

Degradação ruminal da matéria seca e proteína bruta de silagens de híbridos de milho¹

Ruminal degradation of dry matter and crude protein of different silages of corn hybrids

Elzânia Sales Pereira^{2,*}, Maria Socorro de Souza Carneiro³, Maria Andréa Borges Cavalcante⁴, Arturo Bernardo Selaive Villarroel⁵ e Patrícia Guimarães Pimentel⁶

Resumo - Objetivamos avaliar a degradação ruminal da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) de silagens produzidas com os híbridos de milho DKB400, DOW850, AG1051, 2C-599 e CDX-D60. As degradações *in situ* da MS e PB das silagens foram avaliadas pela técnica de sacos de náilon, usando novilhos holandeses fistulados no rúmen, nos tempos de 0; 6; 12; 24; 48; 96 e 144 horas. As estimativas de degradação considerando a taxa de passagem de 5% por hora para MS foram de 48,27; 44,03; 40,67; 40,88 e 42,34% e, para as degradabilidades efetivas da PB, foram de 58,31; 57,17; 66,30; 68,47 e 72,42%, respectivamente. Concluiu-se que os parâmetros cinéticos da degradação da MS e PB das silagens dos diferentes híbridos de milho foram similares.

Palavras-chave - Silagem. Ruminantes. Nutrição.

Abstract - The objective of the present study was to evaluate ruminal degradation of the dry matter (DM) and crude protein (PB) of corn hybrids silages DKB 440, DOW 8550, AG1051, 2C-599, CDX-D60. The *in situ* disappearance of DM and CP was evaluated by the nylon bag technique using fistulated Holstein bulls rumens in times of 0; 6; 12; 24; 48; 96 and 144 hours. The estimates of effective degradation of DM were 48.27; 44.03; 40.67; 40.88; 42.34%, and for the effective degradation of the PB had been: 58.31; 57.17; 66.30; 68.47 and 72.42%, respectively, assuming 5% hour rumen outflow rate. The kinetic parameters of the degradation of DM and PB of the silages of the different corn hybrids had been similar.

Key words - Silage. Ruminants. Nutrition.

*Autor para correspondência

¹ Recebido para publicação em 28/09/2007; aprovado em 24/07/2008

² Zootecnista, D. Sc., Professora do Dep. de Zootecnia, CCA/UFC, Bloco 809, Campus do Pici, CEP: 60 455-970, Fortaleza-CE, elzania@hotmail.com

³ Eng. Agrônoma, D. Sc., Professora do Dep. de Zootecnia, CCA/UFC, Fortaleza-CE, msocorro@ufc.br

⁴ Eng. Agrônoma, D. Sc., Analista de Risco Agropecuário, ADAGRI, Quixeramobim-CE, mariaandrea_borges@yahoo.com.br

⁵ Med. Veterinário, D. Sc., Professor do Dep. de Zootecnia, CCA/UFC, Fortaleza-CE

⁶ Eng. Agrônoma, D. Sc., Bolsista DCR FUNCAP/CNPq, Dep. de Zootecnia, CCA/UFC

Introdução

Nos sistemas de produção animal em confinamento, o principal volumoso utilizado é a silagem de milho. Nos demais sistemas, principalmente no período de escassez de pastagens, a suplementação volumosa também é feita à base de silagem, principalmente de milho, sorgo ou gramíneas. Segundo Émile et al. (1992), avaliações dos diferentes híbridos possibilitam a seleção de genótipos com bom equilíbrio entre colmos, folhas e espigas, conseqüentemente, permite a obtenção de silagens com melhores valores nutritivos. Deste modo, a recomendação das variedades que apresentam maiores índices de produtividade e qualidade da forragem poderá refletir em eficiência da produção animal.

Os sistemas de avaliação de alimentos para ruminantes empregam modelos de primeira ordem para estimar a digestão e o escape ruminal dos nutrientes. A manipulação das taxas de digestão e de passagem pode culminar em maior ou menor escape da proteína dietética, que resulta em formas diferentes de utilização dos compostos nitrogenados pelos animais (VAN SOEST, 1994).

Nos últimos anos tem havido um interesse considerável na redução das perdas de N pelos ruminantes, a partir de formulações de dietas balanceadas que considerem as múltiplas inter-relações entre os microrganismos ruminais e o hospedeiro. A adequação de dietas visa à minimização das perdas nitrogenadas pelos organismos, à maximização do crescimento das bactérias ruminais e à melhoria no desempenho dos animais. A proteína dietética pode ser mais ou menos destruída, mas o crescimento microbiano pode compensar a perda de qualidade. Quando a proteína é consumida em excesso, o nitrogênio dietético é convertido a amônia, absorvido pelo epitélio ruminal e excretado na forma de uréia pelos rins; por outro lado, dietas pobres em nitrogênio são enriquecidas pelo processamento ruminal, levando um maior e melhor aporte de aminoácidos para os intestinos (VAN SOEST, 1994; BRODERICK, 1994).

A quantidade de alimento que desaparece no rúmen é o resultado direto da competição entre as taxas de degradação e de passagem (VAN SOEST, 1994). A cinética de trânsito ou passagem refere-se ao fluxo de resíduos não digeridos do alimento ao longo do trato digestivo e é influenciada pelo nível de consumo, pela forma física da dieta, pelas diferenças na ruminação existente entre animais, pela relação concentrado: volumoso e por fatores climáticos (FAICHNEY, 1993).

As técnicas de avaliação dos parâmetros cinéticos da degradação ruminal compreendem estudos sobre o desaparecimento de amostra incubada no ecossistema ruminal (VAN SOEST, 1994). Para a determinação da

degradação dos alimentos em diferentes períodos ou tempos a técnica *in situ* baseada no uso de sacos de náilon, tem sido muito utilizada e amplamente aceita, sendo considerada um método rápido e fácil. Porém, essa técnica não permite que o alimento seja submetido aos processos de mastigação, salivação e ruminação, mas possibilita que o alimento tenha contato direto com o ambiente ruminal.

Então, considerando a importância da silagem de milho como alimento volumoso em dietas, especialmente para animais confinados, conduziu-se o presente trabalho com o objetivo de estimar a degradação ruminal da matéria seca e proteína bruta de silagens de diferentes híbridos de milho DKB 440, DOW 8550, AG1051, 2C-599, CDX-D60.

Material e métodos

Os híbridos de milho foram plantados em parcelas experimentais na Fazenda Experimental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no município de Marechal Cândido Rondon-PR.

As colheitas para ensilagem dos híbridos de milho foram realizadas aproximadamente 110 dias após o plantio quando os grãos estavam em ponto farináceos. Posteriormente, os híbridos foram cortados, picados e ensilados em silos experimentais tipo PVC, adaptados com válvulas tipo bulsen para livre escape dos gases. Após o período de 30 dias foi realizada a abertura dos silos. Na coleta das amostras foram tomados alguns cuidados para que estas fossem as mais representativas possíveis. Para isso, inicialmente todo o conteúdo de cada silo foi despejado sobre uma lona plástica. A seguir, todo material foi misturado uniformemente e foram retiradas as amostras de cada parcela experimental para determinação da composição química. Seqüencialmente, as amostras foram identificadas e armazenadas em freezer a -10 °C. Finalmente, as amostras foram pré-secadas em estufa de ventilação forçada a 55-65 °C, moidas em moinho tipo "Willey", em peneira de um mm de abertura e analisadas para matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), seguindo os procedimentos padrões (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC, 1990) e, fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) (VAN SOEST et al., 1991).

Para obtenção do fracionamento dos carboidratos, conforme o sistema Cornell Net Carbohydrate and Protein System – CNCPS (Fox et al., 1992), foram determinados os teores de nitrogênio total das amostras (NT), extrato etéreo e matéria mineral (AOAC, 1990). Os carboidratos totais foram determinados pela expressão $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$ (SNIFFEN et al., 1992). Os

carboidratos não estruturais (A + B1) foram determinados pela seguinte expressão $CNE = 100 - (\%PB + \%EE + \%FDNcp + \%MM)$, em que FDNcp equivale à parede celular corrigida para cinzas e proteínas. A fração C foi obtida por intermédio do resíduo indigestível, após 96 horas de incubação. A composição química-bromatológica das silagens está apresentada na Tabela 1.

As degradações ruminais da MS e PB das silagens de milho foram estimadas pela técnica do saco de náilon proposta por Orskov e McDonald (1979). As amostras dos diferentes tratamentos foram colocadas em sacos de náilon medindo 7 x 5 cm com abertura de malha de 50 µm e, em seguida, pesados. A quantidade de amostra colocada em cada saco de náilon foi de aproximadamente 1 g de MS por saco incubado na parte ventral do rúmen de cada animal nos tempos de 0; 6; 12; 24; 48; 96 e 144 horas. Após cada período de incubação, os sacos foram lavados em água corrente e, em seguida, submetidos à secagem em estufa de 55 °C por um período de 24 horas. Finalmente, os sacos foram colocados em dessecador até esfriarem e depois foram pesados novamente.

Os sacos referentes ao tempo zero, utilizados para determinação de fração solúvel, foram lavados em água corrente e, posteriormente, passaram pelos mesmos procedimentos destinados aos demais tempos. Os resíduos remanescentes nos sacos foram analisados quanto aos teores de proteína bruta (PB) e matéria seca (MS) e foram obtidos por diferença de peso encontrado para cada componente entre as pesagens, antes e após a incubação ruminal e expressos em percentagem. Os dados obtidos nos diferentes tempos de incubação (variável

independente) foram ajustados para uma regressão não linear pelo método de Gauss-Newton, contido no pacote ocupacional SAEG-Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, 1997), conforme a seguinte equação proposta por Orskov e McDonald (1979).

$$Y = a + b(1 - e^{-ct}) \tag{1}$$

em que:

Y = degradação acumulada do componente nutritivo analisado, após o tempo t.

a = intercepto de curva de degradação quando t= 0, que corresponde à fração solúvel em água do componente nutritivo analisado.

b = é o potencial da degradação da fração insolúvel em água do componente nutritivo analisado.

a+b = degradação potencial do componente nutritivo analisado quando o tempo não é um fator limitante.

c = taxa de degradação por ação fermentativa de b.

t = tempo de incubação.

Uma vez calculados os coeficientes a, b, c, estes foram aplicados à equação proposta por Orskov e McDonald (1979).

$$P = \frac{a + (b \cdot c)}{c + k} \tag{2}$$

Tabela 1 – Valores médios de pH, nitrogênio amoniacal (N-NH₃), matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CT), carboidratos não estruturais (CNE), fibra em detergente neutro (FDN) e de fibra em detergente ácido (FDA) das silagens dos diferentes híbridos de milho (*Zea mays*)

Variável	Híbridos				
	DKB 440	DOW 8550	AG 1051	2C-599	CDX-D60
pH	3,32	3,37	3,29	3,33	3,28
N-NH ₃ *	0,44	0,53	0,70	0,79	0,44
MS (%)	31,29	30,41	27,31	32,45	28,05
PB (%)	8,38	9,23	8,58	8,75	9,39
MM (%)	2,85	4,89	3,81	2,35	4,23
EE (%)	3,34	3,10	1,79	2,36	2,09
CT (%)	85,43	82,78	85,81	86,53	84,09
CNE (%)	39,52	32,73	33,43	42,28	33,49
DN (%)	46,28	50,58	52,78	43,74	51,10
FDA (%)	26,55	31,06	32,92	25,11	30,00

*Expresso em relação ao teor de nitrogênio total

em que:

P= degradação ruminal efetiva do componente nutritivo analisado.

K= taxa de passagem do alimento.

Assumiram-se taxas de passagem da digesta para o duodeno de 2; 5 e 8% por hora.

Resultados e discussão

As estimativas dos coeficientes cinéticos *a*, *b* e *c*, das equações ajustadas para a degradação da MS das silagens dos híbridos 2C599, DKB440, DOW8550, CDXD60E AGN1051, encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Estimativas dos coeficientes cinéticos *a*, *b* e *c* para degradação da matéria seca com seus respectivos coeficientes de determinação

Silagens	a	b	c	R ²
2C599	20,12	52,95	0,056	0,838
DKB440	20,66	54,64	0,037	0,844
DOW8550	19,64	58,50	0,028	0,896
CDXD60	19,21	60,94	0,027	0,920
AGN1051	20,78	56,14	0,031	0,931

As silagens produzidas a partir dos diferentes híbridos de milho não apresentaram diferenças significativas para a degradação da fração solúvel “*a*” da MS registrando valor médio de 20,08%. Esses valores estão abaixo dos registrados por Martins et al. (1999), o qual registrou valor de 45,2% para a fração solúvel da MS da silagem de milho. O desaparecimento da fração “*a*” caracteriza a solubilização dos açúcares e compostos nitrogenados solúveis remanescentes da fermentação no silo. As pequenas variações da fração solúvel da MS entre os híbridos estudados podem ser atribuídas a própria composição das silagens e, as maiores diferenças, as perdas de partícula durante a lavagem dos sacos. Susmel et al. (1990) reportaram resultados da ordem de 26%, e relataram que sacos de náilon com porosidades diferentes podem provocar mais ou menos variação entre as frações “*a*” de um mesmo alimento. O aumento da porosidade pode provocar perdas de partículas sólidas, o que superestimaria a fração “*a*”.

O amido, os compostos nitrogenados e os carboidratos estruturais, principalmente celulose e hemicelulose, são os componentes básicos da fração potencialmente degradável “*b*”. As variedades com duplo propósito têm tendência a apresentar maior valor

de degradação efetiva da MS, provavelmente a maior presença de grãos, seja a responsável pela redução na taxa de degradação, uma vez que a capa protéica que envolve a matriz amilácea pode retardar o processo de degradação. O valor da fração potencialmente degradável “*b*” da MS para os diferentes híbridos foi de 56,63%, valor próximo ao encontrado por Martins et al. (1999), de 54,8% para a silagem de milho. Tais diferenças relatadas podem estar relacionadas ao teor de grão ou de espiga e à composição morfológica da planta. Verifica-se que o valor do coeficiente “*b*” apresentou uma pequena variação para os diferentes tratamentos. Estas oscilações podem ser atribuídas à própria composição das silagens e, as maiores diferenças podem ser atribuídas às perdas de partículas durante a lavagem dos sacos (NOCEK, 1985).

Quanto às taxas de degradação (*c*), observa-se que não houve variação entre as silagens, registrando-se valor médio de 0,035%.

A degradação efetiva dos diferentes híbridos de milho, assumindo diferentes taxas de passagem, está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 - Degradação efetiva da matéria seca para as silagens

Silagens	Degradação efetiva		
	K=0,02	K=0,05	K=0,08
2C599	59,28	48,27	42,09
DKB440	56,25	44,03	38,06
DOW8550	53,80	40,67	34,83
CDXD60	54,54	40,88	34,84
AGN1051	54,98	42,34	36,52

A degradação efetiva da MS encontrada por Pereira et al. (1997), para silagens de milho sem considerar “lag time”, foi de 45,1%, próximo aos registrados nas silagens dos híbridos DOW8550, CDXD60, AGN1051 (40,67; 40,88 e 42,34%, respectivamente), para taxa de passagem de 5% por hora. A DE média da MS dos híbridos obtida neste trabalho foi de 43,23%, superior a registrada por Valadares Filho et al. (1991), que registraram valor de 36,7%, trabalhando com vacas leiteiras após o pico de lactação e assumindo uma taxa de passagem de 5% por hora. Os valores da degradação efetiva para a MS considerando a taxa de passagem de 2% foram de 59,28; 56,25; 53,80; 54,54 e 54,98%, respectivamente, valores estes próximos ao encontrado por Mouro (2001), para a silagem de milho de 55,06%.

A degradação efetiva da MS variou de 53,80 a 59,28% (k=2), valores semelhantes aos obtidos por Pesce et al. (2000), que ao avaliarem 20 genótipos, registraram

valores *in vitro* de 54,1 a 62,9%. Uma forma de se melhorar a degradação da MS das silagens seria por meio da adição de alimentos concentrados, pois, estes tornariam a ação de microrganismos amilolíticos mais rápida, gerando desta forma produtos finais em velocidade suficientemente rápida para suprir as necessidades energéticas dos microrganismos ruminais.

As estimativas dos coeficientes cinéticos *a*, *b* e *c*, das equações ajustadas para a degradação da PB das silagens dos híbridos 2C599, DKB440, DOW8550, CDXD60 e AGN1051, estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Estimativas dos coeficientes cinéticos *a*, *b* e *c* para degradação da proteína bruta

Silagem	a	b	c	R ²
2C599	47,66	21,99	0,047	0,97
DKB440	44,91	21,99	0,063	0,97
DOW8550	52,52	21,99	0,084	0,94
CDXD60	53,25	21,99	0,112	0,70
AGN1051	54,07	21,99	0,251	0,69

A silagem de milho produzida a partir do híbrido AGN1051 apresentou maior degradação da fração solúvel “*a*”, porém, a silagem produzida a partir do híbrido DKB440 apresentou o menor valor de degradação para a fração solúvel (54,07 e 44,91%, respectivamente). Estes valores ficam abaixo do reportado por Martins et al. (1999), que registraram valor de 61,5% para a fração solúvel da PB de silagem de milho. Estas diferenças encontradas para degradação da fração solúvel “*a*” podem estar relacionadas com a dificuldade de se determinar com precisão a disponibilidade do material solúvel que é degradado em maior ou menor extensão. Para validação da técnica, pressupõe-se que a perda líquida de proteína dos sacos ocorre somente em função da degradação e não pela passagem de partículas através da porosidade dos sacos (BRODERICK et al., 1988).

Os valores estimados para a fração “*a*”, encontrados neste trabalho, sugerem que as silagens apresentaram quantidade relativamente alta de proteína solúvel. Segundo Martins et al. (1999), é provável que o valor mais elevado da fração “*a*” comparada a fração “*b*”, seja atribuído à ocorrência de hidrólise das frações de proteína, durante o processo de ensilagem, causando aumento na fração do nitrogênio não protéico proveniente da proteína verdadeira.

O coeficiente de degradação do parâmetro “*b*” da PB encontrado no presente estudo é inferior ao relatado por Mouro (2001), que verificou valor médio de 45,84%

para silagem de milho. Essa diferença pode ter ocorrido em função da variabilidade existente entre os volumosos produzidos no país, quanto à composição química-bromatológica, estágio de crescimento e adubação.

Observa-se na Tabela 1, que todos os híbridos deste estudo apresentaram valor idêntico (21,99%) para a fração potencialmente degradável da PB, valor este próximo ao registrado por Martins et al. (1999), que encontrou valor de 22,6%. A igualdade de valor registrado para a fração potencialmente degradável da PB das silagens pode ser explicada em virtude da similaridade protéica apresentada pelos híbridos (8,87% PB), cuja amplitude de variação foi de 1% entre os teores protéicos das silagens.

A proteína altamente degradada no rúmen só pode ser utilizada eficientemente com dietas estrategicamente formuladas para aumentar o fluxo de aminoácidos para o animal, pois a degradação pode exceder a capacidade de utilização da amônia pelos microrganismos do rúmen. Em tais situações, a adição de fontes energéticas de rápida degradação pode reduzir as perdas nitrogenadas e melhorar o desempenho animal, em virtude do aumento da síntese de proteína microbiana no rúmen. Vale ressaltar, que os híbridos apresentaram um teor bastante elevado de proteína degradada no rúmen, independente das taxas de passagem, isso pode ser explicado pelo fato de a taxa de degradação da proteína desses cultivares também ser bastante alta. Além disso, quando a taxa de degradação para MS também é alta, tanto a PB quanto à energia desses cultivares são degradadas de forma rápida, o que poderá levar a maximização da eficiência de síntese microbiana (NOCEK; RUSSELL, 1988).

Considerando que a quantificação e a estimativa das taxas de degradação dessas frações “*a* e *b*” são responsáveis pelo escape de nitrogênio ruminal e pelo atendimento das exigências de nitrogênio dos microrganismos ruminais, fica implícito que alimentos com diferenças nessas frações e nas suas taxas de degradação resultarão em predições incorretas sobre o desempenho animal, quando na formulação das rações não for considerada a dinâmica dessas frações no rúmen e nos intestinos (MALAFAIA et al., 1997).

Os resultados obtidos para a degradação efetiva de proteína bruta dos diferentes híbridos de milho podem ser visualizados na Tabela 5.

O valor médio da DE da PB obtida neste estudo foi de 64,53%, valor próximo ao verificado por Pereira et al. (1997), de 62,5%. Analisando as médias de desaparecimento da PB, pode-se notar que houve estabilização dos processos de degradação após 96 horas de incubação para as silagens dos híbridos DOW8550 e CDXD60. Para as silagens dos híbridos 2C599 e DKB440 houve estabilização do processo de degradação após 48

Tabela 5 - Degradação efetiva da proteína bruta dos diferentes híbridos

Silagem	Degradação efetiva		
	K=0,02	K=0,05	K=0,08
2C599	47,66	58,31	55,80
DKB440	44,91	57,17	54,60
DOW8550	52,52	66,30	63,78
CDXD60	53,25	68,47	66,09
AGN1051	54,07	72,42	70,76

horas de incubação. A silagem produzida a partir do híbrido AGN1051 foi a única que não alcançou a estabilização do processo de degradação, mesmo após 144 horas de incubação ruminal. Estas observações confirmam que incubações ruminais pela técnica *in situ* por 96 h podem ser eficientes para demonstrar a degradação do material, pois não foi relatada diferença entre as silagens de milho testadas dentro de qualquer tempo de incubação, para as médias de desaparecimento da PB.

Conclusão

Conclui-se que os parâmetros cinéticos da degradação da matéria seca e proteína bruta dos diferentes híbridos foram similares.

Referências

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 15. ed. Virginia: Arlington. D. C., 1990. v. 1. 1117 p.
- BRODERICK, G. A. Importance of ruminal protein degradability in lactating cows fed diets based on alfalfa forage. In: WORKSHOP SOBRE O POTENCIAL FORRAGEIRO DA ALFALFA (Medicago sativa L.) NOS TRÓPICOS, 1994, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, 1994. p. 171-185.
- BRODERICK, G. A. et al. Comparison of estimates of ruminal protein degradation by *in vitro* and *in situ* methods. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 07, p. 1739-1745, 1988.
- ÉMILE, J. C.; BARRIÈRE, Y. Effets de la teneur en grain de l'ensilage de maïs sur les performances zootechniques de vaches laitières. **INRA. Production Animal**, v. 05, n. 02, p. 113-120, 1992.
- FAICHNEY, G. J. Digesta flow. In: FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Eds.). **Quantitative of ruminant digestion and metabolism**. England: Cambridge University Press, 1993. p. 53-85.
- FOX, D. G.; SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. III. Cattle requirements and diets adequacy. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3578-3596, 1992.

MALAFAIA, P. A. M.; VALADARES FILHO, S. C.; VIEIRA, R. A. M. Avaliação de alguns volumosos através da técnica de produção de gás e da subtração de curvas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997. p. 103-105.

MARTINS, A. S. et al. Degrabilidade ruminal *in situ* da matéria seca e proteína bruta das silagens de milho e sorgo e de alguns alimentos concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 05, p. 1109-1117, 1999.

MOURO, G. F. **Substituição do milho pela farinha de mandioca de varredura na alimentação de cabras Saanen em lactação**. 2001. 57 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

NOCEK, J.; RUSSELL, J. B. Protein and carbohydrate as an integrated system. Relationship of ruminal availability to microbial contribution and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 08, p. 2070-2107, 1988.

NOCEK, J. E. Evaluation of specific variables affecting *in situ* estimates of ruminal dry matter and protein digestion. **Journal of Animal Science**, v. 60, n. 05, p. 1347-1358, 1985.

ORSKOV, E. R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agriculture Science**, v. 92, n. 02, p. 499-503, 1979.

PEREIRA, J. R. A.; BOSE, M. L. V.; BOIN, C. Avaliação das sub-frações dos carboidratos e das proteínas, usando a metodologia do CNCPS e *in situ* com bovinos da raça Nelore: II. milho e farelo de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 04, p. 838-843, 1997.

PESCE, D. M. C. et al. Percentagem, perda e digestibilidade *in vitro* da matéria seca das silagens de 20 genótipos de sorgo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 03, p. 250-255, 2000.

SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SUSMEL, P. et al. Rumen degradability of organic matter, nitrogen and fiber fractions in forages. **Animal Production**, v. 51, p. 515-526, 1990.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. 150 p. Manual do usuário. (versão 7.0).

VALADARES FILHO, J. D. C. et al. Degrabilidade "in situ" da proteína bruta e matéria seca de alguns alimentos em vacas gestantes e lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 20, n. 01, p. 111-122, 1991.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nostarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

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