:concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 30, n. 6, p. 1893-1903, 2001.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 82, n. 8, p. 1791-1794, 1999.

HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 69, p. 2755-2766, 1986.

HOVELL, F.D.B. **Measurement of roughage or protein degradation using the polyester bag *in sacco* technique**: FitCurve user manual. Disponível em: <<http://www.macaulay.ac.uk/IFRU/software>>. Acesso em: 22 jan. 2006.

HUNTINGTON, G.B.; ARCHIBEQUE, S.L. **Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants**. In: PROCEEDINGS OF AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, 1999. Disponível em: <<http://www.asas.org/symposia/proceedings/0939.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2006.

HUNTINGTON, J.A.; GIVENS, D.I. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. **Nutritional Abstracts and Reviews**. Series B, Wallingford, v. 65, n. 2, p. 63-93, 1995.

ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F.; VALADARES, R.F.D.; CECON, P.R.; ÍTAVO, C.C.B.F.; MORAES, E.H.B.K.; PAULINO, P.V.R. Consumo, degradabilidade ruminal e digestibilidade aparente de fenos de gramíneas do gênero *Cynodon* e rações concentradas utilizando indicadores internos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 31, n. 2, supl. 1, p. 1024-1032, 2002.

KHALILI, H.; HUHTANEN, P. Sucrose supplements in cattle given grass silage-base diet. 2. Digestion of cell wall carbohydrates. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 33, n. 4, p. 263-272, 1991.

LANA, R.P.; RUSSELL, J.B.; VAN AMBURGH, M.E. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 76, p. 2190-2196, 1998.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. Tradução de A.A. Simões e W.R. Navega. 2.ed. São Paulo: Savier, 2000. 839 p.

McALLISTER, T.A.; BAE, H.D.; JONES, G.A.; CHENG, K.J. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 72, p. 3004-3008, 1994.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2nd ed. Merlow: Chalcomb Publ., 1991. 340 p.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R. A study of the artificial fiber bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 88, n. 3, p. 645-665, 1977.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 38, n. 3, p. 437-443, 1977.

MERTENS, D.R. Rate and extent of digestion. In: ORBES, J.M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminants digestion and metabolism**. Wallingford: CAB International, 1993. p. 13-51.

MORAIS, J.P.G.; BOIN, C.; CAMPOS, F.P.; FARIA, C.P.; ROCHA, M.H.M. Efeito de inoculante bacteriano em silagem de milho quanto à digestibilidade *in vivo* e fermentação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. **Anais ...** Fortaleza: SBZ, 1996a. p. 428.

MORAIS, J.P.G.; BOIN, C.; CAMPOS, F.P.; FARIA, C.P.; ROCHA, M.H.M. Efeitos na degradação *in situ* e na taxa de passagem de silagem inoculada com aditivo microbiano. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. **Anais ...** Fortaleza: SBZ, 1996b. p. 577.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academic of Sciences, 2001. 381 p.

NOCEK, J.E. Evaluation of specific variables affecting *in situ* estimates of ruminal dry matter and protein digestion. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 60, p. 1347-1358, 1985.

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

NOCEK, J.E. Bovine acidosis: implications on laminitis. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 80, p. 1005-1028, 1997.

NOCEK, J.E.; KOHN, R.A. In situ particle size reduction of alfafa and timothy hay as influence by form and particle size. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 71, n. 2, p. 932-945, 1988.

NOCEK, J.E.; TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrintestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 74, n. 10, p. 3598-3627, 1991.

NOZIÈRE, P.; MICHALET-DOREAU, B. In sacco methods. D'MELLO, J.P.F. (Ed.). In: **Farm animal metabolism and nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p. 233-253.

NUSSIO, L.G.; MANZANO, R.P. Silagem de milho. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 7., 1999, Piracicaba. **Alimentação animal ...** Piracicaba: FEALQ, 1999. p. 27-46.

NUSSIO, L.G., CAMPOS, F.P., LIMA, M.L. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. cap. 7, p. 183-223.

ØRSKOV, E.R. **Protein nutrition in ruminants**. London: Academic Press, 1982. 160 p.

ØRSKOV, E.R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 63, n. 5, p. 1624-1633, 1986.

ØRSKOV, E.R.. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability in Ruminantes. In: GIVENS, D.I.; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E.; OMED, H.M. (Ed.). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p.175-187

ØRSKOV, E.R.; HOVELL, F.D.B. The use of nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. **Tropical Animal Production**, Santo Domingo, v. 5, p. 195-223, 1980.

ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 92, p. 449-503, 1979.

PATRIZI, W.L.; MADRUGA JÚNIOR, C.R.F.; MINETTO, T.P. NOGUEIRA, E., MORAIS, M.G. 2004. Efeito de aditivos biológicos comerciais na silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 3, p. 392-397, 2004.

PEDROSO, A.F. **Aditivos químicos e microbianos como inibidores da produção de etanol em silagens de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. 2003. 140 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

PEREIRA, E.S.; QUEIROZ, A.C.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; VALADARES FILHO, S.C.; MIRANDA, L.F.; ARRUDA, A.M.V.; FERNANDES, A.M.; CABRAL, L.S. Fontes nitrogenadas e uso de *Sacharomyces cerevisiae* em dietas à base de cana-de-açúcar para novilhos: consumo, digestibilidade, balanço nitrogenado e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 563-572, 2001.

PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C.; GARCIA, R.; RIBEIRO, K.G.; QUEIROZ, A.C. Degradabilidade *in vivo* e *in situ* de nutrientes e eficiência de síntese de proteína microbiana, em bovinos, alimentados com cana de açúcar sob diferentes formas. **Revista Brasileira Zootecnia**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 763-777, 1996.

PINTO, J.C.; CHAVES, C.A.S.; PÉREZ, J.R.O.; OLIVEIRA, A.I.G.; ROCHA, G.P. Valor nutritivo das silagens de capim-sudão, milheto, teosinto e milho. 1 – Consumo e digestibilidade aparente. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 4, p. 980-986, 1999.

PRESTON, T.R.; HINOJOSAM, C.; MARTINEZ, L. Ensiling of sugar cane with ammonia molasses and mineral acids. **Tropical Animal Production**, Santo Domingo, v. 1, p. 120-126, 1976.

QUEIROZ, O.M. **Associação de aditivos microbianos na ensilagem e o desempenho de vacas em lactação recebendo silagem de cana-de-açúcar comparada a volumosos tradicionais**. 2006. 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2006.

RENTERO, N. Qualidade total: a nova referência das silagens. **Balde Branco**, São Paulo, v. 34, n. 403, p. 22-28, 1998.

ROSSI JUNIOR, P.; SILVA, A.G.; WANDERLEY, R.C.; BOSE, M.L.V.; BOIN, C. Degradabilidade ruminal da matéria seca e da fração protéica da silagem de milho, do farelo de soja e do sorgo grão, em bovinos da raça Nelore. Comparação com os dados obtidos pelo CNCPS. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 599-607, 1997.

RUSSEL, J.B. **Rumen microbiology and its role in ruminal nutrition**. Ithaca: Cornell University, 2002. 119 p.

SAS INSTITUTE. **The SAS system for windows**: release 8.01. Cary, 2000.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 32, n. 2, p. 199-208, 1974.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos biológicos**. 2. ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária, 2002. 265 p.

SCHMIDT, P. **Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar**. 2006. 228p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

SCHMIDT, P.; NUSSIO, L.G.; JUNQUEIRA, M.C. PEDROSO, A.F.; LOURES, D.R.S. PAZIANI, S.F.; ZOPOLLATTO, M.; MARI, L.J.; FILHO, S.G. Consumo e digestibilidade de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e microbianos, In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais ...** Santa Maria: SBZ, 2003. 1 CD-ROM.

SILVA, L.F.P. ; MACHADO, P.F.; FERNANDES JÚNIOR, J.C.; MELCHIADES, T.D. Avaliação da qualidade da forragem de híbridos de milho: digestibilidade *in situ* e componentes da parede celular. In: REVISTA ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., Juiz de Fora, 1997. **Anais ...** Juiz de Fora: SBZ, 1997. p. 176-178.

SILVEIRA, R.N.; BERCHIELLI, T.T.; FREITAS, D.; SALMAN, A.K. Fermentação ruminal em bovinos alimentados com silagens de resíduos de mandioca e de cana-de-açúcar, com polpa cítrica peletizada. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais ...** Recife: SBZ, 2002. 1 CD-ROM.

STROBEL, H.J.; RUSSEL, J.B. Effects of pH and energy spilling on bacteria protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 69, p. 2941, 1986.

TILLEY, J.M.; TERRY, R.A. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of British Grassland Society**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 104-111, 1963.

VALADARES FILHO, S.C.; CABRAL, L.S. Aplicação dos princípios de nutrição de ruminantes em regiões tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2002, Recife. **Anais ...** Recife: SBZ, 2002. p. 514-543

VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. Fermentação Ruminal. In: BERCHIELI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funesp, 2006. cap. 6, p.151-179.

VALADARES FILHO, S.C., SILVA, J.F.C., LEÃO, M.I.; EUCLYDES, R.F.; VALADARES, R.F.D.; CASTRO, A.C.G. Degradabilidade *in situ* da matéria seca e proteína bruta de vários alimentos em vacas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 19, n. 6, p. 512-522, 1990.

VAN SOEST, P.J. Development of comprehensive system of feed analyses and application to forages. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 26, p. 119-131, 1967.

VAN SOEST, P.J. Integrated feeding systems. In: _____. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. p. 140-55.

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**, New York, v. 74, p. 3583-96, 1991.

VANZANT, E.S.; COCHRAN, R.C.; TITGEMEYER, E.C. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 76, p. 2717-2719, 1998.

VAREL, V.H.; KREIKEMEIER, K.K. Technical note: Comparison of *in vitro* and *in situ* digestibility methods. **Journal of Animal Science**, Lancaster, v. 73, p. 578-582, 1995.

APÊNDICE

APÊNDICE A

MS incubada, resíduos e porcentagem média da matéria seca (MS) degradada da CF incubada em diferentes ambiente ruminais

Animal	Repetição	t ¹	MS	Resíduo	Média	MS	Resíduo	Média
			incubada	(g)	%MS deg ²	incubada	(g)	%MS deg ²
Tratamentos ³								
			CF			SC		
A1	1	96	22,96	8,90	63,74	20,98	8,10	63,95
	2		21,07	7,90		21,16	7,90	
	3		.	.		21,07	8,40	
	1	72	20,92	9,80	54,69	21,07	8,90	61,86
	2		21,04	10,10		20,95	7,90	
	3		.	.		21,04	8,80	
	1	48	20,95	11,40	51,31	20,92	9,90	52,20
	2		21,10	10,10		21,01	11,30	
	3		21,07	11,10		21,16	10,40	
	1	24	21,01	10,90	52,76	21,13	10,70	51,83
	2		21,07	10,00		21,07	11,30	
	3		21,13	10,90		22,54	10,70	
	1	12	21,04	11,20	50,12	21,13	18,10	30,94
	2		21,13	11,60		21,13	16,10	
	3		21,01	10,50		21,10	15,00	
A2	1	0	20,98	12,10	45,10	20,98	15,90	29,44
	2		21,13	12,10		21,04	15,50	
	3		21,01	12,60		21,10	15,30	
	1	96	21,10	10,40	56,29	20,98	8,50	62,86
	2		21,01	9,90		20,92	8,00	
	3		21,13	8,90		21,16	8,00	
	1	72	21,13	12,70	47,60	21,07	7,70	61,69
	2		21,16	11,20		21,16	9,20	
	3		20,92	10,80		.	.	
	1	48	20,92	9,70	52,32	21,16	10,00	56,48
	2		21,13	11,20		20,95	9,60	
	3		.	.		.	.	
	1	24	21,01	10,20	55,02	21,07	10,80	54,36
	2		20,95	9,50		21,10	8,80	
	3		20,95	10,10		21,10	10,70	
1	12	21,10	11,00	51,14	20,95	13,50	39,14	
2		21,07	10,10		20,92	14,30		
3		21,04	11,40		21,07	12,10		
1	0	20,92	13,00	42,27	20,95	16,00	31,98	
2		21,16	12,70		21,01	15,30		
3		.	.		20,92	13,30		

¹ t = tempos de incubação;

² Média %MS deg = média da porcentagem da matéria seca incubada;

³ Tratamentos: ração contendo CF (cana-de-açúcar fresca) ou SC (silagem de cana aditivada);
sacos de tecido náilon *macro-bag* perdidos.