

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO
DE GASES “IN VITRO” DE TRÊS ESPÉCIES FORRAGEIRAS
TROPICAIS.

Paula Andrea Toro Velásquez
Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Junho de 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO
DE GASES “IN VITRO” DE TRÊS ESPÉCIES FORRAGEIRAS
TROPICAIS.

Paula Andrea Toro Velásquez

Orientadora: Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Junho de 2006

T686c Toro-Velásquez, Paula Andrea
Composição química, digestibilidade e produção de gases “in vitro” de três espécies forrageiras tropicais / Paula Andrea Toro Velásquez. – Jaboticabal, 2006
xi, 66 f.; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006
Orientador: Telma Teresinha Berchielli
Banca examinadora: Ives Cláudio da Silva Bueno, Euclides Braga Malheiros
Bibliografia

1. Bovinos. 2. Capins tropicais. 3. Valor nutritivo I. Título. II. Jaboticabal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.085.51:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS



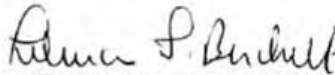
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO: COMPOSIÇÃO QUÍMICA, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO DE GASES
 "IN VITRO" DE TRÊS ESPÉCIES FORRAGEIRAS TROPICAIS

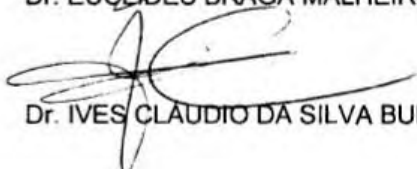
AUTORA: PAULA ANDREA TORO VELÁSQUEZ

ORIENTADORA: Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI MORENO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em ZOOTECNIA pela Comissão Examinadora:


 Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI MORENO


 Dr. EUCLIDES BRAGA MALHEIROS


 Dr. IVES CLAUDIO DA SILVA BUENO

Data da realização: 01 de junho de 2006.


 Presidente da Comissão Examinadora
 Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI MORENO

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

PAULA ANDREA TORO-VELÁSQUEZ – solteira, nascida em 27 de julho de 1976, na cidade de Medellín - Antioquia, Colômbia, filha de Manuel Antonio Toro Sanchez e Martha Lucia Velásquez Vasquez. Iniciou em janeiro de 1994 o curso de Zootecnia na Universidade de Antioquia – Medellín - Antioquia e em Junho de 2000 obteve o título de Zootecnista. Em Agosto de 2004 ingressou no Programa de pós-graduação em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal-SP, obtendo o grau de Mestre em 1 de Junho de 2006 sob orientação da Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli.

A Deus,

pela vida e pela oportunidade de tornar mais um sonho realidade.

A meus pais

pelo amor,

confiança,

dedicação,

apoio e paciência

A minha irmãzinha

Que embora longe me deu força, apoio e carinho.

A minhas tias e primas

Que sempre me escutaram quando eu precisava, pelo incentivo e orações.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli pela oportunidade, orientação, acolhida e confiança na realização do meu trabalho.

Aos Professores Euclides Braga Malheiros e Ricardo Andrade Reis pelas sugestões.

Aos demais professores do Departamento de Zootecnia, pela colaboração e ensinamentos transmitidos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do projeto.

À química do Laboratório de Nutrição Animal, Ana Paula de Oliveira Sader, que além de me orientar nas análises químicas, fez tudo mais fácil e tornou-se minha amiga.

Ao Seu Lando, funcionário do Laboratório de Nutrição Animal, pela amizade e por ter proporcionado momentos agradáveis de trabalho.

Aos funcionários do setor Vlademir e Toninho pelo convívio durante os experimentos no campo.

Às pós-graduandas Roberta, Juci, Fernanda e Simone pela acolhida e por fazerem parte de minha formação.

Ao Luis Gabriel por sempre estar ao meu lado, apoiando e escutando todas as vezes em que precisei.

Ao Daniel pela paciência e ajuda na realização das análises estatísticas.

Aos amigos Vâ, Lu, Astrid, Karol, Daniel, Adriana, Martinha, Bernardo por terem feito parte desta experiência.

À todas as pessoas não mencionadas, mas que sempre estiveram ao meu lado nos grandes ou pequenos momentos, ajudando de alguma forma na conclusão deste trabalho. Eu não os esqueci; muito obrigada e que Deus os abençoe sempre.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	x
SUMMARY.....	xi
CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. Introdução.....	1
2. Objetivos Gerais.....	3
3. Revisão de Literatura.....	3
3.1 Gramíneas tropicais e suas características de digestibilidade.....	3
3.2 Descrição das espécies forrageiras.....	6
3.3 Composição química e digestibilidade <i>in vitro</i>	9
3.4 Fracionamento de proteína e carboidratos.....	10
3.5 Produção de gases.....	13
3.6 Produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e a estequiometria da fermentação ruminal.....	15
CAPÍTULO II – COMPOSIÇÃO QUÍMICA, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO DE GASES “IN VITRO” DE TRÊS ESPÉCIES FORRAGEIRAS TROPICAIS.....	18
1. Introdução	18
2. Material e Métodos	20
2.1 Local.....	20
2.2 Área e período experimental.....	21
2.3 Análises laboratoriais.....	21
2.4 Digestibilidade <i>in vitro</i>	22
2.5 Fracionamento de proteínas e carboidratos.....	23
2.6 Produção de gases.....	24
2.7 Delineamento experimental.....	29
3. Resultados e Discussão	30
3.1 Composição química e fracionamento de proteínas e carboidratos.....	30
3.2 Digestibilidade <i>in vitro</i> das matérias seca e orgânica.....	35
3.3 Degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria seca	37
3.4 Produção de gases <i>in vitro</i>	39
3.5 Ácidos graxos de cadeia curta AGCC.....	43
3.6 Correlações entre composição química, digestibilidade, degradabilidade, e produção de gases <i>in vitro</i>	48
4. Conclusões	50
CAPÍTULO III – IMPLICAÇÕES.....	51
REFERÊNCIAS	52

LISTA DE TABELAS

	Pagina
Tabela 1. Dados meteorológicos mensais do primeiro semestre (período experimental) de 2005 em Jaboticabal.....	20
Tabela 2. Solução tampão McDougal.....	22
Tabela 3. Fracionamento de proteínas.....	23
Tabela 4. Fracionamento de carboidratos.....	24
Tabela 5. Composição do meio de cultura.....	26
Tabela 6. Composição da solução de macrominerais.....	26
Tabela 7. Composição da solução de microminerais.....	26
Tabela 8. Composição da solução tampão.....	26
Tabela 9. Composição do meio B.....	26
Tabela 10. Médias observadas, resultados da análise de variância obtida para as variáveis estudadas: conteúdos da parede celular (FDN, FDN _{cp} , FDA, LIG) e os valores do fracionamento de carboidratos (CHOS totais, CNE, Fração B ₂ , e fração C) nas duas épocas: janeiro-março, e abril-junho.....	32
Tabela 11. Médias observadas, resultados da análise de variância e desdobramento da interação espécie/idade para: a proteína bruta, nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), nas duas épocas: janeiro-março, abril-junho.....	34
Tabela 12. Médias observadas, resultados da análise de variância e desdobramento da interação espécie/idade para: digestibilidade in vitro da matéria seca (DIV MS) e digestibilidade in vitro da matéria orgânica (DIV MO) (TILLEY & TERRY); nas duas épocas: janeiro-março, abril-junho.....	36
Tabela 13. Médias observadas, resultados da análise de variância e desdobramento da interação espécie/idade para dados obtidos pelo modelo de ØRSKOV na degradabilidade in vitro pela técnica de produção de gases nas duas épocas: janeiro-março, abril-junho.....	38

Tabela 14. Médias observadas e resultados da análise de variância para dados obtidos pelo modelo de FRANCE et al. (1993), na produção de gases <i>in vitro</i> para a época de janeiro-março.....	39
Tabela 15. Médias observadas e resultados da análise de variância para dados obtidos pelo modelo de FRANCE et al. (1993), na produção de gases <i>in vitro</i> para a época de abril-junho.....	40
Tabela 16. Médias observadas, resultados da análise de variância e desdobramento da interação espécie/idade para: concentração (\hat{i} mol/mL) e proporções molares (% , entre parênteses) da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC): totais, acético, propiônico, butírico, relação acético:propiônico (A:P). Obtidos na degradabilidade <i>in vitro</i> pela técnica de produção de gases nas duas épocas: janeiro-março, abril-junho.....	45
Tabela 17. Coeficientes de correlação (r) entre a composição química, a digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca, degradabilidade potencial, degradabilidade efetiva, produção de gases as 48 e 96hr (G48 e G96), e produção de ácidos graxos voláteis totais e a relação acético:propiônico às 48 e 96h (T48, A:P48,T96,A:P96); época janeiro-março.....	49
Tabela 18. Coeficientes de correlação (r) entre a composição química, a digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca, degradabilidade potencial, degradabilidade efetiva, produção de gases as 48 e 96hr (G48 e G96), e produção de ácidos graxos voláteis totais e a relação acético:propiônico às 48 e 96h (T48, A:P48,T96,A:P96); época abril-junho.....	49

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO DE GASES “IN VITRO” DE TRÊS ESPÉCIES FORRAGEIRAS TROPICAIS.

RESUMO- Os sistemas de formulação de dietas para ruminantes exigem a avaliação de alimentos como forrageiras, pois essas são as principais fontes de nutrientes em condições tropicais. Por essa razão, é necessário o desenvolvimento de metodologias que sejam rápidas e ao mesmo tempo eficientes na avaliação de forragens para o funcionamento dos sistemas produtivos. O objetivo deste trabalho foi avaliar em duas épocas do ano o efeito de idade de corte (28, 35 e 42 dias), no valor nutritivo de três espécies forrageiras tropicais de grande utilização na alimentação de bovinos em pastejo no Brasil: capim-Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia), o capim-Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu), e o Tifton 85 (*Cynodon* spp), através da composição química, o fracionamento de proteína e carboidratos, a digestibilidade e a produção de gases *in vitro*. Nas duas épocas o Tifton 85 apresentou os maiores conteúdos de parede celular, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), carboidratos totais (CHOS totais), fração B₂ e C dos carboidratos (69,36; 62,19; 32,09; 4,09; 78,31; 54,25 e 9,82%, respectivamente) e menores coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) 49,33 e 45,35% respectivamente, além de menor produção de gases após 96h de incubação 225,49mL g⁻¹ MS. O valor nutritivo (composição química, digestibilidade e produtos da digestão) da *Brachiaria brizantha* foi superior nas duas épocas do ano e nas idades de corte avaliadas nas condições deste trabalho comparada com Tanzânia e Tifton 85.

Palavras Chaves:

bovinos, capins tropicais, fracionamento, nutrientes, valor nutritivo.

CHEMICAL COMPOSITION, DIGESTIBILITY AND “IN VITRO” GAS PRODUCTION OF THREE TROPICAL FORAGE SPECIES

ABSTRACT – In the tropics, diet formulation systems for ruminants require the forages evaluation, as they are the main source of nutrients for the animals. For this reason, the development of practical and efficient methodologies to evaluate forages is crucial for a better result of the production systems. The aim of the present work was to evaluate the cutting age effect (28, 35 and 42 days) in three different forage species which are largely used for the nutrition of cattle raised under pasture conditions in Brazil: Tanzania grass (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia), Marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) and Tifton 85 (*Cynodon* spp). compared based on the chemical composition, protein and carbohydrate fractions, digestibility and *in vitro* gas production of the forages. In the two different periods of the year Tifton 85 had the highest cellular wall components, neutral detergent fiber (NDF), neutral detergent fiber with corrections for mineral and protein (NDFcp), acid detergent fiber (ADF), lignin (LIG), total carbohydrates (CHOS), fraction B₂ and C of the CHO (69,36; 62,19; 32,09; 4,09; 78,31; 54,25 e 9,82%, respectively), and the lower *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) 49,33%, *in vitro* organic matter digestibility (IVOMD) 45,35%, and the gas production 225,49mL g⁻¹ MS. The forage nutritive value (the potential degradability (PD), the effective degradability (ED). Considering the two periods of the year and the three cutting ages investigated in the present study, the nutritive value (chemical composition, digestibility and nature of digested products) of Marandugrass was superior in comparison to Tanzaniagrass and Tifton 85.

Key words:

cattle, fractionation, nutrients, nutritive value, tropical forages.

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, sendo este alimentado, principalmente, com forrageiras tropicais em virtude da capacidade destes animais para ingerir e digerir alimentos fibrosos. Por essa razão, a avaliação nutricional de alimentos para ruminantes tem sido de grande importância para adequar os bancos de dados dos sistemas de formulação de dietas às regiões de clima tropical, buscando com isso maior ajuste do fornecimento de nutrientes para o atendimento das exigências dos animais. Esses ajustes devem permitir maior desempenho produtivo dos animais e, ao mesmo tempo, reduzir a excreção de produtos para o ambiente.

O estudo do valor nutritivo da forragem torna possível identificar as principais causas limitantes do nível de produção, o que permite deduzir estratégias de manejo que resultem em aumento na produção animal (VIEIRA *et al.*, 2000a).

A parede celular da planta fornece a principal fonte de energia ao ruminante. Assim, para conseguir uma elevada eficiência da produção animal necessita-se maximizar a utilização da energia fornecida pelas plantas forrageiras. Isto acontece quando os microrganismos têm rápido acesso a essas porções, seja devido à trituração, mastigação e ruminação do alimento ou outros fatores relacionados com o arranjo dos constituintes da parede celular. Esses fatos favorecem a digestibilidade da planta, a taxa de passagem das partículas pelo rúmen e conseqüentemente a ingestão de forragem (WILSON, 1994).

As gramíneas tropicais apresentam elevado potencial de produção de matéria seca, contudo seu valor alimentício não permite explorar em plenitude o potencial genético dos animais em pastejo. Ademais, em decorrência da estacionalidade, quantitativa e qualitativa observada ao longo do ano, observa-se índices zootécnicos abaixo do potencial produtivo dessas plantas (REIS *et al.*, 2005). Por sua vez, a

qualidade da forragem é influenciada mais pelo estado do crescimento e da estação do ano que pela fertilização nitrogenada (VALK *et al.*, 1996).

O avanço da idade das plantas exerce efeito sobre a fração da parede celular. Primeiramente, a proporção de carboidratos da parede celular aumenta, mas simultaneamente as características da composição química e da digestão também são alteradas (VAN SOEST, 1994).

O consumo de alimento e a digestibilidade são dependentes da cinética da digestão no rúmen. As partículas livres podem ser digeridas e passar pelo rúmen através da área do orifício retículo – omasal. A passagem de partículas pelo rúmen facilita o consumo, mas a perda da fibra potencial digestível pode aumentar e, portanto, a digestibilidade do alimento pode ser afetada de forma negativa. Os fatores que afetam mais claramente o consumo do alimento e digestibilidade são o conteúdo de parede celular da dieta, a digestibilidade potencial da parede celular e a taxa de passagem pelo rúmen. Um papel menor pode ser atribuído à taxa da digestão do alimento, ao tempo de colonização e a composição química da partícula no rúmen (MERTENS, 1993).

A estimativa *in vivo* do valor nutritivo dos alimentos para ruminantes é limitada pela necessidade de ter um número representativo de animais homogêneos para serem mantidos durante um período de adaptação e de amostragem, aumentando os custos de avaliação em grande escala (FONDEVILA & BARRIOS, 2001). Além disso, as avaliações estão sujeitas ao erro associado ao uso de indicadores para a medição do fluxo da digesta, marcadores microbianos e variação inerente ao animal (STERN *et al.*, 1997).

Por tal razão têm-se desenvolvido técnicas *in vitro*, as quais são menos onerosas e facilitam o controle das condições experimentais. Essas técnicas de laboratório podem ser eficientes desde que sejam facilmente reproduzíveis e altamente correlacionadas com resultados obtidos *in vivo* (GETACHEW *et al.*, 1998).

2. Objetivo geral

- Avaliar o valor nutritivo de três espécies forrageiras: capim-Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia), o capim-Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu), e o Tifton 85 (*Cynodon spp*) em duas épocas distintas do ano e com três idades de rebrota (28, 35, 42 dias), através da composição química, o fracionamento de proteína e carboidratos, fermentabilidade ruminal e digestibilidade *in vitro*.

3. Revisão de literatura

3.1 Gramíneas tropicais e suas características de digestibilidade

O conceito de valor nutritivo refere-se à composição química da forragem e sua digestibilidade (GERDES *et al.*, 2000), já o termo qualidade da forragem representa a associação da composição bromatológica, da digestibilidade (proporção do alimento que é digerido e metabolizado pelo animal), e do consumo voluntário, entre outros fatores da forragem (MOTT, 1970).

O valor nutritivo da forragem pode ser bastante diferente para as diversas espécies forrageiras e partes da planta e, como se relacionam com o consumo (MERTENS, 1994). Os estudos que caracterizam as pastagens em termos de composição química e digestibilidade da forragem são relevantes na avaliação de forrageiras, pois auxiliam na indicação quanto à necessidade de suplementação, em determinadas épocas, para algumas categorias de animais. Ainda, o estudo do valor nutritivo da forragem contribui para a identificação dos possíveis pontos que restringem o consumo de nutrientes e, conseqüentemente, a produção animal (BRÂNCIO *et al.*, 2002).

Em uma forrageira existe uma relação inversa entre produção de matéria seca por unidade de área e valor nutritivo. As gramíneas tropicais são plantas extremamente eficientes no processo fotossintético, absorvem CO₂ através da via

metabólica do ciclo C4, acumulando grandes quantidades de biomassa, de forma muito rápida. No entanto, esse rápido crescimento venha acompanhado de rápido amadurecimento, com queda precoce do valor nutritivo da forragem produzida (DERESZ *et al.*, 1994), quando comparadas às plantas de ciclo C3 (VAN SOEST, 1994).

Por outro lado, o mais baixo valor nutritivo das forrageiras tropicais, comparado às de clima temperado, está relacionado ao reduzido teor de proteína e minerais e ao alto conteúdo de fibras o que está associado às condições climáticas (precipitação, intensidade luminosa, temperatura, etc). À medida que a idade fisiológica da planta avança, aumentam as porcentagens de celulose, e hemicelulose, lignina, reduzindo assim a proporção dos nutrientes potencialmente digestíveis (carboidratos solúveis, proteínas, minerais e vitaminas), o qual representa uma queda acentuada na digestibilidade (REIS *et al.*, 2005).

Dois dos mais importantes aspectos da fibra, são o estímulo à ruminação e a salivação formando um ambiente normal e favorável no rúmen, para que este funcione como um sistema de filtragem e prevenindo a rápida passagem do alimento e conseqüentemente perda de nutrientes (VAN SOEST *et al.*, 1991).

As hastes, da maioria de espécies de plantas, têm uma concentração maior de fibra do que as folhas, e as gramíneas contêm geralmente mais fibra do que as leguminosas. A concentração da fibra aumenta também com a maturidade, que é o fator mais importante que afeta a digestibilidade da matéria seca. Além do aumento da concentração de fibra dentro das hastes e da maioria das folhas, esta também é maior na forragem total devido ao decréscimo da relação folha/haste com a maturidade das plantas (BUXTON & REDFEARN, 1997).

Nem toda a fração fibrosa da planta é digestível, mesmo permanecendo no rúmen por muito tempo. Em hastes maduras da forragem, até dois terços da fibra em detergente neutro (FDN), mais do que a metade dos polissacarídeos estruturais pode ser completamente indigestíveis (BUXTON & CASLER 1993).

Reduzindo-se a quantidade de fibra nas hastes e folhas de gramíneas pode ser um método direto para aumentar a digestibilidade. No entanto, aumentar a taxa

de digestão da fibra poderia ter um grande impacto na qualidade das gramíneas do que nas leguminosas, devido a maior parte da energia digestível ser proveniente da fibra das gramíneas (BUXTON & REDFEARN, 1997).

A digestibilidade de uma forrageira está relacionada a sua composição bromatológica e, também a sua composição histológica. Ela não é constante para todos animais ou para todas as condições de alimentação, mas a principal fonte de variação decorre das diferenças na sua estrutura, composição química e estágio de maturidade. Dietas com alto conteúdo de fibra podem limitar o aporte energético para o animal, por reduzirem a digestibilidade ou por resultarem em enchimento excessivo do trato digestivo, limitando o consumo.

A lignina é o maior componente da parede celular das plantas que limita a digestão dos polissacarídeos estruturais no rúmen, sendo identificada como principal responsável pelas limitações da digestibilidade da fibra. Mas a variação na digestibilidade das forragens não pode ser explicada apenas pelas concentrações da lignina (BUXTON & REDFEARN, 1997).

O efeito da lignina na digestibilidade das forragens tem uma influência direta maior na digestibilidade da parede celular em relação a digestibilidade total da matéria orgânica (MO) da forragem (JUNG & ALLEN, 1995). A lignina parece exercer seu efeito negativo na digestibilidade dos polissacarídeos da parede celular protegendo os mesmos da hidrólise enzimática. Este é aparentemente um obstáculo pois, as polissacaridases não podem alinhar-se corretamente com o substrato para que a hidrólise ocorra. Por causa do efeito da maturidade na concentração da lignina nas hastes e da redução da relação folha/haste com maturidade, a concentração da lignina pode ser uma medida excelente do valor nutritivo da forragem para programas de seleção e melhoramento genético, e para formulação de rações.

De acordo com AKIN (1973), pode-se relacionar o potencial de digestibilidade de uma planta com os diferentes tecidos vegetais ou tecidos específicos. Para ALLEN (1996), o melhor componente do alimento que funciona para predição do consumo de matéria seca por ruminantes é o conteúdo de FDN.

Segundo MERTENS (1992), a FDN pode ser utilizada para caracterizar na dieta a expressão dos dois mecanismos de controle do consumo em uma mesma escala, por estar diretamente relacionada ao efeito do enchimento do rúmen e inversamente com o nível energético da dieta. Portanto, concluiu-se que o sistema FDN e energia tem como base dois conceitos de regulação do consumo pelos animais: (1) O conceito de limitação física indica que os animais consumiram dietas com altos teores de fibra até a capacidade de “enchimento” constante. (2) O conceito fisiológico indica que os animais ingerem alimento até satisfazerem suas demandas energéticas, quando dietas ricas em energia (pobres em fibras) são oferecidas.

A FDN tem uma forte correlação com ingestão de alimentos em ruminantes e a fibra em detergente ácido (FDA) uma forte correlação com a digestibilidade da matéria seca (BUXTON & REDFEARN, 1997).

3.2 Descrição das espécies forrageiras

O *Panicum maximum* Jacq. cv Tanzânia é um cultivar lançado pela EMBRAPA, MS, centro nacional de pesquisa de gado de corte (CNPGC) em 1990, destacando-se pelo seu alto potencial produtivo em relação ao capim-colonião, em solos de boa fertilidade. Originária da África tropical, é uma gramínea cespitosa, com aproximadamente 1,30m de altura média e folhas decumbentes com 2,6cm de largura. Os colmos são levemente arroxeados e as lâminas e bainhas não possuem pilosidade ou serosidade (ALMEIDA, 1999). As inflorescências são do tipo panícula, com ramificações primárias longas apenas na base. As espiguetas são arroxeadas, glabras e uniformemente distribuídas, o verticilo é glabro (SAVIDAN *et al.*, 1990).

A variação na concentração de proteína bruta entre as folhas e colmos é bastante notória nas plantas forrageiras, principalmente com a maturação, em estudo de EUCLIDES *et al.* (1993) citados por HERLING *et al.* (2000), reportou-se teores de proteína bruta (PB) de 16,1 e 7,4% e valores de digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) de 61,3 e 56,7 % para idades imatura e madura respectivamente.

Em estudo de BALSALOBRE *et al.* (2003), avaliando o capim-Tanzânia, irrigado sob três níveis de resíduo pós-pastejo, encontraram os seguintes valores de composição química, e fracionamento de carboidratos e proteína: os valores de FDN, variaram entre 62,79 e 68,33% da matéria seca (MS), os teores de FDA variaram entre 32,55 e 34,89% da MS, os teores de lignina variaram entre 3,10 e 4,68% MS. No fracionamento dos carboidratos a fração C esteve entre 14,14 e 23,21% dos carboidratos totais (CT), o aumento no teor da fração C dos carboidratos foi acompanhado por redução da fração B₂, de 70,48 a 53,61% CT. As frações A e B₁ compreenderam valores entre 15,38 e 23,18% CT, com média de 20,05%. Os valores encontrados no fracionamento da proteína foram: na fração B₁ 3,92 a 8,03% da PB, os teores da fração A variaram entre 18,23 e 28,77% da PB, a fração B₂ de degradação intermediária, apresentou variação entre 14,96 e 25,16% da PB e a fração B₃ em média foi de 40% da PB. Os valores da fração C estiveram entre 6,48 e 11,94% da PB.

O capim Tifton 85 (*Cynodon spp*) é um híbrido F₁ interespecífico entre Tifton 68 (*Cynodon nlemfuensis*) e uma introdução, aparentemente *Cynodon dactylon*, proveniente da África do Sul, denominada PI 290884. Ela foi descrita como sendo mais alta, com colmos maiores, folhas mais largas e com coloração verde mais escura que outros capins-bermuda híbridas (PEDREIRA, 2005). Uma gramínea caracterizada por ser perene, estolonífera, com grande massa foliar, hastes grandes, e rizomas bem desenvolvidos que são caules subterrâneos que mantêm as reservas de carboidratos solúveis, e nutrientes, e que proporciona resistência à seca, geada, fogos e pastejos baixos (BURTON *et al.*, 1993). Este híbrido foi desenvolvido pela alta produtividade, alto valor nutritivo, tolerância ao pastejo e produção de feno (HILL *et al.*, 1998). Como características morfofisiológicas e exigências edafoclimáticas apresenta agressividade das plantas, podendo tornar-se invasoras; exigência média a alta em fertilidade de solo; melhor adaptabilidade em climas mais amenos, propagação quase que exclusivamente através de mudas (propagação vegetativa) (EVANGELISTA & PINTO, 2005).

Quantificando as frações nitrogenadas em % da PB do capim Tifton 85, MALAFAIA *et al.* (1997) encontraram frações A e B₁ respectivamente de 17,38 e 2,54% sendo estas inferiores a *Brachiaria decumbens* (32,28 e 4,54%) e superiores a *Brachiaria brizantha* (11,58 e 1,65%). A fração C do capim Tifton apresentou 16,95% da PB, e as frações B₂ e B₃ foram 36,18 e 26,95% da PB, respectivamente.

A *Brachiaria brizantha* é uma gramínea perene originária na África, encontrada nas regiões tropicais, propagada por sementes, com hábito de crescimento cespitoso (EVANGELISTA & ROCHA, 1997). A espécie apresenta potencial de produção, vigor de rebrota e qualidade de forragem muito satisfatórios (BOTREL *et al.*, 1998). São plantas pouco tolerantes a temperaturas baixas e, portanto não indicadas para regiões susceptíveis a geadas. A temperatura ótima para seu crescimento é por volta de 30°C, sendo que temperaturas inferiores a 25°C causam redução na taxa de crescimento. É uma espécie que se adapta a diversas condições de solo de baixa a média fertilidade (DA SILVA, 1995). Entre os atributos positivos da espécie se conta com alta resistência à cigarrinha das pastagens, alta resposta a aplicação de fertilizantes, alta habilidade de cobertura do solo com domínio sobre invasoras, boa performance sob sombra, boa qualidade forrageira, alta produção de raízes e de sementes. Outras características da espécie são baixa adaptação a solos mal drenados, resistência moderada à seca, necessidade de solos medianamente férteis para persistência a longo prazo, susceptibilidade à mancha foliar fúngica (RAO *et al.*, 1996),

HERRERO *et al.* (2001), reportaram valores de 12 e 55% da MS para PB e digestibilidade da matéria seca (DIVMS) respectivamente em folhas com 4 e 6 semanas. Em outro estudo realizado por ALVES DE BRITO *et al.* (2003), encontraram na *Brachiaria brizantha* os seguintes níveis na planta inteira: PB 13, 27% da MS, FDN 71,95% da MS, digestibilidade *in situ* da MS 56,91%, e digestibilidade *in situ* da FDN 35,99%. Em outro estudo MALAFAIA *et al.* (1997), encontraram nesta espécie aos 60 dias de corte, níveis de PB de 7,5%, FDN 80,45%, e no fracionamento de proteína encontraram como porcentagem da PB fração A 11,58%,

B₁ 1,65%, B₂ 32,97%, B₃ 34,17% e C 27,73%, o que mostra uma alta quantidade de proteína que não seria digerida no trato gastrointestinal (fração C).

3.3 Composição química e digestibilidade *in vitro*

A análise química da forragem fornece informações importantes, que podem promover melhor entendimento dos fatores que limitam o desempenho animal. No entanto, os métodos de caracterização química não podem estimar diretamente o valor nutritivo da forragem, mas sem dúvida, apresentam uma relação direta com a ingestão e a digestibilidade (CHERNEY, 2000).

A digestibilidade dos alimentos apresenta estreita relação com sua composição química. Alimentos que variam pouco na composição apresentam ligeiras variações na digestibilidade. Porém, alimentos tais como forragens frescas ou conservadas, apresentam uma composição menos constante e, sua digestibilidade, é mais variável, a fração fibrosa dos alimentos é a mais afetada sendo importante tanto à quantidade como a composição da fibra (McDONALD *et al.*, 1993).

MERTENS (1994) relatou que o valor nutritivo de um volumoso pode ser avaliado pela sua digestibilidade e seus teores de proteína bruta e de parede celular, características intimamente correlacionadas com o consumo de matéria seca.

HUNGATE (1966) indicou que a digestibilidade *in vivo* poderia ser predita de procedimentos *in vitro* que recriaram as condições do rúmen e do abomaso. Por este motivo foi desenvolvido o ensaio de digestibilidade gravimétrico de dois estágios por CLARK (1958) citado por MOTT & MOORE (1970) e logo modificado e conhecido como procedimento TILLEY & TERRY (1963).

Neste método, líquido ruminal, saliva artificial, e amostras de forragem seca e moída, são misturados em tubos de digestão. Nos tubos é injetado CO₂, fechados e incubados por 48h a 39° C, sendo agitados nos seguintes intervalos: 2, 4 e 24h depois da incubação. O pH é mantido entre 6,7 e 6,9 para otimizar as condições de crescimento e desenvolvimento dos microrganismos. Depois de 48h de incubação,

ácido clorídrico é adicionado para inibir a atividade microbiana e favorecer a sedimentação. Logo após, é adicionado pepsina e re-incubado por 48h a 39° C, a quantidade de matéria seca ou matéria orgânica que desaparece após os dois estágios é considerada como tendo sido digerida (OMED *et al.*, 2000).

O método de TILLEY & TERRY (1963) tem sido amplamente testado e usado, e algumas vezes modificado (ex: GOERING & VAN SOEST, 1970). Segundo OMED *et al.* (2000) as estimativas de digestibilidade obtidas com a metodologia têm mostrado altas correlações com resultados *in vivo*.

GOERING & VAN SOEST (1970) modificaram o procedimento inicial de TILLEY & TERRY (1963), o segundo estágio com pepsina e ácido clorídrico é substituído pela lavagem de resíduo remanescente da digestão pela solução detergente neutro e estimando a digestibilidade verdadeira.

As desvantagens que têm estes métodos são:

- O método é uma medição final;
- A metodologia não gera informação da cinética da digestão da forragem;
- A digestão destrói as amostras, na qual a determinação com o resíduo, precisa de um grande número de repetições por amostras;
- A técnica apresenta dificuldades para ser aplicada a frações da parede celular.

Embora métodos usando inóculo microbial tenham sido amplamente usados, há problemas inerentes a seu uso; por este motivo se tem usado enzimas celulolíticas, como alternativa ao líquido ruminal, as quais eliminam a necessidade de usar animais fistulados, e procedimentos anaeróbios, assim como simplificam a metodologia analítica e eliminam a variação entre análises de diferentes rodadas (JONES & THEODOROU, 2000).

3.4 *Fracionamento de proteína e carboidratos*

O sistema CNCPS “The Cornell Net Carbohydrate and Protein System” utiliza uma abordagem dinâmica para calcular os nutrientes de uma dieta. Baseia-se no fracionamento dos carboidratos e proteínas. Da maneira como os microrganismos

ruminais, de modo diferenciado fazem uso destes compostos, sendo levadas em consideração as diferenças quanto à utilização dos carboidratos para manutenção e crescimento, quanto à utilização e natureza dos compostos nitrogenados consumidos e quanto à sincronização entre a disponibilidade de energia e nitrogênio para maximização do crescimento microbiano no rúmen (RUSSELL *et al.*, 1992; SNIFFEN *et al.*, 1992; e NRC, 1996).

O CNCPS categoriza os microrganismos do rúmen como bactérias que fermentam os carboidratos fibrosos (CF) e carboidratos não fibrosos (CNF). Geralmente as bactérias que fermentam CF degradam celulose e hemicelulose, crescendo mais lentamente, e utilizam amônia como fonte primária de N para síntese de proteína microbiana. As bactérias que fermentam CNF utilizam amido e pectina, e normalmente crescem mais rápido que as CF, podendo utilizar amônia ou aminoácidos como fonte de nitrogênio. A taxa de crescimento bacteriano é determinada pela quantidade de carboidratos (CHOS) digeridos no rúmen, sendo as taxas de degradação (Kd) dos CHOS condicionado a fontes adequadas de nitrogênio e disponibilidade de outros nutrientes essenciais. O CNCPS assume que o crescimento bacteriano é proporcional ao Kd, esta suposição relaciona-se a hipótese de que o rúmen opera com limitações de substrato, estando a massa microbiana em excesso.

Neste sistema, a proteína do alimento é dividida de acordo com a solubilidade e taxas inerentes de degradação ruminal em três frações: nitrogênio não protéico (NNP), proteína verdadeira e nitrogênio indisponível; essas frações são descritas como fração A (NNP), B (proteína verdadeira) e C (ligações de proteína verdadeira a lignina e produtos da reação de “Maillard”). A fração B é dividida em três sub-frações (B₁, B₂ e B₃).

A fração A (amônia, peptídeos e aminoácidos) é rapidamente convertida em amônia no rúmen. A fração B₁ é rapidamente degradada no rúmen, a maioria da proteína solúvel em forragens frescas é fração B₁. A fração B₂, apresenta taxa de degradação média, é a fração da proteína que não é solúvel em borato fosfato, não faz parte da parede celular e também não é NNP; alguma fração de B₂ é fermentada

no rúmen e alguma escapa para o intestino, isto depende das taxas de digestão e passagem. A fração B₃ é insolúvel em detergente neutro mas solúvel em detergente ácido, é uma fração com uma taxa de degradação muito lenta, já que se encontra associada com a parede celular da planta (extensina). A fração C, corresponde à proteína indisponível, é a parte da proteína contida na FDA (n-FDA), está associada com a lignina, complexos de tanino-proteína e de produtos da reação de Maillard que são altamente resistentes à degradação microbiana e enzimática. Esta fração C não pode ser degradada pelas bactérias ruminais e não pode fornecer aminoácidos pós-rúmen. Os teores de nitrogênio ligados aos compostos da parede celular, tendem a aumentar com a idade fisiológica da planta, principalmente, aquela fração ligada a FDA (SNIFFEN *et al.*, 1992).

Os carboidratos são classificados em não-estruturais (CNE), que compreendem as frações A (açúcares) e B₁ (amido e pectina, composto fibroso solúvel), e podem ser fermentados por bactérias ruminais que utilizam amônia e peptídios como fonte de nitrogênio; e carboidratos estruturais (CE), constituídos pelas frações B₂ (fração potencialmente degradável, é parte do FDN do alimento, corrigida para o conteúdo em proteína e cinzas) que é lentamente fermentada no rúmen por bactérias que usam a amônia como fonte de nitrogênio e C (fração indegradável da parede celular) (VAN SOEST *et al.*, 1991; SNIFFEN *et al.*, 1992; VAN SOEST, 1994).

As gramíneas tropicais apresentam teores de carboidratos solúveis e amido (frações A e B₁) raramente superiores a 20% dos CT (VIEIRA *et al.*, 2000b), por este motivo MALAFAIA *et al.* (1997) propôs a caracterização dos carboidratos não fibrosos como o somatório das frações A e B₁ visando maior praticidade analítica, evitando desta forma a análise de amido, que tem como características indesejáveis o custo e a baixa repetibilidade, vindo também a facilitar a formulação das dietas para ruminantes. A fração indisponível (C) depende do teor de lignina, portanto, plantas de idade fisiológica mais avançada apresentam maiores teores dessa fração. O aumento da fração C promove redução da fração potencialmente degradável (B₂) (CABALLERO *et al.*, 2001).

3.5 Produção de gases

Técnicas de laboratório para avaliar alimentos certamente desempenham uma importante função nos futuros sistemas de produção animal (KRISHNAMOORTHY *et al.*, 2005). As técnicas de produção de gases *in vitro* foram desenvolvidas para prever a fermentação de alimentos para ruminantes. O alimento é incubado com líquido ruminal, meio e os gases produzidos são medidos como indicadores indiretos da cinética de fermentação. Quando o alimento é incubado, este primeiramente é degradado e a fração degradada pode ser fermentada e produzir gases e ácidos da fermentação ou incorporar-se à biomassa microbiana (RYMER *et al.*, 2005). O principal objetivo da técnica de produção de gases *in vitro* é prover informação que é relevante na interpretação de valores nutricionais de alimentos e/ou respostas animais e/ou impactos animais no ambiente (KRISHNAMOORTHY *et al.*, 2005).

O princípio de determinar a degradabilidade ruminal potencial ou fermentabilidade de um alimento por medição dos gases produzidos em uma cultura foi primeiramente desenvolvido por MCBEE (1953) e HUNGATE (1966). TREI *et al.* (1970) adaptaram as primeiras técnicas ao deslocamento da água a um manômetro de cada recipiente para medir os gases produzidos. Similarmente, JOUANY & THIVEND (1986) e BEUVINK & SPOELSTRA (1992) usaram medições invertidas em cilindros para determinar o volume de água deslocado, e BEUVINK *et al.* (1992) automatizaram a técnica de deslocamento da água.

Deslocamento direto do êmbolo por fermentação de um alimento dentro de uma seringa de vidro foi desenvolvido por CZERKAWSKI & BRECKENRIDGE (1975) e foi a base do “Hohenheim Gas Test” logo desenvolvido por MENKE *et al.* (1979). BLÜMMEL & ØRSKOV (1993) modificaram a técnica por incubar as seringas em um banho maria e não em um incubador rotatório. A técnica da seringa foi originalmente desenvolvida para determinar o ponto final de fermentação de alimentos, em 24h, embora medições do deslocamento do embolo a intervalos mais frequentes, podem determinar perfis da cinética da fermentação.

WILKINS (1974) descreveu uma aproximação diferente de medição das cinéticas de fermentação *in vitro*, onde a fermentação foi realizada em garrafas seladas e os gases produzidos foram determinados usando um transdutor ou sensor de pressão para medir o acúmulo de pressão no “head space” da garrafa, este princípio tem sido amplamente adotado por ser simples e sensitivo. A técnica de medição de pressão manual foi descrita por THEODOROU *et al.* (1994), esta metodologia usa uma válvula de fechamento de três vias conectadas à uma seringa (para a medida do volume de gás), e um sensor de pressão ligado a uma exposição numérica e um frasco fechado de incubação. Também foram desenvolvidas a semi e total automatização da medição da pressão no “head space” e foram descritas por PELL & SCHOFIELD (1993), CONE *et al.* (1996), MAURICIO *et al.* (1999) e DAVIES *et al.* (2000), na qual a semi-automatização consiste em um transdutor que mede a pressão e registra os dados para depois ser descarregado no computador, já o uso de sensores computarizados para monitorar a produção de gases de cada garrafa foi desenvolvido na técnica automatizada.

Fatores podem comprometer a fermentação *in vitro* tais como: a fonte e preparo do inóculo, composição e preparo do meio, preparo do substrato, afetando assim, a medição de produção de gases. Uma vez obtido o perfil de produção de gases, dispõem-se de muitos modelos para descrevê-lo matematicamente. Entretanto, esses modelos para descrição das curvas de produção de gases nem sempre produzem parâmetros biologicamente significativos. Dados de produção de gases *in vitro* podem ser úteis quando são complementados com outros dados, como composição química do substrato e/ou sua digestão *in vitro*, para atuar em modelos matemáticos mais complexos que predizem fenômenos relacionados com o funcionamento do rúmen (KRISHNAMOORTHY *et al.*, 2005). A maioria das bactérias celulolíticas estão aderidas às partículas do alimento da fase sólida, e a microbiota oportunista, ou não específica então na fase líquida. Idealmente, a composição dos microrganismos no inóculo tem de ser representativa, em termos de qualidade e quantidade, como estes são encontrados no rúmen dos animais doadores. A contribuição dos microrganismos associados à fase sólida à degradação é vital,

especialmente quando forragens com alto conteúdo de parede celular são avaliadas (BUENO *et al.*, 2005).

Segundo BUENO *et al.* (2005), os sistemas de produção de gases *in vitro* proporcionam uma estimativa da digestibilidade da matéria seca (MS) e/ou da matéria orgânica (MO), e são um indicador direto dos produtos finais produzidos, como a produção de gases, e indireta como ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).

De acordo com GETACHEW *et al.* (2004), a quantidade de gases produzidos de um alimento em incubação reflete a produção de AGCC, os quais são a principal fonte de energia dos ruminantes. Os gases surgem diretamente da degradação microbiana dos alimentos, e indiretamente da reação do tampão com os ácidos gerados como resultado da fermentação.

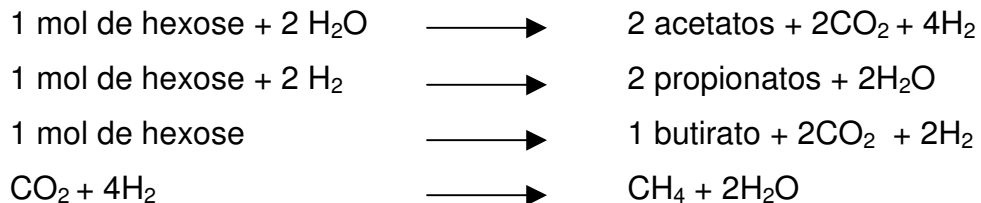
A cinética da degradação ruminal e o ritmo fracional da produção de gases *in vitro* têm se relacionado, entre outros fatores, com o perfil dos carboidratos e da proteína dos alimentos, bem como o teor de extrato etéreo. Este conhecimento permite sincronizar a degradação de nitrogênio e carboidratos no rúmen, para que se obtenha a máxima eficiência de síntese de proteína microbiana e reduzir as perdas energéticas e nitrogenadas decorrentes da fermentação ruminal, tentando, com isso, prever com maior exatidão o desempenho dos animais a partir dos ingredientes da dieta (RUSSELL *et al.*, 1992; SNIFFEN *et al.*, 1992).

3.6 *Produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e a estequiometria da fermentação ruminal*

O principal evento associado com a fermentação ruminal, derivada de monossacarídeos e polissacarídeos alimentares, é a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico e a produção de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄). Na maioria das situações alimentares o ácido acético é predominante, e com o ácido butírico refletem dietas ricas em forragens, na qual, bactérias celulolíticas proliferam. Em contraste, bactérias amilolíticas dominam em dietas enriquecidas com amido, onde o

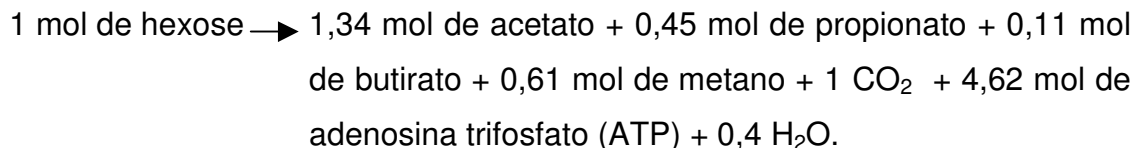
incremento dos teores do ácido propiônico, são normalmente observados (BEEVER & MOULD, 2000). Os AGCC podem ser considerados um resíduo da fermentação para os microrganismos, entretanto para o ruminante, representam a principal fonte de energia. A energia presente nos AGCC representa em torno de 75 a 80% da energia originalmente presente nos carboidratos fermentados e, normalmente, contribuem em 50 a 70% da energia digestível do alimento (KOZLOSKI, 2002).

As reações da fermentação de hexoses da parede celular foram descritas por HUNGATE (1966):



A formação de ácido propiônico é a única reação que precisa de hidrogênio (H₂) e não gera CO₂ (VAN SOEST, 1994). O excesso de H₂ no rúmen é convertido a metano pelas bactérias metanogênicas, de acordo com o balanço estequiométrico a produção de acetato e de butirato promovem maior produção de CH₄ (WOLIN, 1960 citado por TEDESCHI *et al.*, 2003).

O caminho completo da produção de AGCC para o equivalente-hexose de dietas ricas em forragens é resumida por BEEVER (1993):



As taxas de produção de AGCC variam com o tempo após a ingestão, e com o tipo de alimento. Quando o alimento é à base de concentrado, a curva é mais aguda e o pico de produção ocorre em torno de 2 a 3h após a ingestão. De outro modo,

quando a dieta consiste de forragem (volumoso), a curva de produção é menos aguda e o pico ocorre em torno de 4 a 5h após a ingestão (KOZLOSKI, 2002).

CAPITULO II. COMPOSIÇÃO QUÍMICA, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO DE GASES “IN VITRO” DE TRÊS ESPÉCIES FORRAGEIRAS TROPICAIS.

1. Introdução

Dentro de um sistema de exploração pecuária com base em pastagens, plantas forrageiras desempenham uma função extremamente importante, tanto para a rentabilidade como para a sustentabilidade do sistema. Apesar de necessária, a utilização de pastagens não é tão simples quanto aparenta. Plantas forrageiras, quando consideradas dentro de um ambiente de pastagens, integram um ecossistema dinâmico e complexo. Isso porque existe uma interatividade muito grande entre componentes distintos do sistema (solo, planta, animal). Dessa maneira, perturbações naturais (pragas, doenças, seca, chuva, etc) ou manejo inadequado em qualquer um dos componentes conduz, invariavelmente, a uma queda na produtividade global do sistema e, inevitavelmente, na sua rentabilidade, assim pastagens devem ser analisadas dentro de um contexto global (DA SILVA & SBRISSIA, 2000).

A produtividade dos ruminantes depende de sua habilidade em consumir e extrair energia dos alimentos disponíveis (ALLEN, 1996). Estes têm a capacidade de converter alimentos de baixa qualidade em proteína de alta qualidade e utilizar alimentos não disponíveis para o consumo humano (VARGA & KOLVER, 1997). A alimentação é baseada em sua competência em digerir carboidratos estruturais da planta tais como a celulose. Esta digestão é realizada sob condições anaeróbias no rúmen por um consórcio complexo basicamente composto de bactérias, de fungos e protozoários.

Dentro dos sistemas de produção de ruminantes, aspectos importantes como estratégias de uso das plantas forrageiras devem ser enfocados, uma vez que existem diferenças marcantes de qualidade das forragens de acordo com seu estágio vegetativo, ambiente de crescimento e espécie. Nesse sentido, avaliar as características químicas e fermentativas de plantas forrageiras em diferentes idades

de corte e diferentes épocas do ano se torna importante para o entendimento dos processos envolvidos com a utilização das mesmas como fonte de nutrientes pelos animais e para ajustes aos manejos das espécies, como períodos de pastejo e época de diferimento das forragens.

Diferenças morfológicas e fisiológicas entre espécies, como o hábito de crescimento, perenebilidade, proporções e distribuição de folhas e hastes, e hábito de florescimento, têm efeitos significativos na quantidade e qualidade da forragem disponível para os ruminantes (NORTON, 1981).

Os alimentos fibrosos permanecem no rúmen de bovinos por um período de tempo médio, 36-48h, antes de passar ao intestino onde a maioria de digestão da fibra cessa. Há assim uma competição contínua entre os processos da digestão ruminal e a taxa de passagem do alimento. Por esta razão, os estudos em nutrição do ruminante devem incluir os tópicos de taxas de digestibilidade e degradabilidade da fibra (BUXTON & REDFEARN, 1997).

De acordo com WILLIAMS (2000), as técnicas de laboratório existentes concentram-se em estimar a degradação no rúmen, a razão para isto é que a forragem consiste em sua maior parte de carboidratos na forma de fibra, e estes só podem ser digeridos pelos microrganismos no rúmen. No momento existem técnicas que medem a digestibilidade potencial (TILLEY & TERRY, 1963) ou a digestibilidade e taxa da degradação (*in situ*, e a produção acumulativa dos gases *in vitro*) (WILLIAMS, 2000).

A determinação da quantidade de gases produzidos *in vitro* é um indicador da fermentação dos produtos alimentares pela digestão microbiana, cujo princípio básico está na relação entre a fermentação e degradabilidade do alimento. Os gases (dióxido de carbono CO₂, e metano, CH₄) são os resíduos da fermentação. A técnica de produção de gases tem muitas vantagens nos termos de bem-estar animal, tamanho de amostra e custo, e o fato mais importante é que descreve as cinéticas da atividade dos microrganismos em resposta a um substrato determinado (WILLIAMS, 2000).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a composição química e fracionamento de proteína e carboidratos de três espécies forrageiras: capim-Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia), o capim-Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu), e o Tifton 85 (*Cynodon spp*) com três diferentes idades de rebrota (28, 35, 42 dias) em duas épocas distintas do ano (janeiro-março e abril-junho); estimar a digestibilidade e produção de gases *in vitro*, e relacionar a composição química e a digestibilidade *in vitro* com a produção de gases *in vitro*.

2. Material e métodos

2.1 Local

O trabalho foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, Estado de São Paulo, Brasil, localizado a 21°15'22" de latitude sul e 48°18'58" de longitude a oeste de Greenwich e a uma altitude de 595 metros. O clima é classificado com Cwa- mesotérmico de inverno seco, pelo sistema internacional de Köppen. Apresenta temperatura média anual de 22,3°C, e precipitação pluvial média de 1400mm, com 85% do total das chuvas concentradas nos meses de outubro a março. No período experimental compreendido do 26 de janeiro a 26 de junho, o total de chuva foi 784,8mm, flutuando a temperatura máxima e mínima entre 31,8 e 14,4°C, com temperatura média de 22,8°C (Tabela 1).

Tabela 1. Dados meteorológicos mensais do primeiro semestre (período experimental) de 2005 em Jaboticabal

Mês	Tmax (°C)	Tmin (°C)	Tmed (°C)	Precipitação (mm)
Janeiro	29,6	20,7	24,1	358,5
Fevereiro	31,8	18,7	24,3	81,2
Março	31,0	19,7	24,3	128,0
Abril	30,9	19,0	23,9	59,6
Maio	27,9	15,1	20,6	127,4
Junho	27,0	14,4	19,7	30,1

2.2. Área e período experimental

A área experimental ocupou um total de 264m², sendo o tamanho da área por espécie de 8 x 11m (88m²). O período experimental teve duração de 5 meses, de janeiro a junho de 2005. Cada área foi dividida em três canteiros, um para cada idade de corte (28, 35 e 42 dias). No início do experimento e após cada período de amostragem, todas as parcelas foram fertilizadas com 60kg N/ha para favorecer o crescimento e cortadas com diferentes alturas de manejo para cada espécie (capim Tanzânia: 30cm de altura, capim Marandú: 25cm, Tifton 85: 15cm), a fim de uniformizar o crescimento das mesmas.

A amostragem do capim foi realizada adotando-se um quadrado de 1m² de área, o qual foi lançado, ao acaso, em três pontos do canteiro. A forragem encontrada dentro da área do quadrado foi cortada nas alturas de manejo de cada capim antes mencionadas. O material cortado foi pesado para estimar a produção de matéria verde por hectare e colocado em estufa com circulação forçada de ar a 55°C, durante 72 horas. Por causa das condições climáticas no início do experimento, em cada amostragem do canteiro (3), não se obteve material suficiente para realizar todas as análises, por esta razão as três repetições de campo foram juntadas para representar a área, gerando uma amostra composta a qual originou as duas repetições com a qual se trabalhou ao longo do experimento em todas as análises realizadas. Posteriormente, o material foi pesado e moído em moinho tipo Willey com peneira de malha de 1mm.

2.3 Análises laboratoriais

As amostras pré-secas foram utilizadas na determinação do conteúdo de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) de acordo com AOAC (1990), e fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), segundo VAN SOEST *et al.* (1991). A matéria orgânica (MO) das amostras foi obtida por diferença (100 – MM).

2.4 Digestibilidade *in vitro*

A digestibilidade *in vitro* foi determinada pelo procedimento de TILLEY & TERRY (1963) de dois estágios de incubação de 48 horas cada um. No primeiro estágio as amostras (secas e moídas), foram pesadas (0,5g) e colocadas em tubos de ensaio (de 100mL de capacidade, com rolhas de borracha equipadas com válvulas de Bunsen, para o escape dos gases), nos quais, foram adicionados 40mL de solução tampão McDougal, Tabela 2 (McDOUGAL, 1949), e 10mL de líquido ruminal (coletado em jejum de um animal doador, adaptado por 10 dias à forragem verde). A inoculação dos tubos foi realizada com constante borbulhamento de CO₂, incubados em estufa com circulação de ar forçado a 39° C por 48h. Os tubos foram agitados durante o primeiro estágio às 2, 4 e 24 horas depois da incubação para permitir o escape dos gases. Após a primeira etapa, se adicionou em cada tubo 2mL de HCl ao 6N (HCl concentrado 12N, com igual quantidade de água destilada (1:1)), e 6mL de pepsina, ao 5% (50gL⁻¹), e se incubou novamente, por mais 48h a 39° C. Após a digestão com pepsina o conteúdo dos tubos foi transferido para cadinhos previamente pesados. Os tubos foram lavados com água destilada quente para a recuperação total das partículas remanescentes. Os cadinhos foram levados à estufa a 105° C por 12 horas, esfriados em dessecador e pesados, e finalmente levados para mufla a 550° C por 3h.

Tabela 2. Solução tampão McDougal**

Ingrediente	Quantidades* (g)
Na ₂ HPO ₄	3,71
KCl	0,57
NaCl	0,47
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,12
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,05

* para preparação de 1L

** Para cada 300mL da solução tampão agregou-se 5mL da solução uréia (5,5g de uréia/100mL) e 5mL da solução de glicose (5,5g de glicose/100ml).

2.5 Fracionamento de proteínas e carboidratos

O fracionamento de proteína (Tabela 3), foi realizado de acordo com LICITRA *et al.* (1996), no qual a fração A (NNP) foi obtida pelo tratamento da amostra (0,5g) com 50mL de água destilada por 30 minutos e pela adição subsequente de 10mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% por mais 30 minutos. Após, filtrou-se em papel de filtro (Whatman 54) e foi determinado o nitrogênio residual. Pela diferença entre o nitrogênio total e o nitrogênio residual insolúvel em TCA, foi obtida a fração A. O nitrogênio insolúvel total foi determinado a partir do tratamento de 0,5g da amostra com tampão borato-fosfato (TBF). O nitrogênio solúvel total foi obtido pela diferença entre o nitrogênio total menos o nitrogênio insolúvel no TBF. A fração B₁ (pertinente às proteínas solúveis) foi determinada pela diferença entre a fração do nitrogênio solúvel total menos fração A. A fração B₃ foi calculada pela diferença entre o nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), os quais foram determinados por meio da fervura de 0,5g da amostra, com solução detergente neutra e ácida durante uma hora, respectivamente, em que os resíduos foram também analisados para nitrogênio. A fração C foi considerada como o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), e a fração B₂, determinada pela diferença entre 100 e as frações A, B₁, B₃ e C como porcentagem da proteína.

Tabela 3. Fracionamento de proteínas.

Fração	Estimativa	Degradação	Classificação
NNP	Não precipitável	Solúvel	A
Proteína verdadeira	Precipita com ácido tungstênico		
Proteína verdadeira solúvel	Solúvel em tampão, mas precipitável	Rápida	B ₁
Proteína insolúvel	Insolúvel em tampão	Variável	B ₂
Proteína insolúvel em detergente neutro, mas solúvel em detergente ácido	Proteína insolúvel em detergente neutro, mas solúvel em detergente ácido.	Lenta	B ₃
Proteína insolúvel em detergente ácido	Proteína danificada pelo calor, proteína associada a lignina.	Indigestível	C

VAN SOEST, 1994.

Os carboidratos totais e os carboidratos não-estruturais (Tabela 4), foram determinados segundo SNIFFEN *et al.* (1992), pelas expressões: carboidratos totais $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$, e carboidratos não-estruturais $(A+B_1) CNE = 100 - (\%PB + \%EE + \%FDNcp + \%MM)$, em que FDNcp equivale à parede celular corrigida para cinzas e proteínas. A fração B₂, foi calculada pela diferença entre FDNcp – Fração C (SNIFFEN *et al.*, 1992). A fração C foi obtida através de $\%LIG \times 2,4$ (MERTENS, 1973; citado por SNIFFEN *et al.*, 1992).

Tabela 4. Fracionamento de carboidratos.

Fração	Degradação	Classificação
Ácidos Orgânicos e Açúcares	Rápida	A
Amido, pectina, B glucanas	Medianamente degrada	B ₁
Parede celular potencialmente degradável (celulose e hemicelulose)	Degradação lenta	B ₂
Parede celular lignificada	Não degrada	C

(SNIFFEN *et al.*, 1992).

2.6 Produção de gases

Perfis acumulativos de produção de gases *in vitro* foram obtidos usando a metodologia de THEODOROU *et al.* (1994) modificada por MAURICIO *et al.* (1999), utilizando um medidor de pressão e registrador de dados (PDL200, LANA/CENA-USP, Piracicaba/SP, Brasil). O volume de gases produzidos foi medido com uma seringa para a construção da equação de produção de volume de gases.

Na fase laboratorial, foram incubadas um total de oito garrafas por amostra para realizar as medições da produção de gases e a degradabilidade aparente. Cada garrafa de vidro de 100mL, tinha: 0,6g de amostra com 6mL de inóculo, e 54mL de meio tampão (obtendo uma relação final de inóculo:meio 1:9). Estas garrafas foram seladas e mantidas a 39° C em estufa de ar forçado. As medições dos gases foram feitas nos horários 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 e 96 horas pós-

incubação. Para os ajustes de variação foram incubadas garrafas consideradas brancas, contendo as soluções de incubação sem substrato e um padrão interno (feno de Tifton 85), ao qual já se conhece o perfil da produção de gases.

Um dia antes da inoculação, foram pesadas as amostras, colocadas em cada garrafa e mantidas a 39° C, também foi preparado o meio de cultura (Tabela 5), sob fluxo contínuo de CO₂, e mantido em estufa a 39° C, e seus componentes (Tabela 6, 7, 8, 9), segundo THEODOROU *et al.* (1994) modificada por MAURICIO *et al.* (1999).

O inóculo ruminal foi obtido de 3 bovinos da raça Nelore com peso médio de 278kg, e idade média de 24 meses, fistulados no rúmen; foram usados três animais para evitar o efeito do animal sobre a produção de gases, assim o inóculo proveniente dos três foi homogeneizado e misturado no laboratório. A dieta dos animais foi com base em forragem verde (*Brachiaria brizantha*). O período de adaptação dos animais foi de 15 dias, durante os quais foram alojados em baias individuais com dimensões de 3,00 x 7,20m, e bebedouros comuns a duas baias. A digesta do rúmen foi colhida em jejum, coletando manualmente a fase sólida e a fase líquida do saco dorsal e ventral do rúmen, sendo colocadas em garrafas térmicas pré-aquecidas a 39° C imediatamente levadas ao laboratório, volumes iguais das duas fases (líquida e sólida) foram misturados no liquidificador por aproximadamente 10 segundos sob infusão de CO₂, assegurando assim que o inóculo resultante continha microrganismos celulolíticos (que estavam aderidos a partículas do alimento) e não específicos (livres na fase líquida). Após o inóculo foi filtrado em duas camadas de tecido tipo fralda e mantido em banho maria a 39° C com saturação de CO₂ até a inoculação.

Tabela 5. Composição do meio de cultura

Ingredientes	Quantidades *
Solução de macrominerais	208,100
Solução de microminerais	0,110
Solução tampão	208,100
Solução de resazurina ^a	1,000
Meio B	62,400
Água destilada	520,300

*mL; Solução em gL⁻¹; ^a 0,1gL⁻¹resazurina.

Tabela 6. Composição da solução de macrominerais

Ingredientes	Quantidades *
Na ₂ HPO ₄	3,75
KH ₂ PO ₄	3,32
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,6

* gL⁻¹

Tabela 7. Composição da solução de microminerais

Ingredientes	Quantidades *
CaCl ₂ .2H ₂ O	132
MnCl ₂ .4H ₂ O	100
CoCl ₂ .6H ₂ O	10
FeCl ₃ .6H ₂ O	80

* gL⁻¹

Tabela 8. Composição da solução tampão

Ingredientes	Quantidades *
NH ₄ HCO ₃	4
NaHCO ₃	35

* gL⁻¹

Tabela 9. Composição do meio B

Ingredientes	Quantidades *
Cysteine HCL	625 ^a
Água destilada	95 ^b
NaOH 1N	4 ^b
Na ₂ SO ₃	328,13 ^a

* um/100mL, ^amg, ^bmL

Para cada amostra de capim foram incubadas oito garrafas, para determinar a degradabilidade aparente nos horários 0, 12, 48 e 96 horas. Em cada horário a fermentação foi cessada colocando-se as garrafas em água à temperatura de 4° C, e coletou-se e congelou-se uma alíquota do líquido da garrafa para medição de AGCC (LEVENTINI *et al.*, 1990). Após degelo e centrifugação (14.000rpm por 10 minutos), amostras do líquido incubado (1mL), foram tratadas com ácido fórmico (88%) para protonar os ácidos dissociados e garantir a volatilização dos AGCC no injetor do cromatógrafo. As análises dos AGCC foram conduzidas em cromatógrafo a gás (CG 270) com detector de ionização de chama, empregando coluna empacotada (4% CW 20M Carbopack B-DA; 2,0 m × 1/8"). As vazões de nitrogênio (gás de arraste) e dos gases da chama H₂ e ar sintético, foram mantidas em 30, 30 e 300mL min⁻¹, respectivamente. As temperaturas do injetor, coluna e detector foram mantidas constantes em 180, 188 e 240°C, respectivamente.

O líquido e partículas restantes foram filtradas em cadinhos N° 1 com porosidade de 100 a 160 µm sob vácuo, para estimar a degradabilidade aparente. A degradação da matéria seca é gerada por peso constante obtido por secagem a 100° C e a degradação da matéria orgânica, pela diferença do resíduo menos as cinzas obtidas a 500° C por 3 horas.

O modelo de FRANCE *et al.* (1993), adotado para estimar os padrões da fermentação microbiana é baseado na média da produção acumulada de gases de cada amostra e é dado por:

$$A = Af \times \left\{ 1 - e^{-[b \times (t - t_0) - c \times (\sqrt{t} - \sqrt{t_0})]} \right\}$$

Onde A é o volume acumulado de gases produzidos até o tempo t ; Af é o volume assintótico dos gases produzidos; b e c são parâmetros do modelo; e t_0 representa um tempo de colonização discreto.

A taxa de fermentação é também calculada de acordo ao modelo:

$$\mu = \frac{b + c}{2 \times \sqrt{t}}$$

O modelo de FRANCE *et al.* (1993) foi ajustado aos dados de produção de gases para estimar o tempo de colonização, e a produção potencial de gases (A , assíntota de produção de gases do modelo). O procedimento não linear de SAS (2001), foi usado para ajustar o modelo aos dados. Com a produção acumulativa de gases as 48 e 96 horas pós-inoculação (G_{48} e G_{96} , respectivamente), foram calculados e comparados os quocientes entre G_{96} e A ($REL1$) e os quocientes entre G_{48} e G_{96} ($REL2$), como uma aproximação para avaliar os alimentos, assumindo que o tempo médio de retenção no rúmen é 48h. $REL1$ representa a proximidade de G_{96} (fermentação) ao potencial de produção de gases A . Assim, quanto mais próximo G_{96} de A (alto $REL1$), melhor a qualidade do alimento e/ou o tempo de incubação foi o suficientemente longo para expressar o potencial de fermentação do alimento. $REL2$ sugere proporcionalmente quanto da produção total de gases determinada no ensaio (96h) foi realizada até às 48h de incubação.

Para ajustar os dados da degradabilidade as 0, 12, 48 e 96h foi utilizado o modelo matemático proposto por MEHREZ & ØRSKOV (1977) e ØRSKOV & McDONALD (1979), no qual é possível estimar a degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE):

$$DP = A \longrightarrow t \leq L$$

$$DP = a + b(1 - e^{-ct}) \longrightarrow t > L$$

onde DP é a degradabilidade do alimento no tempo t ; A representa a fração prontamente solúvel; a e b são parâmetros do modelo, cuja soma ($a+b$) corresponde numericamente à degradabilidade potencial do alimento; e c é a taxa de degradação.

Também pode obter a fração insolúvel potencialmente fermentecível do alimento (B):

$B = (a+b) - A$ ou $100 - (A+C)$; onde C representa a fração indegradável (calculada como $100 - DP$).

A degradabilidade efetiva dos alimentos (DE) é calculada da seguinte forma:

$$DE = a + b \left[\frac{c}{(c + kp)} \right]$$

onde k_p representa a taxa de passagem do alimento do rúmen. Para a degradação efetiva, foi feito o cálculo com uma taxa de passagem, 2%/h.

2.7 *Delineamento experimental*

O delineamento experimental utilizado nas duas épocas do ano (janeiro-março e abril-junho), foi inteiramente casualizado, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 3 x 3 com os fatores: espécies (capim-Tanzânia, o capim-Marandu, e o Tifton 85), idades de corte (28, 35 e 42 dias), com 2 repetições (provenientes da amostra composta).

Para a produção de gases e degradabilidade aparente o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 3 x 3 com os fatores: espécies (capim-Tanzânia, o capim-Marandu, e o Tifton 85), idades de corte (28, 35 e 42 dias) com oito repetições (garrafas) por amostra.

O delineamento experimental utilizado na medição dos AGCC nas duas épocas do ano (janeiro-março e abril-junho), foi inteiramente casualizado, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 3 x 3 x 4 com os fatores: espécies (capim-Tanzânia, o capim-Marandu, e o Tifton 85), idades de corte (28, 35 e 42 dias), tempo de incubação (0,12, 48 e 96h) com 2 repetições (provenientes da amostra composta).

Os resultados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey de acordo com o programa estatístico SAS (2001) a um nível de significância de 5%.

3. Resultados e discussão

3.1 Composição química e fracionamento de proteína e carboidratos

Considerando que as características das plantas forrageiras que formam uma pastagem podem ser potencializadas ou suprimidas em função de condições de meio e manejo impostas e, analisando as condições experimentais do presente trabalho: temperatura e precipitação (Tabela 1), e alturas de corte (capim Tanzânia: 30cm de altura, capim Marandú: 25cm, Tifton 85: 15cm), em geral foram favorecidas as espécies com hábito de crescimento cespitoso (Tanzânia e Marandú), pela eliminação dos meristemas apicais estimulando assim o surgimento de tecidos novos nas plantas desde as gemas basais, fato que não aconteceu com o Tifton 85, que pelas suas características de crescimento estolonífero fez com que o meristema apical continuasse na planta, tendo assim uma resposta de crescimento, sem renovação de tecidos que suportam a parte aérea e acumulação de material morto (Tabela 10).

Os valores dos conteúdos da parede celular (FDN, FDNcp, FDA) e os valores do fracionamento de carboidratos (CHOS totais, CNE, fração B₂ e C) foram próximos entre as espécies e idades nas duas épocas, (Tabela 10). Houve diferença significativa ($P < 0,05$), entre espécie para todas as variáveis nas duas épocas, entre idades de corte para FDNcp, FDA e CHOS totais na época de janeiro-março, e na época de abril-junho para todas as variáveis; da mesma maneira foi significativa a interação entre espécie x idade de corte nas variáveis FDN, FDNcp, FDA, lignina (LIG), CHOS totais, CNE, fração B₂, e fração C para a época de janeiro-março, e as variáveis FDN, FDNcp, FDA, CHOS totais, CNE, e fração B₂, nos meses de abril-junho.

Na época de janeiro-março houve efeito de espécie sendo que a *Brachiaria brizantha* (Bb), apresentou os teores mais baixos em média para FDN, FDNcp, FDA, LIG, CHOS Totais, Fração B₂ e C (Tabela 10); na época de abril-junho a Tanzânia (Tz) obteve os valores médios de FDN, FDNcp, LIG, CHOS totais, Fração B₂ e C mais baixos, seguida pela Bb para FDN, LIG, e fração C, para o Tifton (Tf)

apresentou-se os maiores conteúdos de parede celular nas duas épocas em decorrência do manejo implementado, isto pode ser observado pelo desdobramento espécie x idade no qual nas duas épocas o avanço de idade para o Tf não teve diferença na maioria das variáveis.

Em relação à idade, houve tendência de aumento dos teores da parede celular: FDN, FDN_{cp}, FDA e lignina, conforme com a maturação da forragem na época janeiro-março, no período abril-junho os teores da parede celular não apresentaram comportamento consistente com aumento da idade. Tal fato pode ser explicado pelas condições ambientais na época experimental, na qual na idade de 28 dias houve estresse hídrico, gerando material morto. Aos 35 e 42 dias a apresentação das chuvas ajudou ao desenvolvimento das plantas, beneficiando os cortes nestas idades, embora as temperaturas baixas registradas (15,1 e 14,4°C) tiveram como consequência uma diminuição da taxa de crescimento, e uma floração cedo com perda do valor nutritivo.

Destaca-se o aumento nos componentes da parede celular, nas três gramíneas, apresentando maiores valores na época abril-junho. Variações estacionais nos teores de FDN também foram encontradas por GERDES *et al.* (2000), embora a ordem de acréscimo tenha sido alterada, pode-se explicar pelas condições experimentais deste trabalho. Também é importante ressaltar que estes valores (parede celular e fracionamento de carboidratos) foram próximos entre as espécies nas duas épocas.

O espessamento da parede celular secundária observado com a maturação dos tecidos vegetais resulta no incremento da concentração da FDN em detrimento do conteúdo celular (WILSON, 1993; WILSON, 1997). No fracionamento dos carboidratos (Figura 1), pode-se observar claramente este comportamento em todas as espécies, maior conteúdo da fração B₂ e C além de maior % de FDN (Tabela 10), menor conteúdo de fração A+B₁.

Tabela 10. Médias observadas, resultados da análise de variância obtida para as variáveis estudadas: conteúdos da parede celular (FDN, FDNcp, FDA, LIG) e os valores do fracionamento de carboidratos (CHOS totais, CNE, Fração B₂, e fração C) nas duas épocas: janeiro-março, e abril-junho.

Variáveis	IC	Janeiro-Março				Abril-Junho			
		Espécie				Espécie			
		Bb	Tf	Tz	Média	Bb	Tf	Tz	Média
FDN*	28	53,23 ^{bB}	68,32 ^{aA}	65,93 ^{aA}	62,50	62,82 ^{bA}	68,88 ^{aA}	65,24 ^{aA}	65,64
	35	51,21 ^{cB}	69,59 ^{aA}	65,25 ^{bA}	62,02	64,07 ^{bA}	68,94 ^{aA}	59,38 ^{cB}	64,13
	42	58,73 ^{bA}	69,01 ^{aA}	59,57 ^{bB}	62,44	65,70 ^{bA}	70,27 ^{aA}	60,43 ^{cB}	65,47
	Média	54,39	68,98	63,58		64,20	69,36	61,48	
CV (%)		1,03				1,15			
FDN cp*	28	42,35 ^{BC}	62,06 ^{aA}	60,16 ^{aA}	54,86	59,28 ^{AB}	60,60 ^{AB}	58,96 ^{aA}	59,61
	35	47,19 ^{bB}	62,54 ^{aA}	59,35 ^{aA}	56,36	60,98 ^{aAB}	58,85 ^{AB}	52,10 ^{bC}	57,31
	42	54,30 ^{bA}	61,97 ^{aA}	53,61 ^{bB}	56,63	63,10 ^{aA}	63,18 ^{aA}	54,87 ^{bB}	60,39
	Média	47,95	62,19	57,71		61,12	60,88	55,31	
CV (%)		1,83				0,92			
FDA*	28	20,96 ^{BC}	31,59 ^{aA}	33,14 ^{aA}	28,57	32,42 ^{BA}	34,07 ^{aA}	37,73 ^{aA}	33,74
	35	26,44 ^{bB}	31,59 ^{aA}	31,89 ^{aA}	29,97	32,88 ^{aA}	30,34 ^{bC}	31,23 ^{bC}	31,49
	42	33,33 ^{abA}	31,74 ^{bA}	33,47 ^{aA}	32,85	32,88 ^{aA}	31,86 ^{aB}	32,59 ^{aB}	32,44
	Média	26,91	31,64	32,84		32,73	32,09	32,85	
CV (%)		1,35				0,98			
LIG*	28	2,06 ^{DA}	3,54 ^{aAB}	2,15 ^{bA}	2,59	3,03	4,86	3,45	3,78^A
	35	2,34 ^{bA}	3,65 ^{aA}	2,15 ^{bA}	2,72	2,95	3,52	2,85	3,10^B
	42	2,43 ^{aA}	2,73 ^{aB}	2,45 ^{aA}	2,54	2,84	3,90	2,79	3,18^B
	Média	2,28	3,31	2,25		2,94^b	4,09^a	3,03^b	
CV (%)		8,59				8,69			
CHOS totais*	28	70,55 ^{cB}	78,18 ^{bA}	80,03 ^{aA}	76,26	74,45 ^{aB}	76,47 ^{aA}	75,17 ^{aA}	75,36
	35	74,05 ^{cA}	77,92 ^{bA}	79,39 ^{aA}	77,12	76,88 ^{aAB}	74,11 ^{bA}	73,27 ^{bA}	74,75
	42	74,18 ^{bA}	78,82 ^{aA}	79,12 ^{aA}	77,38	78,02 ^{aA}	76,52 ^{abA}	74,44 ^{bA}	76,33
	Média	72,93	78,31	79,52		76,45	75,70	74,30	
CV (%)		0,36				0,82			
CNE (A+B ₁)*	28	28,20 ^{aA}	16,12 ^{bA}	19,87 ^{bB}	21,40	15,16 ^{aA}	15,87 ^{aA}	16,22 ^{aB}	15,75
	35	26,86 ^{aA}	15,37 ^{cA}	20,03 ^{bB}	20,76	15,90 ^{bA}	15,25 ^{bA}	21,17 ^{aA}	17,44
	42	19,88 ^{bB}	16,85 ^{bA}	25,51 ^{aA}	20,75	14,92 ^{bA}	13,33 ^{bA}	19,57 ^{aA}	15,94
	Média	24,98	16,12	21,81		15,33	14,82	18,98	
CV (%)		5,60				4,74			
Fração B ₂ *	28	37,39 ^{bB}	53,55 ^{aA}	54,98 ^{aA}	48,64	52,00 ^{aB}	48,93 ^{bB}	50,67 ^{abA}	50,53
	35	41,56 ^{bB}	53,78 ^{aA}	54,19 ^{aA}	49,85	53,91 ^{aAB}	50,41 ^{bB}	45,27 ^{cB}	49,86
	42	48,45 ^{bA}	55,41 ^{aA}	47,72 ^{bB}	50,53	56,28 ^{aA}	53,83 ^{aA}	48,17 ^{bAB}	52,76
	Média	42,47	54,25	52,30		54,06	51,06	48,04	
CV (%)		2,50				1,52			
Fração C*	28	4,95 ^{BA}	8,51 ^{aAB}	5,18 ^{bA}	6,21	7,28	11,67	8,29	9,08^A
	35	5,63 ^{bA}	8,76 ^{aA}	5,17 ^{bA}	6,52	7,07	8,44	6,83	7,45^B
	42	5,84 ^{aA}	6,56 ^{aB}	5,89 ^{aA}	6,10	6,82	9,35	6,70	7,62^B
	Média	5,48	7,94	5,41		7,06^b	9,82^a	7,27^b	
CV (%)		8,54				8,69			

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05). (*) % da matéria seca, IC - idade de corte, Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz-Tanzânia, FDN-fibra em detergente neutro, FDNcp- Fibra em detergente neutra corrigida para proteína, FDA-fibra em detergente ácido, LIG-Lignina, CHOS T-carboidratos totais, CNE A+ B1-carboidratos não estruturais ou fração A+B1.

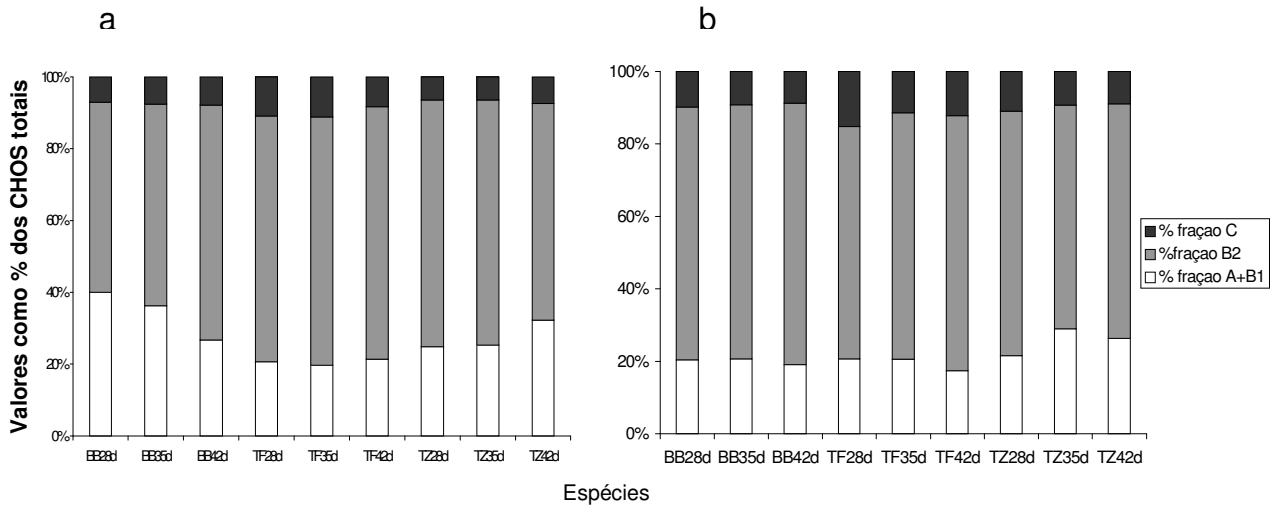


Figura 1. Fracionamento de carboidratos nas duas épocas: janeiro-março (a) e abril-junho (b), como porcentagem dos carboidratos totais, para as diferentes gramíneas: Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz-Tanzânia, nas diferentes idades (28, 35 e 42 dias).

O crescimento das plantas forrageiras implica o aumento de parede celular, como foi observado na Tabela 10. Tal fato ocorre em detrimento das moléculas orgânicas, nutrientes ou não, que participam ativamente dos processos metabólicos; com a deposição de moléculas orgânicas não-nitrogenadas (celulose, hemicelulose, lignina, etc), ocorrendo redução no teor de compostos nitrogenados (VAN SOEST, 1994); na Tabela 11 pode-se ver esta redução da proteína com aumento na idade.

Os valores de proteína médios estiveram na faixa de 9,97 a 15,06 % nas duas épocas sem estar abaixo do intervalo crítico 6-8% da MS, o que significa que essa diminuição não afeta a eficiência do crescimento microbiano e a capacidade de degradação da fibra (VAN SOEST, 1994); esta afirmação pode não ser certa sendo que no fracionamento da proteína (Figura 2), a metade da proteína está como fração B3 e C. A fração B3 é uma fração com uma taxa de degradação muito lenta, que se encontra associada com a parede celular da planta. A fração C corresponde à proteína indisponível, é constituída por proteínas associadas à lignina, complexos tânico-protéicos e produtos de Maillard, que são altamente resistentes ao ataque das enzimas de origem microbiana e do hospedeiro (SNIFFEN et al., 1992; VAN SOEST, 1994). Os resultados obtidos para a fração A foram valores entre 9,51 a 12,84 % da

PB; B1 de 1,59 a 2,27% da PB, valores baixos tipicamente encontrados em gramíneas tropicais; a fração B2 de 23,77 a 31,84% da PB; e para as frações B3 e C de 23,77 a 33,40 e 19,66 a 27,04% da PB respectivamente. Cabe ressaltar que os maiores valores de Fração B3 e C foram apresentados pelo Tf, pela resposta ao manejo dado no período experimental (acúmulo de material morto). Pode-se observar em geral para as duas épocas que teores das frações A, B1, B2, diminuíram significativamente com o aumento da idade. Tal fato representa menor suprimento de isoácidos, exigidos pelos microrganismos do rúmen (RUSSELL et al., 1992), e, simultaneamente, menor escape de proteína verdadeira potencialmente digerível para o intestino, que constitui importante fonte de aminoácidos para o hospedeiro, principalmente no pasto (VAN SOEST, 1994). As frações B3 e C aumentaram com a idade (Figura 2).

Tabela 11 Médias observadas, resultados da análise de variância e desdobramento da interação espécie/idade para: a proteína bruta, nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), nas duas épocas: janeiro-março, abril-junho.

Variáveis	IC	Janeiro-Março				Abril-Junho			
		Espécie				Espécie			
		Bb	Tf	Tz	Média	Bb	Tf	Tz	Média
PB*	28	16,87 ^{aA}	11,58 ^{bA}	9,49 ^{cA}	12,65	13,45 ^{aA}	13,41 ^{aA}	12,17 ^{aA}	13,01
	35	14,23 ^{aB}	11,68 ^{bA}	10,38 ^{cA}	12,10	11,22 ^{bB}	15,19 ^{aA}	13,55 ^{aA}	13,32
	42	14,08 ^{aB}	10,93 ^{bA}	10,03 ^{bA}	11,68	9,88 ^{bB}	13,44 ^{aA}	12,33 ^{aA}	11,88
	Média	15,06	11,40	9,97		11,52	14,01	12,68	
CV (%)		2,27				3,72			
NIDN*	28	1,43 ^{aA}	1,10 ^{bA}	0,87 ^{cA}	1,13	1,22 ^{aA}	1,31 ^{aA}	1,03 ^{aA}	1,19
	35	1,25 ^{aB}	1,15 ^{aA}	0,89 ^{bA}	1,10	0,78 ^{bA}	1,49 ^{aA}	1,13 ^{abA}	1,13
	42	1,36 ^{aAB}	1,13 ^{bA}	0,86 ^{cA}	1,12	0,94 ^{aA}	1,33 ^{aA}	1,30 ^{aA}	1,19
	Média	1,35	1,13	0,87		0,98	1,38	1,16	
CV (%)		3,52				11,74			
NIDA*	28	0,56 ^{aA}	0,47 ^{bA}	0,27 ^{cA}	0,43	0,48 ^{bA}	0,62 ^{aAB}	0,40 ^{bB}	0,50
	35	0,48 ^{aB}	0,48 ^{aA}	0,31 ^{bA}	0,43	0,43 ^{bAB}	0,66 ^{aA}	0,47 ^{bAB}	0,52
	42	0,53 ^{aAB}	0,45 ^{bA}	0,33 ^{cA}	0,44	0,34 ^{bB}	0,54 ^{aB}	0,56 ^{aA}	0,48
	Média	0,53	0,47	0,31		0,42	0,61	0,48	
CV (%)		4,07				5,38			

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

(*)% da matéria seca, IC - idade de corte, Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz-Tanzânia.

No desdobramento da interação espécie x idade de corte, a Bb apresentou diferença significativa em todas as variáveis na época janeiro-março (Tabela 11). Na época abril-junho houve interação na Bb para PB e NIDA, o Tf e Tz só apresentaram diferença significativa para NIDA.

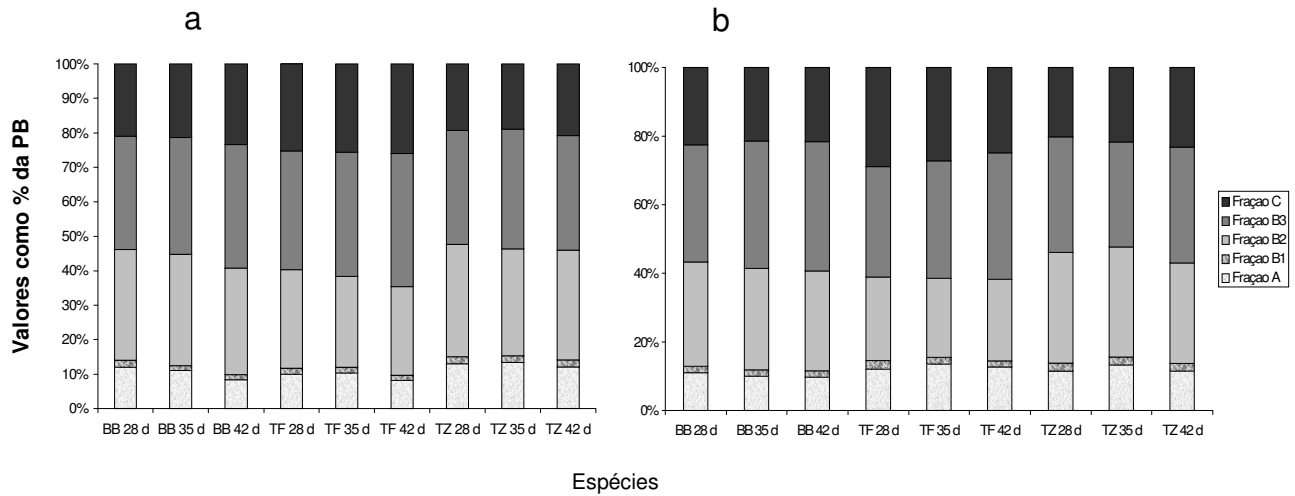


Figura 2. Fracionamento de proteínas nas duas épocas: janeiro-março (a) e abril-junho (b), como porcentagem da proteína bruta, para as diferentes gramíneas: Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz-Tanzânia, nas diferentes idades (28, 35 e 42 dias).

3.2 Digestibilidade *in vitro* das matérias seca e orgânica

Os resultados referentes à digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) e digestibilidade *in vitro* da MO (DIVMO), para as duas épocas das gramíneas estão apresentadas na Tabela 12; estes resultados estão altamente correlacionados com os conteúdos de parede celular e conteúdo de carboidratos não estruturais (Tabela 10) e o conteúdo e fracionamento de proteína (Tabela 11 e Figura 2).

Houve diferenças significativas ($P < 0,05$), em todas as variáveis nas duas épocas para espécie, na época abril-junho para idade de corte, e interação espécie x idade para DIVMO na época janeiro-março e DIVMS e DIVMO na época abril-junho.

Em relação à espécie Tf e Tz revelaram menores coeficientes na época janeiro-março, e Tf menor coeficiente na época abril-junho. Foram observados decréscimos de acordo com estágios fisiológicos mais avançados para Bb nas duas épocas, nas outras espécies não foi tão claro este comportamento. No

desdobramento entre espécie x idade pelo manejo e condições do experimento o Tf na época abril-junho, melhorou a digestibilidade nas idades 35 e 42 dias.

Tabela 12. Médias observadas, resultados da análise de variância e desdobramento da interação espécie/idade para: digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIV MS) e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIV MO) (TILLEY & TERRY); nas duas épocas: janeiro-março, abril-junho.

Variáveis	IC	Janeiro-Março				Abril-Junho			
		Espécie				Espécie			
		Bb	Tf	Tz	Média	Bb	Tf	Tz	Média
DIV MS%	28	70,65	47,80	48,85	55,77	60,72 ^{aA}	47,27 ^{bB}	57,24 ^{aA}	55,08
	35	64,30	53,05	48,30	56,22	58,02 ^{abA}	53,42 ^{bA}	61,64 ^{aA}	57,69
	42	61,60	47,15	53,00	53,92	56,85 ^{abA}	52,71 ^{bA}	57,84 ^{aA}	55,80
	Média	65,52^a	49,33^b	50,05^b		58,53	51,13	58,91	
CV (%)	6,10					2,12			
DIV MO%	28	67,25 ^{aA}	44,20 ^{bA}	45,35 ^{bA}	52,27	55,71 ^{aA}	43,48 ^{bB}	52,94 ^{aB}	50,71
	35	60,00 ^{aA}	48,75 ^{abA}	44,75 ^{bA}	51,17	53,48 ^{bA}	47,21 ^{cAB}	58,95 ^{aA}	53,21
	42	56,90 ^{aA}	43,10 ^{bA}	48,60 ^{abA}	49,53	51,71 ^{abA}	48,83 ^{bA}	54,26 ^{aAB}	51,60
	Média	61,38	45,35	46,23		53,63	46,51	55,38	
CV (%)	6,08					2,30			

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

IC- idades de corte, Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz-Tanzânia.

Nota-se que o maior coeficiente de digestibilidade da MS e MO foi apresentada pela Bb, sendo coerente por esta gramínea ter apresentado os menores conteúdos de FDN, FDNcp, FDA, lignina e fração C dos carboidratos, e maiores concentrações de PB e Fração A + B₁ dos carboidratos. À medida que a idade fisiológica da planta avançou, aumentaram as porcentagens de celulose, hemicelulose, lignina, reduzindo assim a proporção dos nutrientes potencialmente digestíveis (carboidratos solúveis, proteínas, minerais e vitaminas), o qual representa uma queda acentuada na digestibilidade (REIS *et al.*, 2005). Alguns autores têm estabelecido a relação entre anatomia, composição química e digestibilidade de gramíneas forrageiras. Correlações altamente significativas entre a proporção de tecidos individuais, ou em combinação, e as entidades nutricionais têm sido observadas (WILSON *et al.*, 1989; QUEIROZ *et al.*, 2000b). Em geral, os constituintes fibrosos (fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e lignina) são correlacionados negativamente com a digestibilidade (WILSON *et al.*, 1983; WEISS, 1994; QUEIROZ *et al.*, 2000a, ALVES DE BRITO *et al.*, 2003).

3.3 Degradabilidade *in vitro* da matéria seca

Para ajustar os dados da degradação *in vitro* das gramíneas avaliadas (Bb, Tf e Tz), nos horários 0, 12, 48 e 96h foi utilizado o modelo matemático proposto por ØRSKOV & McDONALD (1979). Os parâmetros biológicos calculados pelo modelo são apresentados na Tabela 13 para as duas épocas. Eles são: fração prontamente solúvel (A), fração insolúvel potencialmente degradável (B), fração indegradável (C), taxa de degradação (c), tempo de colonização (L), degradabilidade potencial (DP), e degradabilidade efetiva a taxa de passagem de 2 %/h (DE2).

Houve efeito de espécie ($P<0,05$) na época janeiro-março para os parâmetros A, C, c, DP e DE2, apresentando a Bb os maiores valores para A, c, DP, e DE2; a idade de corte teve diferença para A, sendo maior na idade de 35 dias; no desdobramento da interação houve diferença ($P<0,05$) para C, c, e L, sendo que no desdobramento só para o parâmetro c a Bb foi quem apresentou diferença entre idades.

Referente aos resultados da época abril-junho espécie teve diferença significativa ($P<0,05$) nos parâmetros A, C, DP e DE2, mostrando o Tf os valores mais baixos para estes parâmetros com exceção da fração indegradável (C); idade de corte não teve diferença significativa para nenhum parâmetro, e não teve interação entre espécie x idade de corte. É importante destacar que as maiores frações solúveis (A), e degradações potenciais e efetivas (DP, DE) foram apresentadas na primeira época, seguindo a tendência de queda de qualidade das gramíneas na segunda época.

Tabela 13. Médias observadas, resultados da análise de variância e desdobramento da interação espécie/idade para dados obtidos pelo modelo de ØRSKOV na degradabilidade *in vitro* pela técnica de produção de gases nas duas épocas: janeiro-março, abril-junho.

Variáveis	IC	Janeiro-Março				Abril-Junho			
		Espécie				Espécie			
		Bb	Tf	Tz	Média	Bb	Tf	Tz	Média
A	28	25,48	15,85	19,17	20,17^{AB}	17,40	14,03	17,45	16,29
	35	25,95	15,65	23,09	21,56^A	18,17	14,96	18,37	15,61
	42	21,04	15,30	18,23	18,19^B	17,36	13,61	19,99	16,99
	Média	24,16^a	15,60^c	20,16^b		16,08^a	14,20^b	18,60^a	
CV (%)		7,21				4,93			
B	28	47,09	46,83	51,75	48,56	50,47	41,71	46,81	46,33
	35	49,30	49,25	44,06	47,54	47,62	49,91	49,93	49,15
	42	51,03	53,54	50,73	51,77	51,56	46,95	46,69	48,40
	Média	49,14	49,87	48,85		49,88	46,19	47,81	
CV (%)		5,34				7,26			
C	28	23,04	37,32	29,07	29,81	32,12	44,26	35,73	37,37
	35	20,05	35,10	32,84	29,33	34,21	35,13	31,69	33,68
	42	27,93	31,15	31,03	30,04	31,08	39,43	33,31	34,61
	Média	23,67^b	34,52^a	30,98^b		32,47^b	39,61^a	33,58^b	
CV (%)		8,82				9,24			
c	28	4,07 ^{aAB}	3,20 ^{aA}	2,97 ^{aA}	4,79	3,43	3,29	2,77	3,17
	35	3,10 ^{aB}	3,07 ^{aA}	3,69 ^{aA}	3,24	3,30	2,81	3,02	3,04
	42	5,46 ^{aA}	2,71 ^{bA}	3,20 ^{bA}	3,79	3,19	2,77	2,45	2,80
	Média	4,21	2,99	3,29		3,31	2,96	2,75	
CV (%)		13,10				12,73			
L	28	0,37 ^{aA}	0,40 ^{aA}	0,38 ^{aA}	0,39	0,38	0,38	0,38	0,38
	35	0,43 ^{aA}	0,38 ^{aBA}	0,36 ^{BA}	0,39	0,41	0,40	0,37	0,39
	42	0,38 ^{aA}	0,38 ^{aA}	0,39 ^{aA}	0,39	0,38	0,40	0,37	0,39
	Média	0,40	0,39	0,38		0,39	0,39	0,37	
CV (%)		3,93				4,21			
DP	28	72,57	62,68	70,92	68,85	67,87	55,74	64,27	62,63
	35	78,96	64,90	67,15	70,34	65,79	64,86	68,31	66,32
	42	72,07	68,84	68,96	69,96	68,92	60,56	66,68	65,39
	Média	73,30^a	65,48^b	69,01^b		67,53^a	60,39^b	66,42^a	
CV (%)		3,59				5,02			
DE2	28	57,07	44,31	50,03	50,47	49,19	40,01	44,70	44,63
	35	55,87	45,47	51,66	51,00	47,83	43,94	48,38	46,72
	42	58,40	46,12	49,40	51,31	49,05	40,67	45,73	45,15
	Média	57,12^a	45,30^c	50,36^b		48,69^a	41,54^b	46,27^a	
CV (%)		4,57				5,88			

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

IC- idade de corte, Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz- Tanzânia, A - fração prontamente solúvel, B - fração insolúvel potencialmente degradável, C - fração indegradável, c - taxa de degradação, L - tempo de colonização, DP - degradabilidade potencial, DE2 - degradabilidade efetiva a taxa de passagem de 2%/h.

3.4 Produção de gases *in vitro*

As Tabelas 14 e 15 apresentam os parâmetros relativos a cinética fermentativa das espécies de gramíneas incubadas com inóculo ruminal proveniente de bovinos na técnica de produção de gases ajustados pelo modelo de FRANCE *et al.* (1993).

Na época janeiro-março houve efeito para a espécie ($P < 0,05$) para o tempo de colonização (L), e produção de gases após 96h (G96). Na variável L os menores valores foram encontrados na Bb e Tz. Para G96 o maior valor foi para Bb; pode-se observar que, quanto maior a quantidade de carboidratos prontamente fermentáveis (Fração A + B₁) no alimento (Tabela 10), maior o volume de gases produzido (G96), devido a que estes carboidratos são prontamente disponíveis para os microrganismos fermentadores, em relação às outras gramíneas. Não houve diferença significativa para idades de corte e a interação espécie x idades.

Tabela 14. Médias observadas e resultados da análise de variância para dados obtidos pelo modelo de FRANCE *et al.* (1993), na produção de gases *in vitro* para a época de janeiro-março.

Estatística	Variáveis							
	A	b	c	L	G48	G96	REL1	REL2
Médias para								
Espécie								
Bb	281,20	0,041 ^{AB}	-0,136 ^{AB}	2,68 ^{AB}	192,56	257,06 ^A	0,91	0,75
Tf	267,05	0,043 ^A	-0,188 ^B	4,79 ^A	168,73	246,15 ^B	0,92	0,69
Tz	285,22	0,025 ^B	-0,042 ^A	2,17 ^B	171,56	247,61 ^{AB}	0,88	0,69
Médias para Idade de corte								
28	275,62	0,033	-0,096	2,17	177,87	245,46	0,89	0,72
35	281,98	0,036	-0,113	2,31	179,49	251,33	0,90	0,71
42	275,87	0,040	-0,157	3,71	175,49	254,03	0,93	0,69
Probabilidade associado ao F								
Espécie (ES)	0,4051	0,0296	0,0060	0,0016	0,0574	0,0277	0,6431	0,2540
Idade corte (IC)	0,8688	0,5143	0,2329	0,1361	0,9098	0,1003	0,7778	0,6820
Interação (ES x IC)	0,1999	0,5594	0,4068	0,5513	0,9652	0,0711	0,3916	0,9838
CV (%)	8,41	29,53	-47,99	48,29	8,98	2,47	9,37	9,33

Médias seguidas de letras iguais na coluna, dentro de cada fator, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

IC- idade de corte, Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz- Tanzânia, A - volume final, ou produção potencial de gases, b e c - constantes matemáticas do modelo, L - tempo de colonização, G48 - produção de gases após 48 h de incubação, G96 - produção de gases após 96 h de incubação, REL1 - relação entre as produções de gases após 96h e A, REL 2 - relação entre as produções de gases após 48 e 96h.

Tabela 15. Médias observadas e resultados da análise de variância para dados obtidos pelo modelo de FRANCE *et al.* (1993), na produção de gases *in vitro* para a época de abril-junho.

Estatística	Variáveis							
	A	b	c	L	G48	G96	REL1	REL2
Médias para Espécie								
Bb	263,27	0,043 ^A	-0,186	4,25	173,98	242,35 ^A	0,92	0,72
Tf	250,37	0,040 ^{AB}	-0,180	5,06	151,84	225,49 ^B	0,90	0,67
Tz	259,55	0,037 ^B	-0,130	3,10	161,70	235,79 ^{AB}	0,91	0,69
Médias para Idade de corte								
28	247,32 ^B	0,038	-0,147	3,59	154,70	221,77 ^B	0,90	0,70
35	272,33 ^A	0,039	-0,156	3,93	172,09	245,79 ^A	0,90	0,70
42	253,53 ^{AB}	0,044	-0,194	4,85	160,72	236,06 ^A	0,93	0,68
Probabilidade associado ao F								
Espécie (ES)	0,2977	0,0366	0,0501	0,0934	0,0785	0,0117	0,6862	0,5769
Idade corte (IC)	0,0295	0,1544	0,1129	0,2779	0,1707	0,0013	0,2843	0,8887
Interação (ES x IC)	0,4727	0,1857	0,3777	0,7290	0,8621	0,1376	0,6122	0,9954
CV (%)	5,35	12,03	-22,13	32,98	9,04	3,22	4,29	10,36

Médias seguidas de letras iguais na coluna, dentro de cada fator, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

IC- idade de corte, Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz-Tanzânia, A - volume final, ou produção potencial de gases, b e c - constantes matemáticas do modelo, L - tempo de colonização, G48 - produção de gases após 48 h de incubação, G96 - produção de gases após 96 h de incubação, REL1 - relação entre as produções de gases após 96h e A, REL 2 - relação entre as produções de gases após 48 e 96h.

Para a época abril-junho apresentou-se diferença significativa ($P < 0,05$) para espécie na variável G96, com o maior valor registrado para Bb, idade nas variáveis A e G96, encontrando-se os menores valores na idade 28 dias. Sem diferença significativa na interação espécie x idades.

Os tempos de colonização encontrados para as três gramíneas, nas duas épocas são baixos dos reportados para gramíneas tropicais (BUENO *et al.*, 2005). Possivelmente atribuído ao alto conteúdo de carboidratos não estruturais apresentados em geral para todas as gramíneas.

As diferenças em composição química encontradas neste trabalho não são marcadas entre espécies, por este motivo não foi significativo a maioria dos parâmetros biológicos calculados pelo modelo.

REL1 é a relação entre as produções de gases após 96h e A, é usado para estimar se o ensaio de produção de gases foi longo o suficiente para alcançar o potencial fermentativo do alimento. O ideal seria que REL1 fora próximo da unidade, indicando que o potencial de produção de gases foi alcançado durante o ensaio. O

REL1 esteve entre 0,88 a 0,92, ou seja se conseguiu atingir de 88 a 92 % do potencial durante o ensaio de produção de gases.

REL2 é calculado entre a produção de gases as 48 e 96h, esta relação significa quanto da produção total de gases determinada no ensaio (96h) foi realizada até as 48h de incubação. Assumindo-se uma taxa de passagem (Kp) teórica de $0,0208\text{h}^{-1}$, o tempo médio de retenção no rúmen seria 48h, pelo tanto seria desejável que a maior fermentação acontecesse dentro deste período, ou seja, REL2 deve ser o mais próximo de 1, para que o alimento seja considerado de boa qualidade do ponto de vista fermentativo. O maior REL2 foi apresentado pela Bb nas duas épocas 0,75 e 0,72, e o valor mais baixo foi apresentado pelo Tf na época abril-junho 0,67 (Tabelas 14 e 15).

A taxa de fermentação (\hat{i}) é calculada pelos valores matemáticos dados no modelo e varia de acordo com o transcorrer do tempo. Os dados apresentados nas Figuras 3, 4, 5 mostram a variação do \hat{i} . Os valores encontrados após 6h de incubação para época janeiro-março são de 0,052, 0,050 e $0,049\text{h}^{-1}$ para Tf aos 42 dias, Tz aos 28 dias e Tf 28 dias respectivamente, sendo estes os valores máximos (Figuras 4, 5). Na época abril-junho valores de 0,050, 0,043 e $0,043\text{h}^{-1}$ para Bb 42 dias, Bb 28 dias e Tz 28 dias respectivamente (Figuras 3,5). Valores altos comparados com os encontrados por NOGUEIRA FILHO *et al.* (2000) para *Brachiaria humidicola* e *Cynodon dactylon* de 0,016 e $0,022\text{h}^{-1}$ respectivamente após 6h de incubação.

Às 48h após incubação para \hat{i} encontrou-se valores de 0,019, 0,018 e $0,017\text{h}^{-1}$, para Tf 42 dias, Tz 28 dias e Tf 28dias, na época janeiro-março (Figura 3, 4, 5). Na época de abril-junho os valores encontrados foram 0,018, 0,015 e $0,015\text{h}^{-1}$, todos estes valores semelhantes aos reportados por NOGUEIRA FILHO *et al.* (2000) para 48h após incubação: 0,020 e $0,028\text{h}^{-1}$ para *Brachiaria humidicola* e *Cynodon dactylon*, respectivamente. As maiores taxas de fermentação não foram encontradas para as gramíneas com os maiores conteúdos de carboidratos contradizendo o citado na literatura; isto pode ser devido a um desequilíbrio entre o fornecimento de carboidratos de fácil fermentação, e de amônia para os microrganismos ruminais, o

qual é de grande importância para uma sincronização entre a disponibilidade de energia e nitrogênio, maximizando o crescimento microbiano no nível ruminal (RUSSELL *et al.*, 1992; SNIFFEN *et al.*, 1992)

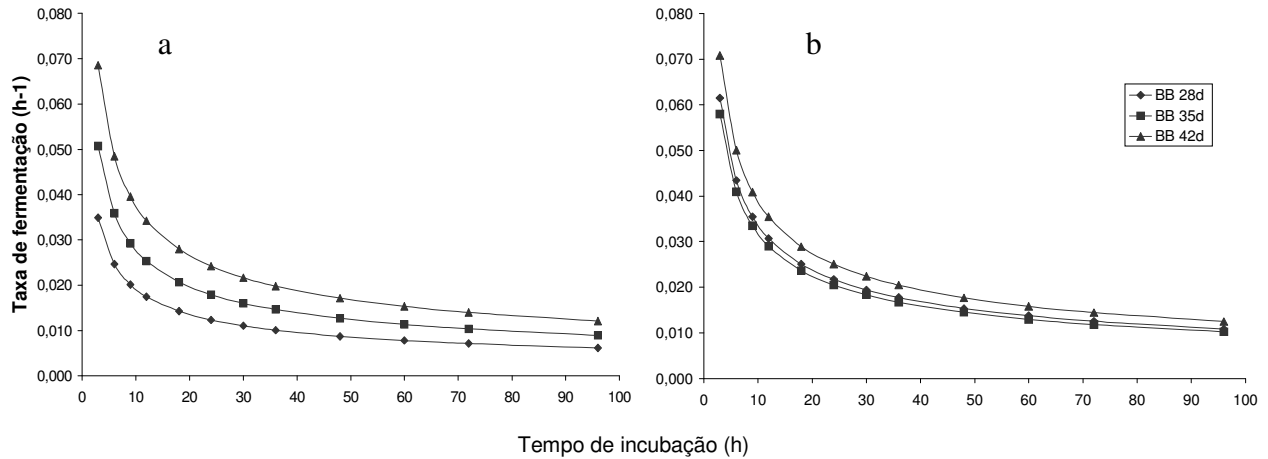


Figura 3. Taxa de fermentação (\dot{i}) (FRANCE *et al.*, 1993) para a Bb- *Brachiaria brizanta*, nas diferentes idades (28, 35 e 42 dias), nas duas épocas: janeiro-março (a), abril-junho (b).

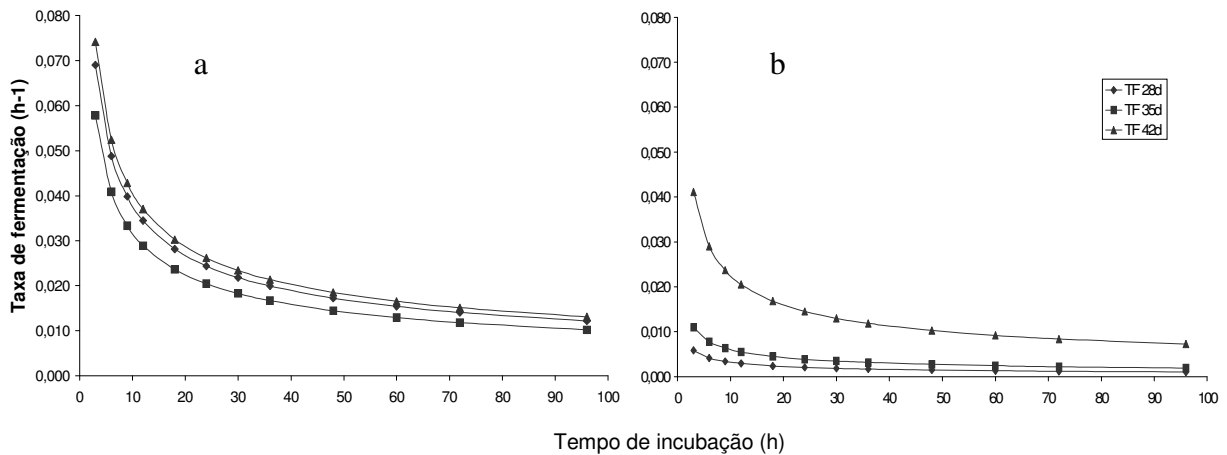


Figura 4. Taxa de fermentação (\dot{i}) (FRANCE *et al.*, 1993) para o Tf- Tifton 85, nas diferentes idades (28, 35 e 42 dias), nas duas épocas: janeiro-março (a), abril-junho (b).

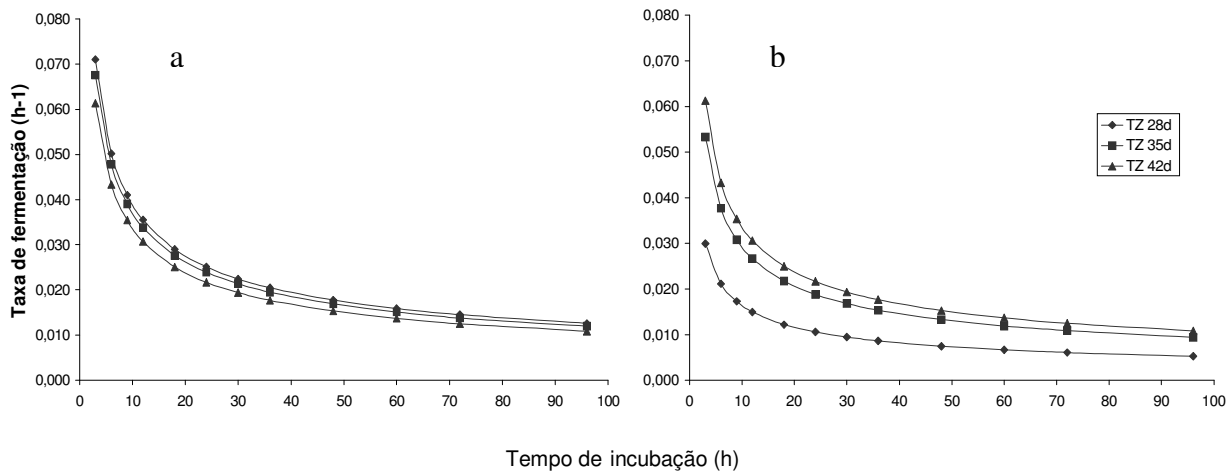


Figura 5. Taxa de fermentação (\hat{i}) (FRANCE *et al.*,1993) para a Tz-Tanzânia, nas diferentes idades (28, 35 e 42 dias), nas duas épocas: janeiro-março (a), abril-junho (b).

3.5 Ácidos graxos de cadeia curta AGCC

Como é conhecido, o principal evento associado com a fermentação ruminal é a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) principalmente ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico.

Na maioria das situações alimentares, o ácido acético é predominante e em conjunto com o ácido butírico, reflete dietas ricas em forragens. As taxas de produção de AGCC variam com o tempo, após a ingestão, e com o tipo de alimento (KOZLOSKI, 2002).

Os resultados referentes à concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no sobrenadante, obtido na degradabilidade *in vitro* pela técnica de produção de gases encontram-se na Tabela 16 e Figuras 6 e 7.

Na época janeiro-março, houve diferença significativa ($P < 0,05$) para espécie nas variáveis: AGCC totais, ácido propiônico, ácido butírico e a relação acético:propiônico, apresentando-se os maiores valores para Bb. Na relação acético:propiônico a Bb teve a menor relação, o que é explicado ao apresentar esta gramínea os maiores conteúdos de ácido propiônico, devido a maiores

concentrações de carboidratos solúveis ($A+B_1$) e da fração potencialmente degradável B_2 .

Em relação à idade de corte, teve diferença ($P<0,05$) para o ácido butírico, tendo a maior concentração aos 28 dias; no fator horário houve diferenças ($P<0,05$), em todas as variáveis; o desdobramento da interação espécie x idade de corte, apresentou diferença ($P<0,05$) nas variáveis ácido propiônico e ácido butírico; no desdobramento da interação o ácido propiônico mostrou diferenças entre idades para as espécies, e o ácido butírico entre idades para a Bb (Tabela 16). A interação espécie x horário teve diferença para todas as variáveis, com exceção da relação acético:propiônico (Figura 6). Na interação idade de corte x horário não houve diferença para nenhuma variável.

Na época abril-junho houve efeito de espécie ($P<0,05$) para as variáveis de produção de AGCC totais, apresentando os maiores valores para Bb e Tz. Na idade de corte houve diferença para todas as variáveis, com exceção da relação acético:propiônico apresentando os menores valores para Bb. No fator horário teve diferença para todas as variáveis. A interação espécie x idade mostrou diferença para as variáveis ácido propiônico (Tf, Tz), ácido butírico (Bb, Tf, Tz). A interação espécie x horário teve diferença para os AGCC totais, ácido propiônico, e ácido butírico (Figura 7). Na interação idade x horário houve diferença para ácido propiônico, ácido butírico.

A interação espécie x horário pode ser observada nas Figuras 6 e 7, onde se mostram claramente um incremento linear na produção total e individual dos AGCC, confirmando que as taxas de produção de AGCC variam com o tempo, após a ingestão. Devido aos carboidratos rapidamente fermentescíveis apresentou-se maiores concentrações de ácido propiônico em relação ao ácido acético no primeiro horário, o que modificou a relação acético:propiônico, a qual foi menor o que implica menor perda de energia pela estequiometria da fermentação ruminal na qual ao produzir-se o ácido propiônico não é desperdiçada energia em forma de CO_2 e CH_4 .

Tabela 16. Médias observadas, resultados da análise de variância e desdobramento da interação espécie/idade para: concentração (\hat{i} mol/mL) e proporções molares (% , entre parênteses) da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC): totais, acético, propiônico, butírico, relação acético:propiônico (A:P). Obtidos na degradabilidade *in vitro* pela técnica de produção de gases nas duas épocas: janeiro-março, abril-junho.

Variáveis	IC	Janeiro-Março				Abril-Junho			
		Espécie				Espécie			
		Bb	Tf	Tz	Média	Bb	Tf	Tz	Média
Totais	28	46,26	42,62	43,96	44,28	40,73	36,47	37,95	38,38^B
	35	45,25	41,24	44,96	43,81	42,33	39,28	43,08	41,57^A
	42	43,37	42,44	42,50	42,77	42,25	37,71	40,40	40,12^{AB}
	Média	44,96^a	42,10^b	43,81^{ab}		41,77^a	37,82^b	40,48^a	
CV (%)	7,20					7,19			
Acético	28	25,21	26,28	26,05	25,85 (58,38)	23,02	22,73	22,79	22,85 (59,54)^B
	35	25,77	24,02	26,50	25,43 (58,05)	24,79	23,77	25,34	24,63 (59,25)^A
	42	24,73	24,85	25,24	24,94 (58,31)	24,37	23,14	24,34	23,95 (59,70)^{AB}
	Média	25,24 (56,14)	25,05 (59,50)	25,93 (59,19)		24,06 (57,60)	23,21 (61,37)	24,15 (59,66)	
CV (%)	9,17					10,02			
Propiônico	28	13,72 ^{aA}	10,82 ^{bA}	11,71 ^{bA}	12,08 (27,28)	12,45 ^{aA}	9,12 ^{cB}	10,15 ^{bB}	10,57 (27,54)
	35	13,36 ^{aA}	11,42 ^{bA}	12,21 ^{abA}	12,33 (28,14)	11,91 ^{aA}	10,29 ^{bA}	11,95 ^{aA}	11,39 (27,40)
	42	12,54 ^{aA}	11,63 ^{aA}	11,30 ^{aA}	11,82 (27,64)	12,44 ^{aA}	9,65 ^{cAB}	10,98 ^{bAB}	11,02 (27,47)
	Média	13,21 (29,38)	11,29 (26,82)	11,74 (26,80)		12,27 (29,38)	9,69 (25,62)	11,03 (27,25)	
CV (%)	6,99					5,46			
Butírico	28	7,32 ^{aA}	5,51 ^{cA}	6,20 ^{bA}	6,35 (14,34)	5,25 ^{aB}	4,62 ^{bB}	5,01 ^{aB}	4,96 (12,92)
	35	6,12 ^{aB}	5,80 ^{aA}	6,25 ^{aA}	6,05 (13,81)	5,63 ^{aA}	5,22 ^{bA}	5,79 ^{aA}	5,55 (13,35)
	42	6,11 ^{aB}	5,95 ^{aA}	5,96 ^{aA}	6,01 (14,05)	5,43 ^{aAB}	4,91 ^{bAB}	5,04 ^{abB}	5,14 (12,81)
	Média	6,51 (14,48)	5,75 (13,66)	6,14 (14,02)		5,44 (13,02)	4,92 (13,01)	5,30 (13,09)	
CV (%)	5,36					4,36			
A:P	28	1,81	2,18	1,97	1,98	1,82	2,28	2,16	2,08
	35	1,75	2,02	1,96	1,91	1,89	2,02	2,01	1,94
	42	1,77	2,07	2,12	1,99	1,85	2,19	2,06	2,03
	Média	1,78^b	2,09^a	2,02^a		1,85^b	2,17^a	2,08^a	
CV (%)	13,41					10,03			

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

IC- idade de corte, Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz-Tanzânia

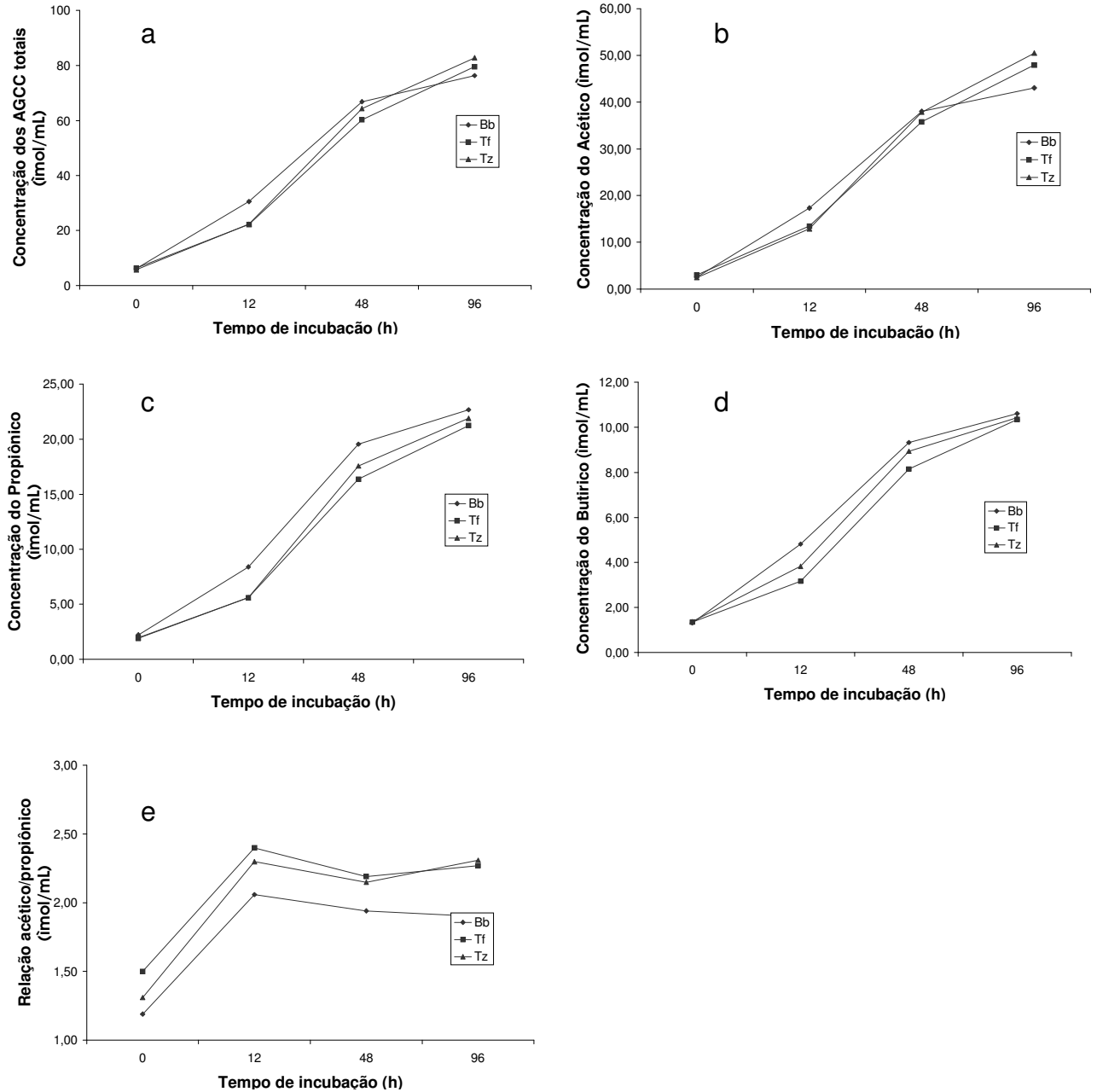


Figura 6. Médias observadas: concentração (̑ mol/mL) da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC): (a) totais, (b) acético, (c) propiónico, (d) butírico, (e) relação acético:propiónico (A:P). Obtidos na degradabilidade *in vitro* pela técnica de produção de gases no sobrenadante após 0, 12, 48 e 96h de incubação de 600 mg de MS das gramíneas: Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz-Tanzânia, na época: janeiro-março.

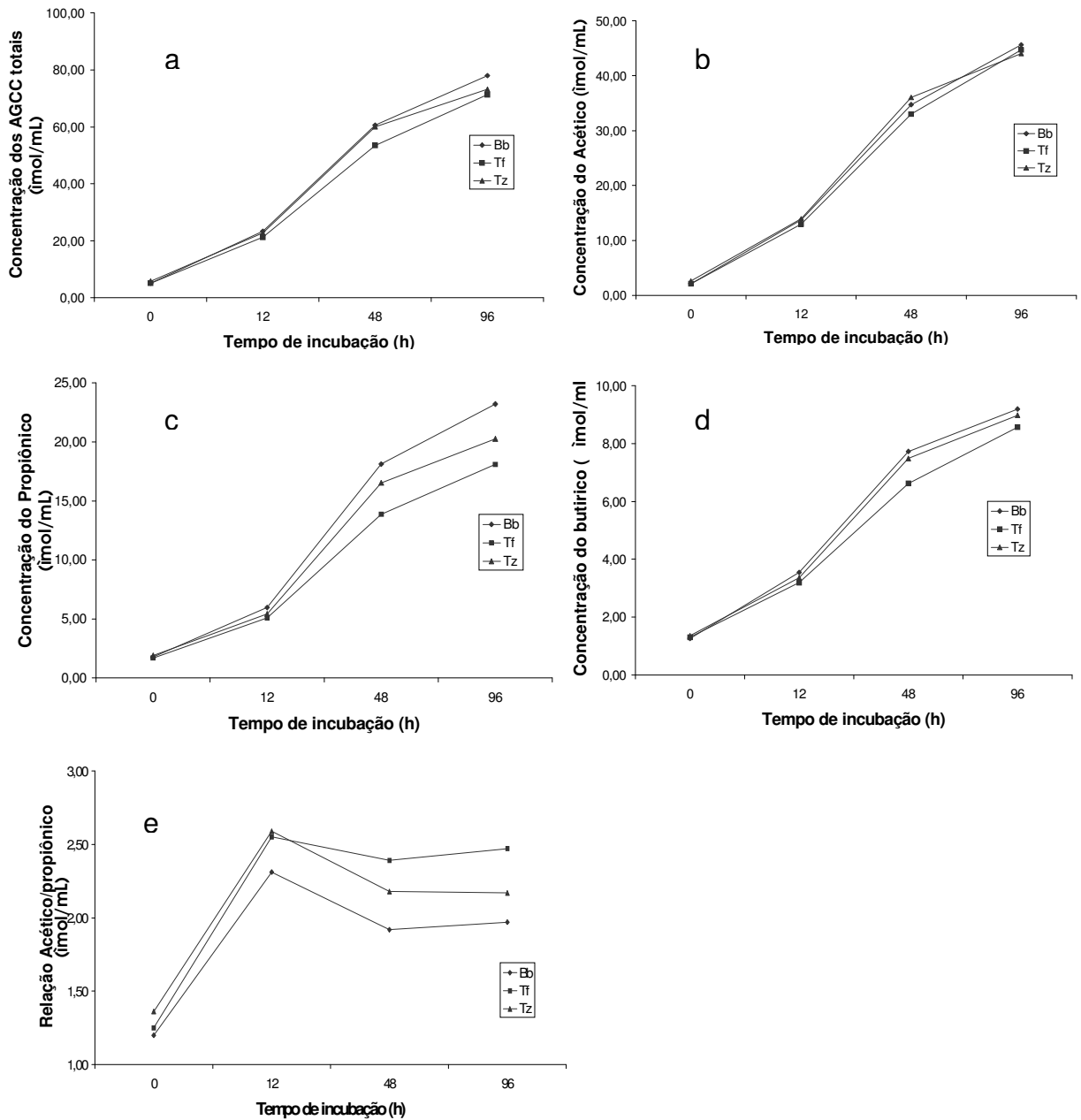


Figura 7. Médias observadas: concentração (̑mol/mL) da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC): (a) totais, (b) acético, (c) propiónico, (d) butírico, (e) relação acético:propiónico (A:P). Obtidos na degradabilidade *in vitro* pela técnica de produção de gases no sobrenadante após 0, 12, 48 e 96h de incubação de 600 mg de MS das gramíneas: Bb- *Brachiaria brizanta*, Tf- Tifton 85, Tz-Tanzânia, na época: Abril-maio.

3.6 Correlações entre composição química, digestibilidade, degradabilidade e produção de gases *in vitro*.

Nas Tabelas 17 e 18 são apresentados os coeficientes de correlação entre composição química, digestibilidade da matéria seca, degradabilidade potencial, degradabilidade efectiva (com kp de 2%), produção de gases as 48 e 96h (G48 e G96), e produção de ácidos graxos voláteis totais e a relação acético:propiónico às 48 e 96h (T48, A:P48, T96, A:P96), nas épocas de janeiro-março e abril-junho, respectivamente.

Na época janeiro-março, encontrou-se coeficientes de correlação de -0,72 (P<0,05), -0,83 (P<0,01), -0,80 (P<0,001), e -0,77 (P<0,05) entre a percentagem de PB e percentagens de FDN, FDA, relação acético:propiónico às 48 e 96h respectivamente; e correlações positivas 0,93 (P<0,001), 0,80 (P<0,01), e 0,88(P<0,01), entre PB e DIVMS, DE2 e G48 respectivamente. Assim a maiores percentagens de PB, menores percentagens de parede celular e maior digestibilidade, e degradabilidade.

A FDN teve coeficientes de correlação negativos significativos -0,92 (P<0,001), -0,88 (P<0,01), -0,85 (P<0,01), -0,91 (P<0,001) e -0,91 (P<0,001) para carboidratos não estruturais, digestibilidade da matéria seca, degradabilidade potencial, degradabilidade esperada (kp 2%) e produção de gases às 48h. ALVES DE BRITO *et al*, (2003) encontraram o mesmo valor (r= -0,88) entre FDN e DIVMS, e um valor menor (r=0,83) entre PB e DIVMS.

Encontraram-se coeficientes de correlação positivos de 0,97, 0,84 e 0,95 entre a produção de gases às 48h e DIVMS, DP e DE2. Houve coeficientes de 0,70, 0,79 e 0,69 (p<0,05) entre produção de AGCC totais às 48h e CNE, DP e DE2.

Na época abril-junho não teve coeficientes de correlação significativos para proteína. Os resultados também mostraram coeficientes negativos -0,82 (P<0,01), -0,83 (P<0,01), -0,70 (P<0,05), -0,91 (P<0,001), e -0,81 (P<0,01) entre FDN e CNE, DIVMS, DP, DE2 e T48, e positivos entre FDN e LIG 0,74 (P<0,05).

A mesma tendência de coeficientes de correlação positivos foram obtidas entre G48 e DIVMS, DP, e DE2, 0,69 (P<0,05), 0,85 (P<0,01) e 0,80 (P<0,01)

respectivamente. Coeficientes de 0,76 (P<0,05), 0,79 (P<0,05), 0,73 (P<0,01), 0,83 (P<0,01), 0,80 (P<0,01) apresentou-se entre T48 e DIVMS, DP, DE2, G48 e G96.

Tabela 17. Coeficientes de correlação (r) entre a composição química, a digestibilidade *in vitro* da matéria seca, degradabilidade potencial, degradabilidade efetiva, produção de gases as 48 e 96hr (G48 e G96), e produção de ácidos graxos voláteis totais e a relação acético:propiónico às 48 e 96h (T48, A:P48,T96,A:P96); época janeiro-março.

	PB	FDN	FDA	LIG	CNE	DIV MS	DP	DE2	G48	G96	T48	A:P 48	T96	A:P 96
PB		-0,72*	-0,83**	-0,20 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,93***	0,53 ^{ns}	0,80**	0,88**	0,51 ^{ns}	0,37 ^{ns}	-0,80**	-0,50 ^{ns}	-0,77*
FDN			0,65 ^{ns}	0,61 ^{ns}	-0,92***	-0,88**	-0,85**	-0,91***	-0,91***	-0,55 ^{ns}	-0,79*	0,67*	0,52 ^{ns}	0,68*
FDA				0,30 ^{ns}	-0,65 ^{ns}	-0,78*	-0,49 ^{ns}	-0,70*	-0,77*	-0,43 ^{ns}	-0,37 ^{ns}	0,71*	0,14 ^{ns}	0,69*
LIG					-0,70*	-0,39 ^{ns}	-0,68*	-0,71*	-0,50 ^{ns}	-0,55 ^{ns}	-0,64 ^{ns}	0,46 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	0,42 ^{ns}
CNE						0,75*	0,75*	0,81**	0,76*	0,48 ^{ns}	0,70*	-0,60 ^{ns}	-0,27 ^{ns}	-0,57 ^{ns}
DIV MS							0,71*	0,91***	0,97***	0,60 ^{ns}	0,50 ^{ns}	-0,88**	0,54 ^{ns}	-0,81**
DP								0,83**	0,84**	0,72*	0,79*	-0,59 ^{ns}	-0,39 ^{ns}	-0,73*
DE2									0,95***	0,67*	0,69*	-0,84**	-0,29 ^{ns}	-0,78*
G48										0,68*	0,63 ^{ns}	-0,86**	0,48 ^{ns}	-0,86**
G96											0,21 ^{ns}	0,77*	0,22 ^{ns}	-0,92***
T48												-0,23 ^{ns}	0,27 ^{ns}	-0,28 ^{ns}
A:P48													0,22 ^{ns}	0,89**
T96														0,35 ^{ns}
A:P96														

ns:não significativo (P>0,05); *P<0,05;**P<0,01;***P<0,001

Tabela 18. Coeficientes de correlação (r) entre a composição química, a digestibilidade *in vitro* da matéria seca, degradabilidade potencial, degradabilidade efetiva, produção de gases as 48 e 96hr (G48 e G96), e produção de ácidos graxos voláteis totais e a relação acético:propiónico às 48 e 96h (T48, A:P48,T96,A:P96); época abril-junho.

	PB	FDN	FDA	LIG	CNE	DIV MS	DP	DE2	G48	G96	T48	A:P 48	T96	A:P 96
PB		0,23 ^{ns}	-0,53 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,34 ^{ns}	-0,32 ^{ns}	-0,34 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,50 ^{ns}	0,54 ^{ns}	-0,29 ^{ns}	0,38 ^{ns}
FDN			0,04 ^{ns}	0,74*	-0,82**	-0,83**	-0,70*	-0,91***	-0,54 ^{ns}	-0,50 ^{ns}	-0,81**	0,58 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,64 ^{ns}
FDA				0,29 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	-0,34 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	-0,38 ^{ns}	-0,61 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,57 ^{ns}	0,01 ^{ns}
LIG					-0,41 ^{ns}	-0,91***	-0,97***	-0,88**	-0,83**	-0,86**	-0,88**	0,77*	-0,81**	0,76*
CNE						0,48 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,30 ^{ns}	0,59 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,15 ^{ns}
DIV MS							0,90***	0,90***	0,69*	0,67*	0,76*	-0,75*	0,68*	-0,85**
DP								0,94***	0,85**	0,86**	0,79*	-0,82**	0,84**	-0,83**
DE2									0,82**	0,73*	0,73*	-0,93***	0,78**	-0,96***
G48										0,93***	0,83**	-0,79*	0,91***	-0,70*
G96											0,80**	-0,63 ^{ns}	0,91***	-0,54 ^{ns}
T48												-0,68*	0,72*	-0,58 ^{ns}
A:P48													-0,79*	0,94**
T96														-0,68*
A:P96														

ns:não significativo (P>0,05); *P<0,05;**P<0,01;***P<0,001

4. Conclusões

O valor nutritivo (composição química, digestibilidade e produtos da digestão) da *Brachiaria brizantha* foi superior nas duas épocas do ano e nas idades de corte avaliadas nas condições deste trabalho comparada com Tanzânia e Tifton 85.

A técnica da produção de gases *in vitro* descreveu a cinética da fermentação e as taxas de degradação.

Os coeficientes de correlação estabelecidos, podem ser a base de futuros trabalhos com a técnica de produção de gases para ter uma previsão da resposta do material a ser analisada de acordo com a composição química.

CAPÍTULO III – IMPLICAÇÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem a visualização de uma série de correlações existentes entre composição química, digestibilidade e produtos da digestão, e de maneira mais complexa a relação com a microbiota do rúmen. Embora a avaliação de alimentos, a partir de suas características, seja utilizada para tentar prever o desempenho animal, a melhor forma de avaliar esse desempenho é o próprio consumo e a produção do animal. A predição da utilização dos diferentes nutrientes pelo animal é difícil quando se utiliza somente técnicas *in vitro*. Dessa forma sugerem-se estudos relacionando resultados *in vitro* e *in vivo* que ajudem principalmente visualizar o consumo, o desempenho e o comportamento da microbiota com produtos da fermentação, para diferentes alimentos volumosos tipicamente utilizados nas condições tropicais.

Baseados nos resultados obtidos durante todo o trabalho, pode-se observar que quanto maior o conteúdo de CNE e menor o conteúdo da parede celular, maior será o benefício para o animal hospedeiro, que perderá menos energia em forma de metano. Neste estudo, a gramínea com estas características, *Brachiaria brizantha*, foi a que apresentou a menor relação acético:propiónico. Este fato merece atenção, uma vez que a eficiência de aproveitamento da energia das gramíneas tropicais pode ser melhorada através de manejos adequados e planejamento da utilização das mesmas.

Por outro lado, a preocupação com a produção de gás metano pela pecuária tem mobilizado pesquisas no sentido de avaliar a quantidade de gás produzido pelo sistema de produção tropical e reduzir a emissão do metano pelo sistema produtivo. Embora não fosse objetivo deste trabalho medir as quantidades de metano produzido pelas gramíneas tropicais, a técnica de produção de gases *in vitro* apresenta-se como uma metodologia de fácil utilização para este propósito e pode ser empregada em medições iniciais dos materiais comumente utilizados na alimentação tropical, como uma etapa anterior à pesquisas *in vivo*, com os materiais mais promissores com relação à redução da produção de metano.

REFERÊNCIAS

- AKIN, D. E. Rumen microbial degradation of grass tissue revealed by scanning electron microscopy. **Agronomy Journal**, Madinson, v. 65, p. 825-828, 1973.
- ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 12, p. 3063-3075, 1996.
- ALMEIDA, A. R. P. **Alelopatia de cultivares de *Panicum maximun* Jacq., sobre leguminosas forrageiras arbustivas e arbóreas.** 1999. 123 f. Tese (Doutorado em Zootecnia- área de Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.
- ALVES DE BRITO, C. J. F.; RODELLA, R. A.; DESCHAMPS, F. C. Perfil químico da parede celular e suas implicações na digestibilidade de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, suplemento 2, n. 6, p. 1835-1844, 2003.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis.** 12 ed. Washington, 1990. 1098 p.
- BALSALOBRE, M. A. A.; CORSI, M.; SANTOS, P. M.; VIERA, I.; CARDENAS, R. R. Composição Química e Fracionamento do Nitrogênio e dos Carboidratos do Capim- Tanzânia Irrigado sob Três Níveis de Resíduo Pós-pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 519-528, 2003.
- BEEVER, D. E.; MOULD, F. L. Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. In: GIVENS, D. I.; OWEN, E.; AXFORD, R. F. E.; OMED, H. M. (Ed). **Forage evaluation in ruminant nutrition.** Wallingford: CAB International Publishing, 2000. p. 15-42.

BEEVER, D. E. Rumen function. In: FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Ed). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallingford: CAB International Publishing, 1993. p. 187-215.

BEUVINK, J.; SPOELSTRA, S. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms *in vitro*. **Applied Microbiology Biotechnology**, Berlin, v. 37, p. 505–509, 1992.

BEUVINK, J.; SPOELSTRA, S.; HOGENDORP, R. An automated method for measuring time course of gas production of feedstuffs incubated with buffered rumen fluid. **Netherlands Journal of Agriculture Science**, Wageningen, v. 40, n. 4, p. 401–407, 1992.

BLUMMEL, M.; ØRSKOV, E. R. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 40, n. 2-3, p. 109–119, 1993.

BOTREL, M. A.; NOVAES, L. P. N.; ALVIM, M. J. **Características forrageiras de algumas gramíneas tropicais**. Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL, 1998, 35 p. (documentos, 66).

BRÂNCIO, P. A.; JUNIOR, D. do N.; EUCLIDES, V. P. B.; REGAZZI, A. J.; ALMEIDA, R.G.; FONSECA, D. M.; BARBOSA, R. A. Avaliação de três cultivares de *Panicum maximum* Jacq. sob pastejo. composição química e digestibilidade da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 4, p. 1605-1613, 2002.

BUENO, I. C. S.; CABRAL FILHO, S. L. S.; GOBBOA S. P.; LOUVANDINI H.; VITTI D. M. S. S.; ABDALLA A. L. Influence of inoculum source in a gas

production method. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123–124, p. 95–105, 2005.

BURTON, G. W.; GATES, R. N.; HILL, G. M. Registration of Tifton 85 Bermudagrass. **Crop Science**, Madison, v. 33, n. 3, p. 644-645, 1993.

BUXTON, D. R.; CASLER M. D. Environmental and genetic effects on cell wall composition and digestibility In: JUNG, H. G., BUXTON, D. R., HATFIELD, R. D.; RALPH, J. (Ed.) **Forage cell wall structure and digestibility**, Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. 1993. p. 685-714.

BUXTON, D. R.; REDFEARN D. D. Plant limitations to fiber digestion and utilization. **Journal Nutrition**, Philadelphia, v. 127, suppl., p. 814s-818s, 1997.

CABALLERO, R.; ALZUETA, C.; ORTIZ, L. T.; RODRÍGUEZ, M. L.; BARRO, C.; REBDE, A. Carbohydrate and protein fractions of fresh and dried Common Vetch at three maturity stages. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 5, p. 1006-1013, 2001.

CHERNEY, D. J. R. Characterization of forages by chemical analyses. In: GIVENS, D. I.; OWEN, E.; AXFORD, R. F. E.; e OMED, H. M. (Ed). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International Publishing, 2000. p. 281-300.

CONE, J. W.; VAN GELDER, A. H.; VISSCHER, G. J. W.; OUDSHOORN, L. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 61, n.1-4, p.113–128, 1996.

CZERKAWSKI, J. W.; BRECKENRIDGE, G. New inhibitors of methane production by rumen micro-organisms. Development and testing of inhibitors *in vitro*. **British Journal Nutrition**. Cambridge, v. 34, n.3, p. 429–444, 1975.

DA SILVA, S. C. Manejo de plantas forrageiras dos gêneros *Brachiaria*, *Cynodon* e *Setaria*. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. (Ed). **Volúmosos para ruminantes**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1995. p. 29-57.

DA SILVA, S. C.; SBRISSIA, A. F. A planta forrageira no sistema de produção. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 17, 2000. Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: FEALQ, 2000. p. 3-20.

DAVIES, Z. S.; MASON, D.; BROOKS, A. E.; GRIFFITH, G. W.; MERRY, R. J.; THEODOROU, M. K. An automated system for measuring gas production from forages inoculated with rumen fluid and its use in determining the effect of enzymes on grass silage. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 83, p. 205–221, 2000.

DERESZ, F.; CÓSER, A. C.; MARTINS, C. E.; BOTREL, M. A.; AROEIRA, L. J. M.; MALDONADO, V. H.; MATOS, L.L. Utilização de capim-elefante (*Pennisetum purpurem* Schum.) para produção de leite. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FORRAGEIRAS E PASTAGENS, 1994. Campinas. **Anais ...** Campinas, CBNA, 1994, p.183-199.

EVANGELISTA, A. R.; PINTO, J. C. Potencial do gênero *Cynodon* para produção de ruminantes: realidades e perspectivas. In: REIS, R. A.; SIQUIERA, G. R.; BERTIPAGLIA, L. M. A.; OLIVEIRA, A. P.; MELO, G. M. P.; BERNARDES, T. F. (Ed). **Volúmosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP. 2005. p 257-279.

EVANGELISTA, A. R.; ROCHA, G. P. **Forragicultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. p. 246.

FONDEVILA, M.; BARRIOS A. The gas production technique and its application to the study of the nutritive value o forages. **Cuban Journal of Agricultural Science**, La Habana, v. 35, n. 3, p. 187-196, 2001.

FRANCE, J.; DHANOA, M. S.; THEODOROU, M. K.; LISTER, S. J.; DAVIES, D. R.; ISAC, D. A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feeds. **Journal of Theoretical Biology**, London, v. 163, n. 2, p. 99-111, 1993.

GERDES, L.; WERNER, J. C.; COLOZZA, M. T.; POSSENTI, R.; SCHAMMASS, L. A. Avaliação de características de valor nutritivo das gramíneas forrageiras Marandu, Setária e Tanzânia nas estações o ano I. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 955-963, 2000.

GETACHEW, G.; BLUMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 72, n. 3-4, p. 261-281. 1998.

GETACHEW, G.; ROBINSON, P. H.; DEPETERS, E. J.; TAYLOR, S. J. Relationship between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 111, n. 1-4, p. 57-71, 2004.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis**. Washington, Agricultural Research Service, USDA, 1970. p.20. (Agricultural Handbook, 379).

HERLING, V. R.; BRAGA, G. J.; LUZ, P. H. C.; OTANI, L.; Tobiata, Tanzânia e Mombaça. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 17, 2000. Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: FEALQ, 2000, p. 21-64.

HERRERO, M.; VALLE, C. B. do; HUGHES, N. R. G.; SABATER V. O.; JESSOP, N. S. Measurements of physical strength and their relationship to the chemical composition of four species of *Brachiaria*. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.92, n. 3-4, p. 149–158. 2001.

HILL, G. M.; GATES, R. N.; WEST, J. W.; MANDEBVU, P. Pesquisa com capim Bermuda cv. Tifton 85 em ensaios de pastejo e digestibilidade de feno com bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 15. 1998, Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 7-22.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 1966. 533 p.

JONES, D. I. H., THEODOROU, M. K. Enzyme techniques for estimating digestibility. In: GIVENS, D. I.; OWEN, E.; AXFORD, R. F. E.; e OMED, H. M. (Ed). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International Publishing, 2000. p. 155-173.

JOUANY, J. P.; THIVEND, P. *In vitro* effect of avoparcin on protein degradability and rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 215–229, 1986.

JUNG H. G.; ALLEN M. S. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility or forages by ruminants. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 9, p. 2774-2790, 1995.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2002. 140 p.

KRISHNAMOORTHY, U.; RYMER, C.; ROBINSON, P. H. The *in vitro* gas production technique: limitations and opportunities. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, n.1, p. 1-7, 2005.

LEVENTINI, M. W.; HUNT, C. W.; ROFFLER, R. E. CASEBOLT, D. G. Effect of dietary level of barley-based supplements and ruminal buffer on digestion and growth by beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n. 12, p. 4334-4344, 1990.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 57, n. 4, p. 347-358, 1996.

MALAFAIA, P. A. M.; VALADARES FILHO, S. C.; VIEIRA, R. A. M.; DA SILVA, J. F. C.; PEREIRA, J. C. Determinação e cinética ruminal das frações protéicas de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 1243-1251, 1997.

MAURICIO, R. M.; MOULD, F. L.; DHANOA, M. S.; OWEN, E.; CHANNA, K. S.; THEODOROU M. K. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 79, n.4, p. 321-330, 1999.

MCBEE, R. H. Manometric method for the evaluation of microbial activity in the rumen with application to utilization of cellulose and hemicelluloses. **Applied Microbiology**, Washington, v.1, n. 1, p.106–110, 1953.

McDONALD, P.; EDWARDS, R.; GREENHALGH, J. F. D. **Nutrición animal**. 5^a. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 571 p.

McDOUGAL, E. I. Studies on ruminal saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemical Journal**, London, v. 43, n. 1, p. 99-109, 1949.

MEHREZ, A. Z.; ØRSKOV, E. R. A study of the artificial fiber bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 88, p. 645-650, 1977.

MENKE, K.; RAAB, L.; SALEWSKI, A.; STEINGASS, H.; FRITZ, D.; SCHNEIDER, W. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. **Journal Agricultural Science**, Cambridge, v. 93, n. 2, p. 217–222, 1979.

MERTENS, D. R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação e formulação de rações. In: "SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA", 29, 1992, Lavras. **Anais ...** Lavras: SBZ, 1992, p.188-219.

MERTENS, D. R. Kinetics of cell wall digestion and passage in ruminants. In: JUNG H. G.; BUXTON D. R.; HATFIELD R. D.; RALPH J. (Ed.) **Forage cell wall structure and digestibility**, Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 1993. p. 685-714.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY Jr., G.C.; COLLINS, M.; MERTENS, D. R.; MOSER; L. E. (Ed.). **Forage quality evaluation and utilization**. Nebraska: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America, 1994. p. 450-493.

MOTT, G. O.; MOORE, J. E. Forage evaluation techniques in perspective. In: BARNES, R. F.; CLANTON, D. C.; GORDON, C., H.; KLOPFENSTEIN, T. J.; WALDO, D. R. (Ed). **Forage quality evaluation and utilization**. Nebraska: Nebraska Center for Continuing Education, 1970, p L1-L10.

MOTT, G. O. Evaluación de la producción de forrajes In: HUGHES, H. D.; HEATH, M. E.; METCALFE, D. S. (Ed.) **Forrajes - la ciencia de la agricultura basada en la producción de pastos**. México. 1970, p.131-141.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrients requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, DC: National Academy Press, 1996, 242 p.

NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; FONDEVILA, M.; URDANETA, A. B.; RONQUILLO, M. G. *In vitro* microbial fermentation of tropical grasses at an advanced maturity stage. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v. 83, n. 2, p. 145-157, 2000.

NORTON, B. W. Differences between species in forage quality. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM HELD: NUTRITIONAL LIMITS TO ANIMAL PRODUCTION FROM PASTURES. 1981, St. Lucia. **Proceedings ...** St. Lucia, 1981, p. 89-110.

OMED, H. M.; LOVETT, D. K.; AXFORD, R. F. E. Faeces as a source of microbial enzymes for estimating digestibility. In: GIVENS, D. I.; OWEN, E.; AXFORD, R. F. E.; e OMED, H. M. (Ed). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International publishing, 2000. p. 135-154.

ØRSKOV, E. R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubations measurements weighted according to the rate of

passage. **Journal of Agricultural Science**. Cambridge, v. 92, n.2, p. 499-503, 1979.

PEDREIRA, C. G. S. Capins do gênero *Cynodon*: histórico e potencial para a pecuária brasileira. In: VILELA, D.; RESEDE, J. C.; LIMA, J. (Ed). **Cynodon**: forrageiras que estão revolucionando a pecuária brasileira. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, 2005. p. 33-58.

PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal Dairy Science**. Champaign, v. 76, n, 7, p. 1063–1073, 1993.

QUEIROZ, D. S.; GOMIDE, J. A.; MARIA, J. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. 1. Digestibilidade *in vitro* e composição química. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n.1, p. 53-60, 2000a.

QUEIROZ, D. S.; GOMIDE, J. A.; MARIA, J. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. 2. Anatomia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 61-68, 2000b.

RAO, I.; KERRIDGE, P.; MACEDO, M. C. Nutritional requirements of *Brachiaria* and adaptation to acid soils. In: MILES, J. W.; MAASS, B. L.; VALLE C. B. (Ed). **Brachiaria**: biology, agronomy, and improvement. Cali: CIAT/Brasília: Embrapa-CNPGC, 1996. p 53-71.

REIS, R. A.; MELO G. M. P.; BERTIPAGLIA L. M. A.; OLIVEIRA, A. P.; Otimização da utilização da forragem disponível através da suplementação estratégica. In: REIS R. A.; SIQUEIRA, G. R.; BERTIPAGLIA, L. M. A.;

OLIVEIRA, A. P.; MELO, G. M. P.; BERNARDES, T. F. (Ed.). **Volumosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2005. p. 187-238.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 12, p. 3551-3561, 1992.

RYMER, C.; HUNTINGTON, J. A.; WILLIAMS, B. A.; GIVENS, D. I. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, n. 1, p. 9-30, 2005.

SAVIDAN, Y. H.; JANK, L.; COSTA, J.C.G. **Registro de 25 acessos selecionados de *Panicum maximum***. Campo Grande: EMBRAPA- CNPGC, 1990. 68 p. (documentos 44).

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, D. J.; VAN SOEST, P. J.; FOX, P. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 12, p. 3562-3577, 1992.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS - SAS. **User's guide**: Statistics version 8e. Cary. 2001.

STERN, M.D.; BACH A.A.; CASAMIGLIA S. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 2256-2276, 1997.

TEDESCHI, L. O.; FOX D. G.; TYLUTKI, T. P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 32, n. 7, p. 1591-1602, 2003.

THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S.; McALLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetic of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 48, n. 2, p. 185-197, 1994.

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

TREI, J.; HALE, W.; THEURER, B. Effect of grain processing on *in vitro* gas production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 30, n. 6, p. 825–831. 1970.

VALK H.; KAPPERS I.E.; TAMMINGA S. In sacco degradation characteristics of organic matter, neutral detergent fibre and crude protein of fresh grass fertilized with defferent amounts of nitrogen. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 63, n. 1, p. 63-87. 1996.

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

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**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VARGA, G. A.; KOLVER, E. S. Microbial and animal limitations to fiber digestion and utilization. **Journal Nutrition**, Philadelphia, v. 127, suppl., p. 819S-823S, 1997.

VIEIRA R. A. M.; PEREIRA J. C.; MALAFAIA P. A. M.; QUEIROZ, A. C.; GONÇALVES, A. L. Fracionamento e cinética de degradação *in vitro* dos compostos nitrogenados da extrusa de bovinos a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 880-888, 2000a.

VIEIRA, R. A. M.; PEREIRA, J. C.; MALAFAIA, P. A. M. Fracionamento dos carboidratos e cinética de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro da extrusa de bovinos a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 889-897, 2000b.

WEISS, W. P. Estimation of digestibility of forages by laboratory methods. In: FAHEY Jr., G. C.; COLLINS, M.; MERTENS, D. R.; MOSER; L. E. (Ed.). **Forage quality evaluation and utilization**. Nebraska: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America, 1994. p. 644-651.

WILKINS, J. Pressure transducer method for measuring gas production by microorganisms. **Applied Microbiology**. Washington, v. 27, n. 1, p. 135-140, 1974.

WILLIAMS, B. A. Cumulative gas production techniques for forage evaluation. In: GIVENS, D. I.; OWEN, E.; AXFORD, R. F. E.; OMED, H. M. (Ed). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International Publishing, 2000, p. 189-214.

WILSON J. R. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 122, n. 2, p. 173-182, 1994.

WILSON, J. R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H. G., BUXTON, D. R., HATFIELD, R. D.; RALPH, J. (Ed.) **Forage cell wall structure and digestibility**, Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 1993. p. 1-32.

WILSON, J. R. Structural and anatomical traits of forage influencing their nutritive value for ruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1997. p. 173-208.

WILSON, J. R.; ANDERSON, K. L.; HACKER, J. B. Dry matter digestibility in vitro of leaf and stem of buffel grass (*Cenchrus ciliaris*) and related species and its relation to plant morphology and anatomy. **Australian Journal Agriculture Research**, Victoria, v. 40, n. 2, p. 281-291, 1989.

WILSON, J. R.; BROWN, R. H.; WINDHAM, W. R. Influence of leaf anatomy on dry matter digestibility of C₃, C₄, and C₃/C₄ intermediate types of Panicum species. **Crop Science**, Madison, v. 23, n. 1, p. 141-146, 1983.