

## Comparação do Sistema de Monitoramento Computadorizado de Digestão *In Vitro* com os Métodos *In Vivo* e *In Situ*. 2. Uso do Resíduo da Matéria Seca de Forragens<sup>1</sup>

Fábio Prudêncio de Campos<sup>2</sup>, Max Lázaro Vieira Bose<sup>3</sup>, Celso Boin<sup>4</sup>, Dante Pazzanese Duarte Lanna<sup>5</sup>, Jozivaldo Prudêncio Gomes de Morais<sup>6</sup>

**RESUMO** - O objetivo deste trabalho foi comparar o sistema de monitoramento computadorizado da produção de gás *in vitro* com os métodos *in vivo* e *in situ*. Nas comparações, foram utilizadas silagens de milho com alto/baixo teores de matéria seca, com/sem inoculante. A digestibilidade das silagens com alto teor de matéria seca (MS), com/sem inoculação, não apresentou diferenças entre os métodos analisados. Quando avaliadas separadamente do efeito do inóculo, essas silagens diferiram nos métodos *in vitro*/gás e *in situ*, mas não no *in vivo*. Entretanto, quando analisadas somente sob efeito do inoculante, apenas no método *in situ* houve diferença. Não foram encontradas diferenças na digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN) das silagens com alta ou baixa MS, inoculadas ou não, bem como em relação ao pH ao final da digestão. Em conclusão, o desaparecimento da MS e FDN quantificada pelo resíduo no sistema *in vitro*/gás foi semelhante aos demais métodos avaliados.

Palavras-chave: digestão *in vitro*, digestão *in situ*, digestão *in vivo*, produção de gás, silagem de milho

## Comparison of the *In Vitro* Digestion Computerized Monitoring System with *In Vivo* and *In Situ* Methods. 2. Use of the Dry Matter Residue of the Forages

**ABSTRACT** - The objective of this work was to compare the computerized monitoring of the *in vitro* gas production system with the *in vivo* and *in situ* methods. On the comparisons, corn silage with high/low dry matter contents, with/without inoculation, were used. The digestibility of silage with high dry matter (DM) content, with/without inoculation, did not present differences among the analyzed methods. When evaluated apart from the inoculation effect, that silage differed *in vitro*/gas and *in situ* methods; however *in vivo* did not differ. Nevertheless, when analyzed under the inoculation effect, only in *in situ* method there was no difference. No differences were found on the silage neutral detergent fiber (NDF) digestibility with high or low DM, inoculated or not, as well as in relation to pH at the end of digestion. In conclusion, the disappearing of DM and NDF determined by the residue of the *in vitro*/gas system was similar to the others evaluated methods.

Key Words: corn silage, gas production, *in situ* digestion, *in vitro* digestion, *in vivo* digestion

### Introdução

As metodologias tradicionais de avaliação nutricional dos alimentos e das necessidades dos animais vêm se complementando com o surgimento de novas técnicas, evoluindo rápido e constantemente. Um exemplo é o novo sistema de avaliação de rações proposto pela Universidade de Cornell, com base em análises mais pormenorizadas do alimento e na fisiologia ruminal, com uso de simulação e predição de produção animal (FOX et al., 1990).

A técnica de digestão *in vitro* proposta por TILLEY e TERRY (1963) tem sido largamente utilizada para prever a digestibilidade *in vivo*. Essa técnica tem por objetivo simular as condições nor-

mais do rúmen, com atmosfera anaeróbica, temperatura de incubação constante e pH ótimo, conforme proposto por WARNER (1956), como rúmen artificial. Nesta técnica, as principais fontes de erros são: quantidade de amostra, tempo de fermentação, infusão de nitrogênio e inóculo, espécie animal, tipo de dieta e pH, além das diferenças entre as marchas analíticas adotadas por diversos laboratórios.

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca é altamente correlacionada com a digestibilidade *in vivo* (MARTEN e BARNES, 1980). O sistema *in vitro* é útil para rotina de avaliação de forragens e produz resultados com alta precisão e repetibilidade (BARNES, 1965). Muitos fatores podem influenciar a digestibilidade da MS, incluindo a fonte e a atividade

<sup>1</sup> Projeto financiado pela FAPESP e pelo CNPq.

<sup>2</sup> Zoot./MS - Dados parciais de Dissertação de Mestrado - ESALQ/USP; Doutorando na FCAVJ/UNESP. E-mail: fpcampos\_99@yahoo.com

<sup>3</sup> Professor aposentado no Departamento de Zootecnia - ESALQ/USP.

<sup>4</sup> Professor aposentado no Departamento de Zootecnia - ESALQ/USP.

<sup>5</sup> Professor no Departamento de Zootecnia - ESALQ/USP. E-mail: dplanna@esalq.usp.br

<sup>6</sup> Professor no Departamento de Biotecnologia Vegetal - UFSCAR. E-mail: jozivald@cca.ufscar.br

do inóculo. Diversos estudos têm indicado que, no método *in vitro*, a digestibilidade da MS ou da fibra inicia-se na própria forragem, independentemente da fonte de inóculo ruminal (MARINUCCI et al., 1992). Entretanto, outros estudos indicam que há efeitos significativos da fonte de inóculo sobre a digestibilidade da MS (NELSON et al., 1973; GRANT et al., 1974).

CHERNEY et al. (1993), estudando a influência de vacas doadoras e fontes de fibra sobre a digestibilidade *in vitro* de MS de silagem de milho e de alfafa, com período de incubação de 48 horas, acrescentando solução de extração de NDF (fibra em detergente neutro), concluíram que a fonte de fibra na dieta de vaca doadora de líquido ruminal e o método de filtração do líquido podem afetar a digestibilidade *in vitro*.

GOERING e VAN SOEST (1970) sugeriram sistemas de análises com base na solubilidade das diferentes frações dos alimentos em soluções detergentes e denominaram o sistema de “somativo”. Com o intenso uso desse método, surgiram modificações para aperfeiçoamento da tecnologia (VAN SOEST et al., 1991).

Aspecto importante na avaliação de alimentos é a disponibilidade dos substratos em fornecer energia originada de carboidratos, nitrogênio de fonte protéica e não-protéica (RUSSEL e HESPELL, 1981) em quantidades suficientes para o crescimento e desenvolvimento da flora microbiana, que, por sua vez, proporciona a produção de ácidos graxos voláteis, principal fonte de energia para os ruminantes (CHURCH, 1976).

Têm sido feitos estudos para comparar o método *in vitro* com o *in situ* para determinação da digestibilidade dos alimentos. O método *in vitro* é comumente utilizado pela conveniência, ou quando grande escala de testes de alimentos é requerida (UDÉN, 1992). Entretanto, a acumulação de produtos finais da fermentação e da dieta do animal doador do líquido ruminal pode afetar a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (CHERNEY et al., 1993).

O método *in situ* é usado rotineiramente para estudar os efeitos do ambiente ruminal (NOCEK, 1988; UDÉN, 1992). MEYER e MACKIE (1986) afirmaram que a frequência de alimentação do animal hospedeiro e os poros do saco de náilon têm papel importante na interpretação dos resultados, pois, no rúmen, os sacos de náilon são continuamente agitados e comprimidos pelo conteúdo ruminal durante as contrações. Esse mecanismo do rúmen favorece a desobstrução dos poros entupidos dos sacos de ná-

lon, por essa ação física ou pressão de gases (MARINUCCI, 1992).

NOCEK et al. (1979) observaram decréscimo na digestibilidade da matéria seca associada à produção e ao acúmulo de gases no saco de náilon.

GRAHAM e AMAN (1984) afirmaram que os métodos *in vitro* e *in situ* produziram resultados similares com a cinética da degradação ruminal dos constituintes de palhas.

NELSON et al. (1973), trabalhando com a digestibilidade de cinco forragens (silagem de milho e fenos de alfafa, capim pensacola bahia, capim coastal bermuda e centeio), *in situ* e *in vitro*, encontraram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre digestibilidade *in situ* e *in vitro*, quando avaliaram os fenos, mas não encontraram diferenças significativas para silagem de milho.

Visando melhor conhecimento das necessidades nutricionais de bovinos e do valor nutritivo de alimentos para arraçoamento mais eficiente, procurou-se testar e comparar o sistema de digestibilidade *in vitro* computadorizada com utilização de mesmas amostras de alimentos (diversas silagens de milho) utilizadas nos métodos *in vivo* e *in situ*, realizados em experimentos anteriores, com o propósito de obter dados para aplicação em cálculos de rações.

## Material e Métodos

Os alimentos utilizados na comparação do sistema de produção de gás *in vitro* com os métodos *in vivo* e *in situ* foram silagens de milho com alto e baixo teores de matéria seca com e sem inoculante. O inoculante utilizado foi o produto comercial “1174” da Pioneer Sementes Ltda, contendo *Lactobacillus plantarum* e *Streptococcus faecium*.

A avaliação da aditivação do inoculante bacteriano sobre a digestibilidade *in vivo* em bovinos procedeu da seguinte forma: oito bovinos machos castrados da raça Nelore com 350 kg PV foram adaptados em gaiolas metabólicas. A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia. Os animais foram sorteados equitativamente nos quatro tipos de silagens, com oito períodos de coletas de sete dias.

Na avaliação da aditivação do inoculante bacteriano sobre a degradabilidade *in situ* das silagens inoculadas ou não, foram utilizados três bovinos machos castrados da raça Nelore, fistulados, com peso vivo médio de 600 kg, colocados em gaiolas individuais, onde receberam alimentação e água individualmente. Os três animais foram submetidos aos quatro

tratamentos (silagem de milho: inoculada com alta MS, não-inoculada com alta MS, inoculada com baixa MS e não-inoculada com baixa MS) durante quatro períodos. Os tempos de incubação no rúmen foram de 3, 6, 12, 24, 36, 48 e 72 horas.

As comparações entre os dados de digestibilidade das silagens de milho avaliadas no sistema *in vitro*/gás e os dados no sistema *in situ* foram realizadas no tempo 48 horas, nos dois primeiros períodos de avaliação dos alimentos, bem como nos dois períodos no teste *in vivo*.

A silagem de milho com 41,9% de MS e 35% de grãos (PEREIRA, 1995) e o feno de alfafa neste experimento foram apenas considerados como dois alimentos padrões para constatação da eficiência do inóculo (líquido ruminal).

Foram feitas as análises bromatológicas de cada alimento (MS, EE, MM, PB, FDN, FDA, celulose e lignina). Triplicatas de amostras alimentos foram incubadas com líquido ruminal de vacas holandesas e novilhos nelore fistulados no rúmen. Após 48 horas, avaliou-se a digestibilidade *in vitro*/gás de cada alimento pelo desaparecimento da MS e do FDN pelo resíduo da digestão de cada alimento. Os resultados obtidos foram comparados com os dados obtidos previamente na digestibilidade *in vivo* e *in situ* realizada por MORAIS et al. (1996 a, b). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento em esquema fatorial 2 x 2 (quatro tratamentos - silagens com alta e baixa MS; inoculadas ou não). Para comparação dos diferentes sistemas, utilizou-se o esquema fatorial 3 x 4, para três sistemas (*in vitro*/gás, *in vivo* e *in situ*) e quatro alimentos (silagens com alta e baixa matéria seca inoculadas ou não).

## Resultados e Discussão

Na Tabela 1, são apresentados os valores médios da composição bromatológica dos alimentos utilizados na digestibilidade *in vitro*/gás, *in vivo* e *in situ*.

No sistema *in vitro*/gás, o feno de alfafa foi utilizado como padrão, considerado alimento ideal para a visualização da eficiência do inóculo utilizado e, conseqüentemente, melhor curva de digestão. O teor de FDN da silagem de milho, com 41,9% de MS e 35% de grãos, está muito abaixo em relação às demais silagens avaliadas. Essa diferença está relacionada com o estágio mais avançado de maturação da planta, por ocasião de sua colheita para ensilagem.

Na Tabela 2, é mostrada a comparação dos métodos de digestibilidade da MS (desaparecimento

da MS) das silagens com alta e baixa matéria seca inoculadas ou não. Foi observado que em cada método de avaliação dos alimentos houve variação pequena, mas significativa. Não foi possível analisar estatisticamente os dados da estimativa da digestibilidade *in situ* da MS da silagem de milho com 35% de grãos, pois não havia repetições dos dados originais de experimento anterior. Entretanto, avaliando em termos numéricos, pode-se observar que o método *in vitro*/gás foi superior na estimativa de digestibilidade da MS dessa silagem (78,3%), quando comparado ao método *in situ* (68,9%). Essa diferença se deve ao fato de que, no método *in vitro*/gás, a parte solúvel e insolúvel do alimento está incluída na digestibilidade da MS, enquanto no *in situ* a parte solúvel foi lavada inicialmente e, portanto, não foi avaliada no processo de digestão.

Comparando os métodos de estimativa da digestibilidade (Tabela 2), pode-se constatar que apenas o sistema *in situ* apresentou valores significativamente ( $P < 0,05$ ) superiores em relação aos demais, para a silagem com baixa matéria seca não-inoculada. BLUMMEL e ORSKOV (1993) ressaltam que a extensão e a taxa de degradação de nutrientes dos alimentos baseiam-se no desaparecimento da MS, assumindo, assim, que todas as perdas ocorreram pela fermentação, o que nem sempre acontece. PEARCE et al. (1967) observaram diferentes níveis de fermentação das frações solúveis de palha de trigo, as quais podem ser perdidas no saco de náilon e, conseqüentemente, se superestimar a digestibilidade.

Hanna et al. (1973), citados por THIAGO e GILL (1990), observaram que os microrganismos do rúmen degradam, em primeiro lugar, o parênquima, seguido por floema, células da epiderme e feixes vasculares. Por outro lado, a cutícula que cobre a epiderme e os tecidos lignificados dos feixes vasculares (xilema) não sofrem qualquer degradação, mesmo após 72 horas de fermentação *in vitro* (Akin et al., 1974 citados por THIAGO e GILL, 1990). Por isto, a digestibilidade *in vivo* também tem se mostrado mais relacionada com a digestibilidade *in vitro* do que com qualquer determinação química da parede celular (VAN SOEST et al., 1967).

Nos métodos *in vitro*/gás e *in situ*, as estimativas da digestibilidade das silagens de milho com alta ou baixa matéria seca apresentaram-se significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ), quando avaliadas separadamente do efeito do inóculo; já *in vivo* não houve diferença significativa quanto ao teor de MS (Tabela 3). Analisadas as silagens de milho, independentemente

Tabela 1 - Composição bromatológica dos alimentos

Table 1 - Chemical composition of the feedstuffs

Forragem <i>Forage</i>	MS (%) <i>DM</i>	Fração (% na MS) <i>Fraction (% in DM)</i>							
		FDN <i>NDF</i>	FDA <i>ADF</i>	CEL	LIG	CHO	PB <i>CP</i>	EE	MM
Feno de alfafa <i>Alfalfa hay</i>	87,8	33,8	25,8	21,2	5,2	33,5	20,9	3,6	8,2
Alta MS inoculada <sup>1</sup> <i>High DM inoculated</i>	37,2	61,1	35,2	28,6	6,5	24,4	7,7	1,4	5,4
Baixa MS inoculada <sup>1</sup> <i>Low DM inoculated</i>	30,3	60,3	36,4	28,9	7,5	19,6	10,2	2,8	7,1
Alta MS não-inoculada <sup>1</sup> <i>High DM non inoculated</i>	38,4	60,5	34,5	27,5	6,9	24,7	7,6	1,6	5,6
Baixa MS não-inoculada <sup>1</sup> <i>Low DM non inoculated</i>	29,3	58,4	34,2	27,8	6,4	23,2	9,7	2,2	6,5
Silagem de milho <sup>2</sup> <i>Corn silage</i>	41,9	36,5	21,6	15,4	6,3	47,4	6,6	2,6	6,9

<sup>1</sup> Dados e amostras de silagens obtidos de MORAIS et al. (1996 a,b).<sup>2</sup> Dados e amostras de silagens obtidos de PEREIRA (1995).<sup>1</sup> Data and samples of silages obtained from MORAIS et al. (1996 a,b).<sup>2</sup> Data and samples of silage obtained from PEREIRA (1995).Tabela 2 - Comparação de dados médios de digestibilidade da matéria seca (MS) de silagem de milho com alta ou baixa MS, inoculada ou não, obtidos pelos métodos de digestão *in vitro*/gás no período de 48 horas, *in situ* e *in vivo*Table 2 - Comparison of data means of digestibility of dry matter (DM) of corn silage with high or low DM, inoculated or not, obtained by methods of *in vitro*/gas digestion in the period of 48 hours, *in situ* and *in vivo*

Forragem <i>Forage</i>	<i>In vitro</i> <sup>1</sup> (%)	<i>In vivo</i> <sup>2</sup> (%)	<i>In situ</i> <sup>2</sup> (%)
Alta MS inoculada <i>High DM inoculated</i>	65,0 <sup>bA</sup>	67,2 <sup>aA</sup>	66,4 <sup>bA</sup>
Baixa MS inoculada <i>Low DM inoculated</i>	66,6 <sup>aA</sup>	68,0 <sup>aA</sup>	67,6 <sup>bA</sup>
Alta MS não inoculada <i>High DM non inoculated</i>	65,5 <sup>bA</sup>	65,5 <sup>aA</sup>	68,9 <sup>aA</sup>
Baixa MS não inoculada <i>Low DM non inoculated</i>	68,2 <sup>aB</sup>	65,7 <sup>aB</sup>	72,3 <sup>aA</sup>
Coefficiente de variação (%) <i>Coefficient of variation</i>	3,5	7,4	3,6
Silagem de milho <sup>3</sup> <i>Corn silage</i>	78,3	-	68,9

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem (P&gt;0,05) pelo teste Tukey.

<sup>1</sup> Sistema *in vitro*/gás computadorizado (PELL e SCHOFIELD - 1993).<sup>2</sup> Dados e amostras de silagens obtidos de MORAIS et al. (1996 a,b).<sup>3</sup> Dados e amostra de silagem obtidos de PEREIRA (1995).

Means, followed by the same small letters in the columns and capital letters in the lines, do not differ (P&gt;.05) by Tukey test.

<sup>1</sup> Computerized *in vitro*/gas system (PELL e SCHOFIELD - 1993)<sup>2</sup> Data and samples silages obtained from MORAIS et al. (1996 a,b).<sup>3</sup> Data and sample silage obtained from PEREIRA (1995).

do teor da matéria seca, apenas no método *in situ* houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) quanto à inoculação (Tabela 3). Entretanto, para ambos fatores, matéria seca e inoculação, analisadas conjuntamente, a interação se mostrou não significativa.

DANLEY et al. (1973) constataram que o avan-

ço da maturidade e a ensilagem afetaram o valor nutritivo das forragens, por intermédio de complexa interação dos constituintes, por alteração de um ou mais de seus componentes simples; esta magnitude dos efeitos é diferente de espécie para espécie de plantas forrageiras.

Tabela 3 - Efeito isolado dos tratamentos na comparação da digestibilidade da matéria seca (MS) de silagem de milho com alta ou baixa MS, com ou sem inoculação, obtida pelos métodos de digestão *in vitro*/gás, no período de 48 horas, *in situ* e *in vivo*

Table 3 - Isolated effect of the treatments in the comparison of dry matter digestibility of (DM) corn silage with high or low MS with or without inoculation, obtained by the methods of *in vitro*/gas digestion in the period of 48 hours, *in situ* and *in vivo*

Matéria seca Dry matter	<i>In vitro</i> <sup>1</sup> (%)	<i>In vivo</i> <sup>2</sup> (%)	<i>In situ</i> <sup>2</sup> (%)
Silagem alta MS <i>Silage high DM</i>	65,2 <sup>b</sup>	66,4 <sup>a</sup>	66,4 <sup>b</sup>
Silagem baixa MS <i>Silage low DM</i>	67,4 <sup>a</sup>	66,9 <sup>a</sup>	72,3 <sup>a</sup>
Inoculação <i>Inoculation</i>			
Silagem inoculada <i>Silage inoculated</i>	65,8 <sup>a</sup>	67,6 <sup>a</sup>	67,0 <sup>b</sup>
Silagem não-inoculada <i>Silage non inoculated</i>	66,8 <sup>a</sup>	65,6 <sup>a</sup>	70,6 <sup>a</sup>

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem ( $P > 0,05$ ) pelo teste Tukey.

<sup>1</sup> Sistema *in vitro*/gás computadorizado (PELL e SCHOFIELD, 1993).

<sup>2</sup> Dados e amostras de silagens obtidos de MORAIS et al. (1996 a,b).

Means, followed by the same letters in the columns, do not differ ( $P > 0,05$ ) by Tukey test.

<sup>1</sup> *In vitro*/gas system of computerized (PELL e SCHOFIELD - 1993).

<sup>2</sup> Data and samples silages obtained of MORAIS et al. (1996 a,b).

## Conclusões

No método *in vitro*/gás, o desaparecimento da MS e/ou da FDN quantificada pelo resíduo após digestão está muito próximo dos métodos *in vivo* e *in situ* para os alimentos analisados. Contudo, é necessário realizar mais trabalhos, a fim de constatar a eficiência do método com outros tipos de alimentos volumosos ou concentrados, considerando-se que o pH é um fator limitante neste sistema.

## Referências Bibliográficas

- BARNES, R.F. 1965. Use of *in vitro* fermentation techniques for estimating forage digestibility and intake. *Agron. J.*, 57(1):213-216.
- BLUMMEL, M., ORSKOV, E.R. 1993. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 40(3):109-119.

- CHERNEY, D.J.R., SICILIANO, J.J., PELL, A.N. 1993. Technical note: forage *in vitro* dry matter digestibility as influenced by fiber source in the donor cow diet. *J. Anim. Sci.*, 71(5):1335-1338.
- CHURCH, D.C. 1976. Digestive physiology and nutrition of ruminants. In: *Digestive physiology*. 2.ed., Oregon, O.U.S., Bookstores. 349p.
- DANLEY, M.M., VETTER, R.L. 1973. Changes in carbohydrate and nitrogen fractions and digestibility of forages: Maturity and ensiling. *J. Anim. Sci.*, 37(4):994-999.
- FOX, D.G., SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J., D., et al. 1990. A model for predicting requirements and feedstuffs utilization. Cornell: The Cornell net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets research. 128p.
- GOERING, K.H., VAN SOEST, P.J. 1970. *Forage fiber analysis* (apparatus, reagents, procedures, and some application), Washington: ARS-USDA, (USDA Agricultural Handbook, n.379).
- GRAHAM, H., AMAN, P. 1984. A comparison between degradation of *in vitro* and *in sacco* of constituents of untreated and ammonia treated barley straw. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10:199.
- GRANT, R.J., MERTENS, D.R. 1990. Impact of forage type,

- corn starch addition and buffer pH upon in vitro digestion kinetics of neutral detergent fiber. *J. Anim. Sci.*, 68:589-588. (suppl. 1).
- GRANT, R.J., VAN SOEST, P.J., McDOWELL, R.E. 1974. Influence of rumen fluid source and fermentation time on in vitro true dry matter digestibility. *J. Dairy Sci.*, 57(2):1201-1205.
- GRANT, R.J., WEIDNER, S.J. 1992. Digestion kinetics of fiber: Influence of in vitro buffer pH varied within observed physiological range. *J. Dairy Sci.*, 75(2):1060-1068.
- MARINUCCI, M.T., DEHORITY, B.A., LOERCH, S.C. 1992. In vitro and in vivo studies of factors affecting digestion of feeds in synthetic fiber bags. *J. Anim. Sci.*, 70(1):296-307.
- MARTEN, G.C., BARNES, R.F. 1980. Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzymes systems. In: PIGDEN, W.J., BALCH, C.C., GRAHAM, M. (Eds.) *Standardization of analytical methodology for feeds*. Ottawa: International Development Research. Center, p.61-128.
- MEYER, J.H.F., MACKIE, R.I. 1986. Microbiological evaluation of the intraruminal in sacco digestion technique. *Appl. Environ. and Microbiol.*, 51:622.
- MORAIS, J.P.G., BOIN, C., CAMPOS, F.P., et al. Efeito de inoculante bacteriano em silagem de milho quanto a digestibilidade *in vivo* e fermentação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33, 1996, Fortaleza. *Anais...* Fortaleza: SBZ, 1996a, p.425-427.
- MORAIS, J.P.G., BOIN, C., CAMPOS, F.P. et al. Efeito 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.428-430.
- NELSON, B.D., ELLZEY, H.D., MONTGOMERY, C. et al. 1973. Factors affecting the variability of an in vitro rumen fermentation technique for estimating forage quality. *J. Dairy Sci.*, 55(3):358-366.
- NOCEK, J.E. 1988. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A review. *J. Dairy Sci.*, 71(3):2051-2069.
- ORSKOV, E.R., MILLS, C.C., ROBINSON, J.J. 1980. The use of whole blood for the protection of organic materials from degradation in the rumen. *Proc. Nut. Soc.*, 39:60A.
- PEARCE, G.R., SIMPSON, R.G., DOYLE, P.T. *Source of variation in the nutritive value of wheat and rice straw*. In: WORKSHOP ON PLANT BREEDING AND THE NUTRITIVE VALUE OF THE CROP RESIDUES, Addis Ababa, 1987. *Proceedings...* Abada: ILCA, 1987. p.195-221.
- PELL, A. N., SCHOFIELD, P. 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. *J. Dairy Sci.*, 76(4):1063-1073.
- PEREIRA, J.R.A. *Avaliação das sub-frações dos carboidratos e das proteínas da silagem de milho, farelo de algodão e milho, usando a metodologia do CNCPS e in situ, com bovinos da raça nelore*. Piracicaba, SP: ESALQ, 1995. 94p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1995.
- RUSSEL. J.B., HESPELL, R.B. 1981. Microbial rumen fermentation. *J. Dairy Sci.*, 64(6):1153-1169.
- THIAGO, L.R.L.S., GILL, M. 1990. *Consumo voluntário: fatores relacionados com a degradação e passagem da forragem pelo rúmen*. Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC. 65p. (EMBRAPA, CNPGC-Documento - 43).
- TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A. 1963. A two technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.*, 18:104-111.
- UDÉN, P. 1992. The influence of leaf and stem particle size in vitro and of sample size in sacco on neutral detergent fiber fermentation kinetics. *Anim. Feed Sci. and Technol.*, 37:85-94.
- VAN SOEST, P.J., WINE, R.H. 1967. Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Official Analytical Chemists*, 50:50-55.
- VAREL, V.H., KREIKEMEIER, K.K. 1995. Technical note: comparison of *in vitro* and *in situ* digestibility methods. *J. Anim. Sci.*, 73(2):578-582.
- WAITE, R. 1963. Botanical and chemical changes in maturing grass and their effect on its digestibility. *Agron. Progress*, 38:50.
- WARNER, A.C.I. 1956. Criteria for establishing the validity of in vitro studies with rumen micro-organisms in so-called artificial rumen systems. *J. General Microbiol.*, 14:733-748.

**Recebido em:** 31/10/97

**Aceito em:** 27/09/99