

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA E PROTÉICA DE UM
VOLUMOSO DE BAIXA QUALIDADE ATRAVÉS DE TÉCNICAS *IN VITRO***

CÁSSIO ANDRÉ WILBERT
Médico Veterinário/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Zootecnia
Área de Concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil
Fevereiro de 2009

AGRADECIMENTOS

Normalmente lembrado por mim somente nos momentos de pedir, agradeço primeiro a Deus pelo caminho até aqui trilhado.

À toda minha família (avós, tios, primos, afilhados e irmão), mas especialmente a meus pais, Luiz e Nair, que sempre apóiam, acreditam e confiam em tudo o que faço. Amo vocês e os tenho como exemplo de vida a seguir.

À minha namorada Viviane pela paciência e compreensão nos muitos momentos de ausência, confiança em tudo o que faço e, principalmente, pelo amor, sentimento essencial nessa vida. Te amo!

Ao professor Ênio Rosa Prates pelos ensinamentos como pesquisador e também ensinamentos de vida, apoio e, inclusive, financiamento deste trabalho. Exemplo de caráter e de conduta como pesquisador. Espero um dia ser capaz de retribuir tudo o que o senhor tem feito por mim.

Ao professor Júlio Otávio Jardim Barcellos pela confiança em mim depositada.

A todos os colegas do NESPRO, especialmente aos bolsistas de iniciação científica (Jenifer, Juliana, Maria Eugênia, Maurício e Tamara), que contribuíram para a realização dos experimentos.

À pesquisadora Cristina Genro e a todo pessoal do laboratório de nutrição animal da Embrapa Pecuária Sul, especialmente a laboratorista Camila.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, especialmente a Mônica pelo auxílio laboratorial.

A todos os amigos que contribuíram para a realização deste trabalho (Diego Ocampos, Eduardo Azevedo, Francisco Cortez), especialmente ao André Finkler (uma espécie de co-co-orientador) e conselheiro desde o início de minha graduação.

A todos os professores do Departamento de Zootecnia, especialmente ao professor Alexandre Kessler pelo fornecimento da proteína isolada de soja e ao professor Harold Ospina, meu primeiro orientador e responsável por me inculcir esse desejo em fazer pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos, fundamental para essa etapa de minha vida.

Enfim, como temos poucas chances de agradecer, agradeço a todos que me auxiliaram em algum momento de minha vida.

Muito Obrigado!

AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA E PROTÉICA DE UM VOLUMOSO DE BAIXA QUALIDADE ATRAVÉS DE TÉCNICAS *IN VITRO*¹

Autor: Cássio André Wilbert

Orientador: Ênio Rosa Prates

Co-orientador: Júlio Otávio Jardim Barcellos

RESUMO

Foram conduzidos dois ensaios de digestibilidade *in vitro* verdadeira (ensaios 1 e 2) e um de produção cumulativa de gás *in vitro* (ensaio 3) para avaliar a combinação da suplementação energética com a protéica, em dietas baseadas em um volumoso de baixa qualidade - feno de Tifton (*Cynodon dactylon* L.) (PB: 7,69 %; FDN: 70,34 %). Foram avaliados quatro níveis de grão de milho (M)(0, 20, 40 e 60 %) e quatro de PDR suplementar (0; 2,8; 5,6; 8,4 %), tendo como fonte uréia (ensaio 1) ou proteína isolada de soja (PIS)(ensaio 2). No experimento 3 foram avaliados os mesmos níveis de milho e de PDR tendo como fonte tanto a uréia quanto a PIS. Ensaio 1: houve um aumento linear da DIVVMO sem M em resposta à PDR. Foi observado um comportamento quadrático da DIVFDN em resposta à PDR, com 20 % de M. A taxa de degradação da MO aumentou linearmente em resposta ao M. A degradabilidade efetiva (DE) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h aumentou linearmente em resposta à PDR, com 20 % de M. A uma taxa de passagem de 5 %/h a DE da MO aumentou linearmente em resposta ao M. A mesma resposta foi observada no *lag-time* da FDN. Ensaio 2: a DIVVMO aumentou linearmente em resposta ao M. A taxa de degradação da MO foi afetada quadraticamente pelo M e a taxa de degradação da FDN respondeu linearmente à PDR com 20 ou 40 % de M. A DE da MO diminuiu linearmente com o acréscimo na PDR com 60 % de M. A concentração de N-NH₃ aumentou linearmente em resposta à suplementação protéica nos experimentos 1 e 2. Ensaio 3: a produção de gás e a DIVVMO aumentaram linearmente em resposta à inclusão de M com uma inclinação maior utilizando PIS. Com 20 % de M, a produção de gás diminuiu linearmente com o aumento na PDR. O fator de partição foi superior com PIS e foi detectado um aumento linear em resposta ao incremento da PDR com 20 % de M. A produção máxima de gás da fração de rápida (A) e de lenta degradação (D) aumentaram linearmente em resposta à inclusão de M com PIS, e quadraticamente com uréia. A taxa de degradação de A foi afetada quadraticamente pelo nível de M e a taxa de degradação de D foi maior com uréia. O *lag-time* de A aumentou linearmente em resposta a inclusão de M e no *lag-time* de D, foi observada uma resposta quadrática. Não foi possível detectar, com exceção dos tempos de colonização, efeitos negativos da suplementação com M e, na maioria das vezes, sua utilização em níveis moderados foi positiva. A suplementação protéica associada à energética foi benéfica em alguns parâmetros estudados. A uréia foi melhor em níveis moderados de M e sobre a degradação da fibra do que a PIS.

¹ Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil. (180 p.) fevereiro, 2009.

EVALUATION OF ENERGY AND PROTEIN SUPPLEMENTATION OF A LOW QUALITY ROUGHAGE BY *IN VITRO* TECHNIQUES¹

Author: Cássio André Wilbert

Adviser: Ênio Rosa Prates

Co-adviser: Júlio Otávio Jardim Barcellos

RESUMO

Two *in vitro* digestibility experiments (trial 1 and 2) and one *in vitro* gas production (trial 3) were conducted to evaluate the combination between energy and protein supplementation in diets based on a low quality roughage – Tifton hay (*Cynodon dactylon* L.) (CP: 7,69 %; NDF: 70,34 %). It was evaluated four levels of ground corn grain (GC) (0, 20, 40 and 60 %) and four levels of supplemental RDP (0; 2,8; 5,6 e 8,4 %), using as protein source urea (trial 1) or isolated soybean protein (ISP)(trial 2). In trial 3 it was evaluated the same GC and RDP levels using as protein source urea and ISP. Trial 1: there was a linear increase on OMIVTD in response to GC. It was observed a quadratic behavior of the NDFIVD in response to RDP, with 20 % of GC. The OM rates (C) increased linearly with the GC inclusion. The OM effective degradability (ED) increased linearly in response to RDP with 20 % of GC with a 2 %/h passage rate. With a 5 %/h passage rate the OM ED increased linearly with the GC. The same response was observed with the NDF *lag-time*. Trial 2: the OMIVTD increased linearly in response to GC. The OM degradation rate was quadratic affected by the GC and the NDF degradation rate responded linearly to RDP with 20 or 40 % of GC. The OM ED decreased linearly with the increase in the RDP with 60 % of GC. The N-NH₃ concentration increased linearly in response to protein supplementation in the trials 1 and 2. Trial 3: the gas production and the OMIVTD increased linearly in response to GC inclusion with a major slope using PIS. With 20 % of GC, the gas production decreased linearly with the increase in the RDP. The partitioning factor was greater with ISP and was detected a linear increase in response to RDP increase with 20 % of GC. The fast (A) and slow (D) degradation maximum gas production increased linearly in response to the GC inclusion, with ISP, and quadratic with urea. The A degradation rate responded in a quadratic manner by GC supplementation and the D degradation rate was greater with urea. The A *lag-time* increased linearly in response to GC inclusion and in the D *lag-time*, was observed a quadratic response. With the exception of *lag-times*, was not possible to detect negative effects of the GC supplementation and, in the majority of the times, its utilization in moderate levels was positive. The protein supplementation associated to the energy was benefit in some studied parameters. The urea was better in GC moderate levels and in the fiber degradation than the ISP.

¹ Master Science Dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (180 p.) february, 2009.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1.	Suplementação de ruminantes.....	3
2.1.2.	Suplementação de volumosos de baixa e média qualidade.....	3
2.1.3.	Efeitos associativos.....	4
2.1.3.1.	Efeitos associativos negativos na suplementação de volumosos de baixa e média qualidade.....	5
2.1.4.	Suplementação energética.....	6
2.1.5.	Suplementação protéica.....	8
2.1.5.1.	NNP.....	10
2.1.5.2.	Níveis suplementação protéica.....	12
2.1.5.3.	Relação entre nitrogênio amoniacal e degradabilidade ruminal.....	13
2.1.6.	Associação entre suplementação protéica e energética.....	15
2.2.	Técnicas de digestibilidade <i>in vitro</i>	18
2.2.1.	Técnica de produção cumulativa de gás <i>in vitro</i>	20
2.2.1.2.	História.....	20
2.2.1.3.	Técnicas utilizadas.....	20
2.2.1.4.	Influência do inóculo.....	25
2.2.1.4.1.	Influência da dieta dos animais doadores de inóculo.....	25
2.2.1.4.2.	Jejum prévio.....	26
2.2.1.4.3.	Fração de conteúdo ruminal coletada.....	26
2.2.1.4.4.	Espécie doadora de inóculo.....	27
2.2.1.4.5.	Método de coleta do inóculo.....	27
2.2.1.4.6.	Fezes x conteúdo ruminal.....	28
2.2.1.5.	Meio de cultura.....	29
2.2.1.6.	Fator de partição.....	29
2.2.2.	Estudo da cinética ruminal.....	30
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1.	Experimento 1.....	31
3.1.1.	Local e duração do experimento.....	31
3.1.2.	Animais experimentais.....	31
3.1.3.	Alimentação dos animais experimentais.....	32
3.1.4.	Tratamentos.....	32
3.1.4.1.	Preparação das amostras.....	34
3.1.5.	Condução do experimento.....	34
3.1.6.	Determinações realizadas.....	34

3.1.6.1.	Digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira.....	34
3.1.6.1.1.	Digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira da matéria orgânica..	36
3.1.6.1.2.	Digestibilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro.....	37
3.1.6.2.	Nitrogênio amoniacal.....	37
3.1.6.3.	Parâmetros de degradação.....	37
3.1.6.4.	Análises laboratoriais.....	38
3.1.7.	Delineamento experimental e análises estatísticas.....	39
3.1.8.	Modelos matemáticos.....	40
3.2.	Experimento 2.....	41
3.2.1.	Local e duração do experimento.....	41
3.3.	Experimento 3.....	43
3.3.1.	Local e duração do experimento.....	44
3.3.2.	Animais experimentais.....	44
3.3.3.	Alimentação animais experimentais.....	44
3.3.4.	Tratamentos.....	44
3.3.4.1.	Preparação das amostras.....	44
3.3.5.	Condução do experimento.....	45
3.3.6.	Determinações realizadas.....	47
3.3.6.1.	Produção cumulativa de gás <i>in vitro</i>	47
3.3.6.2.	Digestibilidade <i>In Vitro</i> Verdadeira da Matéria Orgânica... 50	
3.3.6.3.	Fator de partição.....	50
3.3.6.4.	Análises laboratoriais.....	50
3.3.7.	Delineamento experimental e análises estatísticas.....	51
3.3.8.	Modelos matemáticos.....	52
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4.1.	Experimento 1.....	55
4.1.1.	Digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira.....	57
4.1.2.	Parâmetros de degradabilidade ruminal.....	59
4.1.2.1.	Taxa de degradação da fração insolúvel potencialmente degradável.....	59
4.1.2.2.	Degradabilidade efetiva.....	64
4.1.2.3.	<i>Lag-time</i> da fibra em detergente neutro.....	68
4.1.3.	Nitrogênio amoniacal.....	69
4.2.	Experimento 2.....	72
4.2.1.	Digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira.....	72
4.2.2.	Parâmetros de degradabilidade ruminal.....	75
4.2.2.1.	Taxa de degradação da fração insolúvel potencialmente degradável.....	75
4.2.2.2.	Degradabilidade efetiva.....	79
4.2.2.3.	<i>Lag-time</i> da fibra em detergente neutro.....	83
4.2.3.	Nitrogênio amoniacal.....	84
4.3.	Experimento 3.....	87
4.3.1.	Produção cumulativa total de gás <i>in vitro</i>	87
4.3.2.	Digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira da MO.....	93
4.3.3.	Fator de partição.....	96
4.3.4.	Parâmetros de fermentação.....	100
5.	CONCLUSÕES.....	115

6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	116
7.	APÊNDICES.....	131
8.	VITA.....	180

RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos tratamentos avaliados (ensaio 1).....	33
Tabela 2. Composição bromatológica, nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) dos alimentos individuais e dos tratamentos utilizados nas incubações em base seca (ensaio 1).....	33
Tabela 3. Composição da saliva artificial de McDougall (1948).....	35
Tabela 4. Composição dos tratamentos avaliados (ensaio 2).....	42
Tabela 5. Composição bromatológica, nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) dos alimentos individuais e dos tratamentos utilizados nas incubações em base seca (ensaio 2).....	43
Tabela 6. Composição bromatológica do feno de Alfafa e da ração comercial fornecida ao animal.....	44
Tabela 7. Composição dos tratamentos avaliados (ensaio 3).....	45
Tabela 8. Composição bromatológica, nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) dos alimentos individuais e dos tratamentos utilizados nas incubações em base seca (ensaio 3).....	46
Tabela 9. Composição do meio de cultura utilizado nas incubações de produção de gás <i>in vitro</i>	48
Tabela 10. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO, %) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN, %)(ensaio 1).....	56
Tabela 11. Efeito do nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os	

valores médios da taxa de degradação da MO e da FDN da fração insolúvel potencialmente degradável (C, %/h)(ensaio 1).....	61
Tabela 12. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de PDR suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da degradabilidade efetiva (DE) da MO e da FDN a uma taxa de passagem de 2 (DE 2%) ou 5 %/h (DE 5%)(ensaio 1).....	65
Tabela 13. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios do tempo de colonização (<i>lag-time</i> , h) da FDN (ensaio 1).....	68
Tabela 14. Efeito do nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína bruta suplementar (PB, %) sobre os valores médios de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃ , mg/dl)(ensaio 1).....	70
Tabela 15. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO, %) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN,%)(ensaio 2).....	73
Tabela 16. Efeito do nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da taxa de degradação da MO e da FDN da fração insolúvel potencialmente degradável (C, %/h)(ensaio 2).....	76
Tabela 17. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de PDR suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da degradabilidade efetiva (DE) da MO e da FDN a uma taxa de passagem de 2 (DE 2%) ou 5 %/h (DE 5%)(ensaio 2).....	80
Tabela 18. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios do tempo de colonização (<i>lag-time</i> , h) da FDN (ensaio 2).....	83
Tabela 19. Efeito do nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína bruta suplementar (PB, %) sobre os valores médios de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃ , mg/dl)(ensaio 2).....	85
Tabela 20. Efeito da fonte de PDR (Fonte), nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios de produção cumulativa de gás (ml/g de MO) com 96 horas de incubação.....	88
Tabela 21. Efeito da interação entre nível de PDR suplementar (%) e	

fonte de PDR sobre a produção cumulativa de gás (ml/mg de MO).....	91
Tabela 22. Efeito da fonte de PDR (Fonte), nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira da MO (DIVVMO, %).	94
Tabela 23. Efeito da fonte de PDR (Fonte), nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de PDR suplementar (PDR, %) sobre os valores médios do fator de partição (FP, mg de MO degradada/ml gás produzido).	97
Tabela 24. Efeito da fonte de PDR (Fonte), milho moído (Milho, %) e PDR suplementar (%) sobre a produção máxima de gás da MO das frações rapidamente (A) e lentamente (D) degradável (ml), e de suas respectivas taxas de degradação (B e E) (%/h), e tempo de colonização (C e F) (horas).	102

RELAÇÃO DE FIGURAS

Figura 1. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e PDR suplementar (%) sobre a digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO, %)	57
Figura 2. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e PDR suplementar (%) sobre a digestibilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro (DIVFDN, %)	57
Figura 3. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) sobre a taxa de degradação (Parâmetro C, %/h) da MO	62
Figura 4. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) e nível de PDR suplementar (%) sobre a DE da MO (DE MO, %) a uma taxa de passagem de 2 %/h (DE 2 % MO)	66
Figura 5. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) sobre a DE da MO (DE MO, %) a uma taxa de passagem de 5 %/h (DE 5 % MO)	67
Figura 6. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) sobre o tempo de colonização (<i>Lag-time</i> , h) da FDN	69
Figura 7. Efeito da PDR suplementar (%) sobre o nitrogênio amoniacal médio (N-NH ₃ , mg/dl)	71
Figura 8. Efeito da inclusão de milho moído (%) sobre a digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO, %)	73
Figura 9. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) sobre a taxa de degradação (%/h) da MO	77
Figura 10. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho (%) e PDR suplementar sobre a taxa de degradação da FDN (%/h)	78
Figura 11. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) e nível de PDR suplementar (%) sobre a DE da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h (DE 2% - MO, %)	81

Figura 12. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) e nível de PDR suplementar (%) sobre a DE da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h (DE 5% - MO, %).	81
Figura 13. Efeito da PDR suplementar (%) sobre o nitrogênio amoniacal médio (N-NH ₃ , mg/dl).	86
Figura 14. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) com PDR suplementar (%) sobre a produção cumulativa de gás (ml/g de MO).	89
Figura 15. Efeito da interação entre a inclusão de grão de milho moído (%) fonte de PDR sobre a produção cumulativa de gás (ml/g de MO).	92
Figura 16. Interação entre a inclusão de grão de milho moído (%) e a fonte de PDR na digestibilidade <i>in vitro</i> verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO, %).	95
Figura 17. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e PDR suplementar (%) sobre o fator de partição (FP, mg MO degr./ml gás prod.).	99
Figura 18. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e PDR suplementar (%) sobre a produção máxima de gás referente a fração de rápida fermentação (parâmetro A, ml).	103
Figura 19. Efeito da interação entre PDR suplementar (%) e fonte de PDR sobre a produção máxima de gás referente a fração de lenta fermentação (parâmetro D, ml).	105
Figura 20. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e fonte de PDR sobre a produção máxima de gás referente a fração de rápida fermentação (parâmetro A, ml).	106
Figura 21. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e fonte de PDR sobre a produção máxima de gás referente a fração de lenta fermentação (parâmetro D, ml).	107
Figura 22. Efeito da inclusão de grão de milho (%) sobre a taxa de degradação da fração de lenta fermentação (parâmetro B, %/h).	110
Figura 23. Efeito da inclusão de grão de milho (%) sobre o tempo de colonização da fração de rápida fermentação (parâmetro C, h).	111
Figura 24. Efeito da inclusão de grão de milho (%) sobre o tempo de colonização da fração de lenta fermentação (parâmetro F, h).	112

LISTA DE ABREVIATURAS

AGVs: ácidos graxos voláteis

CMOD: consumo de matéria orgânica digestível

CPDR: consumo de proteína degradável no rúmen

DE: degradabilidade efetiva

DFDN: digestibilidade da fibra em detergente neutro

DIVVFDN: digestibilidade *in vitro* verdadeira da fibra em detergente neutro

DIVVMO: digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica

DMO: digestibilidade da matéria orgânica

FDA: fibra em detergente ácido

FDN: fibra em detergente neutro

FP: fator de partição

LDA: lignina em detergente ácido

MO: matéria orgânica

MS: matéria seca

NDT: nutrientes digestíveis totais

NH₃: amônia

NIDA: nitrogênio insolúvel em detergente neutro

N-NH₃: nitrogênio amoniacal

NNP: nitrogênio não protéico

PB: proteína bruta

PDR: proteína degradável no rúmen

PIDA: proteína insolúvel em detergente ácido

PIS: proteína isolada de soja

PNDR: proteína não degradável no rúmen

PV: peso vivo

1. INTRODUÇÃO

A suplementação é uma prática que vem sendo cada vez mais utilizada com o objetivo de contornar deficiências nutricionais, imprimindo maior eficiência produtiva e um encurtamento no ciclo produtivo. A suplementação mineral é a mais utilizada por ser a mais barata e de mais fácil implantação. Já a suplementação energética muitas vezes é preterida por apresentar resultados aquém do esperado e, até mesmo, efeitos negativos decorrentes do seu uso, como um menor consumo do volumoso e/ou uma diminuição na digestibilidade da fibra. Como o amido é a base dos principais alimentos energéticos criou-se a hipótese de que uma depressão no pH ruminal seria o responsável por efeitos negativos sobre a fermentação ruminal. No entanto, há evidências de que a real causa desses efeitos negativos sobre a utilização do volumoso seja a deficiência de nutrientes essenciais, especialmente nitrogênio, aos microorganismos ruminais. Dessa forma, a suplementação com PDR seria capaz de contornar os problemas decorrentes da suplementação energética. Também é importante considerar a natureza do suplemento protéico (NNP ou proteína verdadeira), pois determinadas categorias de microorganismos ruminais, necessitam também de aminoácidos e peptídeos pré-formados.

A imensa maioria dos estudos envolvendo suplementação e seus efeitos é realizada *in vivo*, no entanto, as técnicas de digestibilidade *in vitro*

apresentam a vantagem de possibilitarem um maior controle experimental, serem mais baratas e trabalharem com um meio tamponado, eliminando qualquer efeito proveniente de uma diminuição no pH.

Entre as principais técnicas *in vitro* para avaliação de alimentos e interações entre estes estão a técnica de digestibilidade *in vitro* e a técnica de produção cumulativa de gás *in vitro*.

Este trabalho tem como objetivos avaliar os efeitos da combinação da suplementação energética com a suplementação protéica proveniente de duas diferentes fontes de PDR em dietas baseadas em um volumoso de baixa qualidade sobre a digestibilidade, parâmetros de degradação, concentração de N-NH₃ e produção cumulativa de gás *in vitro* através das técnicas de digestibilidade *in vitro* verdadeira e de produção cumulativa de gás *in vitro*.

As hipóteses são de que a inclusão de altos níveis de um alimento energético amiláceo levará ao aparecimento de efeitos associativos negativos sobre os parâmetros estudados, sobretudo naqueles que se referem à FDN. A utilização de níveis adequados de PDR será capaz de reverter esses efeitos negativos e serão observados resultados mais satisfatórios utilizando proteína verdadeira em altas inclusões de milho e o contrário ocorrendo com o NNP.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Suplementação de ruminantes

Quando os ruminantes consomem forragem como sua única fonte de alimento, o consumo de energia disponível freqüentemente é insuficiente para atingir a performance animal desejada. Nestas condições, a suplementação tem como objetivo fornecer nutrientes complementares sem prejuízo à utilização dos nutrientes que podem ser extraídos do volumoso.

Segundo Black (1990), o suprimento de nutrientes para os tecidos depende de: 1) conteúdo de nutrientes disponíveis no volumoso; 2) composição do pasto selecionado pelo animal; 3) quantidade de cada componente selecionado; 4) alterações nos nutrientes pelos microorganismos ruminais; 5) eficiência das reações bioquímicas.

Os suplementos podem servir como fonte de proteína e energia, contornando a deficiência de nutrientes do volumoso de baixa qualidade e, conseqüentemente, incrementando o consumo e digestibilidade, porém a suplementação também pode causar efeitos indesejáveis, diminuindo a utilização e consumo dos alimentos basais (Orskov, 1999).

2.1.2. Suplementação de volumosos de baixa e média qualidade

Segundo Leng (1990), o volumoso de baixa qualidade pode ser definido como aquele que tem uma digestibilidade menor do que 55 % e é deficiente em nitrogênio (menos de 8 % de PB) e em açúcares solúveis e

amido (menos de 10 %). Ospina et al. (2000) também citam como características do volumoso de baixa qualidade um teor de FDN superior a 65 % e um consumo de MS inferior a 1,8 % do PV do animal.

Os animais consumindo esse tipo de volumoso, freqüentemente são diagnosticados como deficientes em energia e, nesses casos, são usados concentrados de alta densidade energética. Entretanto, essa deficiência em energia está mais relacionada à utilização de nutrientes por causa do desbalanço no substrato absorvido. Nesses casos, suplementação com esse tipo de concentrado é contra-indicada porque deprime a digestibilidade e reduz o consumo de volumoso sem corrigir o desbalanço por nutrientes. Na verdade, inclusive o acentuam, pois aumentam as necessidades das bactérias amilolíticas por nitrogênio (Leng, 1990).

A prioridade para aumentar a utilização de volumoso de baixa qualidade é otimizar a disponibilidade de nutrientes para a fermentação ruminal, garantindo que não haja deficiência de nutrientes para os microorganismos e, além disso, que esses cresçam eficientemente e, através da fermentação, extraiam o máximo possível de carboidratos do volumoso e fazendo com que as células microbianas sintetizadas no rúmen estejam disponíveis para digestão e absorção de aminoácidos nos intestinos (Leng, 1990).

2.1.3. Efeitos associativos

Freqüentemente, a resposta do animal a suplementação é melhor ou pior do que o esperado. As diferenças entre a resposta esperada e a observada são definidas como efeitos associativos, que se referem às

diferenças resultantes de interações não-aditivas entre os ingredientes da dieta (Moore et al., 1999).

2.1.3.1. Efeitos associativos negativos na suplementação de volumosos de baixa e média qualidade

O consumo de energia metabolizável suplementar na forma de grãos em dietas baseadas em forragens pode produzir efeitos superiores ou inferiores ao esperado. Essas interações devem-se, principalmente, a mudanças no consumo e/ou digestibilidade do volumoso.

Os efeitos sobre o consumo, geralmente de substituição do volumoso pelo concentrado, normalmente são maiores que aqueles sobre a digestibilidade, embora o menor consumo possa ser fruto de mudanças na taxa de digestão dos componentes fibrosos. Os efeitos positivos, geralmente, devem-se a provisão de nutrientes limitantes no volumoso.

A substituição costuma ser maior com animais consumindo altas quantidades de volumoso de alta digestibilidade do que com aqueles de média ou baixa qualidade (Elizalde et al., 1998; Dixon & Stockdale, 1999). Nestas, normalmente há uma depressão na digestão da fibra. Reduzindo a degradação da fibra, há um impacto negativo sobre o desempenho animal, já que menos energia é obtida do volumoso (Van Soest, 1994).

Acreditava-se que o principal fator para essa diminuição na digestibilidade do volumoso de baixa qualidade fosse devido à depressão no pH o qual, segundo Mould et al. (1983), deve ser mantido acima de 6 para a manutenção da atividade das bactérias ruminais celulolíticas. No entanto, o mais plausível é que a deficiência de nutrientes essenciais, sobretudo

nitrogênio, seja o principal causador desse efeito (El-Shazly et al., 1961; Bodine et al., 2000; Silveira, 2002; Medeiros, 2004; Silveira, 2007).

Uma maneira de contornar esses problemas é o fornecimento de concentrados contendo grandes quantidades de fibra rapidamente fermentável e pectina que são mais fermentados mais lentamente do que amido e açúcares e são fermentadas pelos microorganismos celulolíticos, fornecendo carboidratos sem provocar diminuição da digestão da fibra do volumoso (Orskov, 1999).

2.1.4. Suplementação energética

Os suplementos energéticos variam grandemente e incluem grãos e seus subprodutos, melaço, fibras rapidamente fermentáveis e forragens de alta qualidade e, normalmente, tratam-se de carboidratos.

O principal carboidrato de reserva das plantas, especialmente grãos de cereais, e principal fonte de energia suplementar é o amido. O milho, por exemplo, contém 72 % de amido (Grant, 2005). Outros carboidratos são os açúcares, celulose e hemicelulose.

Junto com as proteínas, os carboidratos são as principais fontes de nutrientes para o crescimento microbiano ruminal. Açúcares e amido são fermentados mais rapidamente no rúmen do que a celulose e a hemicelulose devido à natureza das suas ligações (Hoover & Miller-Webster, 1998).

A inclusão de carboidratos rapidamente fermentáveis na dieta de ruminantes pode trazer efeitos associativos negativos. Quando utilizados em níveis moderados, podem ser benéficos, pois fornecem uma maior quantidade de substrato e aumentam a taxa de crescimento das bactérias associadas à

porção líquida do conteúdo ruminal. Em altos níveis, deprimem a degradação da fibra, além de aumentar a necessidade por aminoácidos pré-formados (Dewhurst et al., 2000).

De acordo com Firkins (2002) a quantidade ótima de amido fermentável no rúmen pode ser definida como o balanço entre a provisão de substrato para a formação de propionato, que é convertido em glicose e o excesso que reduz a digestibilidade da fibra e o consumo. Segundo Horn & McCullon (1987) e Moore et al. (1999), a utilização de energéticos é benéfica desde que não ultrapasse 0,7 % do PV e desde que haja um adequado fornecimento de PDR. Medeiros (2004) encontrou um nível pouco maior (0,8 % do PV) e observou que níveis maiores deprimem a digestibilidade mesmo que a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen seja adequada.

Em trabalho com ovinos, Henning et al. (1980) observaram que pequenos níveis de suplementação de milho (7,8 % da MS) aumentaram o consumo de volumoso, no entanto, utilizando 23 % de grão de milho, constataram uma redução no consumo.

Mertens & Loften (1980) em experimento *in vitro*, trabalharam com diferentes inclusões de grão de milho ou amido de trigo (0, 40, 60 e 80 %) em dietas baseadas em forragens de bom teor protéico (14 a 16,4 %) e observaram um aumento linear no *lag-time* da fibra, provavelmente devido ao maior crescimento dos microorganismos ruminais amilolíticos.

Em experimento com vacas de corte secas, não-prenhes recebendo quatro níveis de grão de milho (0, 1, 2 e 3 kg/d) e tendo um feno com 4,2 % de PB como dieta basal, Chase & Hibberd (1987) observaram uma depressão

linear na digestibilidade da hemicelulose e celulose com aumento na inclusão de milho. A melhor resposta para o consumo de MO digestível foi obtida usando 1 kg de grão de milho/dia, sugerindo que quantidades moderadas podem ser benéficas. A diminuição linear no N-NH₃ no rúmen, indicou que a deficiência de nitrogênio pode ser a causa da diminuição na digestibilidade.

Reduções no consumo de forragem suplementada com milho têm sido atribuídas à redução no pH já que, com exceção das pentoses, todos os açúcares e o amido causam uma depressão no pH (Cullen et al., 1986). Em trabalhos *in vivo*, Hoover (1986) foi capaz de manter a digestibilidade da fibra em um meio tamponado com bicarbonato de sódio, contrariando ensaio de Mould et al. (1983) quando houve depressão da digestibilidade mesmo em um meio tamponado.

El-Shazly e al. (1961) também observaram uma depressão na digestão da celulose num meio tamponado, *in vitro*, quando foi acrescentado amido ou glicose ao substrato e a única explicação encontrada para tal é de que nesses casos há uma competição por nutrientes essenciais com uma maior proliferação dos microorganismos amilolíticos, pois com a inclusão de uréia, utilizando 33 ou 50 % de grão de milho na dieta, a diminuição na digestão da celulose foi contornada.

2.1.5. Suplementação protéica

O metabolismo da proteína no rúmen é resultado da atividade metabólica dos microorganismos ruminais. A degradação da proteína é afetada pelo pH e população microbiana predominante. A proteína da dieta é dividida em PDR, que fornece substrato aos microorganismos ruminais, e PNDR. No

rúmen, a proteína verdadeira é degradada em aminoácidos e peptídeos e, eventualmente, desaminada em NH_3 ou incorporada na proteína microbiana. O NNP é desaminado em NH_3 , no rúmen. O nitrogênio que deixa o rúmen é composto por NH_3 , PNDR e proteína microbiana (Bach et al., 2005).

Para que haja síntese protéica é preciso, além de nitrogênio, energia prontamente disponível, que é obtida através da degradação de carboidratos. Para a síntese de aminoácidos, também é necessário fornecer esqueletos carbonados, que também são obtidos através da degradação dos carboidratos (Henderickx, 1976).

As fontes de nitrogênio da dieta incluem ácidos nucléicos, aminoácidos, proteínas, peptídeos, aminas, amidas, nitritos, nitratos, uréia e NH_3 . As fontes endógenas incluem as células da descamação dos tecidos e a uréia que retorna ao rúmen pela saliva ou pelo epitélio ruminal. O total de nitrogênio absorvido como N- NH_3 varia de 16 a 73 % do total consumido, muito superior ao total absorvido como aminoácidos (7 - 46 %) (Huntington & Archibeque, 1999).

O excesso de PDR, transformada em NH_3 , um composto tóxico, é absorvido e excretado na forma de uréia. Essa excreção é uma função da PB: diminuindo o teor de PB da dieta, haverá uma menor excreção e uma maior eficiência.

Limitações de nitrogênio (sobretudo em dietas com menos de 7 % de PB) podem diminuir o fluxo microbiano no rúmen (Satter & Slyter, 1974; Kang-Meznarich & Broderick, 1980), a fermentação de fibra (Russel et al., 1992), o consumo (Van Soest, 1994) e a taxa de passagem (Van Soest, 1994 ;

Olson et al., 1999). Por esses motivos, freqüentemente, se faz necessária a suplementação protéica quando as necessidades para o crescimento dos microorganismos não são supridas (Tedeschi et al., 2000) já que de dois terços a três quartos dos aminoácidos absorvidos pelos ruminantes são provenientes da proteína microbiana. Como a PNDR não pode contribuir diretamente para a produção microbiana, e a digestão do volumoso ocorre primariamente no rúmen, a suplementação com PDR é que terá maior impacto no uso do volumoso (Cochran et al., 1998).

Restrições no nitrogênio não são limitantes desde que a uréia reciclada na saliva consiga suprir a deficiência por PDR. Entretanto, há um limite (6-8 %) para que isso seja possível. Nesses casos, a adição de amido ou açúcar é prejudicial porque aumenta as exigências dos microorganismos ao mesmo tempo em que o suprimento de nitrogênio é limitado (Van Soest, 1994).

Além do fornecimento de nitrogênio, também é necessário ter especial atenção para o adequado fornecimento de aminoácidos e peptídeos pré-formados para os microorganismos ruminais. A maioria do suprimento de aminoácidos para os tecidos é resultante da degradação de proteína verdadeira (Demeyer & Fievez, 2004).

2.1.5.1. Nitrogênio não-protéico (NNP)

Desde o século 19 é sabido que os ruminantes são capazes de utilizar NNP através dos trabalhos de Weiske, Schrodt e Dangel em 1873, Zuntz e Ballmann em 1882 e Hageman em 1891 (Henderickx, 1976). Porém também é sabido que o animal tem seu consumo diminuído (Arroquy et al., 2004b) e sua performance comprometida utilizando apenas NNP com única

fonte de nitrogênio (Cotta & Russel, 1982; Köster et al., 1997; Cochran, 1998).

A habilidade do NNP de melhorar a digestão do volumoso está relacionada ao fornecimento de NH_3 para as bactérias celulolíticas. A depressão na digestibilidade (Köster et al., 1997) ou consumo (Mallmann et al., 2006), observados nos maiores níveis de utilização de uréia pode estar relacionada ao baixo fornecimento de aminoácidos, peptídeos e cadeias de carbono.

Apesar de Oltjen et al. (1971) terem observado uma maior retenção de nitrogênio em dietas onde a única fonte de proteína foi o NNP, Köster et al. (1997), trabalhando com diferentes níveis (0, 25, 50, 75 e 100 %) de inclusão de uréia em relação ao nitrogênio suplementar total obtiveram uma depressão na digestibilidade e consumo no tratamento contendo apenas uréia, indicando que o ideal seria incluir, no mínimo, 25 % do nitrogênio suplementar como proteína verdadeira, pois essa será capaz de fornecer aminoácidos e peptídeos necessários para determinadas categorias de microorganismos.

Oh et al. (1999), estudaram o efeito de diferentes fontes de nitrogênio e carboidratos sobre a produção de proteína microbiana. No primeiro experimento, *in vitro*, utilizando suplementação com amido ou sacarose, foi observado que as bactérias sacarolíticas cresceram melhor do que as amilolíticas quando NH_3 foi a fonte de nitrogênio, levantando a hipótese que as bactérias amilolíticas são mais dependentes de peptídeos e aminoácidos, necessitando de uma maior provisão de proteína verdadeira e tendo resposta inferior a suplementação com NNP. Nos outros dois ensaios não foi possível confirmar esta hipótese.

Existe a hipótese de que a degradação das fontes de nitrogênio deva ocorrer ao mesmo tempo em que há a degradação dos carboidratos. Pesquisando fontes de NNP de fermentação mais lenta com o objetivo de sincronizar a degradação da uréia com a dos carboidratos, comparando uréia tradicional com uréia encapsulada de lenta liberação, Azevedo et al. (2008), não observaram qualquer diferença.

O passo mais importante para se lançar mão do NNP é conhecer o teor de PB (o qual deve restringir o crescimento microbiano) e energia (que não deve ser limitante) da dieta basal.

A utilização de NNP associado à proteína verdadeira parece ser o caminho mais adequado (Chalupa, 1973; Köster et al., 1997).

2.1.5.2. Níveis suplementação protéica

A prática de adicionar NNP de forma que a PB da dieta seja superior a 12 – 13 % (Roffler & Satter, 1975) parece não trazer benefício algum. O NNP é mais eficientemente usado quando pequenas quantidades são adicionadas a dietas pobres em PB e com níveis relativamente altos de energia fermentável (Moore et al. 1999; Silveira, 2007).

Há indicativos de que o ganho de peso é melhorado até uma inclusão máxima de 0,6 % de uréia na dieta (Tedeschi et al., 2000) ou próximo a isto: 0,5 % (Milton et al., 1997), 0,7 % (Thomas et al., 1984), 0,88 % (Shain et al., 1998).

Entretanto, em trabalho com uréia suplementar em feno de baixa qualidade (4,2 % PB e 67,8 % de FDN), de forma a ter um tratamento com 10,3 % (cerca de 2 % de uréia) e outro com 18,2 % de PB (cerca de 4 % de uréia),

Mulligan et al. (2001), observaram uma melhora na digestibilidade da MO com o maior nível de proteína.

Em experimento com três volumosos de diferentes teores de PB (8,2; 5,9 e 4,3 %), e com três níveis de PDR verdadeira (0,041; 0,082 e 0,124 % do PV), Mathis et al. (2000) observaram um incremento linear sobre o consumo e a digestibilidade somente quando foi utilizado o volumoso com menor teor protéico como dieta basal.

Em ensaio com níveis de PDR verdadeira suplementar (0, 180, 360, 540 e 720 g/d) Köster et al. (1996), observaram uma resposta quadrática no consumo de MO com o maior incremento sendo observado no menor nível de suplementação. A DMO e da FDN foi superior nos grupos tratados, porém a resposta nos dois maiores níveis foi inferior aos outros dois grupos. A diminuição da resposta nos maiores níveis demonstra que o estímulo ao consumo através de PDR é limitado e depende da fermentabilidade do volumoso e das exigências do animal por PDR, pois um excesso de NH_3 pode conduzir a maiores perdas energéticas para sua transformação em uréia.

2.1.5.3. Relação entre nitrogênio amoniacal e degradabilidade ruminal

Antes de relacionar o N-NH_3 presente no rúmen com o seu adequado desempenho, é preciso entender porque a NH_3 se faz tão importante no rúmen.

A população microbiana é dividida em dois grandes grupos: bactérias que fermentam carboidratos estruturais e aquelas que fermentam carboidratos não estruturais. As bactérias celulolíticas, fermentadoras de

carboidratos estruturais, necessitam de NH_3 como fonte de nitrogênio e são incapazes de fermentar fibra quando o nível de nitrogênio amoniacal for muito baixo. Já as bactérias amilolíticas, fermentadoras de carboidratos não estruturais, apesar de terem a capacidade de utilizar N-NH_3 , utilizam preferencialmente aminoácidos e peptídeos pré-formados como fonte de nitrogênio (Russel et al., 1992; Tedeschi et al., 2000; Bach et al., 2005).

Microorganismos que fermentam carboidratos não estruturais retiram 66 % do seu N de peptídeos ou aminoácidos, e 34 % da NH_3 , independente de sua taxa de crescimento (Russel et al., 1992). Por isso se espera uma resposta superior a suplementação com NNP quando houver uma menor população microbiana amilolítica.

O total de proteína verdadeira que escapa à degradação ruminal varia consideravelmente, mas na maioria dos casos, a média é de 40 %. Os 60 % restantes, mais a uréia reciclada, são degradados formando NH_3 . Quando a concentração de N-NH_3 no rúmen é muito baixa (1-2 mg/dl), quase todo N-NH_3 é incorporado pelas células microbianas e a eficiência de utilização de NNP é maior. Com o aumento na PB, a utilização de NNP reciclado é reduzida a zero em uma dieta com 13 % de PB e 75 % de NDT (Satter & Slyter, 1974).

O nível de N-NH_3 reflete o balanço entre a síntese de proteína microbiana e o suprimento de NH_3 pela PDR e uréia reciclada (Bodine et al., 2000) e a diminuição na sua concentração sugere uma utilização mais eficiente dos componentes nitrogenados rapidamente disponíveis e um aumento no crescimento microbiano (Hoover & Miller-Webster, 1998). Em um meio *in vitro*, a concentração de N-NH_3 funciona como um indicativo da degradabilidade

protéica, pois não há absorção nem reciclagem do nitrogênio (NRC, 1985).

Incrementar a concentração de $N-NH_3$ no fluido ruminal a níveis superiores a 5 mg/dl não apresenta efeitos benéficos sobre a síntese de proteína microbiana, de acordo com experimento de Satter & Slyter (1974). Porém é importante considerar que o acúmulo de $N-NH_3$ acima desse nível iniciou com 11 a 14 % de PB e essa alta variação deve-se ao suprimento de energia rapidamente fermentável: em dietas deficientes em energia, o acúmulo ocorre em níveis mais baixos de PB, fato confirmado por Roffler & Satter (1975) que obtiveram um acúmulo de $N-NH_3$ superior a 5 mg/dl em dietas com 12,0; 9,3 ou 9,4 % de PB, dependendo do NDT da mesma.

Uma vez que o acúmulo de $N-NH_3$ é maior do que 5 mg/dl de fluido ruminal, significa que as exigências por nitrogênio dos microorganismos utilizadores de $N-NH_3$ são atingidas e a síntese de proteína microbiana não é mais estimulada. No entanto utilizando proteína verdadeira, essa síntese ainda pode ser estimulada devido ao fornecimento de aminoácidos, peptídeos e outros nutrientes (Roffler & Satter, 1975).

Outros estudos (Mehrez et al., 1977, Edwards & Bartley, 1979; Silveira et al., 2003), sugerem que o valor preconizado seja muito baixo. Estudos australianos têm demonstrado que o nível mínimo de $N-NH_3$ no fluido ruminal para maximizar o consumo e digestibilidade de forrageira deficiente em nitrogênio é de 20 mg/dl (Boniface et al, 1986; Perdok et al., 1988).

2.1.6. Associação entre suplementação protéica e energética

Há indícios de que quando a relação PDR:NDT do suplemento for extremamente baixa a habilidade da PB suplementar impactar positivamente o

uso do volumoso é maior (Moore et al., 1999; Silveira, 2001; Silveira, 2007). A utilização de um suplemento com uma baixa relação PDR:NDT, pode exacerbar ainda mais a deficiência de nitrogênio no rúmen, pois as bactérias amilolíticas usariam a PDR do suplemento para fermentar o carboidrato suplementar e competiriam também pelo uso de PDR presente no volumoso.

Por esse motivo, em dietas baseadas em forragens de baixa/média qualidade, é necessário complementar a suplementação energética com a protéica. Segundo o NRC (1996), o percentual ideal de PDR em relação ao NDT é de 13 % para bovinos de corte consumindo dietas mistas.

Pesquisadores contornaram os efeitos associativos negativos gerados pela suplementação energética com a utilização de uma fonte de PDR (Olson et al., 1997; Bodine et al., 2000; Silveira, 2002; Klevesahl, 2003; Arroquy et al., 2004a).

Em um estudo com diferentes combinações de PDR (0; 0,15; 0,51; 0,87; 1,23; 1,59; 1,95 g/kg PV) com duas fontes de carboidratos não-estruturais (amido e dextrose) em uma dieta basal de volumoso de baixa qualidade (5,1 % PB e 76,2 % FDN), Arroquy et al. (2004b) observaram uma redução na digestibilidade da FDN quando foi utilizado 0,51 g/kg ou menos de PDR.

Kozloski et al. (2007) testaram os efeitos da utilização de suplementação somente com farinha de mandioca ou associada à proteína verdadeira ou à NNP ou a suplementação apenas de uréia tendo como dieta basal um feno deficiente em nitrogênio (5,3 % de PB). O tratamento usando apenas farinha provocou uma redução no consumo e digestibilidade da fibra sem que houvesse uma depressão no pH ruminal. O consumo e a

digestibilidade da MS e MO foram maiores nos tratamentos em que houve a associação do carboidrato com qualquer fonte de PDR. A utilização somente de uréia demonstrou ser menos eficaz que a sua associação com uma fonte de carboidrato.

Klevesahl et al. (2003), trabalhando com dois níveis de grão de milho (0 e 0,3 % do PV) e sete de PDR (0; 0,015; 0,051; 0,087; 0,123; 0,159; 0,195 % do PV) e uma dieta basal pobre em PB (4,9 %), observaram uma interação entre amido e PDR na digestibilidade da FDN, indicando que a magnitude da depressão decorrente do uso de amido depende da PDR, sugerindo que a competição por nutrientes, particularmente, NH_3 , aminoácidos e peptídeos, pelas diferentes espécies de microorganismos ruminais têm papel fundamental na diminuição da digestibilidade da FDN.

Bodine et al. (2000) e Bodine & Purvis (2003), trabalhando com volumoso de baixa qualidade, não observaram efeitos associativos negativos com a suplementação com grãos de milho, no entanto, quando essa foi associada a um adequado fornecimento de PDR, os resultados de digestibilidade e consumo foram ainda melhores.

Em meta-análise, Moore et al. (1999), encontraram os menores ganhos médios diários, e até mesmo perdas de peso, suplementando somente energia ou utilizando altos níveis de NNP associados a baixos níveis de energia. Os maiores ganhos foram obtidos utilizando mais de 60 % de NDT e mais de 0,05 % de PB sobre o PV.

Entretanto, Olson et al. (1999) trabalhando com novilhos recebendo feno de baixa qualidade (4,9 % PB) suplementados com amido (0; 0,15 e 0,3 %

do PC) não evitaram os efeitos associativos negativos decorrentes do uso de amido com o uso de PDR suplementar.

Com o exposto, fica evidente a necessidade de associar a suplementação protéica à energética a fim de otimizar a fermentação ruminal e obter os melhores resultados produtivos quando se usa volumoso de baixa qualidade.

2.2. Técnicas de digestibilidade *in vitro*

O estudo da digestão de alimentos utilizando animais é de fundamental importância, pois, segundo Minson (1994), em condições de pastejo, 30 % da resposta produtiva dos animais é determinada pela digestibilidade e eficiência de utilização dos nutrientes, no entanto, experimentos *in vivo* são muito trabalhosos e caros. As técnicas *in vitro* têm um custo bem mais baixo e têm sido utilizadas para substituir esses ensaios, além de estarem menos sujeitas a variações experimentais. O seu principal inconveniente é a existência de várias etapas na maioria dos métodos.

O princípio das técnicas de digestibilidade *in vitro* é deixar amostras de alimentos em contato com conteúdo ruminal tamponado em um recipiente onde se tenta reproduzir as condições existentes no rúmen: presença de microorganismos, anaerobiose, temperatura de 39°C e pH de 6,9 (Mould et al., 2005).

O método de Tilley & Terry (1963) ainda é o mais utilizado e simula uma digestão ruminal por 48 horas, seguida de uma digestão com pepsina e ácido fraco (pH 2) por 48 horas. O resíduo indigestível inclui microorganismos e outros materiais insolúveis em pepsina.

A metodologia de digestibilidade *in vitro* verdadeira (Goering & Van Soest, 1970) requer a metade do tempo e tem a mesma precisão. A digestão com pepsina é abolida e após a etapa fermentativa o resíduo passa por um tratamento com solução de detergente neutro, ocorrendo a extração de toda matéria microbiana do resíduo da digestão, resultando em um resíduo constituído apenas por parede celular indigestível.

Novos equipamentos, com o objetivo de aumentar a eficiência dessas técnicas, têm sido desenvolvidos. A utilização do fermentador artificial Daisy¹¹, da Ankom®, permite a determinação da digestibilidade da MS, da MO e da parede celular de até 25 amostras simultaneamente (Santos et al., 2000). A técnica é uma adaptação da metodologia de Tilley & Terry (1963), onde as amostras são acomodadas em sacos com porosidade de 57 micras e estes são incubados em jarros de vidro com capacidade para 4 litros.

Santos et al. (2000), testando as três metodologias concluíram que, apesar de fornecer dados similares à técnica de Tilley & Terry (1963), o Daisy¹¹ necessita de mais estudos, pois em alguns alimentos ocorreram variações significativas provavelmente devido a partículas muito pequenas que saem dos sacos e, sem serem digeridas, são consideradas como tal.

Recentemente, têm sido utilizadas técnicas enzimáticas. Estas não são influenciadas por nutrientes, não geram dados de cinética, e não fornecem informações a respeito da utilização dos substratos pelo animal. A maioria dos sistemas utiliza um misto de celulasas, pepsina e amilase (Adesogan et al., 2000; Mould et al., 2005), no entanto a técnica ainda carece de uma maior padronização (Mould et al., 2005; Stern et al., 1997). A principal vantagem

dessas técnicas é que não necessitam de um animal fistulado como doador de inóculo (Getachew et al., 1998).

2.2.1. Técnica de produção cumulativa de gás *in vitro*

2.2.1.1. História

Segundo Williams (2000), o pioneiro na técnica de produção cumulativa de gás *in vitro* foi Quin, que em 1943 incubou alimentos em frascos e mediu a produção de gás. Em 1953, McBee descreveu um método manométrico para medir a produção de gás gerada por uma mistura de bactérias ruminais (Bruni & Chilbroste, 2001). Nos anos 1960, foi utilizada a medida de gás através de deslocamento de líquidos (Johnson, 1963) e em 1979, na Universidade de Hohenheim, Alemanha, Menke et al. (1979) descreveram um sistema utilizando seringas de vidro. Desde então vários pesquisadores tem tentado aperfeiçoar a técnica (Prates et al., 1986; Menke & Steingass, 1988; Beuvink & Spoelstra, 1992; Pell & Schofield, 1993; Theodorou et al., 1994; Cone et al., 1996; Maurício et al., 1999).

As técnicas de produção de gás *in vitro* mais utilizadas atualmente são: método de gás da Universidade de Hohenheim (método de Menke); sistema de deslocamento de líquido; método manométrico; e sistemas utilizando transdutores de pressão manuais e computadorizados.

2.2.1.3. Técnicas utilizadas

Os métodos de digestibilidade *in vitro* tradicionais, apesar de serem os mais utilizados, apresentam uma série de desvantagens: não é possível estudar a cinética ruminal a menos que se tenha uma amostra para cada tempo de incubação, tornando esses estudos muito demorados, trabalhosos e

sujeitos a uma repetibilidade pequena; é muito difícil estudar os estágios iniciais de digestão porque a perda de massa do substrato é muito pequena; o papel dos componentes solúveis não pode ser determinado e grandes quantidades de amostra são necessárias (Pell & Schofield, 1993).

A técnica de produção de gás *in vitro* não apresenta estes inconvenientes para o estudo da cinética ruminal e assume que o gás produzido na fermentação de um substrato inoculado com microorganismos e um meio tamponante está diretamente relacionado a quantidade de material fermentado já que os produtos solúveis, mas não fermentáveis, não contribuem para a produção de gás (Makkar, 2004).

A produção total de gás é o resultado de várias frações sendo fermentadas ao mesmo tempo, mas a diferentes taxas. Quando um alimento é incubado com conteúdo ruminal tamponado, os carboidratos são fermentados em ácidos graxos voláteis (principalmente), gases (principalmente CO₂ e CH₄) e células microbianas (Getachew et al., 1998; Makkar, 2004; Schofield, 2000). A produção de gás a partir de proteína é relativamente pequena e o gás produzido a partir de gordura é praticamente insignificante (Getachew et al., 1998). Além do gás produzido pela fermentação do substrato, também deve ser considerada a produção indireta a partir do CO₂ liberado pelo tamponamento dos ácidos graxos de cadeia curta (Getachew et al., 1998; Makkar, 2004). Em forragens, quando um tamponante a base de bicarbonato é utilizado, cerca de 50 % do gás total é fruto da produção indireta (Makkar, 2004).

Um dos problemas das técnicas de produção de gás *in vitro* é que a quantidade de gás varia com diferentes proporções de ácidos graxos voláteis.

Por exemplo, uma alta produção de propionato está associada a uma menor produção de gás (Stern et al., 1997; Bruni & Chilbroste, 2001) causando alterações na relação entre o desaparecimento de substrato e a produção de gás (Bruni & Chilbroste, 2001).

Como o objetivo dos métodos *in vitro* é reproduzir os resultados *in vivo*, estudos têm correlacionado a produção de gás com o desaparecimento da FDN e com o consumo. Pell & Schofield (1993) obtiveram uma correlação altíssima ($r^2 = 0,99$) entre a produção de gás e a degradabilidade da FDN e Blümmel & Becker (1997a), observaram que a produção de gás da FDN e a produção de gás da planta inteira tem uma correlação de 82 e 75 %, respectivamente, com o consumo de MS.

As principais diferenças entre as técnicas de produção de gás dizem respeito ao método de leitura. A medição do gás pode ser feita através de seringas ou usando sistemas manométricos e a acurácia dos sistemas depende da acurácia das leituras.

No método da Universidade de Hohenheim (Menke et al., 1979), o substrato é incubado em uma seringa de vidro de 100 ml e a produção de gás é medida após 24 horas através do deslocamento do êmbolo. Adaptações têm sido feitas para adequar a técnica ao estudo da cinética ruminal (Blümmel & Orskov, 1993). As principais vantagens desse método são sua facilidade e preço baixo de implantação. As desvantagens são a baixa sensibilidade e comprometimento de estudos de cinética ruminal (Schofield, 2000).

O sistema manométrico foi desenvolvido por Waghorn & Stafford (1993). Nele, a amostra é incubada em frascos e o gás produzido é medido

com um manômetro simples. Malafaia et al. (1999) utilizaram esse sistema, no entanto, no momento em que a pressão era medida, com uma seringa, se retirava o gás produzido até que a pressão marcada pelo manômetro fosse igual a zero, obtendo diretamente o volume de gás da fermentação.

No sistema de deslocamento de líquido, utilizado por Beuvink & Spoelstra (1992), o alimento é incubado com 60 ml de fluido ruminal tamponado por 24 horas e o frasco é conectado a um sistema que provoca deslocamento de água. Essa água deslocada é coletada e medida.

Os métodos mais utilizados atualmente empregam equipamentos de leitura manuais (Theodorou et al., 1994); semi-automáticos (Pell & Schofield, 1993; Maurício et al., 1999), que necessitam de leituras periódicas, ou são totalmente automáticos (Cone et al., 1996).

O método computadorizado de Cone et al. (1996) utiliza um transdutor de pressão acoplado a cada frasco e transmite essas informações a um computador. Válvulas se abrem, liberando o gás sempre que este atinja um volume de 0,7 ml. A cada 20 minutos, um transdutor registra o número total de válvulas que se abriram durante esse tempo e, dessa forma, é possível medir a quantidade de gás liberada. É possível ter mais de 140 dados registrados em 48 horas de fermentação.

A técnica de Pell & Schofield (1993) utiliza transdutores de pressão individuais que permanecem no mesmo frasco durante todo o período e transmitem suas informações para um computador através de um cartão de memória.

O método de Theodorou et al. (1994) utiliza somente um transdutor de pressão para todos os frascos e este é conectado a cada frasco por meio de uma agulha hipodérmica. A pressão é medida e então, com uma seringa, o gás é retirado até que a pressão no transdutor seja igual a zero.

Na técnica de Maurício et al. (1999) a diferença em relação à técnica de Theodorou et al. (1994) é que o transdutor é acoplado a um computador que recebe e armazena as informações referentes às medidas de pressão e não é necessário medir o volume de gás produzido com uma seringa.

É importante salientar que para utilizar técnicas que trabalham com medidas de pressão é necessária a formulação de uma equação de regressão entre pressão e volume através de várias medidas desses dois parâmetros, pois, de acordo com Maurício et al. (1999), o volume de gás é subestimado utilizando a lei de Boyle.

As diferenças mais importantes entre as metodologias que utilizam transdutores de pressão residem na evacuação (Theodorou et al., 1994; Cone et al., 1996; Maurício et al., 1999) ou não (Pell & Schofield, 1993) do gás produzido no intervalo das medições.

Theodorou et al. (1998) sugerem que a produção de gás seja menor em sistemas sem a liberação de gás, pois há uma maior pressão acumulada. Apesar de Pell et al. (1998) concordarem com isso, acreditam que somente uma pressão acima de 7 psi seria capaz de modificar o crescimento microbiano, mas sustentam que isso pode ser contornado com a utilização de frascos maiores ou uma quantidade menor de substrato.

Há um grande número de fontes de variação nas técnicas *in vitro*, tanto de estimativa da digestibilidade quanto de produção de gás: equipamentos, espécie do doador de inóculo, dieta do animal, preparação do meio e do substrato, etc. Algumas dessas fontes de variação serão discutidas posteriormente.

2.2.1.4. Influência do inóculo

De grande influência quando se trabalha com métodos de digestibilidade *in vitro* é a natureza do inóculo, seu método de coleta e fatores relacionados ao animal, especialmente aqueles relacionados a sua alimentação.

2.2.1.4.1. Influência da dieta dos animais doadores de inóculo

O animal doador de inóculo deve ser adaptado a uma dieta o mais semelhante possível aos alimentos que serão avaliados, já que a população microbiana varia em função da dieta com a qual o animal se alimenta, no entanto, o fundamental é que a dieta fornecida ao doador de inóculo seja capaz de suprir as exigências dos microorganismos ruminais (Rymer et al., 2005).

A composição da dieta é o principal fator a influenciar o crescimento microbiano ruminal. Mais importante que a quantidade de concentrado na dieta é a sua proporção, tipo e frequência de alimentação. Dietas mistas produzem uma microflora mais complexa e o processamento também pode levar a um maior crescimento microbiano, indicando que a disponibilidade de sítios para ataque influencia o crescimento microbiano (Mould et al., 2005).

Nagadi et al. (2000) testaram o fluido ruminal de ovinos consumindo 20, 40 ou 80 % de concentrado na dieta total. A massa microbiana e a

produção de gás aumentaram e o *lag-time* diminuiu nas duas dietas com maior inclusão de concentrado e Menke & Steingass (1988), observaram uma redução de 25 % na produção de gás usando inóculo de doadores consumindo somente volumoso.

Warner (1966) demonstrou que, enquanto uma população estável pode ser obtida com alimentações freqüentes, grandes variações ocorrem quando os animais são alimentados apenas uma vez ao dia.

2.2.1.4.2. Jejum prévio

O jejum por 12 a 18 horas facilita a coleta de líquido ruminal, porém o resultado é um inóculo com menor atividade celulolítica. A coleta logo após a alimentação poderá levar à remoção de uma considerável porção de materiais solúveis da dieta, os quais podem contribuir com uma porção maior e mais variável de nutrientes do que o desejado, contudo, o inóculo apresentará uma maior capacidade celulolítica (Johnson, 1970; Van Gylswyk et al., 1992).

2.2.1.4.3. Fração de conteúdo ruminal coletada

A flora ruminal é constituída por microorganismos presentes no fluido ruminal, no substrato presente no rúmen e no epitélio ruminal. O terceiro grupo está mais envolvido com a liberação de amônia da uréia absorvida através da parede ruminal e tem um papel menor na degradação do alimento. A maior dificuldade está na obtenção do segundo grupo, já que a filtragem pode alterar a quantidade desses microorganismos no fluido que será incubado. A maceração do material sólido também apresenta poucas vantagens, pois acaba destruindo a célula microbiana e as enzimas acabam sendo incubadas em uma quantidade muito maior (Mould et al., 2005).

Mertens et al. (1998) observaram que ao utilizar como inóculo uma mescla da porção sólida e da líquida do conteúdo ruminal, houve uma sensível diminuição no *lag-time* e um aumento na taxa de produção de gás.

2.2.1.4.4. Espécie doadora de inóculo

Há evidências de que a espécie do doador afeta os estudos de cinética ruminal sem afetar a produção total de gás (Rymer et al., 2005).

Borba et al. (2001) testaram inóculo de fluido ruminal de ovino, fluido ruminal de bovinos abatidos e fezes de ovinos incubando silagem ou forragem fresca e verificaram a melhor correlação entre digestibilidade *in vitro* e *in vivo* utilizando líquido ruminal de ovinos. Contrariando esses resultados, Mabjeesh et al. (2000) não observaram diferença na digestibilidade *in vitro* utilizando fluido de ovino ou bovino.

2.2.1.4.5. Método de coleta do inóculo

O método de coleta do inóculo pode provocar mudanças no pH, temperatura, nitrogênio amoniacal, ácidos graxos voláteis e população microbiana. O método de coleta manual tem a desvantagem de necessitar de um animal fistulado, no entanto, a coleta com sonda esofágica pode contaminar o meio com saliva, elevando o pH do meio (Oliveira et al., 1993, Alcalde et al., 2001).

No entanto, Alcalde et al. (2001) compararam dois tipos de coleta de líquido ruminal (via fístula ruminal ou sonda esofágica) e não houve diferença entre os métodos de coleta de fluido ruminal para a digestibilidade *in vitro* da MS.

2.2.1.4.6. Fezes x conteúdo ruminal

Para tornar a utilização de bovinos fistulados desnecessária, vários experimentos têm testado a utilização de fezes como fonte de inóculo (Alcalde et al., 2001; Borba et al., 2001; Maurício et al., 2001).

Mauricio et al. (2001) testaram duas fontes de inóculo: fezes ou líquido de rúmen. O inóculo proveniente de fezes apresentou menor capacidade fermentativa, menor produção de gás e maior *lag-time*. No entanto, foram observadas altas correlações entre a digestibilidade *in vitro* da MO usando fezes como inóculo com a digestibilidade *in vivo* ($r^2 = 0,77$), sendo esta inferior a observada usando líquido ruminal ($r^2 = 0,89$). A correlação entre as duas fontes de inóculo também foi alta ($r^2 = 0,81$). O aumento no *lag-time* e diminuição na taxa de fermentação deve-se ao fato dos microorganismos presentes nas fezes originarem-se, principalmente, no ceco e cólon onde a atividade fermentativa é menor e onde há uma menor diversidade de espécies de microorganismos do que no rúmen. Também foi observada uma maior variabilidade entre replicatas utilizando fezes. Contrariamente, Bueno et al. (1999) não observaram diferenças utilizando fluido ruminal ou fezes como inóculo.

Segundo Mould et al. (2005), o uso de fezes como inóculo parece ser uma alternativa viável somente quando o que se quer avaliar é a digestibilidade ou produção final de gás, no entanto, quando o objetivo é estudar a cinética digestiva, parece que seu uso é inadequado.

2.2.1.5. Meio de cultura

A função do meio de cultura *in vitro* é criar e manter um ambiente adequado para o processo fermentativo. Isso é alcançado com o fornecimento de nutrientes e, principalmente, um sistema tamponante para não haver comprometimento da fermentação. Por isso, além da composição do meio, é de extrema importância a relação inóculo:tamponante

Há uma diminuição no *lag-time* e um aumento na produção de gás total com o aumento da relação inóculo:tamponante (Rymer et al., 1999; Pell & Schofield, 1993; Cone et al., 2000).

Com diferentes relações inóculo:saliva artificial (1:1, 1:2, 1:3 e 1:4), Richards et al. (1995) observaram uma menor digestão do amido, fruto de uma queda no pH, nos maiores níveis de inclusão de inóculo, indicando que altos níveis de fluido ruminal podem exceder a capacidade tamponante do meio de cultura.

Pell & Schofield (1993) recomendam que se use no mínimo 20 % de inóculo em relação ao meio total para reduzir as chances do inóculo limitar a fermentação, no entanto, a utilização de mais de 25 % de fluido ruminal, leva a uma produção de gás muito alta nos brancos (Schofield, 2000).

2.2.1.6. Fator de partição

A técnica de produção de gás *in vitro*, permite que se calcule o fator de partição, que é a razão entre a matéria orgânica verdadeiramente degradada, obtida através do tratamento do resíduo da fermentação com solução de detergente neutro, e o volume cumulativo de gás produzido pela fermentação (Blümmel et al., 1997b).

O fator de partição é um indicador da eficiência fermentativa. Um alto fator de partição indica que mais matéria degradada é incorporada na massa microbiana, ou seja, a eficiência de síntese de proteína microbiana é maior (Makkar, 2004). As forragens com maior fator de partição têm maior consumo pelos animais (Blümmel et al., 2005).

2.2.2. Estudo da cinética ruminal

Diversos ensaios têm como objetivo o estudo da cinética ruminal, utilizando medições de degradabilidade ou produção de gás em diferentes horários e aplicando os resultados a modelos matemáticos, os quais resultam em parâmetros de degradação (Orskov & McDonald, 1979).

Sampaio (1988) observou que os pontos mais importantes na curva de degradação de forragens são 6, 24 e 96 horas. A degradação em 6 e 24 horas determinará a taxa de degradação, enquanto que nas 96 horas, reflete a degradabilidade potencial.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados três experimentos: dois de digestibilidade *in vitro* verdadeira e um de produção de gás *in vitro*.

3.1. Experimento 1 - Avaliação da suplementação energética e protéica, com uréia, de um volumoso de baixa qualidade através da técnica de digestibilidade *in vitro* verdadeira

3.1.1. Local e duração do experimento

O experimento foi realizado no setor de ruminantes do Laboratório de Ensino Zootécnico (LEZO) Prof. Geraldo Velloso Nunes Vieira. As análises químicas foram feitas no Laboratório de Nutrição de Ruminantes (LANUR) e no Laboratório de Nutrição Animal (LNA) Prof. Dulphe Pinheiro Machado. Todos os laboratórios citados pertencem ao Departamento de Zootecnia - Faculdade de Agronomia da UFRGS.

O experimento foi iniciado em 29 de abril e concluído em 07 de junho de 2008. As análises laboratoriais estenderam-se até 10 de agosto de 2008.

3.1.2. Animais experimentais

Foram utilizados dois bovinos machos, castrados, cruzados, fistulados no rúmen, com cerca de 40 meses de idade e peso médio de 354 kg como doadores de inóculo.

Os animais foram mantidos livres em um piquete, com abrigo, de cerca de 120 m² durante todo o experimento.

3.1.3. Alimentação dos animais experimentais

A alimentação dos animais experimentais era composta de feno de Tifton (*Cynodon dactylon* L.), na quantidade diária de cerca 2 % do seu peso corporal (5,90% PB, 71,45% FDN, 44,53% FDA e 9,55% LDA, na MS) e 700 g de um concentrado contendo farelo de soja (49,81% PB, 11,63% FDN, 8,71% FDA e 0,62% LDA, na MS) e grão de milho moído (8,42% PB, 12,42% FDN, 4,84% FDA e 0,87% LDA, na MS). A dieta foi oferecida em duas frações ao longo do dia, às 8:30 e às 16:30 horas. Os animais receberam ainda sal mineralizado e água *ad libitum*.

3.1.4. Tratamentos

Os tratamentos foram: quatro níveis de inclusão de grão de milho moído em relação a MS total (0, 20, 40 e 60 %) e quatro níveis de PDR suplementar (0; 2,8; 5,6 e 8,4 %) utilizando uréia como fonte. O volumoso utilizado foi o feno de Tifton (*Cynodon dactylon* L.).

A combinação destes fatores resultou nos seguintes tratamentos:

Tabela 1. Composição dos tratamentos avaliados

Tratamento		Feno (%)	Milho (%)	Uréia (%)
Milho (%)	PDR (%)			
0	0	100	0	0
0	2,8	99	0	1
0	5,6	98	0	2
0	8,4	97	0	3
20	0	80	20	0
20	2,8	79,5	19,5	1
20	5,6	79	19	2
20	8,4	78,5	18,5	3
40	0	60	40	0
40	2,8	59,5	39,5	1
40	5,6	59	39	2
40	8,4	58,5	38,5	3
60	0	40	60	0
60	2,8	39,5	59,5	1
60	5,6	39	59	2
60	8,4	38,5	58,5	3

A composição bromatológica dos alimentos individuais e dos tratamentos é fornecida na tabela 2.

Tabela 2. Composição bromatológica, nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) dos alimentos individuais e dos tratamentos utilizados nas incubações em base seca

	MS (%)	MO (%)	PB (%)	FDN (%)*	FDA (%)	LDA (%)	NIDA (% da MS)	PIDA (% da MS)
Feno	85,79	92,34	7,69	70,34	43,93	9,76	0,17	1,05
Milho	86,25	98,73	8,92	12,42	4,84	0,75		
Uréia	97,06	99,98	291,05**					
0M:0P	86,59	93,72	7,65	70,34	40,12	9,97	0,18	1,12
0M:2,8P	87,04	94,08	10,15	69,64	39,09	9,75	0,18	1,10
0M:5,6P	86,52	94,40	14,58	68,93	39,43	9,40	0,19	1,17
0M:8,4P	86,39	94,56	16,39	68,23	38,76	9,24	0,20	1,26
20M:0P	87,16	95,18	7,63	58,76	33,72	7,33	0,22	1,36
20M:2,8P	87,03	96,49	11,85	58,34	32,54	7,40	0,17	1,08
20M:5,6P	86,67	95,56	14,83	57,93	32,47	7,48	0,19	1,17
20M:8,4P	86,71	95,06	16,58	57,51	33,13	7,84	0,21	1,28
40M:0P	87,41	96,17	8,80	47,17	26,08	6,70	0,20	1,24
40M:2,8P	87,25	96,81	12,06	46,76	26,42	6,81	0,20	1,26
40M:5,6P	87,03	96,32	13,48	46,34	26,06	6,22	0,21	1,32
40M:8,4P	86,86	96,41	17,80	45,93	25,66	6,14	0,21	1,29
60M:0P	87,61	96,79	8,97	35,59	19,82	4,98	0,23	1,44
60M:2,8P	87,39	97,01	12,02	35,17	19,22	4,94	0,22	1,40
60M:5,6P	87,05	97,07	14,30	34,76	19,22	4,93	0,21	1,30
60M:8,4P	86,90	97,17	16,98	34,35	18,68	5,16	0,20	1,26

M = inclusão de grão de milho moído (%); P = nível de PDR suplementar (%).

*FDN das misturas = (FDN feno x inclusão feno) + (FDN milho x inclusão de milho).

**Equivalente protéico

3.1.4.1. Preparação das amostras

As amostras individuais de cada alimento utilizado foram moídas em moinho do tipo Wiley, em peneira com furos de 1 mm e então foram preparadas 50 g de cada amostra composta, contendo o volumoso e/ou milho e/ou a fonte protéica.

Essas amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em frascos de vidro, identificadas, conservados ao abrigo da luz, calor e umidade.

3.1.5. Condução do experimento

Foram realizados três períodos experimentais, totalizando três repetições no tempo por tratamento.

Antes de iniciar o experimento, os animais foram adaptados à dieta previamente descrita, por um período de 10 dias. O consumo de feno foi coletivo e o de concentrado foi individualizado.

3.1.6. Determinações realizadas

3.1.6.1. Digestibilidade *in vitro* verdadeira

A digestibilidade *in vitro* foi realizada de acordo com Goering & Van Soest (1970), porém com a modificação de que, além de trabalhar com as 48 horas tradicionais, foram utilizados diferentes horários de digestibilidade, com a finalidade de estudar a cinética da digestão dos diferentes tratamentos. Os horários estudados foram: 0, 4, 8, 16, 48, 72 e 96 horas.

No dia anterior às incubações, foram pesadas amostras de 0,53g em tubos de vidro de digestibilidade *in vitro*. Esses tubos eram levados à incubadora, a qual era mantida a uma temperatura de 39°C.

No dia seguinte, duas horas após os animais receberem a alimentação da manhã, foi coletado o líquido ruminal dos dois bovinos, em igual volume, e esse foi filtrado em quatro camadas de gaze, sempre com o cuidado de manter uma temperatura próxima a 39°C. O líquido foi misturado à saliva artificial de McDougall (1948) (tabela 3), a qual já se encontrava em banho-maria, a 39°C, e saturada com CO₂ por, pelo menos, 10 minutos. A proporção de saliva artificial:líquido ruminal utilizada foi de 4:1. A saliva artificial mais o líquido de rúmen eram homogeneizados em banho-maria e saturados com CO₂ por, no mínimo, 10 minutos.

Tabela 3. Composição da saliva artificial de McDougall (1948)

Reagente	Quantidade (g/10 l)
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	93
NaHCO ₃	98
NaCl	4,7
KCl	5,7
MgCl ₂	0,6
Uréia	3

Adaptado de Prates (2007).

Posteriormente, 50 ml do meio foram adicionados a cada tubo contendo os diferentes tratamentos, saturados com CO₂ por cerca de 30 segundos, rapidamente fechados com válvula de Bunsen e levados à incubadora, onde foram mantidos na posição vertical.

Uma hora após, todos os tubos foram agitados. No primeiro dia de cada período, os tubos foram agitados mais duas vezes. Nos dias seguintes, os tubos foram agitados três vezes: às 8:00, às 13:00 e às 18:00 horas.

Os tubos foram retirados nos diferentes horários e sofreram choque térmico em água gelada para interromper a atividade dos microorganismos. Os

tubos foram centrifugados por 10 minutos e o sobrenadante retirado, então foram adicionados 100 ml de solução de detergente neutro, segundo Van Soest & Robertson (1985), e os tubos fechados com papel alumínio e levados à estufa de ar forçado à 90°C por 16 horas para extração da fração solúvel em solução de detergente neutro, segundo metodologia proposta por Chai & Udén (1998).

Após 16 horas na estufa, o conteúdo dos tubos foi filtrado em cadinhos de vidro sinterizados com porosidade grossa (2).

3.1.6.1.1. Digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO)

Para a determinação da DIVVMO, os cadinhos, contendo o resíduo da filtração, foram levados à estufa onde ficaram por 12 horas à 105°C. Os cadinhos foram retirados e pesados, obtendo-se assim o resíduo livre de umidade.

Após a pesagem dos cadinhos com o resíduo das incubações livres de umidade, estes eram levados à mufla por 4 horas a uma temperatura de 450°C. O resíduo após a queima era composto de cinzas. Dessa forma, foi possível estimar a MO não digerida como sendo a diferença entre a MS não digerida e as cinzas.

A DIVVMO foi calculada através da diferença entre a MO incubada, obtida pela multiplicação do peso da amostra incubada pelo seu teor de MO, e a MO não digerida, presente nos cadinhos.

3.1.6.1.2. Digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro (DIVFDN)

A DIVFDN foi calculada através da diferença entre a FDN incubada, obtida pela multiplicação da amostra incubada pelo seu teor de FDN, e a FDN não digerida, que foi o resíduo presente nos cadinhos após a filtração e secagem na estufa a 105°C.

3.1.6.2. Nitrogênio amoniacal

Após os tubos serem retirados da incubadora e centrifugados e antes de ser adicionada a solução de detergente neutro, o sobrenadante foi retirado e duas alíquotas de 20 ml foram coletadas para análise do nitrogênio amoniacal. Essas amostras foram acidificadas com seis gotas de ácido sulfúrico p.a. (H₂SO₄) e congeladas para determinação posterior.

3.1.6.3. Parâmetros de degradação

Os resultados da digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica nos diferentes horários foram ajustados ao modelo de McDonald (1981) para estudar a cinética de degradabilidade ruminal.

A equação proposta por McDonald (1981) é a seguinte:

$$Y_t = a + b (1 - e^{-c(t-t_0)})$$

Onde:

Y_t = perdas por degradação após t horas;

a = perdas por lavagem no tempo 0;

b = material insolúvel, porém potencialmente degradável;

a + b = degradabilidade potencial;

c = taxa de degradação de b;

$t_0 = \text{lag-time}$. É o tempo de colonização da amostra pelos microorganismos ruminais, representado pelo tempo no qual a curva de degradação extrapolada para trás no tempo intercepta o valor para as perdas por lavagem no tempo zero.

Para a obtenção dos parâmetros de degradação da FDN, foi utilizado o mesmo modelo, porém com a exclusão do parâmetro a (perdas por lavagem no tempo zero).

A degradabilidade efetiva (DE) também foi calculada, através da seguinte equação, proposta por Orskov & McDonald (1979):

$$DE = a + (b \times c) / (c + k)$$

Onde a , b , c e k obedecem as definições anteriores e, mais uma vez, para o cálculo da DE da FDN, o parâmetro a foi excluído.

3.1.6.4. Análises laboratoriais

A matéria seca dos alimentos fornecidos aos animais e dos tratamentos incubados foi determinada por secagem em estufa de ar forçado a 105°C por 12 horas. As cinzas foram determinadas após 4 horas de incineração em mufla a 550°C e, por diferença, determinada a matéria orgânica.

O nitrogênio total foi determinado pelo método de micro-Kjeldahl (AOAC, 1995). O percentual de PB foi obtido multiplicando-se o nitrogênio total por 6,25.

A FDN, FDA e LDA dos alimentos individuais foram determinadas segundo Van Soest & Robertson (1985). Para a determinação de FDN e FDA, foi utilizado o determinador de fibras modelo TE-149[®] da Tecnal. A FDN dos

tratamentos foi calculada através da seguinte fórmula: (inclusão de feno x teor de FDN do feno) + (inclusão de milho x teor de FDN do milho).

O N-NH₃ foi determinado através de destilação com óxido de magnésio (MgO), conforme a AOAC (1995).

O NIDA foi determinado segundo Prates (2007). Para a determinação de PIDA, o resultado do nitrogênio insolúvel foi multiplicado por 6,25.

3.1.7. Delineamento experimental e análises estatísticas

O experimento foi conduzido em um delineamento completamente casualizado, em um fatorial 4 x 4: quatro níveis de inclusão de grão de milho moído e quatro níveis de suplementação protéica. Foram realizados três períodos experimentais, totalizando três repetições no tempo por tratamento.

As fontes de variação estudadas foram: inclusão de grão de milho moído, níveis de suplementação protéica, período e a interação entre nível de milho x nível de proteína. Nos casos em que foi detectado efeito de período, também foram analisadas as interações considerando esse fator.

Os fatores significativos foram analisados através de regressão linear, quadrática e cúbica. No caso da interação nível de milho x nível de proteína, o nível de proteína foi considerado como variável contínua e o nível de milho como variável classificatória. Nos casos onde houve mais de uma regressão linear, foi testada a diferença entre suas inclinações para validar essa interação.

As análises foram realizadas através do procedimento GLM do aplicativo computacional SAS versão 8.1 (SAS, 1992).

3.1.8. Modelos matemáticos

Os dados de taxa de degradação, degradabilidade efetiva a uma taxa de passagem de 2 ou 5 %/h, digestibilidade *in vitro* com 48 horas de incubação, *lag-time* e média de N-NH₃ em todos horários, foram analisados de acordo com o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijkl} = \mu + M_j + P_k + R_l + MP_{jk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde:

Y_{ijkl} = i-ésima observação na i-ésima fonte de nitrogênio, na j-ésima inclusão de milho, no k-ésimo nível de PDR suplementar, no l-ésimo período;

μ = efeito médio;

M_j = efeito da j-ésima inclusão de milho (j = 0, 20, 40, 60);

P_k = efeito do k-ésimo nível de PDR suplementar (k = 0; 2,8; 5,6; 8,4);

R_l = efeito do l-ésimo período (l = 1, 2, 3);

MP_{jk} = efeito da jk-ésima interação entre inclusão de milho e nível de PDR suplementar;

ε_{ijkl} = resíduo.

Nos casos em que houve significância para período, o modelo matemático utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ijkl} = \mu + M_j + P_k + R_l + MP_{jk} + MR_{jl} + PR_{kl} + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde:

MR_{jl} = efeito da jl-ésima interação entre inclusão de milho e período;

PR_{kl} = efeito da kl-ésima interação entre nível de PDR suplementar e período.

Os demais obedecem as definições anteriores.

Os dados de regressão seguiram os seguintes modelos matemáticos:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_1 P_j + \beta_2 P_j^2 + \beta_3 P_j^3 + \varepsilon_{ij}$$

$$\text{Ou } Y_{ij} = \mu + \beta_1 M_j + \beta_2 M_j^2 + \beta_3 M_j^3 + \varepsilon_{ij}$$

Onde:

Y_{ij} = i-ésima observação associada ao j-ésimo nível de PDR suplementar ou inclusão de milho;

μ = efeito médio;

$\beta_1 P_j$ ou $\beta_1 M_j$ = regressor associado ao efeito linear do nível de PDR suplementar ou inclusão de milho;

$\beta_2 P_j^2$ ou $\beta_2 M_j^2$ = regressor associado ao efeito quadrático do nível de PDR suplementar ou inclusão de milho;

$\beta_3 P_j^3$ ou $\beta_3 M_j^3$ = regressor associado ao efeito cúbico do nível de PDR suplementar ou inclusão de milho;

ε_{ij} = resíduo.

3.2. Experimento 2 - Avaliação da suplementação energética e protéica, com proteína isolada de soja, de um volumoso de baixa qualidade através da técnica de digestibilidade *in vitro* verdadeira

O local e duração do experimento, animais experimentais e alimentação dos animais experimentais foram iguais ao experimento 1.

3.2.1. Tratamentos

Os tratamentos foram: quatro níveis de inclusão de grão de milho moído em relação a MS total (0, 20, 40 e 60 %) e quatro níveis de PDR

suplementar (0; 2,8; 5,6 e 8,4 %) utilizando PIS como fonte. O volumoso utilizado foi o feno de Tifton (*Cynodon dactylon* L.).

A combinação destes fatores resultou nos seguintes tratamentos:

Tabela 4. Composição dos tratamentos avaliados

Tratamento		Feno (%)	Milho (%)	PIS (%)
Milho (%)	PDR (%)			
0	0	100	0	0
0	2,8	96,9	0	3,1
0	5,6	93,8	0	6,2
0	8,4	92,7	0	9,3
20	0	80	20	0
20	2,8	78,45	18,45	3,1
20	5,6	76,9	16,9	6,2
20	8,4	75,35	15,35	9,3
40	0	60	40	0
40	2,8	58,45	38,45	3,1
40	5,6	56,9	36,9	6,2
40	8,4	55,35	35,35	9,3
60	0	40	60	0
60	2,8	38,45	58,45	3,1
60	5,6	37,9	56,9	6,2
60	8,4	35,35	55,35	9,3

A composição bromatológica dos alimentos individuais e dos tratamentos é fornecida na tabela 5.

A preparação das amostras, condução do experimento, determinações realizadas, delineamento experimental e análises estatísticas e modelos matemáticos foram os mesmos do experimento 1.

Tabela 5. Composição bromatológica, nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) dos alimentos individuais e dos tratamentos utilizados nas incubações em base seca

	MS (%)	MO (%)	PB (%)	FDN (%)*	FDA (%)	LDA (%)	NIDA (% da MS)	PIDA (% da MS)
Feno	85,79	92,34	7,69	70,34	43,93	9,76	0,17	1,05
Milho	86,25	98,73	8,92	12,42	4,84	0,75		
PIS	87,65	95,19	91,08					
0M:0P	86,59	93,72	7,65	70,79	40,12	9,97	0,18	1,12
0M:2,8P	87,04	94,08	10,15	67,49	39,09	9,75	0,18	1,10
0M:5,6P	86,52	94,40	14,58	66,76	39,43	9,40	0,19	1,17
0M:8,4P	86,39	94,56	16,39	63,89	38,76	9,24	0,20	1,26
20M:0P	87,16	95,18	7,63	70,73	33,72	7,33	0,22	1,36
20M:2,8P	87,03	96,49	11,85	65,74	32,54	7,40	0,17	1,08
20M:5,6P	86,67	95,56	14,83	67,31	32,47	7,48	0,19	1,17
20M:8,4P	86,71	95,06	16,58	66,11	33,13	7,84	0,21	1,28
40M:0P	87,41	96,17	8,80	63,37	26,08	6,70	0,20	1,24
40M:2,8P	87,25	96,81	12,06	65,99	26,42	6,81	0,20	1,26
40M:5,6P	87,03	96,32	13,48	62,55	26,06	6,22	0,21	1,32
40M:8,4P	86,86	96,41	17,80	70,29	25,66	6,14	0,21	1,29
60M:0P	87,61	96,79	8,97	62,77	19,82	4,98	0,23	1,44
60M:2,8P	87,39	97,01	12,02	62,89	19,22	4,94	0,22	1,40
60M:5,6P	87,05	97,07	14,30	55,04	19,22	4,93	0,21	1,30
60M:8,4P	86,90	97,17	16,98	58,78	18,68	5,16	0,20	1,26

M = inclusão de grão de milho moído (%); P = nível de PDR suplementar (%).

*FDN das misturas = (FDN feno x inclusão feno) + (FDN milho x inclusão de milho)

3.3. Experimento 3 - Avaliação da suplementação energética e protéica de um volumoso de baixa qualidade através da técnica de produção cumulativa de gás *in vitro*

3.3.1. Local e duração do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Pesquisa de Pecuária dos Campos Sul-Brasileiros (Embrapa Pecuária Sul), Bagé - RS. As análises laboratoriais foram feitas no Laboratório de Nutrição de Ruminantes (LANUR) e no Laboratório de Nutrição Animal (LNA) Prof. Dulphe Pinheiro Machado, ambos pertencentes ao Departamento de Zootecnia - Faculdade de Agronomia da UFRGS.

O experimento foi iniciado em 06 de outubro e concluído em 24 de outubro de 2008.

3.3.2. Animal experimental

Foi utilizado um bovino macho, castrado, da raça Jersey, fistulado no rúmen, com cerca de oito anos de idade e peso médio de 800 kg como doador de inóculo.

3.3.3. Alimentação do animal experimental

O animal foi mantido em um potreiro de 0,2 ha com água potável e sal mineralizado *ad libitum* e pastagem com presença de trevo branco (*Trifolium repens*), cornichão (*Lotus corniculatus*), capim quicuío (*Pennisetum clandestinum*, Hochs), capim anónni 2 (*Eragrostis plana*, Nees) e grama paulista (*Cynodon dactylon*). Também faziam parte da alimentação cerca de 3 kg de uma ração comercial (Ração para Bovinos Leiteiros Camera®) fornecida próximo ao meio-dia e cerca de 4 kg de feno de alfafa (*Medicago sativa*) (Tabela 6) divididos em duas refeições ao dia (8:00 e 16:30 horas).

Tabela 6. Composição bromatológica do feno de Alfafa e da ração comercial fornecida ao animal doador de inóculo

	Feno de Alfafa	Ração comercial
MS (%)	84,99	87,86
MO (%)	90,29	96,17
FDN (%)	50,68	24,15
FDA (%)	33,50	14,39
LDA (%)	10,82	4,10
PB (%)	23,16	20,07
GB (%)		6,77

3.3.4. Tratamentos

Os tratamentos foram: duas fontes de PDR (proteína isolada de soja – PIS ou uréia), quatro níveis de inclusão de grão de milho moído em relação a

MS total (0, 20, 40 e 60 %) e quatro níveis de PDR suplementar (0; 2,8; 5,6 e 8,4 %). O volumoso utilizado foi o feno de Tifton (*Cynodon dactylon* L.).

A combinação destes fatores resultou nas seguintes misturas:

Tabela 7. Composição dos tratamentos avaliados

Milho (%)	Tratamento		Feno (%)	Milho (%)	PIS (%)	Uréia (%)
	PDR (%)	Fonte				
0	0	Uréia-PIS	100	0	0	0
0	2,8	Uréia	99	0	0	1
0	5,6	Uréia	98	0	0	2
0	8,4	Uréia	97	0	0	3
20	0	Uréia-PIS	80	20	0	0
20	2,8	Uréia	79,5	19,5	0	1
20	5,6	Uréia	79	19	0	2
20	8,4	Uréia	78,5	18,5	0	3
40	0	Uréia-PIS	60	40	0	0
40	2,8	Uréia	59,5	39,5	0	1
40	5,6	Uréia	59	39	0	2
40	8,4	Uréia	58,5	38,5	0	3
60	0	Uréia-PIS	40	60	0	0
60	2,8	Uréia	39,5	59,5	0	1
60	5,6	Uréia	39	59	0	2
60	8,4	Uréia	38,5	58,5	0	3
0	2,8	PIS	96,9	0	3,1	0
0	5,6	PIS	93,8	0	6,2	0
0	8,4	PIS	92,7	0	9,3	0
20	2,8	PIS	78,45	18,45	3,1	0
20	5,6	PIS	76,9	16,9	6,2	0
20	8,4	PIS	75,35	15,35	9,3	0
40	2,8	PIS	58,45	38,45	3,1	0
40	5,6	PIS	56,9	36,9	6,2	0
40	8,4	PIS	55,35	35,35	9,3	0
60	2,8	PIS	38,45	58,45	3,1	0
60	5,6	PIS	37,9	56,9	6,2	0
60	8,4	PIS	35,35	55,35	9,3	0

Os níveis de uréia (0, 1, 2 e 3 %) e PIS (0; 3,1; 6,2 e 9,3 %) foram desiguais para que o fornecimento de nitrogênio suplementar, independente da fonte protéica, fosse igual. Foi assumida uma degradabilidade ruminal da PIS igual a 100 % (Knaus et al., 2002).

A composição bromatológica dos alimentos individuais e dos tratamentos é fornecida na tabela 8.

Tabela 8. Composição bromatológica, nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) dos alimentos individuais e dos tratamentos utilizados nas incubações em base seca

	MS (%)	MO (%)	PB (%)	FDN (%)*	FDA (%)	LDA (%)	NIDA (% da MS)	PIDA (% da MS)
Feno	85,79	92,34	7,69	70,34	43,93	9,76	0,17	1,05
Milho	86,25	98,73	8,92	12,42	4,84	0,75		
Uréia	97,06	99,98	291,05**					
PIS	87,65	95,19	91,08					
0M:0P	86,86	93,76	7,53	70,34	38,32	10,51	0,16	1,02
0M:2,8P:F1	87,04	94,08	10,15	69,64	39,09	9,75	0,18	1,10
0M:5,6P:F1	86,52	94,40	14,58	68,93	39,43	9,40	0,19	1,17
0M:8,4P:F1	86,39	94,56	16,39	68,23	38,76	9,24	0,20	1,26
20M:0P	86,72	95,54	7,77	58,76	36,79	8,26	0,16	0,98
20M:2,8P:F1	87,03	96,49	11,85	58,34	32,54	7,40	0,17	1,08
20M:5,6P:F1	86,67	95,56	14,83	57,93	32,47	7,48	0,19	1,17
20M:8,4P:F1	86,71	95,06	16,58	57,51	33,13	7,84	0,21	1,28
40M:0P	86,91	96,23	8,36	47,17	26,07	7,19	0,17	1,07
40M:2,8P:F1	87,25	96,81	12,06	46,76	26,42	6,81	0,20	1,26
40M:5,6P:F1	87,03	96,32	13,48	46,34	26,06	6,22	0,21	1,32
40M:8,4P:F1	86,86	96,41	17,80	45,93	25,66	6,14	0,21	1,29
60M:0P	87,38	97,10	9,32	35,59	18,53	4,17	0,17	1,09
60M:2,8P:F1	87,39	97,01	12,02	35,17	19,22	4,94	0,22	1,40
60M:5,6P:F1	87,05	97,07	14,30	34,76	19,22	4,93	0,21	1,30
60M:8,4P:F1	86,90	97,17	16,98	34,35	18,68	5,16	0,20	1,26
0M:2,8P:F2	85,94	94,39	12,04	68,16	37,95	10,68	0,15	0,96
0M:5,6P:F2	86,10	95,00	13,23	65,98	37,59	10,18	0,14	0,90
0M:8,4P:F2	85,82	94,98	15,74	65,21	32,47	9,65	0,16	1,02
20M:2,8P:F2	87,01	95,07	10,72	57,47	32,68	8,22	0,15	0,94
20M:5,6P:F2	87,02	95,14	13,37	56,19	31,63	7,85	0,17	1,05
20M:8,4P:F2	86,61	95,17	15,53	54,91	32,28	8,07	0,25	1,59
40M:2,8P:F2	87,22	95,85	11,01	45,89	25,29	6,81	0,19	1,17
40M:5,6P:F2	87,07	96,04	13,58	44,61	24,69	5,56	0,25	1,56
40M:8,4P:F2	86,98	96,22	16,25	43,32	24,52	5,76	0,19	1,17
60M:2,8P:F2	87,41	96,91	11,36	34,31	18,52	4,78	0,18	1,12
60M:5,6P:F2	87,51	96,86	13,53	33,73	17,27	3,82	0,17	1,09
60M:8,4P:F2	87,37	96,81	16,30	31,74	17,14	4,69	0,18	1,10

M = inclusão de grão de milho moído (%); P = nível de PDR suplementar (%). F1 = uréia; F2 = PIS.

*FDN das misturas = (FDN feno x inclusão feno) + (FDN milho x inclusão de milho)

**Equivalentente Protéico

A preparação das amostras foi a mesma dos experimentos anteriores.

3.3.5. Condução do experimento

Foram realizados três períodos experimentais, totalizando três repetições no tempo por tratamento. O animal foi adaptado à dieta previamente

descrita por sete dias antes do início do experimento. Tão logo um período experimental terminava, iniciava-se o período seguinte.

3.3.6. Determinações realizadas

3.3.6.1. Produção cumulativa de gás *in vitro*

A produção cumulativa de gás *in vitro* foi medida através da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases, proposta por Maurício et al. (1999).

Em cada frasco de vidro, com capacidade de 160 ml, foi incubado um grama de amostra. Em cada frasco com amostra, foram colocados 90 ml de meio de cultura (Tabela 9), adaptado de Menke et al. (1979) e Theodorou et al. (1994), o qual foi previamente aquecido e mantido a uma temperatura de cerca de 39° C e saturado com CO₂ por cerca de 15 minutos antes de ser adicionado aos frascos. Os frascos foram saturados com CO₂ por cerca de 30 segundos, rapidamente fechados com rolhas de borracha e levados à estufa a 39°C até a adição do inóculo.

Antes do fornecimento do concentrado, era coletado líquido ruminal e também uma parte de material sólido do rúmen com o objetivo de coletar também microorganismos aderidos ao substrato. Todo o material coletado foi homogeneizado em liquidificador na proporção de 1:1 (porção sólida:porção líquida). Após, o material homogeneizado foi filtrado em um saco de náilon e mantido em constante gaseificação com CO₂ a uma temperatura de 39°C nos 15 minutos anteriores e durante sua adição aos frascos. Foram adicionados 10 ml de inóculo em cada frasco utilizando seringa plástica de 10 ml e agulha hipodérmica nº 21.

Tabela 9. Composição do meio de cultura utilizado nas incubações de produção de gás *in vitro*

Composição do Meio de Cultura		
Ingredientes:		Mililitros/litro
Água destilada		520,30
Solução Microminerais		0,11
Solução Tampão		208,10
Solução Macrominerais		208,10
Solução Rezasurina		1,00
Meio B		62,40
Solução de microminerais		
Reagentes		Gramas/litro
CaCl ₂ .2H ₂ O		132,00
MnCl ₂ .4H ₂ O		100,00
CoCl ₂ .6H ₂ O		10,00
FeCl ₃ .6H ₂ O		80,00
Solução de Macrominerais		
Reagentes		Gramas/litro
Na ₂ HPO ₄		3,75
KH ₂ PO ₄		3,32
MgSO ₄ .7H ₂ O		0,60
Solução Tampão		
Reagentes		Gramas/litro
NH ₄ HCO ₃		4,00
NaHCO ₃		35,00
Meio B		
Reagentes		quantidade/100ml
Cisteína HCl (mg)		625,00
Água destilada (ml)		95,00
NaOH 1M (ml)		4,00
Na ₂ SO ₃ (mg)		328,13
Solução de Rezasurina		
Reagente		Gramas/litro
Rezasurina		0,01

Foi utilizado um transdutor de pressão tipo PDL 200 para mensurar a pressão de gases decorrentes da fermentação nos tempos 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 e 96 horas após a incubação. Para transformação dos dados de pressão em volume, utilizou-se a seguinte equação estabelecida no

Laboratório de Nutrição Animal da EMBRAPA Pecuária Sul por Velho et al. (2003):

$$Y = -0,9831 + 4,8533 P + 0,0583 P^2$$

Onde:

Y = volume de gases em ml;

P = pressão dos gases dentro dos frascos de fermentação, em psi.

Para ajuste das taxas de degradação, os dados de produção de gás foram ajustados ao modelo logístico bi-compartimental (Schofield et al., 1994):

$$Y = A*(1+\exp*(2-4*B*(x-C)))^{-1} + D*(1+\exp*(2-4*E*(x-F)))^{-1}$$

Onde:

Y = produção acumulada de gás no tempo x;

A = produção de gás máxima referente à fração de fermentação rápida;

B = taxa de fermentação de A;

C = *lag-time* da fração A;

D = produção de gás máxima referente à fração de fermentação lenta;

E = taxa de fermentação de D;

F = *lag-time* da fração D.

Os dados foram ajustados ao modelo usando o software Statgraphics 5.1, que utiliza o método iterativo de Marquardt para estimar os parâmetros.

3.3.6.2. Digestibilidade *In Vitro* Verdadeira da Matéria Orgânica (DIVVMO)

Após 96 horas de incubação, foram adicionados 50 ml de solução de detergente neutro (Goering & Van Soest, 1985) e os frascos foram mantidos em estufa a 90°C por 16 horas para extração da fração solúvel em detergente neutro, conforme técnica descrita por Chai & Udén (1998). O resíduo foi filtrado em cadinho de vidro sinterizado de porosidade grossa (2) e levado a estufa a 105°C por 12 horas, pesado e incinerado em mufla a 500°C por 4 horas.

A digestibilidade verdadeira da MO foi calculada como a quantidade de substrato incubado menos a quantidade de substrato recuperado após tratamento com solução de detergente neutro e seco em estufa a 105°C, e incinerado a 500°C dividido pela quantidade incubada.

3.3.6.3. Fator de partição

O fator de partição (FP) foi determinado segundo Makkar (2004) através do seguinte cálculo:

FP = mg MO verdadeiramente degradada/ ml gases nas 96 horas de incubação

3.3.6.4. Análises laboratoriais

A MS, MO, PB, FDN, FDA e LDA dos alimentos fornecidos aos animais foram determinadas conforme descrito nos experimentos 1 e 2. A FDN dos tratamentos foi calculada através da seguinte fórmula: (inclusão de feno x teor de FDN do feno) + (inclusão de milho x teor de FDN do milho).

3.3.7. Delineamento experimental e análises estatísticas

O experimento foi conduzido em um delineamento completamente casualizado, em fatorial 2 x 4 x 4: duas fontes de nitrogênio, quatro níveis de inclusão de grão de milho moído, quatro níveis de suplementação protéica. Foram realizados três períodos experimentais, totalizando três repetições no tempo por tratamento.

As fontes de variação estudadas foram: inclusão de grão de milho moído, níveis de suplementação protéica, fonte de nitrogênio, período e as interações nível de milho x nível de proteína, nível de milho x fonte de nitrogênio, nível de proteína x fonte de nitrogênio. Quando foi detectado efeito de período, também foram analisadas as interações considerando esse fator.

Quando foi observado efeito de inclusão de milho, PDR suplementar ou alguma interação foram realizadas análises de regressão linear, quadrática e cúbica. Na interação nível de milho x nível de proteína, o nível de proteína foi considerado como variável contínua e o nível de milho como variável classificatória. Na interação com fonte de nitrogênio, essa foi considerada como variável classificatória e o nível de milho/nível de proteína como variável contínua e, no caso de haver mais de uma regressão linear, foi testada a diferença entre suas inclinações para validar essa interação.

As análises foram realizadas através do procedimento GLM do aplicativo computacional SAS versão 8.1 (SAS, 1992).

3.3.8. Modelos matemáticos

Os dados de parâmetros de produção de gás *in vitro*, digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica, produção total de gás *in vitro* e fator de partição, foram analisados de acordo com o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + M_j + P_k + R_l + FM_{ij} + FP_{ik} + MP_{jk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde:

Y_{ijkl} = i-ésima observação na i-ésima fonte de nitrogênio, na j-ésima inclusão de milho, no k-ésimo nível de PDR suplementar, no l-ésimo período;

μ = efeito médio;

F_i = efeito da i-ésima fonte de nitrogênio (i = uréia, PIS);

M_j = efeito da j-ésima inclusão de milho (j = 0, 20, 40, 60);

P_k = efeito do k-ésimo nível de PDR suplementar (k = 0; 2,8; 5,6; 8,4);

R_l = efeito do l-ésimo período (l = 1, 2, 3);

FM_{ij} = efeito da ij-ésima interação entre fonte de nitrogênio e inclusão de milho;

FP_{ik} = efeito da ik-ésima interação entre fonte de nitrogênio e nível de PDR suplementar;

MP_{jk} = efeito da jk-ésima interação entre inclusão de milho e nível de PDR suplementar;

ε_{ijkl} = resíduo.

No caso de haver significância para período, o modelo matemático utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + M_j + P_k + R_l + FM_{ij} + FP_{ik} + MP_{jk} + FR_{il} + MR_{jl} + PR_{kl} + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde:

FR_{il} = efeito da il -ésima interação entre fonte de nitrogênio e período;

MR_{jl} = efeito da jl -ésima interação entre inclusão de milho e período;

PR_{kl} = efeito da kl -ésima interação entre nível de PDR suplementar e período.

Os demais obedecem as definições anteriores.

Os dados de regressão dentro de cada fonte de nitrogênio seguiram os seguintes modelos matemáticos:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_1 P_j + \beta_2 P_j^2 + \beta_3 P_j^3 + \varepsilon_{ij}$$

$$\text{Ou } Y_{ij} = \mu + \beta_1 M_j + \beta_2 M_j^2 + \beta_3 M_j^3 + \varepsilon_{ij}$$

Onde:

Y_{ij} = i -ésima observação associada ao j -ésimo nível de PDR suplementar ou inclusão de milho;

μ = efeito médio;

$\beta_1 P_j$ ou $\beta_1 M_j$ = regressor associado ao efeito linear do nível de PDR suplementar ou inclusão de milho;

$\beta_2 P_j^2$ ou $\beta_2 M_j^2$ = regressor associado ao efeito quadrático do nível de PDR suplementar ou inclusão de milho;

$\beta_3 P_j^3$ ou $\beta_3 M_j^3$ = regressor associado ao efeito cúbico do nível de PDR suplementar ou inclusão de milho;

ε_{ij} = resíduo.

Quando houve significância para a interação entre inclusão de milho e nível de PDR suplementar, o modelo utilizado foi o mesmo, porém utilizando somente o nível de PDR suplementar como variável classificatória.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento 1 - Avaliação da suplementação energética e protéica, com uréia, de um volumoso de baixa qualidade através da técnica de digestibilidade *in vitro* verdadeira

4.1.1. Digestibilidade *in vitro* verdadeira

Os valores médios da DIVVMO e da DIVFDN, com 48 horas de incubação, expressos em %, em cada combinação entre os fatores estudados, são apresentados na tabela 10, os resultados individualizados por período nos apêndices 1 e 3 e as análises de variância nos apêndices 15 e 17.

Tabela 10. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO, %) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN, %)

Milho (%)	PDR (%)	DIVVMO (%)	DIVFDN (%)
0	0	55,73	29,64
	2,8	58,25	26,23
	5,6	64,67	33,36
	8,4	65,15	37,74
20	0	72,77	25,31
	2,8	75,99	35,23
	5,6	77,80	38,49
	8,4	70,90	25,81
40	0	81,86	33,54
	2,8	78,81	31,09
	5,6	92,19	42,24
	8,4	85,09	32,91
60	0	93,49	35,60
	2,8	89,72	37,77
	5,6	90,11	26,93
	8,4	89,90	28,93
MÉDIA		77,65	32,84
Coeficiente de Variação (%)		16,00	20,30
Fontes de Variação Significativas		M X PDR (P <0,01)	M X PDR (P <0,05)

M x PDR = interação entre inclusão de milho e nível de PDR suplementar.

Foi observado efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído e PDR suplementar sobre a DIVVMO (P <0,01) e DIVFDN (P <0,05), conforme pode ser visualizado nas figuras 1 e 2. As análises de regressão são apresentadas nos apêndices 44 a 47 e 49 a 52.

Houve um aumento linear de 1,24 % na DIVVMO para cada ponto percentual acrescido a PDR suplementar (P <0,01; figura 1) sem a inclusão de milho ao substrato incubado. Utilizando 40 % de milho, foi observado um comportamento cúbico (P <0,01; $r^2 = 0,81$) na mesma interação.

Apesar de a mesma interação afetar também a DIVFDN (figura 2), com 20 % de milho foi observado um comportamento quadrático (P < 0,01) e com 40 e 60 % de grão de milho a resposta foi cúbica (P <0,05; $r^2 = 0,64$ e $r^2 = 0,94$, respectivamente).

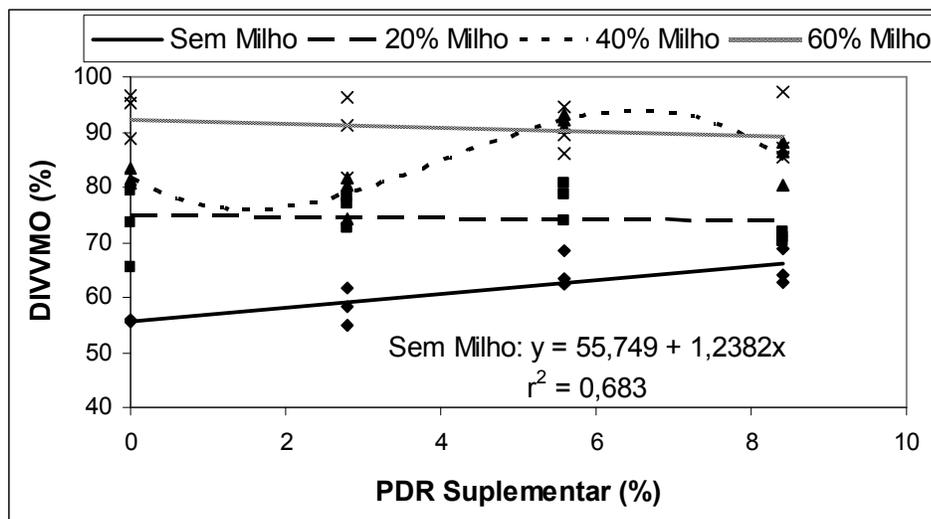


Figura 1. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e PDR suplementar sobre a digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO, %)

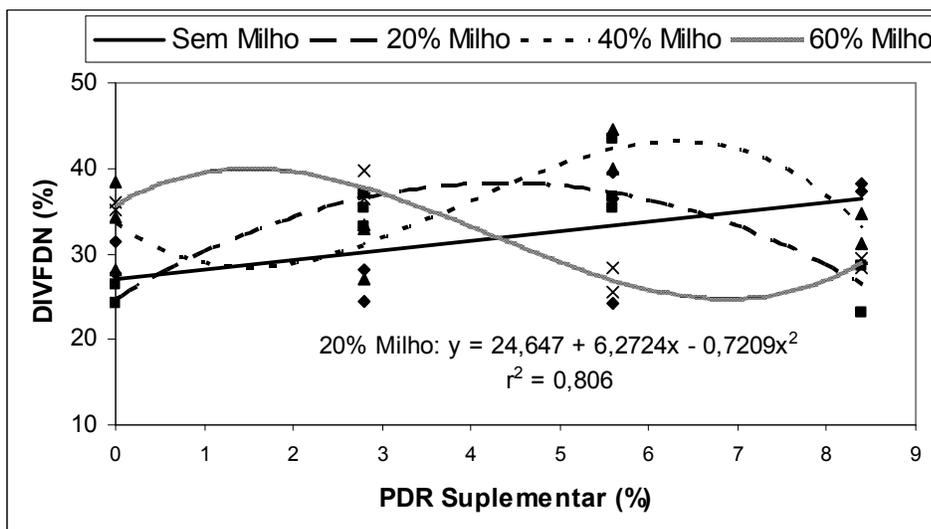


Figura 2. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e PDR suplementar sobre a digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro (DIVFDN, %)

Estes resultados não concordam com os resultados do experimento 2, quando houve um aumento quadrático da DIVVMO em resposta à inclusão de milho e com meta-análise de Moore et al. (1999) que observou piores desempenhos suplementando altos níveis de NNP em dietas deficientes em

energia. Isso ocorre porque para haver síntese protéica é preciso não só de nitrogênio, mas também de energia obtida através da degradação de carboidratos (Henderickx, 1976). Porém, levanta a hipótese de que somente o volumoso utilizado seria capaz de fornecer energia suficiente aos microorganismos ruminais para o metabolismo de nitrogênio.

O aumento inicial e posterior diminuição da DIVFDN em níveis superiores a 4 % de PDR suplementar pode estar envolvido com o chamado “efeito proteína” (Paez-bernal, 2007; Costa et al., 2008) que seriam interações antagonistas entre as espécies microbianas, havendo a inibição de algumas espécies em função da produção de compostos inibidores (bacteriocinas) por outras espécies.

Esperava-se resultado semelhante ao observado na DIVVMO sem a inclusão de milho nos demais níveis de carboidratos rapidamente fermentáveis, inclusive sobre a DIVFDN.

Kozloski et al. (2007), em trabalho *in vivo*, observaram que o uso apenas de farinha de mandioca deprimiu a digestibilidade da fibra e que, apesar da suplementação somente com uréia gerar melhores resultados, foi a associação de carboidratos de rápida fermentação com PDR que maximizou a digestibilidade.

Mesmo sem observar efeitos negativos sobre a digestibilidade, utilizando grão de milho, em experimento *in vivo*, Bodine et al. (2000) e Bodine & Purvis (2003) obtiveram os melhores resultados associando a suplementação energética à protéica.

4.1.2. Parâmetros de degradabilidade ruminal

De acordo com Orskov (2000), estudos de ambiente ruminal, em que é avaliada a influência da suplementação energética e/ou protéica sobre a cinética de degradação do alimento, devem se basear na taxa de degradação da fração lentamente digestível (parâmetro C) porque as maiores alterações na degradabilidade de um alimento por alterações no ambiente ruminal acontecem na sua taxa de degradação e não na sua extensão. Segundo o autor, os parâmetros A e B do modelo de McDonald (1981) são pouco influenciados pelo ambiente ruminal, pois a fração A é tão rapidamente solubilizada e fermentada que não chega a sofrer os efeitos de uma mudança no ambiente ruminal. Já a fração B forma uma curva assintótica, desde que seja utilizado um tempo adequado de incubação, fazendo com que a degradabilidade do alimento atinja um platô que não será excedido por mais tempo que dure a incubação, pois o material restante é completamente indigestível.

Com essa justificativa, nos dois primeiros ensaios do presente trabalho serão discutidos os resultados envolvendo o parâmetro C do citado modelo, a degradabilidade efetiva da MO (DE MO) e da FDN (DE FDN) e o *lag-time* da FDN, pois os dados de *lag-time* da MO apresentaram grande variabilidade impossibilitando sua utilização.

4.1.2.1. Taxa de degradação da fração insolúvel potencialmente degradável

Os resultados médios de C, expressos em %/hora, da MO e da FDN para cada combinação entre os fatores estudados são apresentados na tabela 11. Os resultados individuais observados em cada período experimental e as

análises de variância são apresentados nos apêndices 5, 7 e 19, 21, respectivamente.

Segundo Caton & Dhuyvetter (1997), geralmente não são observados efeitos da suplementação energética e/ou protéica sobre a taxa de degradação do substrato. Caton et al. (1988) e Freeman et al. (1992) não detectaram qualquer efeito da suplementação sobre a taxa de degradação da fração insolúvel do alimento em bovinos consumindo volumosos de baixa qualidade. Entretanto, Westvig (1992) reportou diminuição na taxa de degradação da MS devido à suplementação com cevada. Não foi observado efeito sobre a degradação da FDN. Leventini et al. (1990) trabalharam com 10, 30 e 50 % de cevada numa dieta basal com volumoso de baixa qualidade e notaram um declínio linear na taxa de degradação da MS e da FDN em resposta ao aumento na suplementação. Essa variabilidade de respostas torna um pouco mais difícil a discussão dos resultados.

Os resultados médios ficaram dentro do relatado por Stritzler et al. (1997) para gramíneas estivais, que devem ficar entre 0,79 até 9,98 %/h. No presente experimento, variaram de 2,12 até 5,39 %/h para a MO e de 1,04 até 2,06 %/h para a FDN, sendo a média de 1,61 %/h, valor bastante inferior ao observado por Silveira (2007) e Azevedo (2007) (4,08 e 4,1 %/h, respectivamente) trabalhando com feno de baixa qualidade (5,5 e 4,62 % de PB) em experimentos *in situ*.

Tabela 11. Efeito do nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da taxa de degradação da MO e da FDN da fração insolúvel potencialmente degradável (C, %/h)

Milho (%)	PDR (%)	C – MO (%/h)	C – FDN (%/h)
0	0	2,15	2,06
	2,8	2,12	1,33
	5,6	3,83	1,53
	8,4	2,25	1,56
20	0	3,85	1,46
	2,8	5,39	1,92
	5,6	5,15	2,03
	8,4	2,63	1,54
40	0	3,53	1,64
	2,8	5,17	1,36
	5,6	4,32	2,02
	8,4	4,01	1,60
60	0	5,31	1,76
	2,8	4,94	1,51
	5,6	5,08	1,04
	8,4	5,07	1,39
MÉDIA		4,13	1,61
Coeficiente de Variação (%)		35,95	34,36
Fontes de Variação Significativas		M (P <0,05)	

M = inclusão milho.

Foi detectado um efeito linear significativo ($P < 0,05$) da inclusão de grão de milho moído sobre o parâmetro C da MO (figura 3) com um aumento de 0,037 %/h para cada percentual a mais na inclusão do suplemento energético. A análise de regressão é apresentada no apêndice 53.

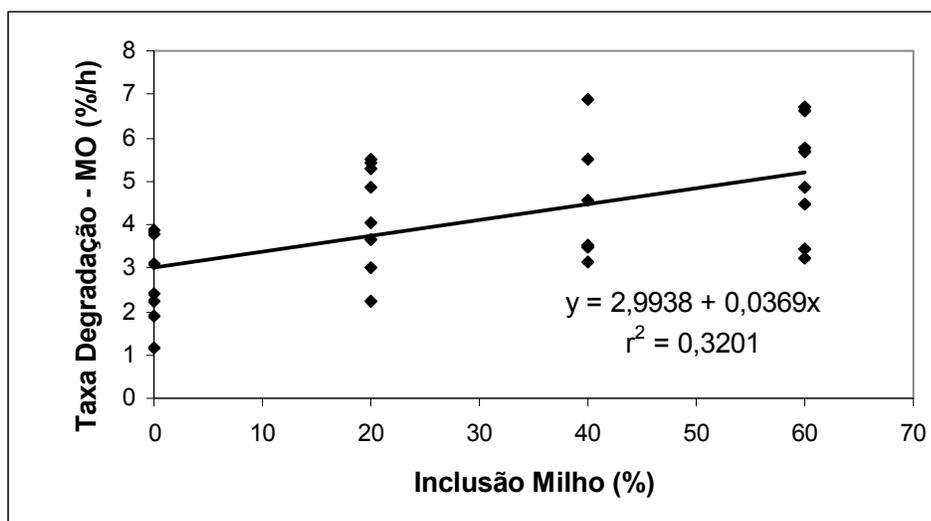


Figura 3. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) sobre a taxa de degradação (Parâmetro C, %/h) da MO

Estes resultados contrariam trabalho de Medeiros (2004) que observou uma diminuição de 28 % na taxa de degradação da MO suplementando bovinos com 1,2 % do PV de milho em comparação ao grupo não suplementado e Pordomingo et al. (1991), suplementando bovinos mantidos em pastagem (10 % PB) com níveis crescentes de milho (0; 0,2; 0,4 e 0,6 % do PV) não observaram diferenças nas taxas de degradação da MO, com a ressalva de que trabalharam com um volumoso de bom teor protéico e utilizaram níveis de suplementação de milho inferiores aos estudados no trabalho anteriormente citado.

O não aparecimento de efeitos da inclusão de milho sobre a taxa de degradação da FDN está em desacordo com resultados de outros autores (Silveira et al. 2008; Matejovsky et al., 1995; El-Shazly, 1961; Chase & Hibberd, 1987) que observaram uma diminuição na digestibilidade da fibra em resposta a suplementação com milho em experimentos *in vivo*.

Um fato importantíssimo a ser considerado para justificar esse

resultado é que com um aumento da inclusão de milho, esse alimento passa a ter uma participação considerável sobre a MO e, até mesmo, sobre a FDN do alimento incubado (em algumas combinações estudadas, chegou a responder por mais de 30% da FDN incubada e por mais de 60 % da MO incubada). É importante relevar que a composição da fibra do volumoso e do concentrado são diferentes (Poore et al., 1990), havendo um maior teor de lignina, que é completamente indigestível, no feno, respondendo por 13,88 % da FDN, enquanto no milho a lignina responde por apenas 6,04 % da FDN, havendo um menor teor de lignina no substrato à medida que aumentou a inclusão de milho, resultando em uma maior digestão da fibra proveniente do milho.

O aumento linear das taxas de degradação também pode estar relacionado ao fato de, no presente experimento, ter sido trabalhado com um volumoso com teor de PB superior a 7 %, acima do nível mínimo para que seja mantida a atividade microbiana ruminal, segundo Van Soest (1994) e do meio tamponante utilizado conter uréia em sua composição o que pode ter contornado qualquer deficiência de nitrogênio do volumoso utilizado nas incubações. Essa tese é corroborada pelos resultados médios de $N-NH_3$ observados nas combinações sem a inclusão de PDR suplementar, que foram superiores ao preconizados por Satter & Slyter (1974) e Griwswold et al. (2003) para maximizar a síntese de proteína microbiana e a digestão e próximos aos relatados por Leng (1990), como ótimos para a degradabilidade ruminal do volumoso.

Mertens & Loften (1980), em ensaio *in vitro*, trabalharam com 0, 40, 60 ou 80 % de um suplemento composto por milho e amido de trigo em relação

a MS total, em dietas basais de volumosos com alto teor protéico (14 a 16,4 % de PB) e não constataram diminuição na taxa de degradação da fibra, provavelmente devido ao alto teor de proteína dos volumosos utilizados no experimento.

Em um ensaio *in vitro* em que foram testados diferentes níveis de substituição de caseína por uréia, em uma dieta basal com 4,13 % de PB, Zorzi (2008) observou maior taxa de degradação da FDN e eficiência microbiana utilizando 2/3 de uréia e 1/3 de caseína, levantando a dúvida se os microorganismos celulolíticos também não necessitariam de aminoácidos e peptídeos para sua atuação na degradação da fibra.

4.1.2.2. Degradabilidade efetiva

A degradabilidade efetiva (DE) é uma medida que integra os parâmetros de degradação ruminal, como perdas por lavagem no tempo zero (A), material insolúvel, porém potencialmente degradável (B) e taxa de degradação de b (C) com a velocidade de trânsito (taxa de passagem) da fração sólida pelo trato gastrointestinal.

No presente experimento, trabalhou-se com os resultados de DE com taxas de passagem da fração sólida de 2 e 5 %/h, pois, enquanto que um volumoso de baixa qualidade apresenta uma taxa de passagem de cerca de 2 %/h, a maioria dos alimentos concentrados mesclados a alimentos volumosos apresenta uma taxa de passagem de cerca de 5 %/h. No entanto, como se sabe que a taxa de passagem está mais relacionada ao consumo de alimento pelo animal, o mais correto seria afirmar que foram analisados resultados com taxas de passagem correspondentes a um alto e a um baixo consumo (Shaver

et al., 1986).

Os valores médios para a DE, expressos em %, da MO e da FDN a uma taxa de passagem da fração sólida de 2 e 5 %/h são apresentados na tabela 12. Os valores observados em cada período experimental e as análises de variância são apresentados nos apêndices 5, 7 e 23, 25, 27 e 29, respectivamente.

Tabela 12. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de PDR suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da degradabilidade efetiva (DE) da MO e da FDN a uma taxa de passagem de 2 (DE 2%) ou 5 %/h (DE 5%)

Milho (%)	PDR (%)	DE 2% - MO (%)	DE 5% - MO (%)	DE 2% - FDN (%)	DE 5% - FDN (%)
0	0	54,90	47,00	26,65	13,16
	2,8	53,05	43,20	25,43	13,43
	5,6	52,70	43,50	26,66	14,47
	8,4	53,55	43,10	25,65	13,99
20	0	59,00	48,75	21,64	11,66
	2,8	58,00	47,55	24,11	13,65
	5,6	59,80	50,95	24,42	13,98
	8,4	63,25	51,05	27,56	10,71
40	0	69,30	59,35	26,18	14,17
	2,8	62,70	53,50	25,34	13,28
	5,6	71,40	58,55	28,18	14,84
	8,4	63,95	50,20	24,94	13,14
60	0	76,35	66,90	27,53	13,80
	2,8	71,45	59,25	26,97	14,51
	5,6	71,30	59,20	27,63	11,57
	8,4	73,35	62,15	28,57	12,60
MÉDIA		63,38	52,76	26,09	13,31
Coeficiente de Variação (%)		13,06	14,48	18,43	16,19
Fontes de Variação Significativas		M X PDR (P <0,01)	M (P <0,01)		

M x PDR = interação entre inclusão de milho e nível de PDR suplementar; M = efeito da inclusão de milho.

Foi detectado que a interação entre inclusão de grão de milho moído e nível de PDR suplementar afetou a DE da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h (P <0,01). Essa interação é demonstrada na figura 4. As análises de regressão são apresentadas nos apêndices 59 a 62.

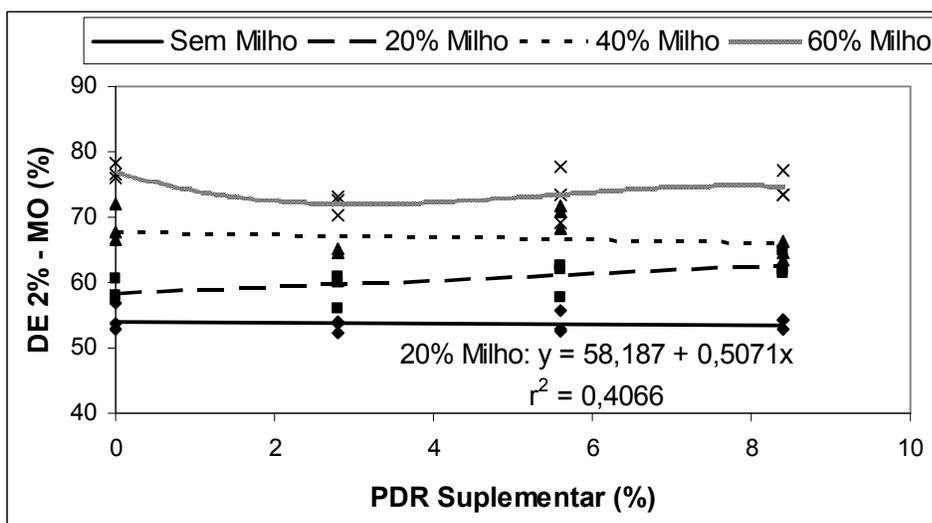


Figura 4. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) e nível de PDR suplementar (%) sobre a DE da MO (DE MO, %) a uma taxa de passagem de 2 %/h (DE 2 % MO)

Com a inclusão de 20 % de milho houve um aumento linear na DE da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h, indicando que a suplementação com proteína foi benéfica no menor nível de suplementação energética e comprovando que um correto fornecimento de PDR associado à um nível moderado de concentrado amiláceo acarreta em um melhor aproveitamento do alimento degradável no rúmen.

Também foi observado um incremento linear de 0,29 % para cada acréscimo percentual na inclusão de milho ($P < 0,01$) da DE da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h (figura 5). A análise de regressão é apresentada no apêndice 71.

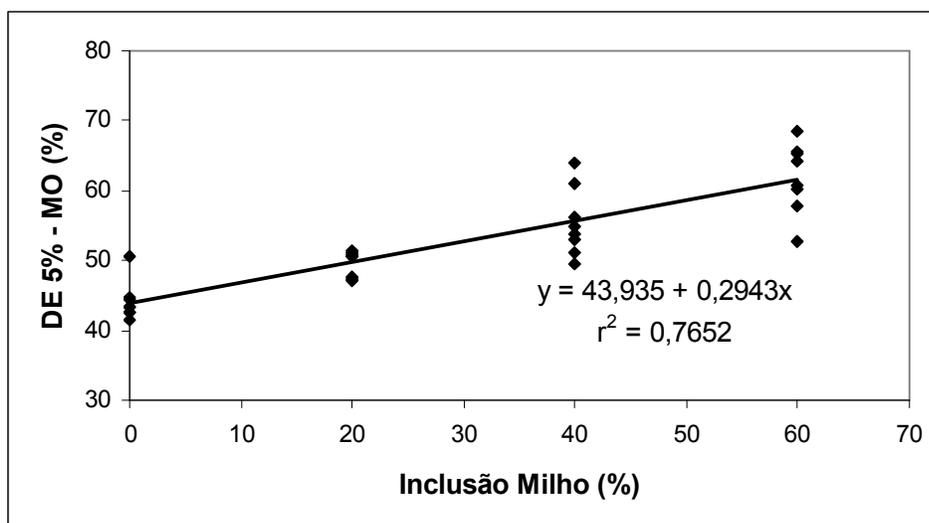


Figura 5. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) sobre a DE da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h (DE 5% - MO, %)

Novamente, esse comportamento encontra justificativa no fato de o feno incubado conter mais de 7 % de PDR, nível considerado crítico por Van Soest (1994) e do meio de incubação conter uréia em sua composição. Também deve ser levado em conta que, apesar do grão de milho utilizado apresentar somente 8,92 % de PB em sua composição, possui segundo o NRC (2001), somente 0,3 % desse total sendo insolúvel em detergente ácido, enquanto o feno incubado apresentou 7,69 % de PB e 1,05 % de PIDA, que é indigestível. Dessa forma, à medida que aumentou a inclusão de milho, também aumentou o teor de PB potencialmente aproveitável, contribuindo para a explicação do resultado observado.

Outro fator a ser considerado é que trata-se da DE da MO, portanto, aumentando a inclusão de milho, há uma maior inclusão de MO potencialmente degradável e menor de carboidratos estruturais em comparação a utilização somente de feno nas incubações.

4.1.2.3. *Lag-Time* da fibra em detergente neutro (FDN)

Os valores médios do tempo de colonização da FDN, expressos em horas, em cada combinação entre os fatores estudados, são apresentados na tabela 13, os resultados individualizados por período no apêndice 7 e a análise de variância no apêndice 31.

Tabela 13. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios do tempo de colonização (*lag-time*, h) da FDN

Milho (%)	PDR (%)	<i>Lag-time</i> (h)
0	0	3,41
	2,8	4,90
	5,6	4,97
	8,4	4,11
20	0	5,27
	2,8	4,60
	5,6	5,03
	8,4	5,03
40	0	4,48
	2,8	5,41
	5,6	4,99
	8,4	5,21
60	0	5,14
	2,8	5,25
	5,6	5,51
	8,4	5,39
MÉDIA		4,92
Coeficiente de Variação (%)		13,56
Fontes de Variação Significativas		M (P <0,01)

M = inclusão milho.

Os tempos de colonização médios da FDN variaram de 3,41 até 5,51 horas, bem superiores aos observados por Silveira (2007) (no máximo 2,30 horas) trabalhando com suplementação protéica e energética em volumoso com 5,5 % de PB, mas inferiores aos observados por Azevedo (2007) (5,76 a 7,02 horas) trabalhando com uréia de rápida ou lenta liberação com volumoso com 4,62 % de PB.

Foi observado um aumento linear (P <0,01) em resposta ao

incremento na inclusão de grão de milho moído. Esse efeito é ilustrado pela figura 6. A diferença entre o maior nível de milho e a sua não utilização foi de 22 % indicando um grande retardo na colonização da fibra.

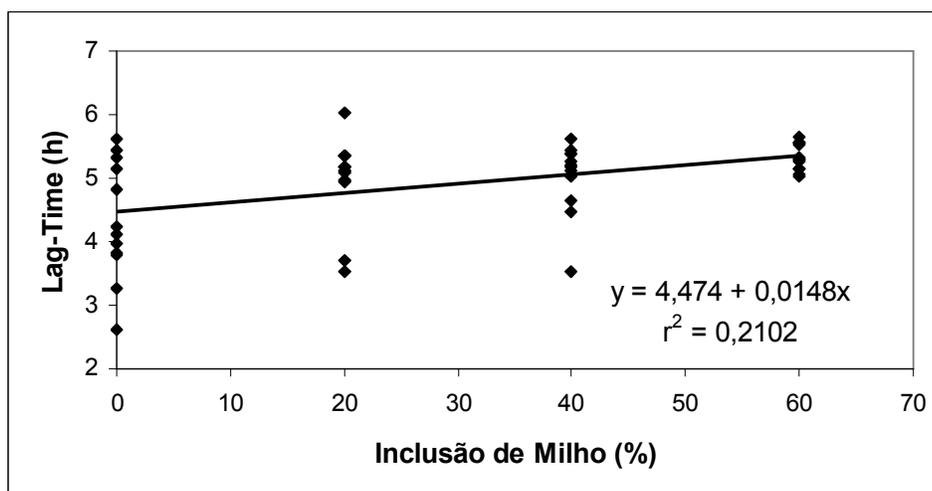


Figura 6. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) sobre o tempo de colonização (*Lag-time*, h) da FDN

Esse retardo na colonização e no início da degradação da FDN deve-se ao fato de que incrementando a inclusão de amido na dieta, há um aumento na população microbiana amilolítica prejudicando o desenvolvimento dos microorganismos que fermentam carboidratos estruturais.

Mertens & Loften (1980), em ensaio *in vitro*, e com diferentes inclusões de concentrado energético (0, 40, 60 e 80 %) observaram um aumento linear no *lag-time* da fibra que passou de 1,13 para 3,22 horas, uma diferença de 185 %.

4.1.3. Nitrogênio amoniacal

Os resultados médios de N-NH₃ de todas as combinações entre os fatores avaliados são apresentados na tabela 14. Os resultados individualizados por período e por horário são apresentados no apêndice 9 e a

análise de variância é apresentada no apêndice 33.

Não foi possível estabelecer uma correlação entre a DIVVMO e DIVFDN e a concentração de N-NH₃ ruminal a fim de estabelecer qual o nível ótimo de amônia ruminal para maximizar a digestibilidade *in vitro* neste experimento.

Tabela 14. Efeito do nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de PDR suplementar (PDR, %) sobre os valores médios de nitrogênio amoniacal (N-NH₃, mg/dl)

Milho (%)	PDR (%)	N-NH ₃ MÉDIO (mg/dl)
0	0	9,31
	2,8	11,77
	5,6	13,81
	8,4	22,19
20	0	9,76
	2,8	12,68
	5,6	13,68
	8,4	19,97
40	0	10,60
	2,8	14,77
	5,6	15,54
	8,4	16,34
60	0	9,40
	2,8	11,71
	5,6	16,21
	8,4	18,91
MÉDIA		14,17
Coeficiente de Variação (%)		27,43
Fontes de Variação Significativas		PDR (P <0,01)

PDR = efeito da PDR suplementar.

Os resultados médios de N-NH₃ observados foram superiores ao preconizado por Satter & Slyter (1974) para maximizar a síntese de proteína microbiana (5 mg/dl) e por Griswold et al. (2003) para que a digestão seja máxima (4,2 mg/dl).

Entretanto, Leng (1990), citando trabalhos australianos, afirma que a degradabilidade ruminal da forragem deve ser otimizada com níveis próximos a 10 mg/dl.

Silveira et al. (2003), em experimento *in vitro*, estabeleceram como nível ótimo para a digestibilidade da celulose, 13,25 mg de N-NH₃/dl de líquido ruminal. No entanto, de acordo com trabalho do mesmo autor (Silveira, 2007), a concentração ótima é dependente da dieta, pois esse autor observou que à medida que a concentração de N-NH₃ aumentou, aumentou também a digestibilidade, quando foi utilizada suplementação energética adequada. Isto sugere que sob condições de alta inclusão de carboidratos rapidamente fermentáveis e disponibilidade limitada de nitrogênio, a concentração de N-NH₃ necessária para otimizar o crescimento de microorganismos celulolíticos pode ser incrementada (Hoover, 1986).

A concentração de N-NH₃ médio foi afetada pela suplementação com PDR (P <0,01) havendo um incremento linear de 0,98 mg/dl de líquido ruminal a cada ponto percentual acrescido à PDR suplementar (P <0,01; figura 7). A análise de regressão é apresentada no apêndice 74.

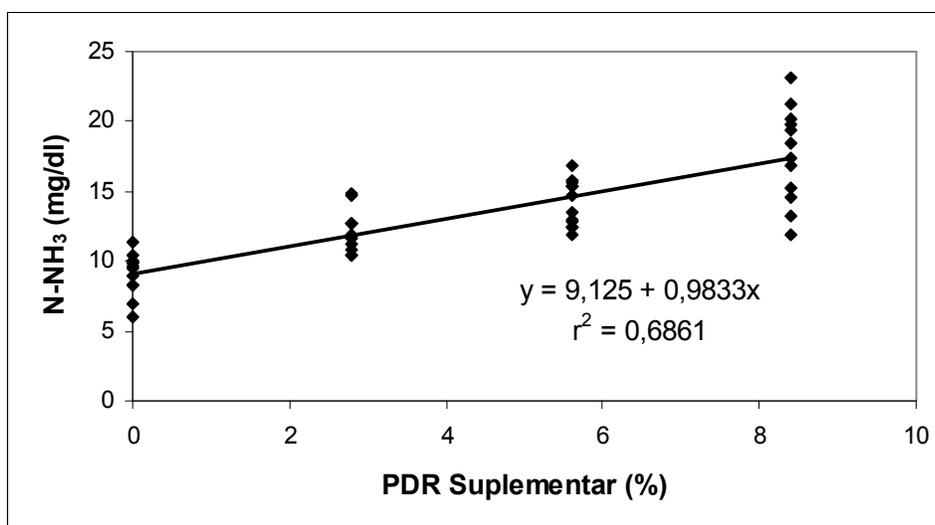


Figura 7. Efeito da PDR suplementar sobre o nitrogênio amoniacal médio (N-NH₃, mg/dl)

O incremento linear na concentração de N-NH₃ ruminal, apresentado

aqui, encontra subsídio em diversos trabalhos da literatura. Silveira (2007) também observou aumento linear no N-NH₃ em resposta ao incremento na PDR suplementada, quando os animais receberam 1 % do PV de milho (superior a 60 % da MO consumida). Da mesma forma, Kang-Meznarich & Broderick (1981), em trabalho com diferentes níveis de suplementação protéica com uréia (0; 1; 2; 3; 4,5 e 6,5 % de PB) e Klevesahl et al. (2003) também observaram aumento linear na concentração de N-NH₃ à medida que houve um incremento na PDR, entretanto esse aumento foi menor quando também foi realizada suplementação energética.

No presente experimento também deve ser considerado que a fonte de PDR utilizada foi a uréia, uma fonte de NNP. A uréia é rapidamente degradada e totalmente desaminada em NH₃ no rúmen (Bach et al., 2005) e para que o NNP seja eficientemente usado, é imprescindível que seja convertido em NH₃ no rúmen, pois essa é a única maneira para que possa ser utilizado pelos microorganismos ruminais (Satter & Slyter, 1974).

4.2. Experimento 2 - Avaliação da suplementação energética e protéica, com proteína isolada de soja, de um volumoso de baixa qualidade através da técnica de digestibilidade *in vitro* verdadeira

4.2.1. Digestibilidade *in vitro* verdadeira

Os valores médios da DIVVMO e da DIVFDN, com 48 horas de incubação, expressos em %, em cada combinação entre os fatores estudados, são apresentados na tabela 15, os resultados individualizados por período nos apêndices 2 e 4 e as análises de variância nos apêndices 16 e 18.

Tabela 15. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO, %) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN, %)

Milho (%)	PDR (%)	DIVVMO (%)	DIVFDN (%)
0	0	64,89	34,09
	2,8	64,50	34,42
	5,6	61,97	36,37
	8,4	66,65	34,09
20	0	63,41	30,18
	2,8	65,13	32,19
	5,6	69,22	30,77
	8,4	72,26	33,66
40	0	73,65	31,72
	2,8	78,57	38,68
	5,6	78,33	33,12
	8,4	74,90	30,39
60	0	86,75	44,73
	2,8	87,21	36,77
	5,6	85,57	28,10
	8,4	91,63	28,47
MÉDIA		74,04	33,61
Coeficiente de Variação (%)		14,13	20,39
Fontes de Variação Significativas		M (P <0,01)	

M = nível de inclusão de milho.

A inclusão de milho afetou de maneira significativa a DIVVMO ($P < 0,01$) imprimindo um comportamento quadrático ($P < 0,01$; figura 8). A análise de regressão é apresentada no apêndice 48.

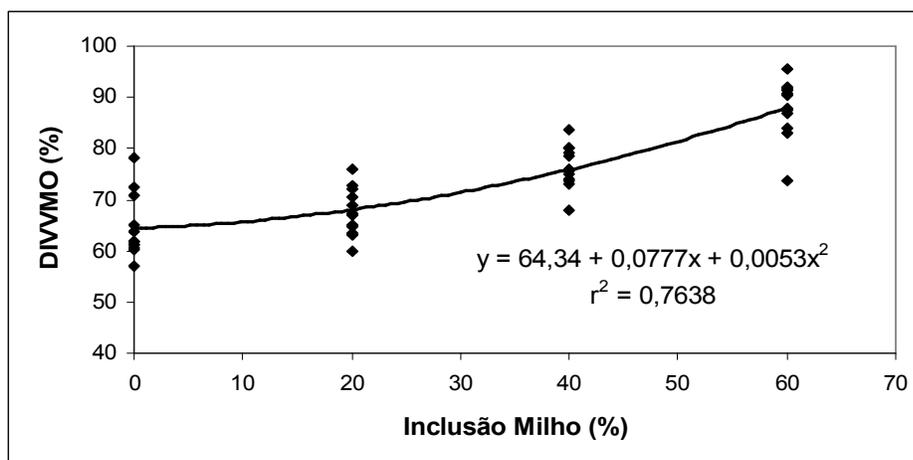


Figura 8. Efeito da inclusão de milho moído (%) sobre a digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO, %)

O aumento quadrático da DIVVMO em resposta à inclusão de milho não concorda com resultados de experimento *in vivo* de Medeiros et al. (2008) que apesar de também observarem um comportamento quadrático da DMO em resposta à suplementação com milho, detectaram um incremento na digestibilidade até uma inclusão máxima de cerca de 30 % de milho em relação a MS total da dieta com uma diminuição em níveis superiores.

Entretanto, é importante salientar que o incremento na inclusão de carboidratos rapidamente fermentáveis leva a um aumento na MO potencialmente digestível, pois enquanto o feno apresenta teores de celulose e de lignina de 34,17 e 9,76 %, respectivamente, o grão de milho moído utilizado nas incubações possui apenas 4,09 e 0,75 % para esses mesmos componentes estruturais.

Era esperado efeito significativo sobre a DIVFDN, pois de acordo com Silveira (2007), a DFDN apresenta uma boa possibilidade de avaliação de tratamentos, pois segundo Dixon & Stockdale (1999) e o próprio Silveira (2002) são as frações mais afetadas em sua digestibilidade.

O esperado era que houvesse uma correlação linear positiva em resposta ao incremento na PDR suplementar na interação entre PDR e inclusão de milho e que o incremento na inclusão de milho deprimisse a DIVFDN. O motivo para a não constatação desses efeitos, provavelmente, foi o fato de ter sido trabalhado com um feno contendo mais de 7 % de PB, nível considerado mínimo para manter a atividade fermentativa microbiana, segundo Van Soest (1994) e pelo meio tamponante utilizado no trabalho (saliva artificial de McDougall, 1948) conter uréia, o que pode ter contribuído para minimizar

uma eventual deficiência por nitrogênio do volumoso incubado fato comprovado através das análises de N-NH₃. Esse também deve ser o motivo pelo qual não ficou caracterizado o efeito carboidrato que provocaria uma redução na DIVMO e, especialmente, na DIVFDN, pois havendo nitrogênio em níveis adequados, o aumento na inclusão de milho pode não levar a uma deficiência desse nutriente.

No entanto, outros autores conseguiram caracterizar esse efeito, em experimentos *in vivo*, trabalhando com dietas basais contendo um nível até mesmo maior de PB do que a utilizada no presente ensaio. Matejovsky et al. (1995), trabalhando com volumosos de distintos teores protéicos (5,2; 10,2 e 14,2 %), em experimento *in vivo*, observaram que a suplementação com milho (0,25; 0,5 e 0,75 % do PV) diminuiu linearmente a DFDN independente do teor de PB do volumoso.

4.2.2. Parâmetros de degradabilidade ruminal

4.2.2.1. Taxa de degradação da fração insolúvel potencialmente degradável

Os resultados médios de C, expressos em %/hora, da MO e da FDN para cada combinação entre os fatores estudados são apresentados na tabela 16. Os resultados individuais observados em cada período experimental e as análises de variância são apresentados nos apêndices 6, 8 e 20, 22, respectivamente.

Tabela 16. Efeito do nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da taxa de degradação da MO e da FDN da fração insolúvel potencialmente degradável (C, %/h)

Milho (%)	PDR (%)	C – MO (%/h)	C – FDN (%/h)
0	0	4,05	1,36
	2,8	2,99	1,72
	5,6	4,46	1,78
	8,4	2,93	1,96
20	0	3,32	1,18
	2,8	3,09	1,43
	5,6	2,27	1,47
	8,4	3,77	2,13
40	0	3,24	1,40
	2,8	3,47	1,56
	5,6	5,49	1,61
	8,4	4,60	2,02
60	0	5,79	2,35
	2,8	6,38	1,66
	5,6	6,62	1,06
	8,4	5,65	1,38
MÉDIA		4,26	1,63
Coeficiente de Variação (%)		38,26	27,69
Fontes de Variação Significativas		M (P <0,01)	M X PDR (P <0,05)

M = efeito da inclusão milho; M X PDR = efeito da interação entre inclusão de milho e PDR suplementar.

Foi detectado um efeito quadrático significativo ($P < 0,01$) da inclusão de grão de milho moído sobre o parâmetro C da MO (figura 9) com uma redução inicial seguida por um aumento. A análise de regressão é apresentada no apêndice 54.

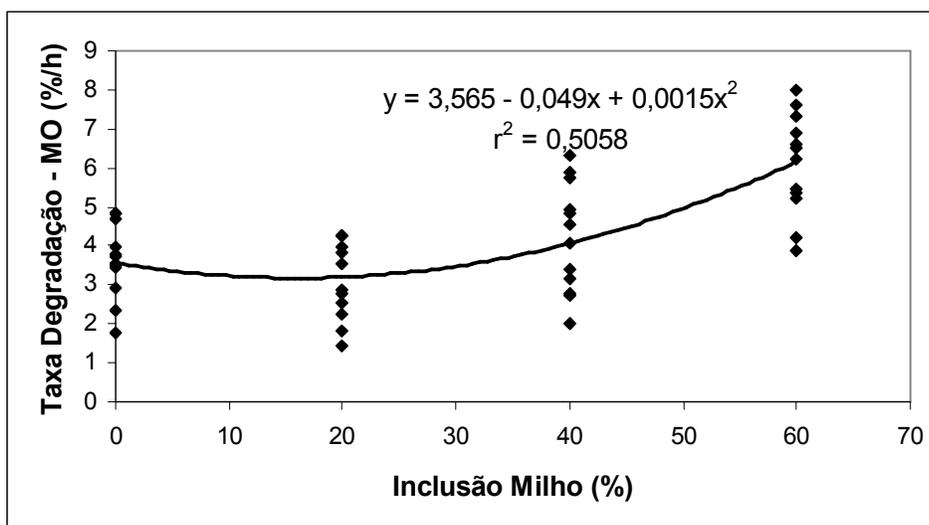


Figura 9. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) sobre a taxa de degradação (%/h) da MO

O esperado era um comportamento quadrático, porém com maiores taxa de degradação em níveis intermediários, justamente o contrário do que ocorreu. Esse comportamento quadrático foi observado por diversos autores em experimentos *in vivo* (Horn & McCollun, 1987; Moore et al. 1999; Medeiros, 2004).

Enquanto níveis moderados de amido podem ser excelente fonte de carboidratos rapidamente fermentáveis, essenciais para a síntese de proteína microbiana, níveis excessivos em dietas baseadas em volumosos de baixa qualidade aumentam as exigências dos microorganismos ruminais por nitrogênio, acentuando ainda mais a sua deficiência por PDR (Leng, 1990) além de aumentar a necessidade por aminoácidos pré-formados (Dewhurst et al., 2000).

Também foi detectado que a interação entre inclusão de grão de milho e PDR suplementar afetou significativamente a taxa de degradação da

FDN ($P < 0,05$; figura 10). As análises de regressão são apresentadas nos apêndices 55 a 58.

Nos dois menores níveis em que houve inclusão de grão de milho (20 e 40 %) a resposta à PDR foi linear ($P < 0,05$) demonstrando que, realmente, um adequado fornecimento de PDR associado a uma fonte de energia pode incrementar a utilização da fração fibrosa da dieta.

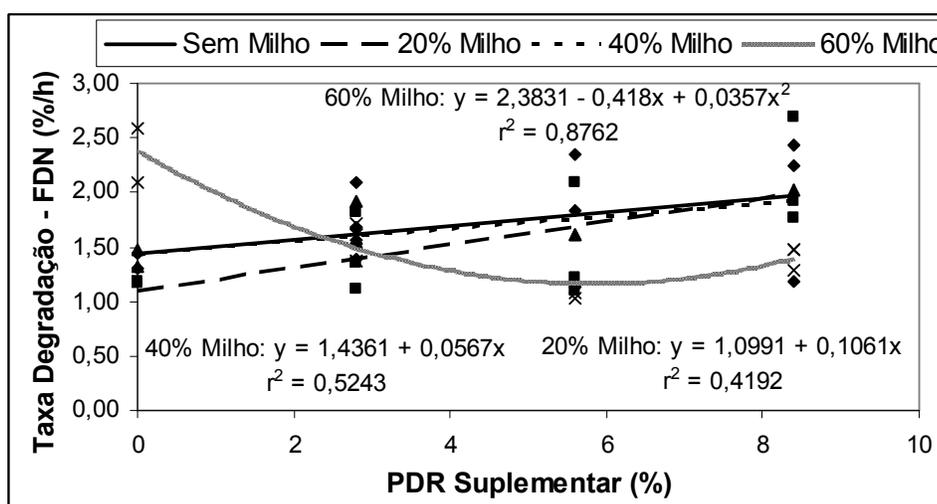


Figura 10. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho (%) e PDR suplementar sobre a taxa de degradação da FDN (%/h)

Esse aumento linear nos níveis intermediários de milho em resposta à PDR decorre do fato de que para haver síntese de proteína microbiana é necessário ter uma fonte de carboidratos rapidamente fermentável associada à um adequado fornecimento de nitrogênio (Henderickx, 1976).

Também vale ressaltar que com o aumento na inclusão de milho, há um crescimento na população microbiana celulolítica, que necessita também de aminoácidos e peptídeos pré-formados como fontes de nitrogênio (Russel et al., 1992; Tedeschi et al., 2000; Bach et al., 2005) e destes serem resultantes da degradação de proteína verdadeira (Demeyer & Fievez, 2004).

Medeiros (2004) observou que mesmo em dietas onde há um adequado fornecimento de PDR, níveis excessivos de amido deprimem a utilização da fibra.

Silveira (2007) observou que a PDR incrementou linearmente a taxa de degradação da FDN à medida que foi aumentada a PDR suplementada (0, 40, 80 e 120 % do exigido pelos microorganismos ruminais) quando havia fornecimento de energia suplementar. No entanto, Costa et al. (2008), apesar de também observarem um incremento na taxa de degradação da FDN em resposta à suplementação com caseína, detectaram uma depressão de até 22,9 % nesse parâmetro com a inclusão de amido, utilizando um volumoso com 3,83 % de PB e 30 % de concentrado em relação a MS consumida, a suplementação concomitante com caseína não reverteu essa depressão.

4.2.2.2. Degradabilidade efetiva

Os valores médios para a DE, expressos em %, da MO e da FDN a uma taxa de passagem da fração sólida de 2 e 5 %/h são apresentados na tabela 17. Os valores observados em cada período experimental e as análises de variância são apresentados nos apêndices 6, 8 e 24, 26, 28 e 30, respectivamente.

Tabela 17. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de PDR suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da degradabilidade efetiva (DE) da MO e da FDN a uma taxa de passagem de 2 (DE 2%) ou 5 %/h (DE 5%)

Milho (%)	PDR (%)	DE 2% - MO (%)	DE 5% - MO (%)	DE 2% - FDN (%)	DE 5% - FDN (%)
0	0	53,37	42,00	27,37	14,30
	2,8	52,77	41,20	26,48	14,18
	5,6	52,43	40,50	24,92	14,59
	8,4	55,63	43,30	25,77	15,58
20	0	57,63	46,03	23,59	13,48
	2,8	61,60	50,70	27,12	14,30
	5,6	62,40	50,07	23,20	13,03
	8,4	63,73	53,03	21,14	13,35
40	0	65,70	53,57	24,20	12,25
	2,8	68,73	57,10	23,83	13,52
	5,6	69,47	58,00	25,73	14,25
	8,4	68,73	56,97	26,18	12,53
60	0	78,37	67,73	26,69	17,13
	2,8	75,07	60,90	23,69	14,86
	5,6	74,87	60,63	24,79	13,77
	8,4	73,77	58,87	23,34	12,75
MÉDIA		64,64	52,54	24,88	13,99
Coeficiente de Variação (%)		13,41	16,04	10,80	16,80
Fontes de Variação Significativas		M X PDR (P <0,05)	M X PDR (P <0,01)		

M x PDR = interação entre inclusão de milho e nível de PDR suplementar.

A interação entre inclusão de grão de milho moído e nível de PDR suplementar afetou a DE da MO ($P < 0,05$) independente da taxa de passagem estudada. Essas interações são demonstradas nas figuras 11 e 12. As análises de regressão são apresentadas nos apêndices 63 a 66 e 68 a 71.

Na DE da MO das duas taxas de passagem estudadas foi observada uma diminuição linear ($P < 0,01$) em resposta ao incremento na PDR suplementar. Com 20 % de milho, houve um aumento linear ($P < 0,05$) em resposta à PDR suplementar a uma taxa de passagem de 2 %/h.

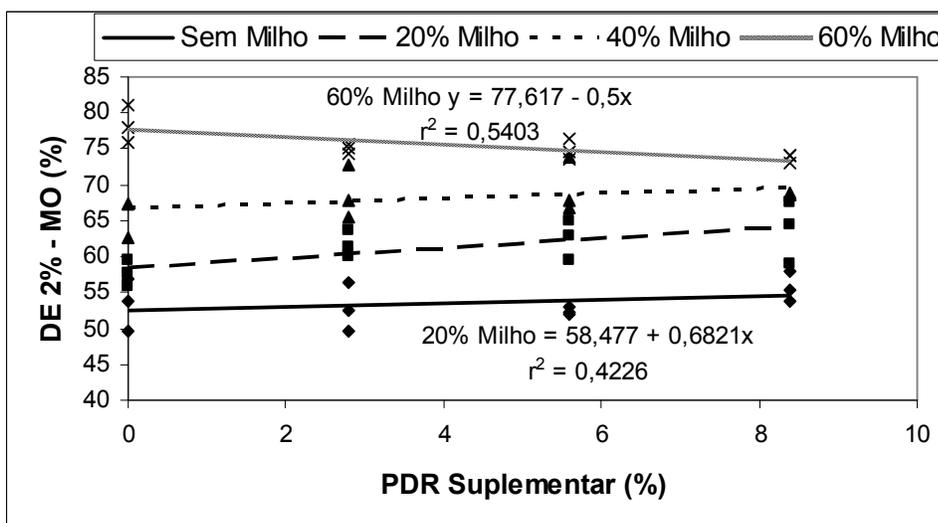


Figura 11. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) e nível de PDR suplementar (%) sobre a DE da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h (DE 2% - MO, %)

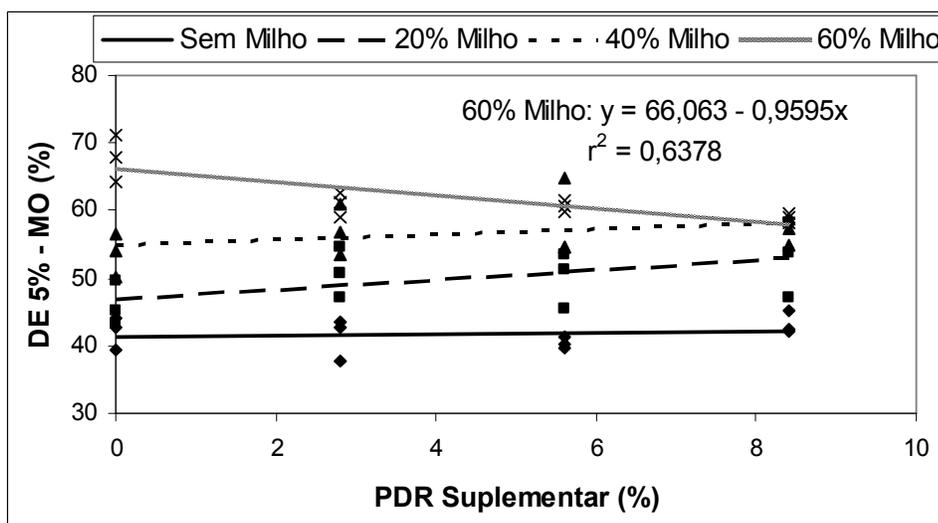


Figura 12. Efeito da inclusão de grão de milho moído (%) e nível de PDR suplementar (%) sobre a DE da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h (DE 5% - MO, %)

Essa resposta com a inclusão de 20 % de grão de milho indica que a suplementação energética pode afetar positivamente a degradabilidade do alimento, desde que em níveis não excessivamente altos e desde que haja um adequado fornecimento de PDR, no entanto, o comportamento observado com

a inclusão de 60 % de milho a uma taxa de passagem de 5 %/h permanece sem explicação, pois o esperado era de que a suplementação com níveis mais altos de PDR fosse capaz de reverter eventuais efeitos associativos negativos decorrentes do uso excessivo de amido e melhorar a DE e o que se observou foi justamente o contrário. Também deve ser considerado que incrementando a inclusão de milho, há uma maior quantidade de MO potencialmente digestível, explicando os melhores resultados à medida que aumentou o nível de milho no substrato incubado.

Diferente dos resultados de outros autores, não foram observados efeitos sobre a DE da FDN. Silveira (2007), em experimento *in situ*, observou uma diminuição de 53 % na DE da FDN fornecendo o equivalente a 1 % do PV de milho para cordeiros em comparação com o grupo que não recebeu suplementação energética alguma, não havendo resposta à suplementação protéica.

Medeiros (2004), também em trabalho *in situ*, observou uma redução linear na DE da FDN com o aumento na suplementação de milho. Já na DE da MO foi observado um comportamento quadrático, com a maior depressão na DE ocorrendo quando a suplementação com milho passou de 0,8 para 1,2 % do PV, o que foi provocado pelo grande aumento na taxa de passagem com o maior nível de suplementação com milho (2,96 e 7,29 %/h para 0,8 e 1,2 % de PV de milho, respectivamente), comprovando o que foi observado no presente trabalho: a capacidade do fornecimento de PDR adicional melhorar a degradabilidade tem seus efeitos limitados pelo nível de suplementação com amido, sendo ineficaz em altos níveis. Provavelmente, não foi observada a

mesma resposta em níveis mais baixos de inclusão de milho devido a deficiência de outros nutrientes, especialmente de carboidratos não estruturais, conforme Kozloski et al. (2007).

4.2.32.3. *Lag-Time* da fibra em detergente neutro (FDN)

Os valores médios do tempo de colonização da FDN, expressos em horas, em cada combinação entre os fatores estudados, são apresentados na tabela 18, os resultados individualizados por período no apêndice 8 e a análise de variância no apêndice 32.

Tabela 18. Efeito da inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios do tempo de colonização (*lag-time*, h) da FDN

Milho (%)	PDR (%)	<i>Lag-time</i> (h)
0	0	4,64
	2,8	4,38
	5,6	4,49
	8,4	4,25
20	0	5,51
	2,8	5,06
	5,6	4,91
	8,4	4,27
40	0	5,65
	2,8	5,08
	5,6	5,44
	8,4	5,82
60	0	5,12
	2,8	5,29
	5,6	5,44
	8,4	5,46
MÉDIA		5,05
Coeficiente de Variação (%)		13,49
Fontes de Variação Significativas		M (P <0,01)

M = inclusão milho.

Os resultados médios para o *lag-time* da FDN (4,25 a 5,82 horas) foram semelhantes aos observados no experimento 1.

A inclusão de milho afetou de maneira cúbica o *lag-time* da FDN (P <0,05; $r^2 = 0,35$, apêndice 73) discordando dos resultados observados nos

experimento 1 e 3 quando houve um incremento linear em resposta a suplementação com milho ou uma diminuição do tempo de colonização em níveis intermediários de milho e do trabalho de Mertens & Loften (1980), anteriormente citado.

Esperava-se comportamento semelhante, pois com o acréscimo no nível de milho há um predomínio da população microbiana amilolítica, levando a um retardo na colonização da fração fibrosa do alimento ou que o fornecimento de um nível moderado de carboidratos de rápida degradação fornecesse energia para os microorganismos ruminais, acelerando a colonização do substrato.

4.2.3. Nitrogênio amoniacal

Os resultados médios de N-NH₃ de todas as combinações entre os fatores avaliados são apresentados na tabela 19. Os resultados individualizados por período e por horário são apresentados no apêndice 10 e a análise de variância é apresentada no apêndice 34.

Não foi possível estabelecer uma correlação entre a DIVVMO e DIVVFDN e a concentração de N-NH₃ ruminal a fim de estabelecer qual o nível ótimo de amônia ruminal para maximizar a digestibilidade *in vitro*.

Tabela 19. Efeito do nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %) e nível de PDR suplementar (PDR, %) sobre os valores médios de nitrogênio amoniacal (N-NH₃, mg/dl)

Milho (%)	PDR (%)	N-NH ₃ MÉDIO (mg/dl)
0	0	8,97
	2,8	11,52
	5,6	11,27
	8,4	13,95
20	0	9,62
	2,8	11,64
	5,6	12,90
	8,4	13,36
40	0	10,07
	2,8	11,46
	5,6	12,15
	8,4	14,46
60	0	8,69
	2,8	11,06
	5,6	13,38
	8,4	13,89
MÉDIA		11,77
Coeficiente de Variação (%)		16,71
Fontes de Variação Significativas		PDR (P <0,01)

PDR = efeito da PDR suplementar.

Os resultados médios de N-NH₃ observados foram superiores ao preconizado por Satter & Slyter (1974) para maximizar a síntese de proteína microbiana (5 mg/dl) e por Griswold et al. (2003) para que a digestão seja máxima (4,2 mg/dl) e próximos aos 10 mg/dl descritos por Leng (1990), mas bem inferiores ao valor recomendado por Perdok et al. (1998) de 20 mg/dl para o máximo consumo e digestibilidade de volumosos deficientes em nitrogênio.

A concentração de N-NH₃ médio foi incrementada linearmente em resposta a PDR suplementar (P <0,01). Esse efeito é demonstrado na figura 13. A análise de regressão é apresentada no apêndice 75.

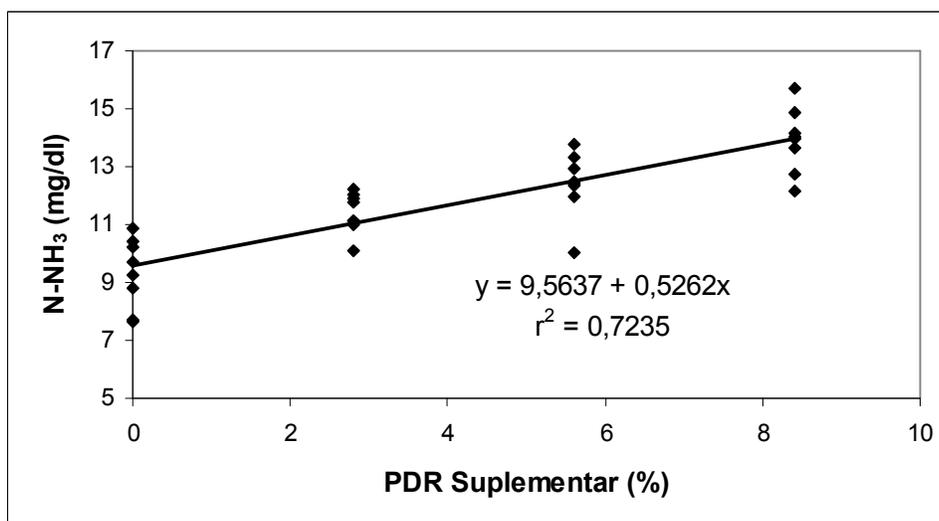


Figura 13. Efeito da PDR suplementar (%) sobre o nitrogênio amoniacal médio (N-NH₃, mg/dl)

O incremento linear na concentração de N-NH₃ concorda com resultado do experimento anterior e com trabalhos de Kang-Meznarich & Broderick (1981), Klevesahl et al. (2003), Silveira (2007) e Zorzi (2008).

Mesmo em dietas basais com diferentes teores de PB esse comportamento pode ser observado. Em experimento com três forragens de distintos teores de PB (4,3; 5,9 e 8,2 %), Mathis et al. (2000) também observaram que a suplementação com PDR aumentou linearmente a concentração de N-NH₃ ruminal, independente do teor de PB da dieta basal.

Apesar da PIS não ser totalmente desaminada em NH₃ por ser também uma fonte de aminoácidos e peptídeos pré-formados para os microorganismos ruminais, a sua degradação proporciona um incremento na concentração de N-NH₃. Também reside nessa característica a explicação para o menor incremento a cada percentual de PDR suplementar em comparação com o experimento anterior (0,98 contra 0,52 mg/dl de líquido ruminal observado no presente experimento), pois a uréia é completamente

desaminada em NH_3 (Bach et al., 2005).

Roffler & Satter (1975) e Roffler et al. (1975), bem como Calsamiglia et al. (1995), relataram uma maior concentração de N-NH_3 trabalhando com uréia do que trabalhando com proteína verdadeira e Köster et al. (1997) em trabalho com diferentes concentrações de uréia em relação a PB total (0, 25, 50, 75 e 100 %), observaram um aumento linear na concentração de N-NH_3 ruminal a medida que foi aumentada a inclusão de NNP.

Não foi possível detectar interação entre o nível de inclusão de milho e PDR suplementar afetando a concentração de N-NH_3 , pois, segundo Roffler & Satter (1975) em níveis mais altos de inclusão de carboidratos rapidamente fermentáveis o acúmulo de N-NH_3 acontece em níveis superiores de PDR e vice-versa, fato também observado por Klevesahl et al. (2003), pois havendo uma maior inclusão de carboidratos de rápida fermentação há uma maior necessidade por nitrogênio pelos microorganismos ruminais.

4.3. Experimento 3 - Avaliação da suplementação energética e protéica de um volumoso de baixa qualidade através da técnica de produção cumulativa de gás *in vitro*

4.3.1. Produção cumulativa total de gás *in vitro*

Na tabela 20 são apresentadas as produções médias de gás, expressas em ml/g de MO incubada, ao final das 96 horas de incubação para cada tratamento estudado. Os resultados individualizados de todos os tratamentos em cada período e a análise de variância são apresentados nos apêndices 11 e 35, respectivamente.

Tabela 20. Efeito do nível de inclusão de milho (Milho, %), da fonte de PDR (Fonte) e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios de produção cumulativa de gás (ml/g de MO) com 96 horas de incubação

Produção de gás (ml/g de MO)			
Milho (%)	PDR (%)	Fonte	
		Uréia	PIS
0	0	86,26	86,26
	2,8	104,20	81,61
	5,6	101,03	97,03
	8,4	98,99	83,60
20	0	120,98	120,98
	2,8	116,09	102,44
	5,6	105,65	106,82
	8,4	110,53	98,16
40	0	120,33	120,33
	2,8	132,29	131,58
	5,6	133,71	132,09
	8,4	129,93	137,95
60	0	149,45	149,45
	2,8	168,03	159,17
	5,6	142,22	146,50
	8,4	142,97	158,93
MÉDIA		122,67	119,56
Coeficiente de Variação (%)		17,64	23,18
Fontes de Variação Significativas		M X PDR (P <0,01) M X F (P <0,01) PDR X F (P <0,05)	

PIS = proteína isolada de soja. M x PDR = interação entre inclusão de milho e nível de PDR suplementar; M x F = interação entre inclusão de milho e fonte de PDR; PDR x F = interação entre PDR suplementar e fonte de PDR.

A produção cumulativa de gás ao final das 96 horas de incubação variou de 80,44 até 178,63 ml/g de MO incubada, valores inferiores aos observados por Freitas (2001) que detectou a produção de até 251 ml/g de MO incubada em um substrato contando com 60 % de milho e 40 % de feno de aveia, e aos observados por Senger (2005), que variaram de 182 até 251 ml/g de MO de silagem de milho incubada. Em ambos foram utilizadas 96 horas de incubação. Trabalhando com incubações de silagem de milho por até 24 horas, Velho (2005) observou valores que variaram de 137 até 175 ml/g de MO incubada.

Foi observado que as seguintes interações afetaram de maneira significativa a produção cumulativa total de gás: inclusão de milho x nível de PDR suplementar ($P < 0,05$); inclusão de milho x fonte de PDR ($P < 0,01$); nível de PDR suplementar x fonte de PDR ($P < 0,05$). Estas interações são apresentadas nas figuras 14 e 15 e na tabela 22, respectivamente e as análises de regressão nos apêndices 76 a 81.

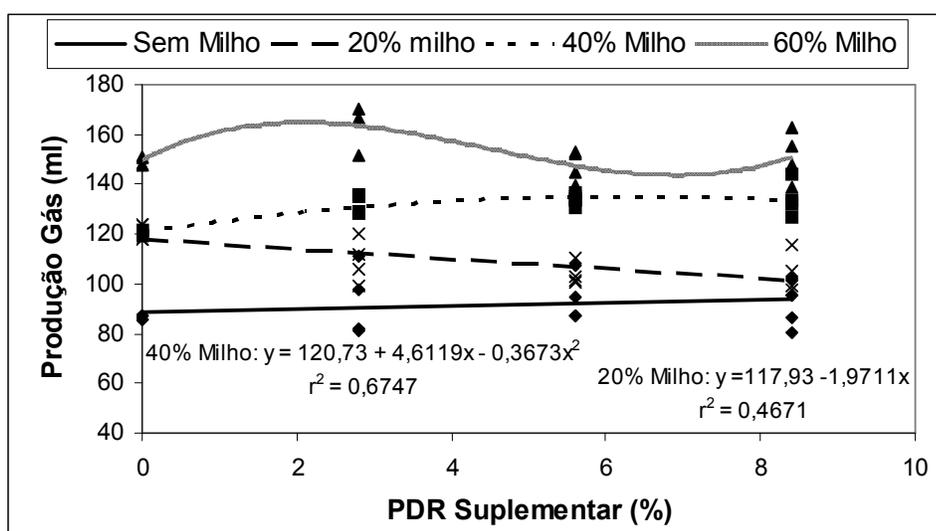


Figura 14. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) com PDR suplementar (%) sobre a produção cumulativa de gás (ml/g de MO)

Houve uma redução linear na produção cumulativa de gás *in vitro* à medida que aumentou o nível de PDR suplementar com uma inclusão de 20 % de milho ($P < 0,01$; figura 14). Com 40 % de milho foi observado um comportamento quadrático ($P < 0,01$), com um incremento inicial na produção de gás seguido por uma leve diminuição.

Com 20 % de milho, a redução foi de 1,97 ml/g de MO incubada a cada acréscimo percentual de PDR. Cone & Van Gelder (1999) observaram uma diminuição linear de 2,48 ml/g de MO para cada acréscimo percentual no

teor de PB ($P < 0,05$, $r^2 = 0,98$). Apesar de não ser levantada nenhuma hipótese para tal fato, eles observaram que à medida que aumentava o teor protéico do substrato incubado, havia uma menor produção tanto de ácido acético quanto de ácido propiônico e butírico. Getachew et al. (2004) também observaram uma correlação negativa entre o teor de PB do alimento incubado e a produção cumulativa de gás com 6 ($r = 0,47$), 24 ($r = 0,62$) e 48 horas de incubação ($r = 0,61$) ($P < 0,05$) e uma diminuição nos AGVs anteriormente citados. Esse fato já havia sido relatado por Wolin (1960) quando citou que há uma contribuição relativamente pequena da proteína à produção de gás quando comparado aos carboidratos, comprovando que à medida que aumenta o teor protéico do alimento incubado, a tendência é de uma menor produção de gás. Isso pode ocorrer devido a uma maior eficiência fermentativa, com menores perdas através da produção de gás.

A diminuição da produção de gás quando a PDR suplementar passou de 2,8 para 5,6 % com 60 % de milho pode ser fruto do chamado “efeito proteína” (Paez-bernal, 2007; Costa et al., 2008). Segundo os autores, ocorrem interações antagonistas entre as espécies microbianas, fazendo com que haja a inibição de algumas espécies em função da produção de compostos inibidores por outras espécies. Como composto inibidor, segundo Parente & Ricciardi (1999), destacam-se as bacteriocinas, que são peptídeos e proteínas produzidos por síntese ribossomal.

Na tabela 21 é demonstrado que com a utilização de uréia houve uma maior produção de gás com o menor nível de suplementação de PDR (2,8 %), fato não observado quando foi utilizada PIS como fonte de PDR, quando a

produção de gás se manteve estável independente do nível de PDR. Os resultados indicam que utilizando PIS um mesmo padrão fermentativo é mantido em todos os níveis de suplementação, porém os resultados observados com a utilização de uréia estão em acordo com os resultados já apresentados anteriormente e os trabalhos de Cone & Van Gelder (1999), Getachew et al. (2004) e Wolin (1960), comprovando que há uma menor produção de gás à medida que é aumentado o teor protéico do substrato incubado.

Tabela 21. Efeito da interação entre nível de PDR suplementar (%) e fonte de PDR sobre a produção cumulativa de gás (ml/mg de MO)

PRODUÇÃO CUMULATIVA GÁS (ml/g de MO)		
PDR Suplementar (%)	Fonte de Proteína	
	Uréia	PIS
0	119,26 ^{Ba}	119,26 ^{Ba}
2,8	130,15 ^{Aa}	118,70 ^{Ba}
5,6	120,65 ^{Bb}	119,06 ^{Ba}
8,4	120,61 ^{Bb}	119,66 ^{Ba}
Média	122,70	119,17
Coeficiente de Variação (%)	17,64	23,26

A,B,a,b Médias na mesma coluna, com letras minúsculas diferentes, e nas linhas, com letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey a uma probabilidade de erro de 5 %.

Na interação entre fonte de PDR e inclusão de milho, foi observado um efeito linear ($P < 0,01$) na produção de gás em resposta ao aumento de milho, tanto com PIS quanto com uréia (figura 15). Houve um aumento de 1,18 ml para cada ponto percentual a mais de milho com PIS e de apenas 0,87 ml usando uréia, indicando que há um maior aumento na produção de gás em resposta ao aumento de milho, quando a proteína verdadeira foi utilizada e que sem a inclusão de carboidratos rapidamente fermentáveis ou em baixos níveis destes, a utilização de NNP gera melhor resposta.

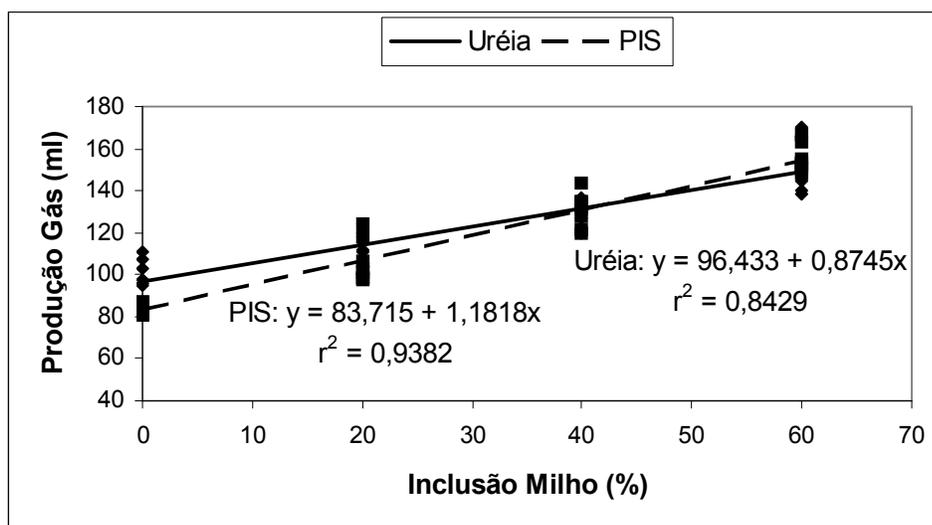


Figura 15. Efeito da interação entre a inclusão de grão de milho moído (%) e a fonte de PDR sobre a produção cumulativa de gás (ml/g de MO)

Isso ocorre porque em baixos níveis de inclusão de amido, os microorganismos ruminais necessitam de $N-NH_3$ como fonte de nitrogênio e esta tem uma maior disponibilidade com a utilização de uréia já que a uréia é praticamente toda desaminada em $N-NH_3$, favorecendo a fermentação ruminal, o que vai gerar mais gás nesses casos. Já a PIS fornece aminoácidos e peptídeos pré-formados, essenciais para os microorganismos amilolíticos, que têm uma maior participação na fermentação à medida que aumenta a inclusão de milho (Russel, 1992; Tedeschi et al., 2000; Bach et al., 2005).

Getachew et al. (2004) também observaram uma correlação positiva entre incremento na produção cumulativa de gás e teor de carboidratos não estruturais dos substratos incubados com 6 ($r = 0,51$), 24 ($r = 0,80$) e 48 horas de incubação ($r = 0,81$) ($P < 0,05$) devido a um aumento nos ácidos acético, propiônico e butírico. No entanto, é sabido que a alta inclusão de amido leva a uma mudança no padrão de fermentação que culmina com uma maior

proporção de propionato em relação aos AGVs totais, reduzindo a relação ácido acético:propiónico. Com a diminuição nessa relação, o esperado é que haja uma menor produção de gás, pois este é fruto, principalmente, do acetato e do butirato (Wolin, 1960; Hungate, 1966; Van Soest, 1994), justamente o contrário do apresentado neste trabalho e do relatado por Getachew et al. (2004). A hipótese de uma diminuição na produção de gás encontra subsídio no fato de que enquanto todos os carbonos e hidrogênios são utilizados durante a fermentação de glicose em ácido propiónico, quando os carboidratos estruturais são fermentados gerando ácido acético, há perda de duas moléculas de carbono e quatro de hidrogênio que serão eliminadas na forma de dióxido de carbono e metano (Cheeke, 1991).

4.3.2. Digestibilidade *in vitro* verdadeira da MO

Os resultados médios da DIVVMO, expressos em %, ao final das 96 horas de incubação são apresentados na tabela 22. Os valores individualizados de cada combinação de fatores em cada período experimental são apresentados no apêndice 12 e a análise da variância no apêndice 35.

Foi detectado efeito da interação entre inclusão de milho e fonte de PDR ($P < 0,01$). A interação é demonstrada na figura 16. As análises de regressão são apresentadas nos apêndices 82 e 83. Independente da fonte de PDR foi observado um comportamento linear ($P < 0,01$) da DIVVMO em resposta à inclusão de milho.

Tabela 22. Efeito do nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %), da fonte de PDR (Fonte), e nível de proteína degradável no rúmen suplementar (PDR, %) sobre os valores médios da digestibilidade *in vitro* verdadeira da MO (DIVVMO, %)

DIVVMO (%)			
Milho (%)	PDR (%)	Fonte	
		Uréia	PIS
0	0	57,98	57,98
	2,8	62,48	55,01
	5,6	62,16	56,93
	8,4	61,37	55,54
20	0	64,32	64,32
	2,8	66,69	63,53
	5,6	64,59	61,71
	8,4	65,13	64,95
40	0	67,84	67,84
	2,8	69,33	68,60
	5,6	67,32	70,20
	8,4	71,29	71,60
60	0	75,87	75,87
	2,8	74,34	79,93
	5,6	72,78	80,09
	8,4	72,16	79,61
MÉDIA		67,23	67,11
Coeficiente de Variação (%)		6,60	14,84
Fontes de Variação Significativas		M X F (P <0,01)	

PIS = proteína isolada de soja. M x F = interação entre inclusão de milho e fonte de PDR.

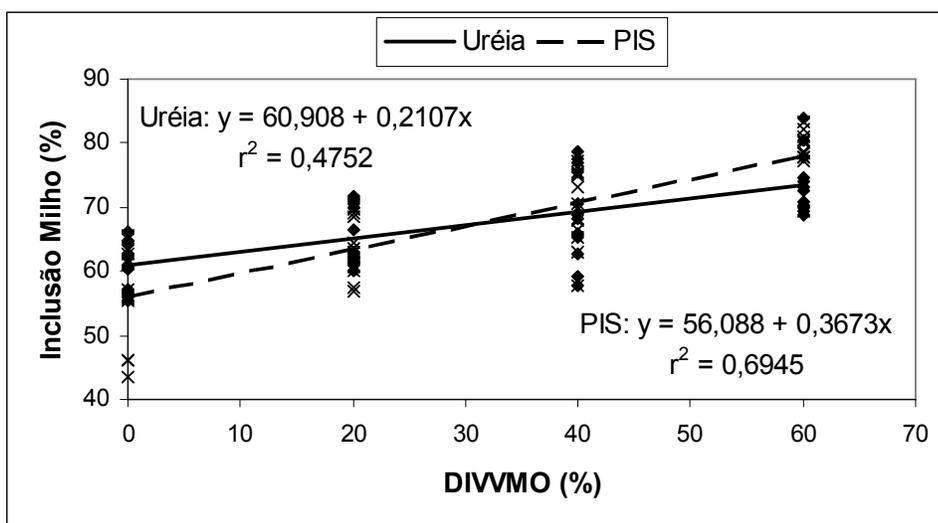


Figura 16. Interação entre a inclusão de grão de milho moído (%) e a fonte de PDR na digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria orgânica (DIVVMO, %)

Há um aumento de somente 0,21 % na DIVVMO por unidade percentual de milho, utilizando uréia, enquanto que esse aumento é de 0,37 % quando a PIS foi a fonte de PDR demonstrando que a PIS responde de maneira superior ao incremento na inclusão de milho na dieta ($P < 0,01$). Entretanto, foi observada uma melhor resposta utilizando uréia do que utilizando PIS, em níveis de inclusão de milho inferiores a cerca de 30 %. Em níveis superiores, a PIS apresentou melhor desempenho.

Mais uma vez, isso evidencia que, há uma melhor resposta ao NNP quando há uma menor população microbiana ruminal amilolítica, entretanto, o fornecimento de aminoácidos e peptídeos é essencial para maximizar a digestibilidade nos casos em que houver uma maior utilização de amido. Isso ocorre porque os microorganismos amilolíticos, apesar de terem a capacidade de utilizar $N-NH_3$ como fonte de nitrogênio, retiram cerca de dois terços do seu nitrogênio de peptídeos ou aminoácidos, enquanto que os microorganismos que degradam carboidratos estruturais têm necessidades por $N-NH_3$ como fonte de nitrogênio (Russel et al., 1992).

Essa teoria é comprovada por experimento *in vitro* de Oh et al. (1999), porém no mesmo artigo os autores não encontraram embasamento para essa teoria em experimento *in situ*, pois observaram que suplementando ovinos com 200 g de amido, a caseína incrementou a síntese de proteína microbiana, porém, utilizando 500 g de amido, houve igual incremento utilizando uréia ou caseína. Griswold et al. (2003) trabalharam com dois níveis de suplementação com PDR (8 e 11 %) contendo ou não uréia e sugerem que bactérias hemicelulolíticas podem ter a habilidade de competir com as

bactérias fermentadoras de carboidratos não estruturais por peptídeos e aminoácidos quando o nitrogênio for limitante.

Em experimento *in vitro*, Griswold et al. (1996) observaram que há uma deficiência de aminoácidos quando se suplementa somente com uréia. Eles verificaram um maior incremento na digestibilidade da FDA quando utilizaram proteína verdadeira do que utilizando uréia. Essa diferença desapareceu após ser acrescentado aminoácidos ao tratamento com NNP e pode-se supor que essa deficiência seria ainda mais acentuada no caso de um alto nível de inclusão de amido ao substrato incubado.

Segundo Dixon & Chanchai (2000), microorganismos digerindo alimentos deficientes em nitrogênio são mais dependentes de $N-NH_3$ do que aqueles que digerem alimentos com maior teor protéico e deve ser levado em conta que, apesar do grão de milho utilizado apresentar somente 8,92 % de PB em sua composição, possui segundo o NRC (2001), somente 0,3 % desse total sendo insolúvel em detergente ácido, enquanto que o feno incubado apresentou 7,69 % de PB e 1,05 % de PIDA, que é indigestível. Dessa forma, à medida que aumentou a inclusão de milho, também aumentou o teor de PB potencialmente aproveitável, contribuindo para a explicação do resultado observado.

4.3.3. Fator de partição

Uma baixa produção de gás por um determinado alimento, não significa que este é um alimento de baixo valor nutritivo. É necessário correlacionar esse dado com o desaparecimento de substrato incubado para uma correta interpretação dos dados, pois a produção de gás indica somente

como o substrato é utilizado para produzir gás e AGVs, enquanto que o desaparecimento do substrato indica sua disponibilidade para a fermentação (Freitas, 2001). O fator de partição (FP) integra essas duas medidas e é um indicativo da eficiência fermentativa.

Os FP, expressos em mg de MO degradada/ml de gás produzido, para cada combinação de fatores estudados são apresentados na tabela 23. Os resultados individualizados de cada combinação de fatores em cada período experimental e a análise da variância são apresentados nos apêndices 13 e 36, respectivamente.

Tabela 23. Efeito do nível de inclusão de grão de milho moído (Milho, %), da fonte de PDR (Fonte) e nível de PDR suplementar (PDR, %) sobre os valores médios do fator de partição (FP, mg de MO degradada/ml gás produzido)

FP (mg MO degr./ml gás prod.)			
Milho (%)	PDR (%)	Fonte	
		Uréia	PIS
0	0	5,33	5,33
	2,8	5,14	6,06
	5,6	5,46	5,81
	8,4	5,51	5,69
20	0	4,30	4,30
	2,8	5,12	5,10
	5,6	5,02	5,08
	8,4	5,22	5,43
40	0	4,83	4,83
	2,8	4,56	4,44
	5,6	4,28	4,62
	8,4	4,48	4,35
60	0	4,19	4,19
	2,8	3,71	4,54
	5,6	4,17	4,15
	8,4	4,17	4,34
MÉDIA		4,68 ^b	4,93 ^a
Coeficiente de Variação (%)		12,77	13,61
Fontes de Variação Significativas		F (P <0,05) M X PDR (P <0,01)	

PIS = proteína isolada de soja. F = fonte de PDR; M X PDR = interação entre inclusão de milho e nível de PDR suplementar.

^{a,b} Médias na mesma linha, com letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey a uma probabilidade de erro de 5 %.

Foi observado que a fonte de PDR utilizada influenciou o fator de partição de maneira significativa. A PIS, quando utilizada, apresentou um FP médio superior ao observado do que quando a uréia foi a fonte de PDR (4,93 contra 4,68 mg MO degr./ml gás prod., $P < 0,05$). Essa eficiência superior na fermentação utilizando PIS encontra justificativa exclusivamente nos resultados de produção cumulativa de gás apresentados anteriormente, onde houve uma maior produção de gás com 2,8 % de PDR com o uso de NNP já que a DIVVMO das duas fontes foi bastante semelhante (67,23 e 67,11 % para uréia e PIS, respectivamente) e indica uma maior eficiência fermentativa, com menores perdas por gases utilizando PIS, provavelmente devido ao fornecimento de, além de $N-NH_3$, aminoácidos e peptídeos pré-formados, essenciais para determinadas categorias de microorganismos ruminais.

A interação entre inclusão de grão de milho moído e PDR suplementar afetou de maneira significativa o fator de partição ($P < 0,01$) como pode ser observado na figura 17. As análises de regressão são apresentadas nos apêndices 84 a 87.

A significância dessa interação deve-se ao fato de apenas com 20 % de milho haver um incremento linear ($P < 0,01$) em resposta à PDR suplementar. Esses resultados evidenciam que a suplementação com PDR associada a níveis moderados de carboidratos rapidamente fermentáveis pode ser benéfica para a fermentação ruminal em dietas baseadas em volumosos de baixa qualidade e concordam com a teoria inicialmente proposta por El-Shazly et al. (1961) de que os efeitos associativos negativos decorrentes do uso de suplementação com carboidratos rapidamente fermentáveis sejam frutos de

uma deficiência de nitrogênio e não de uma depressão no pH ruminal.

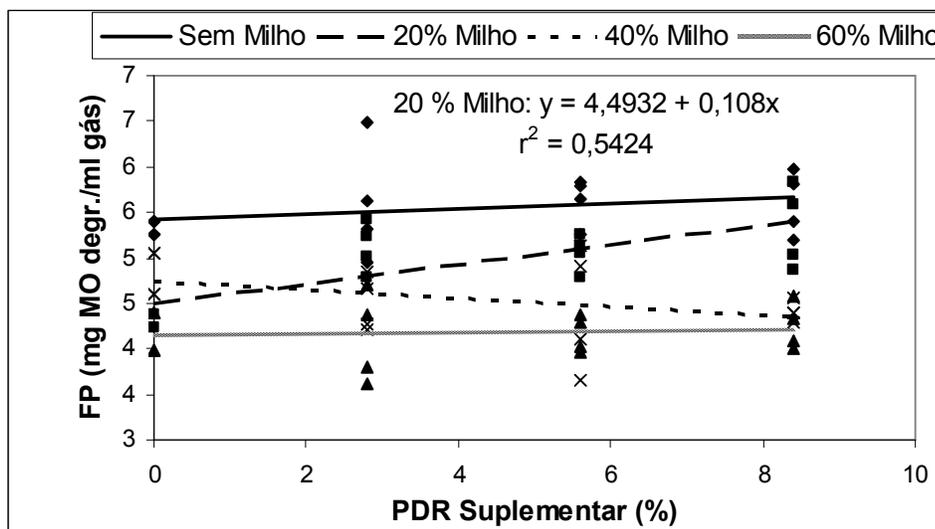


Figura 17. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e PDR suplementar (%) sobre o fator de partição (FP, mg MO degr./ml gás prod.).

De acordo com Makkar (2004), o FP deve variar de 2,74 até 4,41 mg de MO degradada/ml de gás produzido. Os maiores valores observados no presente trabalho, são fruto da menor produção cumulativa de gás do que a relatada em outros trabalhos anteriormente citados (Freitas, 2001; Senger, 2005).

Freitas (2001), trabalhando com uma inclusão de milho de 0, 20, 40, 60 e 100 % numa dieta basal de feno de campo nativo ou de aveia, detectou fatores de partição aparente (chamados assim porque não houve tratamento do resíduo da fermentação com solução de detergente neutro) que variaram de 2,83 até 3,96 mg de MO/ml de gás produzido, e observou uma redução na eficiência de fermentação com o aumento na utilização de amido.

Também é interessante citar trabalho de Lopéz et al. (1998), em que incubações com diferentes fenos apresentaram FP de 11,0; 4,5; 3,9 e 3,7 com

6, 24, 48 e 72 horas, indicando que o FP diminui com o aumento no tempo de incubação.

4.3.4. Parâmetros de fermentação

Os resultados médios da produção máxima de gás referentes às frações de rápida (A) e de lenta (D) fermentação e a taxa de fermentação (B e E) e o *lag-time* (C e F) das respectivas frações, da MO de cada combinação de fatores estudados, são apresentados na tabela 24. Os resultados individualizados por período são apresentados no apêndice 14, as análises de variância nos apêndices 38 a 43 e as análises de regressão nos apêndices 88 a 104. Os resultados de produção cumulativa de gás (ml) nos diferentes horários e que, aplicados ao modelo logístico bicompartimental (Schofield et al., 1994) geraram os parâmetros aqui estudados, são apresentados no apêndice 11.

A cinética fermentativa dos alimentos pode ser determinada através da produção de gases da fermentação e do tamponamento de AGVs de cadeia curta e é dependente da proporção relativa das partículas solúveis, insolúveis mas degradáveis e não degradáveis dos alimentos (Getachew et al., 2004).

A maior produção média de gás referente à fração rapidamente degradável do que a fração de lenta degradação (86,97 x 39,00 ml/g de MO) concorda com os resultados anteriormente apresentados para produção cumulativa de gás onde foi observado que à medida que se aumentou a participação de carboidratos rapidamente fermentáveis, aumentou também a produção de gás, concordando com os resultados de Getachew et al. (2004). Isto contraria a tese de que a fração fibrosa do alimento, por proporcionar uma

maior relação acetato:propionato, liberaria mais gás devido a sua menor eficiência fermentativa e maiores perdas por dióxido de carbono e metano, conforme Cheeke (1991). Apesar de não observarem correlação entre o teor de FDN e a taxa de produção de gás, Getachew et al. (2004) observaram que há uma correlação negativa entre o teor de FDN do substrato incubado e a produção de ácido propiônico.

Em experimento de produção de gás *in vitro*, com inclusões de milho de 20, 40 e 60 % da MS total incubada, Freitas (2001) observou taxas de degradação da fração rapidamente degradável entre 4,74 e 5,58 %/h e taxas de degradação da fração lentamente degradável variando de 1,52 até 1,82 %/h. O volume de gás produzido pela fração de rápida fermentação variou de 47,67 a 78,81 ml e da fração de lenta degradação de 108,52 a 160,12. Senger (2005), incubando silagens de milho, também observou valores médios maiores de produção de gás para a fração de lenta digestão do que para a fração rapidamente degradável, porém Junges et al. (2008) observaram o contrário, concordando com o presente trabalho.

Neste experimento, o parâmetro C foi, em média, de 5,61 horas e o parâmetro F de 34,91 horas. Junges et al. (2008), trabalhando com azevém (*Lolium multiflorum*) e com o mesmo modelo empregado neste trabalho, observaram uma média para o parâmetro C de 5,22 horas e de 13,6 horas para o parâmetro F. Esta diferença do parâmetro F pode dever-se à maior digestibilidade do azevém do que do volumoso utilizado no presente trabalho.

Tabela 24. Efeito da inclusão de milho moído (Milho, %), fonte de PDR (Fonte), e nível de PDR suplementar (%) sobre a produção máxima de gás da MO das frações rapidamente (A) e lentamente (D) degradável (ml), e de suas respectivas taxas de degradação (B e E) (%/h), e tempo de colonização (C e F) (horas)

		PARÂMETRO						
Fonte	Milho (%)	PDR (%)	A (ml)	B (%/h)	C (h)	D (ml)	E (%/h)	F (h)
Uréia	0	0	52,71	2,90	4,68	40,73	1,83	41,94
		2,8	74,26	2,31	6,32	43,37	1,83	34,76
		5,6	82,94	2,22	5,03	32,59	1,86	49,59
		8,4	63,56	2,73	4,92	34,38	2,56	43,99
	20	0	75,19	3,95	6,14	46,21	1,74	37,10
		2,8	24,64	6,08	3,79	92,67	2,17	17,55
		5,6	34,79	5,96	4,87	84,24	1,90	26,64
		8,4	81,67	3,63	6,84	34,77	2,04	33,03
	40	0	91,16	4,99	6,88	43,03	2,04	28,43
		2,8	57,27	4,90	5,37	76,68	2,34	24,95
		5,6	50,08	4,82	5,33	84,34	2,29	22,94
		8,4	68,64	4,25	7,17	49,68	2,20	25,12
60	0	98,29	4,57	5,97	46,85	2,33	33,25	
	2,8	134,58	4,31	7,62	45,57	2,34	30,43	
	5,6	116,83	5,67	7,45	36,85	2,29	26,35	
	8,4	121,09	6,05	7,79	21,91	2,07	27,84	
MÉDIA			76,66	4,33	6,03	50,87	2,11 ^a	31,00
Coeficiente Variação (%)			39,03	31,67	26,33	39,98	16,52	35,26
PIS	0	0	52,71	2,90	4,68	40,73	1,83	41,94
		2,8	43,90	2,92	4,91	35,94	2,03	38,93
		5,6	70,27	2,63	5,68	18,85	1,75	57,17
		8,4	73,25	2,66	4,28	15,39	1,95	55,90
	20	0	75,19	3,95	6,14	46,21	1,74	37,10
		2,8	68,10	3,15	4,47	34,85	1,84	38,97
		5,6	69,37	4,44	5,41	46,10	1,75	31,57
		8,4	65,93	5,06	5,92	39,60	1,73	25,15
	40	0	91,16	4,99	6,88	43,03	2,04	28,43
		2,8	95,33	4,55	6,49	40,62	1,91	31,43
		5,6	100,46	4,96	5,63	34,83	2,02	27,43
		8,4	105,61	4,73	4,68	40,01	1,86	27,59
60	0	98,29	4,57	5,97	46,85	2,33	33,25	
	2,8	115,48	4,82	5,69	44,55	2,34	29,12	
	5,6	115,14	4,70	6,49	44,67	2,09	30,51	
	8,4	108,20	4,98	6,42	51,83	2,04	26,40	
MÉDIA			86,97	4,12	5,61	39,00	1,96 ^b	34,91
Coeficiente Variação (%)			26,08	27,21	23,60	27,24	13,91	36,02
Fontes de Variação			MXPDR (P<0,01)	M (P<0,01)	M (P<0,05)	PDRXF (P<0,01)	MXPDR (P<0,05)	M (P<0,01)
Significativas			MXF (P<0,01)			MXF (P<0,01)	F (P<0,01)	

PIS = proteína isolada de soja. F = fonte de PDR; M = inclusão de milho; PDR = nível de PDR suplementar; M x PDR = interação entre inclusão de milho e nível de PDR suplementar; M x F = interação entre inclusão de milho e fonte de PDR.

^{a,b} Médias na mesma coluna, com letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey a uma probabilidade de erro de 5 %.

As médias do parâmetro B variaram de 2,22 a 6,08 %/h enquanto que o E médio variou de 1,73 a 2,56 %/h. Senger (2005) observou taxas de degradação da fração de lenta degradação entre 2,1 e 2,5 %/h para silagens de milho e entre 1,9 e 2,6 %/h para forragens frescas. Junges et al. (2008) observaram uma taxa de degradação média de 4,15 %/h da fração rapidamente degradável e de 2,31 %/h da fração lentamente degradável trabalhando com amostras de azevém (*Lolium multiflorum*).

A produção máxima de gás referente a fração de rápida degradação (parâmetro A) foi afetada pela interação entre inclusão de milho e PDR suplementar ($P < 0,01$; figura 18) ao passo que a produção de gás máxima referente a fração de lenta fermentação (parâmetro D) foi afetada pela interação entre PDR suplementar e fonte de PDR ($P < 0,01$; figura 19). Ambos os parâmetros foram afetados pela interação entre inclusão de milho e fonte de PDR ($P < 0,01$, figuras 20 e 21).

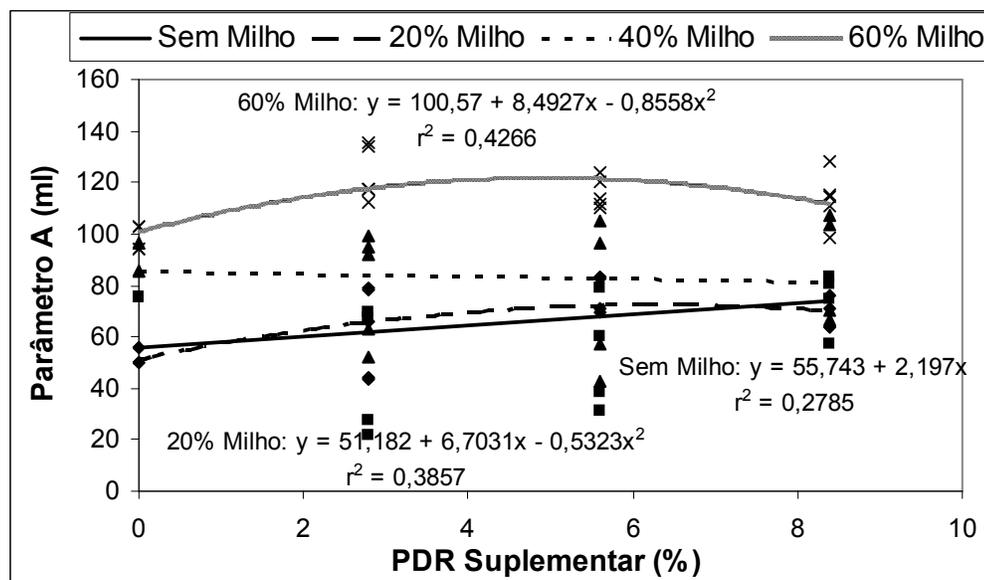


Figura 18. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e PDR suplementar (%) sobre a produção máxima de gás referente a fração de rápida fermentação (parâmetro A, ml)

Enquanto com 20 e 60 % de milho foi observada uma resposta quadrática do parâmetro A para o acréscimo na PDR suplementar ($P < 0,05$), sem a inclusão de milho a resposta foi linear ($P < 0,05$) com um aumento de 2,20 ml/% a mais de PDR.

O aumento linear na produção de gás referente a fração de rápida fermentação indica um incremento na fermentação dessa fração em resposta a PDR suplementar, contrariando os resultados anteriormente apresentados para produção cumulativa total e os trabalhos de Cone & Van Gelder (1999) e Getachew et al. (2004) que demonstram que há uma correlação negativa entre produção de gás e proteína incubada. Pode-se supor que, devido a falta de carboidratos rapidamente fermentáveis para a síntese de proteína microbiana, com a suplementação com PDR haja mais perdas por gases indesejáveis como o CO_2 e o CH_4 , porém para comprovar esta teoria seria necessário fazer uma análise sobre a natureza e concentração dos gases produzidos neste trabalho.

A resposta quadrática com 20 e 60 % de milho indicando uma diminuição na fermentação em níveis maiores de PDR pode estar relacionada com a existência de bacteriocinas levando ao aparecimento do chamado efeito proteína, descrito por Costa et al. (2008). Esse mesmo efeito pode ser responsável pelo comportamento quadrático com uréia no parâmetro D ($P < 0,01$; figura 19). Entretanto, esse mesmo comportamento pode ser explicado por uma excessiva produção de NH_3 , uma substância tóxica para os microorganismos ruminais quando em níveis altos, com uma conseqüente diminuição da fermentação.

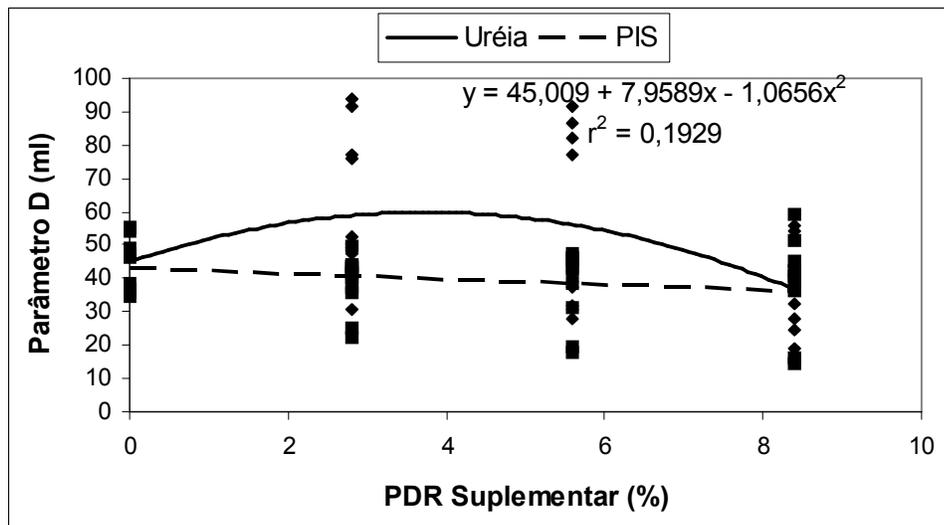


Figura 19. Efeito da interação entre PDR suplementar (%) e fonte de PDR sobre a produção máxima de gás referente a fração de lenta fermentação (parâmetro D, ml)

Foi detectado um efeito linear ($P < 0,01$, figura 20) quando foi utilizada PIS, em resposta ao aumento na inclusão de milho, sobre o parâmetro A, com um acréscimo de 0,9423 ml para cada % a mais de inclusão de milho ($r^2 = 0,85$). Este resultado indica que, com a utilização de proteína verdadeira, há uma maior fermentação da fração rapidamente degradável à medida que aumenta a inclusão de suplementação energética baseada em um grão rico em amido. Com a utilização de uréia o comportamento foi quadrático ($P < 0,01$; $r^2 = 0,66$) com as menores produções de gás nos níveis intermediários de suplementação com milho, comportamento que não encontra justificativa na literatura, de acordo com o que já foi comentado anteriormente a respeito da população ruminal e suas exigências, pois se esperava comportamento semelhante ao observado sobre o parâmetro D.

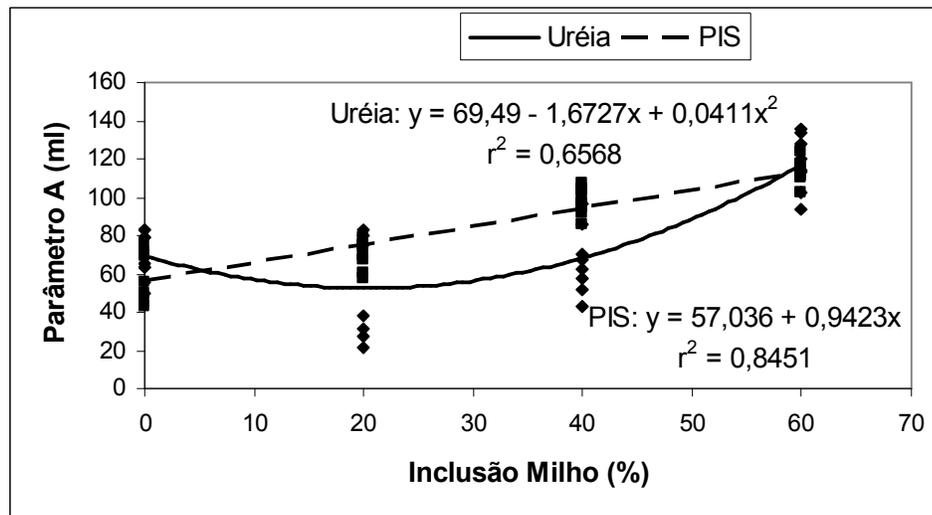


Figura 20. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e fonte de PDR sobre a produção máxima de gás referente a fração de rápida fermentação (parâmetro A, ml)

Sobre a fração de lenta fermentação foi observado efeito semelhante utilizando PIS ($P < 0,05$; figura 21), com uma inclinação inferior (0,26 ml/% a mais de milho). Com a utilização de uréia, foi detectado um efeito quadrático ($P < 0,01$; figura 21) com a máxima produção de gás sendo observada com a inclusão de 30 % de milho, indicando que, quando NNP é a fonte de PDR, em níveis excessivamente altos de inclusão de grãos ricos em amido, há uma fermentação limitada, provavelmente devido à falta de aminoácidos e peptídeos necessários para a manutenção da atividade das bactérias amilolíticas. A maior resposta à suplementação com NNP nos níveis intermediários de utilização de milho, provavelmente deve-se ao fato de ainda haver uma população microbiana celulolítica considerável. Portanto, havendo uma necessidade maior por $N-NH_3$ como fonte de nitrogênio, especialmente considerando que se trata da fração mais fibrosa do alimento, e é essa população microbiana que terá mais impacto sobre a fermentação dessa fração do alimento.

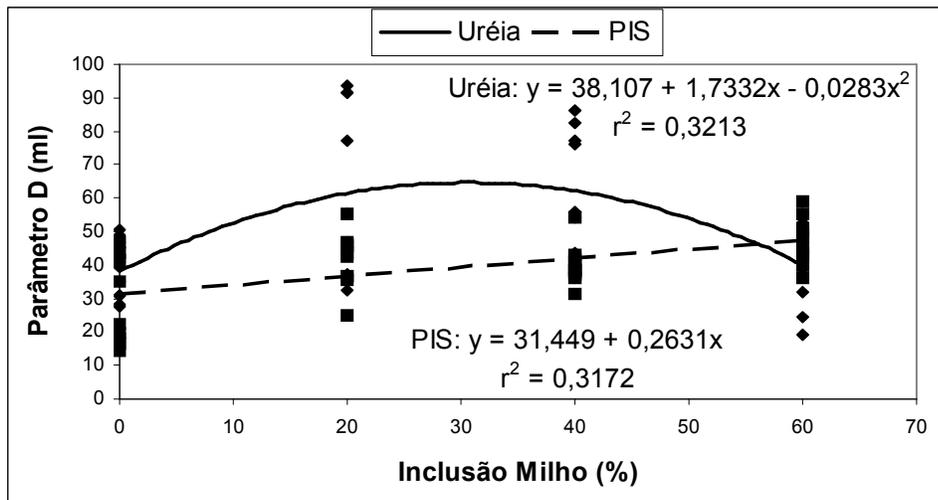


Figura 21. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho moído (%) e fonte de PDR sobre a produção máxima de gás referente a fração de lenta fermentação (parâmetro D, ml)

Com o aumento, na participação dos carboidratos rapidamente fermentáveis, segundo Getachew et al. (2004), há um aumento na produção de gás, fato comprovado neste experimento, desde que haja um adequado fornecimento de aminoácidos e peptídeos pré-formados para a manutenção da atividade fermentativa microbiana.

A taxa de degradação pode ser considerada uma característica intrínseca do alimento, dependendo de fatores como composição química do volumoso, estágio de maturação da planta e estrutura da parede celular e tem a capacidade de influenciar a eficiência de síntese microbiana, impactando sobre a produção de gás de cada fração do alimento incubado (López et al., 2000). Essa hipótese é corroborada por Senger (2005) que observou que as maiores taxas de degradação foram observadas nos tratamentos em que aconteceram as menores produções de gás atribuídas a fração rapidamente fermentável. Nagadi et al. (2000) observaram que à medida que aumentou a FDN digestível, também houve um aumento na taxa de fermentação e que

essa foi ainda maior quando acompanhada de suplementação protéica.

Inicialmente, para ocorrer a degradação do alimento no rúmen, deve ocorrer um processo de aderência, o chamado tempo de colonização ou *lag-time*, das bactérias ruminais à partícula do alimento, permitindo a aproximação das enzimas aos substratos, estabelecendo o início da degradação das moléculas complexas extracelularmente até suas unidades menores, as quais entram na célula bacteriana sendo então metabolizadas a fim de suprirem as necessidades nutricionais das mesmas.

O primeiro contato entre as bactérias celulolíticas e o substrato, é dependente do tamanho da população celulolítica livre na suspensão, para se ligar a novas partículas livres no meio (Miron et al., 2001). Os autores também citam que muitos estudos demonstram que, embora a taxa de adesão das diferentes bactérias seja bastante variável, geralmente ocorre rapidamente após o contato com o substrato.

A taxa de degradação da fração de lenta degradação (parâmetro E) foi afetada pela interação entre inclusão de grão de milho moído e PDR suplementar ($P < 0,05$, tabela 25).

Tabela 25. Efeito da interação entre inclusão de grão de milho (%) e PDR suplementar (%) sobre a taxa de degradação da fração de lenta fermentação (parâmetro E, %/h)

PDR (%)	Parâmetro E (%/h)			
	Inclusão Milho (%)			
	0	20	40	60
0	1,83 Bb	1,74 Ba	2,04 ABa	2,33 Aa
2,8	1,93 Aab	2,01 Aa	2,13 Aa	2,34 Aa
5,6	1,83 Ab	1,83 Aa	2,16 Aa	2,19 Aa
8,4	2,37 Aa	1,88 Aa	2,03 Aa	2,06 Aa
Média	1,98	1,87	2,09	2,23
Coefficiente de Variação (%)	20,90	12,69	10,07	13,81

^{A,B,a,b} Médias na mesma coluna, com letras minúsculas diferentes, e nas linhas, com letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey a uma probabilidade de erro de 5 %.

Foi observado que no maior nível de inclusão de milho, sem a presença de PDR suplementar, houve uma maior taxa de degradação da fração lentamente degradável, do que sem ou com 20 % de milho. Também foi observada uma maior taxa de degradação desta mesma fração, no maior nível de suplementação com PDR do que sem ou com 5,6 % de PDR suplementar, quando não foi incluído milho no substrato incubado.

O comportamento observado sem a inclusão de milho indica que a suplementação com PDR pode incrementar a degradação da fibra pois disponibiliza uma maior concentração de NH_3 disponível para os microorganismos ruminais fibrolíticos.

A maior taxa de degradação no maior nível de milho do que sem ou com 20 % milho sem a utilização de PDR suplementar contraria diversos trabalhos (Horn & McCollun, 1987; Moore et al., 1999; Medeiros, 2004) em que níveis excessivos de amido conduziram a um menor aproveitamento do volumoso, sobretudo da sua fração fibrosa além de, segundo Dewhurst et al. (2000), aumentarem as exigências microbianas por nitrogênio, aminoácidos e peptídeos agravando ainda mais a deficiência dos microorganismos ruminais por esses componentes. O esperado era observar comportamento semelhante, mas em combinações onde houvesse um aporte de PDR suplementar pois a uréia ou PIS aportariam nitrogênio enquanto que o grão de milho seria uma fonte de energia prontamente digestível, necessária para a síntese de proteína microbiana (Henderickx, 1976).

Utilizando uréia, a taxa de degradação da fração de lenta fermentação (parâmetro E) foi 7 % superior do que utilizando PIS como fonte

de PDR ($2,11 \times 1,96$ %/h, $P < 0,01$) concordando com resultados anteriores, já que, tratando-se da fração de lenta degradação, a degradação é realizada por microorganismos fermentadores de carboidratos estruturais, os quais necessitam de NH_3 como fonte de nitrogênio (Russel et al., 1992). Enquanto a uréia é completamente desaminada em NH_3 , a PIS não o é por conter também aminoácidos e peptídeos pré-formados, essenciais para outras categorias de microorganismos ruminais (Bach et al., 2005)

A inclusão de milho afetou de maneira significativa a taxa de degradação da fração de rápida fermentação (parâmetro B) e o tempo de colonização da fração de rápida (parâmetro C) e de lenta fermentação (parâmetro F) ($P < 0,05$). Entretanto, enquanto nos parâmetros B e F foi observado um comportamento quadrático ($P < 0,01$; figuras 22 e 24), no parâmetro C foi observado um aumento linear ($P < 0,01$; figura 23).

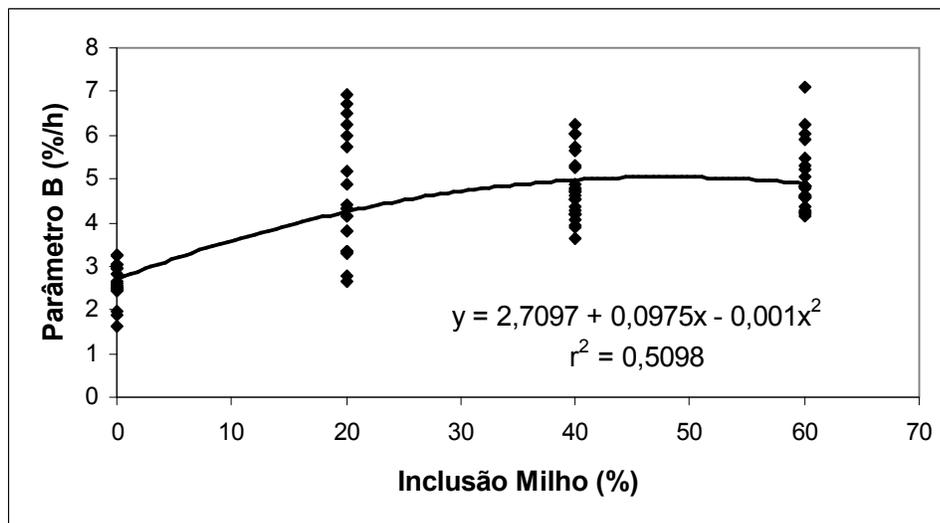


Figura 22. Efeito da inclusão de grão de milho (%) sobre a taxa de degradação da fração de lenta fermentação (parâmetro B, %/h)

A máxima taxa de degradação da fração rapidamente fermentável foi observada quando houve um nível de inclusão de milho pouco superior a 40 %

em relação a MS total incubada, com uma depressão em níveis superiores a este. Isto indica uma resposta positiva à utilização de suplemento energético, desde que em níveis moderados, havendo um efeito negativo sobre a taxa de degradação, mesmo da fração de rápida degradação da MO, em níveis excessivos de milho, resultado que concorda com trabalho, *in vivo*, de Medeiros et al. (2008). Já em relação à FDN, que pode ser considerada a fração de lenta degradação da MO incubada, Heldt et al. (1999) concluíram que níveis moderados de suplementação com amido podem ser benéficos para a DFDN enquanto que níveis excessivos conduzem a uma diminuição na digestibilidade da fibra. Provavelmente isso ocorra através do acréscimo no substrato e na taxa de crescimento das bactérias associadas à fase líquida (Dewhurst et al., 2000).

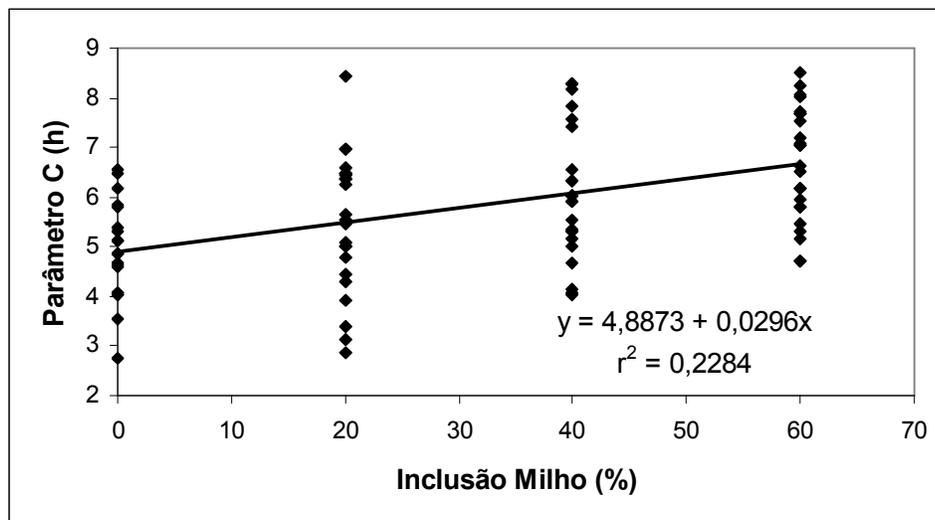


Figura 23. Efeito da inclusão de grão de milho (%) sobre o tempo de colonização da fração de rápida fermentação (parâmetro C, h)

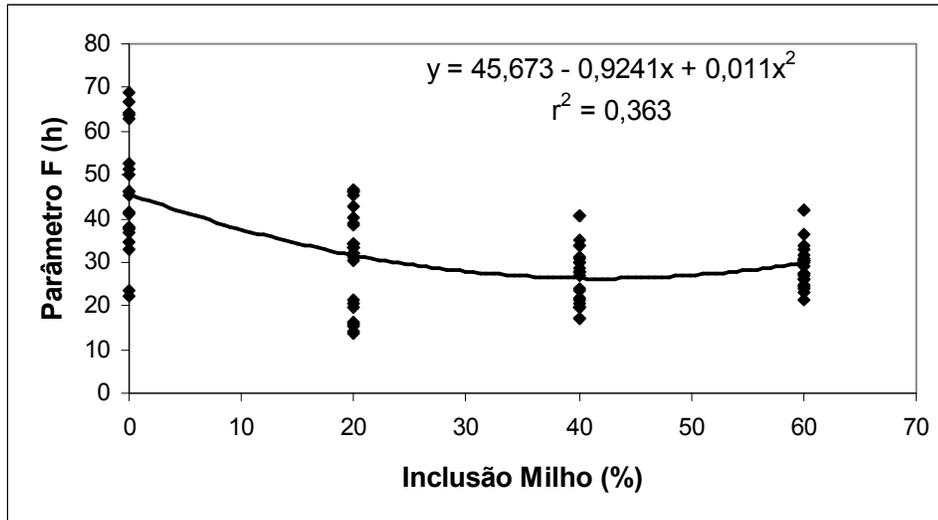


Figura 24. Efeito da inclusão de grão de milho (%) sobre o tempo de colonização da fração de lenta fermentação (parâmetro F, h)

O aumento linear do parâmetro C em resposta ao incremento de milho, que aumentou em 32 % o tempo de colonização da fração de rápida degradação comparando o tratamento sem a inclusão de milho com o nível mais alto de suplementação, indica que o suplemento energético foi capaz de modificar o ambiente de incubação, retardando o início do período de degradação do substrato. Esperava-se comportamento semelhante ao observado no parâmetro F, onde foi observada uma diminuição rápida em resposta aos níveis intermediários de inclusão de milho estudados, com o menor *lag-time* sendo observado com 40 % de milho, e um incremento em níveis superiores a este. Com uma maior suplementação com amido, a população amilolítica deveria ter maior crescimento e este ser mais rápido, iniciando a degradação da fração rapidamente degradável mais cedo.

Os resultados observados para o parâmetro F, indicam que o mais adequado, quando o que se deseja for iniciar mais rapidamente a degradação da fibra, é utilizar níveis moderados de suplementação energética. O fato de o

volumoso incubado apresentar mais de 7 % de PB e do meio de cultura conter bicarbonato de amônia, provavelmente, contribuíram para que a suplementação com milho fosse benéfica nesse caso. Também não deve ser esquecido que apesar de ser um concentrado energético, o grão de milho possui um maior teor protéico do que o feno utilizado nas incubações (8,92 contra 7,69 %) e também de ter uma menor fração da PB sendo insolúvel em detergente ácido (0,3 contra 1,05 %, para milho e feno incubado, respectivamente), aportando, também PDR.

O efeito carboidrato conduziria a uma preferência inicial pela utilização do amido como substrato energético no ambiente ruminal, com a transformação gradativa da fibra em substrato energético predominante, à medida que é reduzida a disponibilidade de amido (El-Shazly, 1961). Também há o relato de que a inibição da atividade de enzimas fibrolíticas pelo amido esteja relacionada à liberação de compostos inibidores pelos microorganismos amilolíticos, os quais parecem ser de natureza protéica (bacteriocinas) (Piwonka & Firkins, 1993; Kalmokoff et al., 1996). Estes argumentos justificam um eventual retardo na degradação da fibra com altos níveis de suplementação amilácea, o que foi observado por Costa et al. (2008). Entretanto, Lardy et al. (2004) não observaram efeito da suplementação com cevada sobre a taxa de degradabilidade e tempo de colonização fornecendo até 2,4 kg de cevada/dia para novilhos.

Em experimento *in vitro*, Mertens & Loften (1980) observaram que a adição de amido aumentou linearmente o *lag-time* da fibra, sem afetar a taxa de degradação e a degradabilidade potencial de forragens de bom teor protéico

(>14 % de PB). No entanto, os autores citam que um aumento no *lag-time* pode conduzir a uma diminuição na digestibilidade, tornando seu estudo de grande importância.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados é possível concluir que a suplementação energética com milho não deprimiu a digestibilidade *in vitro* utilizando um volumoso de baixa qualidade e, inclusive, apresentou alguns resultados positivos sobre a taxa de degradação. Entretanto, a inclusão de milho afetou negativamente o tempo de colonização com exceção do *lag-time* da fração de lenta fermentação no ensaio 3.

A associação da suplementação protéica a níveis moderados de suplementação energética foi capaz de melhorar a degradabilidade efetiva e a taxa de degradação.

Há uma correlação negativa entre o nível de PDR e a produção cumulativa de gás e positiva entre esta e a concentração de carboidratos rapidamente fermentáveis no substrato incubado e houve uma maior eficiência fermentativa utilizando proteína verdadeira.

A utilização de uréia como fonte de PDR surtiu melhores efeitos sobre a fermentação e/ou degradabilidade em níveis baixos de inclusão de milho e sobre a fermentação e/ou degradabilidade da fração fibrosa do alimento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADESOGAN, A. T.; OWEN, E; GIVENS, D. I. Measuring chemical composition and nutritive value in forages. In: MANNETJE, L.; JONES, R. M. (Eds.) **Field and Laboratory Methods for Grassland and Animal Production**. Wallingford: CABI Publishing, 2000. p.263-278.

ALCALDE, C.R et al. Digestibilidade *in vitro* de alimentos com inóculos de líquido de rúmen ou de fezes de bovinos. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.23, n. 4, p.917-921, 2001.

A.O.A.C. **Official methods of analysis**. 16 ed. Arlington: Association of official analytical chemists, 1995. 1141 p.

ARROQUY, J.I. et al. Effect of level of rumen degradable protein and type of supplemental non-fibre carbohydrate on intake and digestion of low quality hay by beef cattle. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.115, p.83-99, 2004b.

ARROQUY, J.I. et al. Effects of type of supplemental carbohydrate and source of supplemental rumen-degradable protein on low-quality forage utilization by beef steers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.115, p.247–263, 2004a.

AZEVEDO, E.B. **Uréia protegida ou não na suplementação de novilhos alimentados com feno de baixa qualidade**. 2007. 88 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

AZEVEDO, E.B. et al. Incorporação de uréia encapsulada em suplementos protéicos fornecidos para novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.1381-1387, 2008.

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88 (Suppl. 1), p.E9-E21, 2005.

BEUVINK, J.M.W.; SPOELSTRA, S.F. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon

fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms *in vitro*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v.37, p.505-509, 1992.

BLACK, J.L. Nutrition of the grazing ruminant. **Proc. of the New Zealand Society of Animal Production**, Auckland, v.50, p.7-27, 1990.

BLÜMMEL, M.; ØRSKOV, E.R. Comparison of "*in vitro*" gas production and nylon degradability of roughage in predicting feed intake in cattle. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.40, p.109-119, 1993.

BLÜMMEL, M.; BECKER, K. The degradability characteristics of 54 roughages and neutral detergent fibre as described by gas production and their relationship to voluntary feed intake. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v.77, p.757-768, 1997a.

BLÜMMEL, M.; STEINGASS, H.; BECKER, K. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass and ¹⁵N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v.77, p.911-921, 1997b.

BLÜMMEL, M. et al. Prediction of forage intake using *in vitro* gas production methods: comparison of multiphase fermentation kinetics measured in an automated gas test, and combined gas volume and substrate degradability measurements in a manual syringe system. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.123-124, p.517-526, 2005.

BODINE, T. N. et al. L. Effects of supplementing prairie hay with corn and soybean meal on intake, digestion, and ruminal measurements by beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, p.3144-3154, 2000.

BODINE, T.N.; PURVIS II, H.T. Effects of supplemental energy and/or degradable intake protein on performance, grazing behavior, intake, digestibility, and fecal and blood indices by beef steers grazed on dormant native tallgrass prairie. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.81, p.304-317, 2003.

BONIFACE, A. M.; MURRAY, R. M.; HOGAN, J. P. Optimum level of ammonia in the rumen liquor of cattle fed tropical pasture hay. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, Collingwood, v.16, p.151-154, 1986.

BORBA, A.E.S. et al. Comparison of three sources of inocula for predicting apparent digestibility of ruminant feedstuffs. **Animal Research**, Les Ulis, v.50, p.265-273, 2001.

BRUNI, M. A.; CHILIBROSTE, P. Simulación de la digestión ruminal por el método de la producción de gas. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, Maracaibo, v.9, p.43-51, 2001.

BRYANT, M.P. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. **Federation Proceedings**, New York, v.32, p.1809-1813, 1973.

BUENO, I. C. S. et al. Uso do líquido ruminal e fezes de bovinos e ovinos como fonte de inóculo para técnica *in vitro* de produção de gases. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais ...** Porto Alegre, 1999. 1 CDROM.

CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D.; FIRKINS, J.L. Effects of protein source on nitrogen metabolism in continuous culture and intestinal digestion *in vitro*. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, p.1819-1827, 1995.

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

CATON, J.S.; FREEMAN, A.S.; GALYEAN, M.L. Influence of protein supplementation on forage intake, *in situ* forage disappearance, ruminal fermentation, and digestion passage rates in steers grazing dormant blue grama rangeland. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.66, p.2262, 1988.

CHAI, W.; UDÉN, P. An alternative oven method combined with different detergent strengths in the analysis of neutral detergent fibre. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.74, p.281-288, 1998.

CHALUPA, W. Utilization of non-protein nitrogen in the production of animal protein. **Proceedings of Nutrition Society**, Champaign, v.32, p.99-105, 1973.

CHASE, C. C.; HIBBERD, C. A. Utilization of low-quality native grass hay by beef cows fed increasing quantities of corn grain. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.65, p.557, 1987.

CHEEKE, P. R. **Applied animal nutrition: feeds and feeding**. New York: MacMillan, 1991. 604 p. Cap. 8: Feed additives.

COCHRAN, R.C. et al. Supplemental protein sources for grazing beef cattle. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 1998, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville, 1998. p.123-136.

CONE, J.W. et al. 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, p.113-128. 1996.

CONE, J.W.; VAN GELDER, A.H. Influence of protein fermentation on gas production profiles. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.76, n.3-4, p.251-264, 1999.

CONE, J.W.; VAN GELDER, A.H.; BACHMANN, H. Influence of inoculum source, dilution and storage of rumen fluid on gas production profiles. In: EAAP SATELLITE SYMPOSIUM ON GAS PRODUCTION, 2000, Wageningen. **Proceedings...**: Gas Production: Fermentation Kinetics for Feed Evaluation and to Assess Microbial Activity. Wageningen: The Netherlands, 2000. p.15–16.

COSTA, V.A.C. et al. Degradação da fibra em detergente neutro de forragem tropical de alta qualidade em função de suplementação com proteína e/ou carboidratos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.3, p.494-503, 2008.

COTTA, M.A.; RUSSELL, J.B. Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.65, p.226-234, 1982.

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

DEMEYER, D.; FIEVEZ, V. Is the synthesis of rumen bacterial protein limited by the availability of pre-formed amino acids and/or peptides? **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v.91, p.175-176, 2004.

DEWHURST, R.J.; DAVIES, D.R.; MERRY, R.J. Microbial protein supply from the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.85, p.1-21, 2000.

DIXON, R. M.; STOCKDALE, C. R. Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilisation. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v.50, p.18, 1999.

DIXON, R.M.; CHANCHAI, S. Colonization and source of N substrates used by microorganisms digesting forages incubated in synthetic fibre bags in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.83, p.261-272, 2000.

EDWARDS, J. S.; BARTLEY, E. E. Soybean meal or starea for microbial protein synthesis or milk production with rations above thirteen percent natural protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.62, p.732-739, 1979.

ELIZALDE, J.C. et al. Performance and digestion by steers grazing tall fescue and supplement with energy and protein. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.76, p.1691-1701, 1998.

EL-SHAZLY, K; DEHORITY, B.A.; JOHSON, R.R. Effect of starch on the digestion of cellulose *in vitro* and *in vivo* by rumen microorganisms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.20, p.268-273, 1961.

FIRKINS, J. L. Optimizing rumen fermentation. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2002, Fort Wayne. **Proceedings...** Fort Wayne, 2002. p.39-53.

FREEMAN, A.S.; GALYEAN, M.L.; CATON, J.S. Effects of supplemental protein percentage and feeding level on intake, ruminal fermentation, and digesta passage in beef steers fed prairie hay. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, p.1562, 1992.

FREITAS, T. S. de. **Avaliação de misturas de volumosos de baixa qualidade com concentrados pela técnica de produção cumulativa de gás *in vitro***. 2001. 132 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

GETACHEW, G. et al. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: A review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.72, p.261-281, 1998.

GETACHEW, G. et al. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and in vitro gas production of several ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.111, p.57-71, 2004.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. **Forage fiber analyses (apparatus reagents, procedures, and some applications)**. Washington, 1970. (Agricultural Handbook, 379).

GRANT, R. Optimizing starch concentrations in dairy rations. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2005, Fort Wayne. **Proceedings...** Fort Wayne, 2005. p.73-79.

GRISWOLD, K. E. et al. Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture. **Journal Animal Science**, Champaign, v.81, p.329-336, 2003.

GRISWOLD, K.E. et al. Effect of form of nitrogen on growth of ruminal microbes in continuous culture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, p.483-491, 1996.

HA, J.K.; KENNELLY, J.J. In situ dry matter and protein degradation of various protein sources in dairy cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.64, p.443-452, 1984.

HELDT, J.S. et al. Effects of different supplemental sugars and starch fed in combination with degradable intake protein on low-quality forage use by beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, p. 2793-2802, 1999.

HENDERICKX, H. K. Quantitative aspects of the use of non-protein nitrogen in ruminant feeding. **Cuban Journal of Agricultural Science**, Havana, v.10, p.1-18, 1976.

HENNING, P.A. et al. Factors affecting the intake and digestion of roughage by sheep fed maize straw supplemented with maize grain. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.94, p.565, 1980.

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

HOOVER, W.H.; MILLER-WEBSTER, T.K. Role of Sugars and Starch in Ruminal Fermentation. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 1998, Fort Wayne. **Proceedings...** Fort Wayne, 1998. p.1-16.

HORN, G.W.; McCOLLUN, F.T. Energy supplementation of grazing ruminants. In: GRAZING LIVESTOCK NUTRITION CONFERENCE, 1987, Jackson. **Proceedings...** Jackson, 1987. p.125-136.

HUNGATE, R.E. **The Rumen and Its Microbes**. New York: Academic Press, 1966. 533 p.

HUNTINGTON, G. B.; ARCHIBEQUE, S.L. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. **Proceedings of American Society of Animal Science**, Champaign, 1999. Disponível em: <<http://vywww.asas.org/ias/symposia/proceedings/0939.pdf>>. Acesso em 24/10/2008.

JOHNSON, R.R. Symposium on microbial digestion in ruminants: "in vitro" rumen fermentation techniques. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.22, p.792-800, 1963.

JOHNSON, R.R. The development and application of "in vitro" rumen fermentation methods for forage evaluation. In: NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY EVALUATION AND UTILIZATION, 1970, Nebraska. **Proceedings...** Nebraska, 1970. p.225-240.

JUNGES, D. et al. Utilização da técnica de produção de gases in vitro para avaliação do efeito do turno de coleta da amostra de pastagem de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008, Lavras. **Anais...** Lavras, 2008. 1 CDROM.

KALMOKOFF, M.L.; BARTLETT, F.; TEATHER, R.M. Are ruminal bacteria armed with bacteriocins? **Journal of Animal Science**, Champaign, v.79, p.2297-2306, 1996.

KANG-MEZNARICH, J.H.; BRODERICK, G.A. Effects of Incremental Urea Supplementation on Ruminal Ammonia Concentration and Bacterial Protein Formation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.51, p.422-431, 1980.

KLEVESAHL, E.A. et al. Effect of a wide range in the ratio of supplemental rumen degradable protein to starch on utilization of low-quality, grass hay by beef steers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.105, p.5-20, 2003.

KNAUS, W. F. et al. Effects of urea, isolated soybean protein and blood meal on growing steers fed a corn-based diet. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.102, p.3-14, 2002.

KÖSTER, H.H. et al. Effect of increasing degradable intake protein on intake and digestion of low-quality, tallgrass-prairie forage by beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, p.2473-2481, 1996.

KÖSTER, H.H. et al. Effect of increasing proportion of supplemental nitrogen from urea on intake and utilization of low-quality, tallgrass-prairie forage by beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.75, p.1393-1399, 1997.

KOZLOSKI, G. V. et al. Intake and digestion by lambs fed a low-quality grass hay supplemented or not with urea, casein or cassava meal. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.136, p.191-202, 2007.

LARDY, G.P. et al. Effects of increasing level of supplemental barley on forage intake, digestibility, and ruminal fermentation in steers fed medium-quality grass hay. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.82, p.3662-3668, 2004.

LENG, R. A. Factors affecting the utilization of poor-quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Reviews**, Wallingford, v.3, p.277-303, 1990.

LEVENTINI, M.W. et al. 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, p.4334, 1990.

LÓPEZ, S.; CARRO, M.D.; GONZÁLEZ, J.S. et al. Comparison of different in vitro and in situ methods to estimate the extent and rate of degradation of hays in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.73, p.99-113, 1998.

LÓPEZ, S.; DIJKSTRA, J.; FRANCE, J. Prediction of energy supply in ruminantes, with emphasis on forages. In: GIVENS, D.I.; OWEN, E.; R.F.E. AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.) **Forage Evaluation in Ruminant Nutrition**. London: CABI Publishing, 2000. p.63-94.

MABJEESH, S. J.; COHEN, M.; ARIELI, A. *In vitro* methods for measuring the dry matter digestibility of ruminant feedstuffs: comparison of methods and inoculum source. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.10, p.2289-2294, 2000.

MAKKAR, H.P.S. Recent advances in the in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. In: **ASSESSING Quality and Safety of Animal Feeds**. Roma: FAO, 2004. p.55–88.

MALAFAIA, P.A.M., VALADARES FILHO, S.C., VIEIRA, R.A.M. Kinetic parameters of ruminal degradation estimated with a nonautomated system to measure gas production. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.58, p.65-73, 1999.

MALLMANN, G.M. et al. Consumo e digestibilidade de feno de baixa qualidade suplementado com nitrogênio não protéico em bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 331-337, 2006.

MATEJOVSKY, K. M.; SANSON, D. W. Intake and digestion of low-, medium-, and high-quality grass hays by lambs receiving increasing levels of corn supplementation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, p.2156-2163, 1995.

MATHIS, C.P. et al. Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of medium- to low-quality forages. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, p.224-232, 2000.

MAURÍCIO, R.M. et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.79, p.321-330, 1999.

MAURICIO, R.M. et al. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an in vitro gas production technique for evaluating forages. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.89, p.33–48, 2001.

McDOUGALL, E.I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemistry Journal**, Washington, v.43, p.99-108, 1948.

McDONALD, J. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.96, n.1, p.251-252, 1981.

MEDEIROS, F. S. **Avaliação nutricional da suplementação de feno com níveis crescentes de milho em dietas não limitantes em proteína degradável no rúmen**. 2004. 137 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

MEDEIROS, F.S. et al. Efeitos associativos da energia em dietas não limitantes em proteína degradável no rúmen. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v.57, n.218, p.190, 2008.

MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R.; MCDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v.38, p.437, 1977.

MENKE, K.H. et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.93, p.217-222, 1979.

MENKE, K.H.; STEINGASS, H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. **Animal Research and Development**, Berlin, v.28, p.7-55, 1988.

MERTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. The effect of starch on forage fiber digestions kinetics *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.63, p.1437, 1980.

MERTENS, D.R.; WEIMER, P.J.; WAGHORN, G.M. Inocula differences affect *in vitro* gas production kinetics. In: DEAVILLE, E.R.; OWEN, E.; ADESOGEN, A.T. et al. (Eds.) **In Vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants**. Edinburgh: BSAS, 1998. p.95–98.

MILTON, C.T.; BRANDT, R.T.; TITGEMEYER, E.C. Urea in dry-rolled corn diets: Finishing steer performance, nutrient digestion, and microbial protein production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.75, p.1415–1424, 1997.

MINSON, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JUNIOR, G.C. **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.450-493.

MIRON, J.; BEN-GHEDALIA, D.; MORRISON, M. *Invited Review: Adhesion Mechanisms of Rumen Cellulolytic Bacteria*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.84, p.1294–1309, 2001.

MOORE, J.E. et al. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.77, suppl. 2, p.122-135, 1999.

MOULD, F.; ØRSKOV, E.R.; MANN, S.O. Associative effects of mixed feeds. 2. The effect of dietary additions of bicarbonate salts on the voluntary intake and digestibility of diets containing various proportions of hay and barley. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.10, p.15, 1983.

MOULD, F.L. et al. *In vitro* microbial inoculum: a review of its function and properties. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.123–124, p.31–50, 2005.

MULLIGAN, F.J. et al. The effect of dietary protein content and hay intake level on the true and apparent digestibility of hay. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.68, p.41-52, 2001.

NAGADI, S.; HERRERO, M.; JESSOP, N.S. The influence of diet of the donor animal on the initial bacterial concentration of ruminal fluid and *in vitro* gas production degradability parameters. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.87, p.231–239, 2000.

NRC. **Ruminant Nitrogen Usage**. Washington: National Academy Press, 1985. 148 p.

NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7 ed. Washington: National Academy Press, 1996. 242 p.

NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7 ed. Washington: National Academy Press, 2001. 408 p.

OH, Y.G. et al. The effect of the form of nitrogen in the diet on rumen fermentation and the yield of microbial protein in sheep consuming diets of grass silage supplemented with starch or sucrose. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.78, p.227–237, 1999.

OLIVEIRA, M.D.S. et al. Efeito de métodos de coleta de fluido ruminal sobre a digestibilidade *in vitro* de alguns nutrientes de ração para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.22, n.5, p.794-800, 1993.

OLSON, K.C. et al. Effects of ruminal administration of supplemental degradable intake protein and starch on utilization of low-quality warm-season grass hay by beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.77, p.1016-1025, 1999.

OLTJEN, R.R. et al. Influence of the branched-chain volatile fatty acids and phenylacetate on ruminal microorganisms and nitrogen utilization by steers fed urea or isolated soy protein. **Journal of Nutrition**, Houston, v.101, p.101, 1971.

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

ORSKOV, E.R.; MILLS, C.L.; ROBINSON, J.J. The use of whole blood for the protection of organic materials from degradation in the rumen. **Proceedings of Nutrition Society**, Champaign, v.39, 1980.

ORSKOV, E.R. Supplement strategies for ruminants and management of feeding to maximize utilization of roughages. **Preventive Veterinary Medicine**, New York, v.38, p.179-185, 1999.

ORSKOV, E. R. The in situ technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In: GIVENS, D. I. et al. (eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. London: CABI, 2000. p.113-144.

OSPINA, H. et al. Porque e como otimizar o consumo de alimentos da vaca em lactação. In: ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2., 2000, Porto Alegre. [**Anais...**] Porto Alegre, 2000. p.37-72.

PAEZ-BERNAL, D.M. **Dinâmica de degradação in vitro da fibra em detergente neutro de capim-braquiária em função de suplementação com diferentes fontes de compostos nitrogenados e carboidratos**. 2007, 49f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

PARENTE, E.; RICCIARDI, A. Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v.52, p.628-638, 1999.

PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.6, p.1063-1073, 1993.

PELL, A.N. et al. The development, use and application of the gas production technique at Cornell University, USA. In: DEAVILLE, E.R.; OWEN, E.; ADESOGEN, A.T. et al. (Eds.) **In Vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants**. Edinburgh: BSAS, 1998. p.45–54.

PERDOK, H. B. et al. Improving livestock production from straw-based diets. In: THOMSON, E.F.; THOMSON, F.S. (Eds.) **Increasing Small Ruminant Productivity in Semi-arid Areas**. [S.l.] : International Center for Agricultural Research in Dry Areas, 1988. p.81-91.

PIWONKA, E.J.; FIRKINS, J.L. Effect of glucose fermentation on fiber digestion by ruminal microorganisms *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, p.2196-2206, 1993.

POORE, M.H.; MOORE, J.A.; SWINGLE, R.S. Differential passage rates and digestion of neutral detergent fiber from grain and forages in 30, 60 and 90% concentrate diets fed to steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.68, n.9, p.2965-2973, 1990.

PORDOMINGO, A.; WALLACE, J.D.; FREEMAN, A.S. Supplemental corn grain for steers grazing native rangeland during summer. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.69, p.1678-1687, 1991.

PRATES, E.R. et al. Produção de gás como medida da atividade do rúmen de terneiros alimentados uma vez ou oito vezes ao dia com feno ou silagem. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 23., 1986, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande, 1986. p.176.

PRATES, E.R. **Técnicas de pesquisa em nutrição animal**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2007.

RICHARDS, C.J. et al. In vitro starch disappearance procedure modifications. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.55, p.35-45, 1995.

ROFFLER, R.E.; SATTER, L.D. Relationship Between Ruminal Ammonia and Nonprotein Nitrogen Utilization by Ruminants. I. Development of a Model for Predicting Nonprotein Nitrogen Utilization by Cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.58, n.12, 1975.

ROFFLER, R.E.; SCHWAB, C.G.; L. D. SATTER, L.D. Relationship Between Ruminal Ammonia and Nonprotein Nitrogen Utilization by Ruminants. II. Influence of Intraruminal Urea Infusion on Ruminal Ammonia Concentration. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.59, n.12, 1975.

RUSSELL, J.B. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I, Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, p.3351-3561, 1992.

RYMER, C.; HUNTINGTON, J.A.; GIVENS, D.I. Effects of inoculum preparation method and concentration, method of inoculation and pre-soaking the substrate on the gas production profile of high temperature dried grass. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 78, p. 199–213, 1999.

RYMER, C. et al. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.123–124, p.9–30, 2005.

SAMPAIO, I. **Experimental designs and modelling techniques in the study of roughage degradation in the rumen and growth of ruminants**. 1988. 107 f. Tese (Pós-Doutorado) - University of Reading, Reading, UK, 1988.

SANTOS, G.T. et al. Determinação da digestibilidade in vitro de gramíneas do gênero *Cynodon* com uso de diferentes metodologias. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.22, n.3, p.761-764, 2000.

SAS. **User's Guide: Statistics**. Cary: SAS Institute Inc., 1992. 842 p.

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

SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL, A.N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, p.2980-2991, 1994.

SCHOFIELD, P. Gas production methods. In: J.P.F. D'MELLO (Ed) **Farm Animal Metabolism and Nutrition**. New York: CABI Publishing, 2000. p.209-232.

SENGER, C.C.D. **Comparação de técnicas na avaliação da qualidade de silagens de milho**. 2005. 122 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

SHAIN, D.H. et al. Effect of degradable intake protein level on finishing cattle performance and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.76, p.242-248, 1998.

SHAVER, R.D. et al. Influence of amount of feed intake and forage physical form on digestion and passage of prebloom alfalfa hay in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.69, p.1545-1559, 1986.

SILVEIRA, A. L. F. D. **Avaliação nutricional da adição de uréia ao feno suplementado com milho moído**. 2002. 79 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2002.

SILVEIRA, A.L.F. et al. Efeito associativo da suplementação de volumoso de baixa qualidade com energia: digestibilidade *in vitro* da celulose e concentração de amônia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003. **Anais...** Santa Maria, 2003. 1 CDROM.

SILVEIRA, AL.F. **Efeitos associativos da suplementação energética e protéica de volumoso de baixa qualidade em ovinos**. 2007. 120 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SILVEIRA, A.L.F. et al. Efeitos associativos da suplementação com energia e proteína degradável no rúmen. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v.57, n.218, p.179-186, 2008.

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

STRITZLER, N.P.; FERRI, C.M.; JOUVE, V.V. Comparacion de modelos utilizados para estimar la desaparicion de la materia seca *in sacco* y la degradabilidad efectiva. **Revista Argentina de Produccion Animal**, Buenos Aires, v.17, n.4, p.353-364, 1997.

TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. Accounting for the effects of a ruminal nitrogen deficiency within the structure of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, p.1648-1658, 2000.

THEODOROU, M.K. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.48, p.185-197, 1994.

THEODOROU, M.K. et al. Principles of techniques that rely on gas measurements in ruminant nutrition. In: DEAVILLE, E.R.; OWEN, E.; ADESOGEN, A.T. et al. (Eds.) **In Vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants**. Edinburgh: BSAS, 1998. p.55-64.

THOMAS, E.E.; MASON, C.R.; SCHMIDT, S.P. Relation of feedlot performance and certain physiological responses to the metabolizable protein and urea content of cattle diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, p.1285-1291, 1984.

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

VAN GYLSWYK, N.O.; WEJDEMAR, K.; KULANDER, K. Comparative growth rates of various rumen bacteria in clarified rumen fluid from cows and sheep fed different diets. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.58, p.99-105, 1992.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Ithaca: Cornell University, 1985. 202 p.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. New York: Cornell University Press, 1994. 476 p.

VELHO, J.P. et al. Determinação da relação entre pressão e volume para estabelecimento da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases no Laboratório de Nutrição Animal da EMBRAPA Pecuária Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, 2003. 1 CDROM.

VELHO, J.P. **Qualidade nutritiva de silagens de milho (*Zea mays* L.) "safrinha" de planta inteira de diferentes maturidades submetidas a distintos procedimentos de ensilagem e "desensilagem"**. 2005. 143 f.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

WAGHORN, G.C.; STAFFORD, K.J. Gas production and nitrogen digestion by rumen microbes from deer and sheep. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Auckland, v.36, p.493-497, 1993.

WARNER, A.C.I. Diurnal changes in the concentration of microorganisms in the rumens of sheep fed limited diets once daily. **Journal of Genetic Microbiology**, Washington, v.45, p.213-235, 1966.

WESTVIG, R.M. **Effects of barley and *Aspergillus Oryzae* fungal extract (Amaferm) supplementation on utilization of grass hay by beef cattle.** 1992. 121 f. Dissertação (Mestrado) - North Dakota State University, Fargo, 1992.

WILLIAMS, B.A. Cumulative gas production techniques for forage evaluation. In: GIVENS, D.I; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.) **Forage Evaluation in Ruminant Nutrition**. London: CABI Publishing, 2000. p.189-213.

WOLIN, M.J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.43, p.1452-1459, 1960.

ZORZI, K. **Dinâmica de degradação in vitro da fibra em detergente neutro de capim-braquiária em função de suplementação com diferentes níveis e fontes de compostos nitrogenados.** 2008. 39 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

7. APÊNDICES

Apêndice 1. DIVVMO (%) de todas combinações de fatores estudados nos diferentes horários e períodos no ensaio 1

DIVVMO (%)									
Milho (%)	PDR (%)	PER	HORA 0	HORA 4	HORA 8	HORA 16	HORA 48	HORA 72	HORA 96
0	0	1	31,14	46,02	23,33	41,58	55,73	73,43	67,50
		2	32,00	32,78	38,55	41,54	55,99	72,72	67,98
		3	33,11	38,13	8,54	55,61	55,47	73,58	60,63
		MÉDIA	32,08	38,98	23,47	46,24	55,73	73,24	65,37
		DESVIO	0,99	6,66	15,01	8,11	0,26	0,46	4,11
0	2,8	1	32,32	26,89	17,63	44,43	58,25	70,66	65,84
		2	30,53	48,78	34,27	41,02	54,79	72,33	73,56
		3	30,18	40,32	30,81	47,85	61,71	58,81	63,91
		MÉDIA	31,01	38,66	27,57	44,43	58,25	67,27	67,77
		DESVIO	1,15	11,04	8,78	3,41	3,46	7,37	5,11
0	5,6	1	28,24	18,88	19,71	29,92	68,44	76,05	64,94
		2	32,58	20,68	34,22	43,41	63,26	74,94	70,32
		3	23,66	26,13	25,92	49,49	62,30	64,31	65,98
		MÉDIA	28,16	21,89	26,62	40,94	64,67	71,77	67,08
		DESVIO	4,46	3,77	7,28	10,02	3,30	6,48	2,85
0	8,4	1	23,96	24,13	24,93	44,89	68,74	65,32	71,65
		2	29,50	38,98	23,38	42,97	62,69	70,95	70,96
		3	19,11	34,54	23,44	53,30	64,01	61,32	63,59
		MÉDIA	24,19	32,55	23,92	47,05	65,15	65,86	68,73
		DESVIO	5,20	7,62	0,88	5,49	3,18	4,84	4,47
20	0	1	34,05	24,04	21,05	34,25	79,15	69,97	73,40
		2	27,52	32,72	38,76	47,82	65,47	75,89	71,93
		3	29,33	41,30	36,46	64,13	73,68	71,24	72,93
		MÉDIA	30,30	32,68	32,09	48,73	72,77	72,37	72,75
		DESVIO	3,37	8,63	9,63	14,96	6,89	3,12	0,75
20	2,8	1	22,66	31,42	23,02	26,99	76,96	68,78	65,47
		2	27,54	47,44	39,73	49,63	72,57	80,27	76,73
		3	24,65	36,31	28,23	68,01	78,45	70,90	77,06
		MÉDIA	24,95	38,39	30,33	48,21	75,99	73,32	73,09
		DESVIO	2,46	8,21	8,55	20,55	3,06	6,12	6,60
20	5,6	1	26,11	28,00	21,81	30,52	78,80	71,61	69,24
		2	37,35	31,75	37,67	48,56	73,78	81,04	75,13
		3	36,17	38,16	29,77	62,72	80,83	69,79	77,38
		MÉDIA	33,21	32,64	29,75	47,27	77,80	74,15	73,92
		DESVIO	6,18	5,14	7,93	16,14	3,63	6,04	4,20
20	8,4	1	39,27	28,02	30,19	53,67	70,90	79,91	82,38
		2	37,46	38,95	47,27	49,89	70,03	78,39	76,72
		3	24,92	37,95	34,99	57,79	71,78	70,25	78,56
		MÉDIA	33,88	34,97	37,48	53,78	70,90	76,18	79,22
		DESVIO	7,82	6,04	8,80	3,95	0,88	5,20	2,89
40	0	1	22,99	23,01	30,15	59,48	81,47	85,68	79,81
		2	42,60	38,82	29,03	54,12	80,81	90,75	86,73
		3	42,24	46,19	33,07	78,05	83,31	75,50	78,62
		MÉDIA	35,94	36,01	30,75	63,88	81,86	83,98	81,72
		DESVIO	11,22	11,84	2,09	12,56	1,30	7,76	4,38
40	2,8	1	35,67	25,65	33,46	32,64	80,37	77,79	76,82
		2	33,78	35,33	36,86	61,45	74,38	95,77	92,02
		3	31,11	33,42	37,37	71,87	81,70	79,11	76,48

Continuação do apêndice 1

		MÉDIA	33,52	31,46	35,90	55,32	78,81	84,23	81,77
		DESVIO	2,29	5,12	2,13	20,32	3,90	10,02	8,88
40	5,6	1	43,43	39,71	27,92	63,09	91,01	85,12	85,96
		2	45,36	40,43	37,05	56,28	92,19	84,41	87,31
		3	44,72	49,06	29,13	69,90	93,37	79,29	76,19
		MÉDIA	44,50	43,07	31,37	63,09	92,19	82,94	83,15
		DESVIO	0,98	5,20	4,96	6,81	1,18	3,18	6,06
40	8,4	1	16,93	28,63	5,54	44,06	86,58	76,76	92,17
		2	0,00	29,66	48,00	52,52	80,49	88,66	83,82
		3	22,91	46,29	21,00	48,29	88,20	76,01	80,35
		MÉDIA	13,28	34,86	24,84	48,29	85,09	80,48	85,45
		DESVIO	11,88	9,91	21,49	4,23	4,06	7,10	6,08
60	0	1	35,92	53,79	43,39	59,14	96,52	85,94	90,29
		2	0,00	55,54	56,49	73,32	88,70	100,28	89,06
		3	29,35	52,04	42,48	77,08	95,26	83,48	87,88
		MÉDIA	21,76	53,79	47,45	69,85	93,49	89,90	89,08
		DESVIO	19,13	1,75	7,84	9,46	4,20	9,07	1,20
60	2,8	1	0,00	17,29	41,94	58,38	91,15	86,78	87,95
		2	39,00	51,84	51,34	61,81	81,84	99,51	91,44
		3	26,18	41,69	43,16	54,97	96,16	86,39	90,05
		MÉDIA	21,73	36,94	45,48	58,39	89,72	90,90	89,81
		DESVIO	19,88	17,75	5,11	3,42	7,27	7,46	1,76
60	5,6	1	27,21	27,03	34,31	63,52	94,54	90,74	90,76
		2	43,37	59,48	52,57	66,60	86,23	95,57	94,47
		3	27,21	49,43	40,72	50,28	89,55	86,96	90,76
		MÉDIA	32,60	45,31	42,53	60,13	90,11	91,09	92,00
		DESVIO	9,33	16,61	9,27	8,67	4,18	4,31	2,14
60	8,4	1	38,79	23,22	42,60	60,24	97,21	91,99	90,85
		2	48,86	56,37	39,48	63,76	87,03	98,35	93,17
		3	41,65	29,30	36,35	61,29	85,44	92,64	89,09
		MÉDIA	43,10	36,29	39,48	61,76	89,90	94,33	91,04
		DESVIO	5,19	17,65	3,12	1,81	6,39	3,49	2,05

Apêndice 2. DIVVMO (%) de todas combinações de fatores estudados nos diferentes horários e períodos no ensaio 2

DIVVMO (%)									
Milho (%)	PDR (%)	PER	HORA 0	HORA 4	HORA 8	HORA 16	HORA 48	HORA 72	HORA 96
0	0	1	32,32	24,80	22,28	35,80	72,55	63,14	70,84
		2	22,48	28,21	33,34	46,68	65,09	73,97	75,41
		3	33,93	16,45	18,85	31,40	57,04	69,36	63,02
		MÉDIA	29,58	23,15	24,82	37,96	64,89	68,82	69,76
		DESVIO	6,20	6,05	7,57	7,86	7,75	5,43	6,26
0	2,8	1	21,59	29,01	20,67	30,12	70,71	66,03	60,18
		2	26,93	33,14	35,51	39,26	61,04	78,90	74,31
		3	30,65	16,48	34,71	40,85	61,75	64,10	67,51
		MÉDIA	26,39	26,21	30,30	36,74	64,50	69,67	67,33
		DESVIO	4,56	8,68	8,35	5,79	5,39	8,05	7,07
0	5,6	1	31,26	26,23	22,28	32,71	61,97	70,07	68,88
		2	28,38	37,61	40,14	35,35	63,60	70,31	70,39

Continuação do apêndice 2

		3	24,79	15,17	30,30	44,15	60,35	69,33	70,21
		MÉDIA	28,14	26,33	30,91	37,40	61,97	69,90	69,83
		DESVIO	3,24	11,22	8,94	5,99	1,62	0,51	0,83
0	8,4	1	27,36	22,84	30,69	38,54	78,17	76,92	72,23
		2	27,00	30,25	46,61	48,96	60,57	77,60	77,42
		3	28,28	30,60	31,65	43,42	61,19	68,93	70,44
		MÉDIA	27,55	27,90	36,32	43,64	66,65	74,49	73,36
		DESVIO	0,66	4,38	8,93	5,21	9,99	4,82	3,63
20	0	1	30,66	26,69	38,05	44,03	59,92	80,05	75,10
		2	30,57	39,47	34,21	58,25	63,03	72,13	75,11
		3	30,49	17,67	27,07	41,09	67,30	71,58	75,13
		MÉDIA	30,57	27,94	33,11	47,79	63,41	74,58	75,11
		DESVIO	0,09	10,96	5,58	9,18	3,71	4,74	0,02
20	2,8	1	36,67	37,14	43,71	52,02	63,30	81,70	74,54
		2	41,46	40,62	19,90	63,35	58,41	82,38	77,54
		3	32,93	32,08	31,14	46,15	76,97	75,45	80,06
		MÉDIA	37,02	36,61	31,58	53,84	66,23	79,84	77,38
		DESVIO	4,28	4,29	11,92	8,74	9,62	3,82	2,76
20	5,6	1	0,00	44,31	43,21	48,88	64,61	82,72	78,66
		2	35,87	42,16	43,87	61,65	72,72	80,34	82,90
		3	22,62	24,96	36,45	43,87	70,33	69,41	80,56
		MÉDIA	19,50	37,14	41,18	51,47	69,22	77,49	80,71
		DESVIO	18,14	10,60	4,11	9,17	4,17	7,10	2,12
20	8,4	1	34,06	37,54	48,86	55,80	68,86	81,02	79,35
		2	33,80	37,54	48,52	64,97	75,97	77,02	79,47
		3	25,56	32,09	37,13	47,80	71,97	70,47	77,46
		MÉDIA	31,14	35,72	44,83	56,19	72,26	76,17	78,76
		DESVIO	4,83	3,15	6,68	8,59	3,56	5,33	1,13
40	0	1	34,27	37,94	44,03	46,73	67,84	83,04	80,36
		2	41,48	41,04	51,47	59,47	73,00	77,47	87,07
		3	32,14	30,91	46,30	53,07	80,13	85,03	82,88
		MÉDIA	35,96	36,63	47,27	53,09	73,65	81,85	83,44
		DESVIO	4,90	5,19	3,81	6,37	6,17	3,92	3,39
40	2,8	1	39,86	43,15	25,87	58,52	73,59	83,25	85,64
		2	41,08	43,82	56,92	75,30	78,58	89,43	89,96
		3	39,07	22,93	43,24	46,93	83,54	79,04	80,88
		MÉDIA	40,00	36,63	42,01	60,25	78,57	83,91	85,49
		DESVIO	1,01	11,87	15,56	14,26	4,97	5,22	4,54
40	5,6	1	37,80	58,68	37,87	57,61	75,56	88,10	85,79
		2	49,26	48,09	61,18	68,56	79,17	83,99	87,42
		3	37,56	14,01	39,96	55,24	80,24	81,02	82,79
		MÉDIA	41,54	40,26	46,34	60,47	78,33	84,37	85,34
		DESVIO	6,69	23,34	12,90	7,11	2,45	3,55	2,35
40	8,4	1	34,56	40,59	49,90	60,01	73,89	88,33	82,16
		2	30,43	66,49	44,83	56,18	75,97	92,10	85,23
		3	40,03	28,05	47,37	63,84	74,84	83,27	82,44
		MÉDIA	35,01	45,04	47,37	60,01	74,90	87,90	83,28
		DESVIO	4,82	19,60	2,53	3,83	1,04	4,43	1,70
60	0	1	36,24	49,00	50,91	69,33	90,65	96,11	92,44
		2	42,27	33,20	32,40	75,63	96,96	89,44	89,00
		3	40,31	26,84	21,07	67,56	82,84	86,79	88,13

Continuação apêndice 2

		MÉDIA	39,61	36,34	34,79	70,84	90,15	90,78	89,86
		DESVIO	3,08	11,41	15,06	4,24	7,07	4,80	2,28
60	2,8	1	37,25	29,86	43,52	62,21	83,96	98,67	94,59
		2	37,57	30,63	48,65	67,02	90,28	87,73	92,69
		3	37,89	31,40	34,49	71,83	87,39	89,78	92,81
		MÉDIA	37,57	30,63	42,22	67,02	87,21	92,06	93,36
		DESVIO	0,32	0,77	7,17	4,81	3,16	5,81	1,07
60	5,6	1	40,47	34,96	39,11	65,42	73,62	95,85	95,48
		2	41,16	59,52	37,05	61,59	91,84	90,42	90,08
		3	41,59	39,79	37,28	57,76	91,25	92,04	87,32
		MÉDIA	41,07	44,76	37,81	61,59	85,57	92,77	90,96
		DESVIO	0,56	13,01	1,13	3,83	10,36	2,79	4,15
60	8,4	1	38,61	55,60	45,57	58,11	91,63	93,14	89,38
		2	32,96	57,52	44,46	59,03	95,58	90,25	90,89
		3	27,31	35,62	46,67	59,95	87,68	96,04	87,87
		MÉDIA	32,96	49,58	45,57	59,03	91,63	93,14	89,38
		DESVIO	5,65	12,13	1,11	0,92	3,95	2,89	1,51

Apêndice 3. DIVFDN (%) de todas combinações de fatores estudados nos diferentes horários e períodos no ensaio 1

		DIVFDN (%)								
Milho (%)	PDR (%)	PER	HORA 0	HORA 4	HORA 8	HORA 16	HORA 48	HORA 72	HORA 96	
0	0	1	0,00	0,00	0,00	10,24	52,89	39,56	46,97	
		2	0,00	0,00	5,26	8,86	31,52	46,21	44,69	
		3	0,00	0,00	0,00	8,31	27,77	44,51	30,13	
		MÉDIA	0,00	0,00	1,75	9,14	37,39	43,43	40,60	
		DESVIO	0,00	0,00	3,04	1,00	13,55	3,45	9,14	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	43,37	46,77	45,47
0	2,8	1	0,00	0,00	0,00	0,00	7,50	28,13	46,37	45,12
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	24,34	28,72	32,89	
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	2,50	31,95	40,62	41,16
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	2,50	31,95	40,62	41,16	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	4,33	10,08	10,31	7,16	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	36,47	48,63	42,79
0	5,6	1	0,00	0,00	0,00	0,00	9,20	39,48	48,86	45,65
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	24,14	34,86	35,82	
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	3,07	33,36	44,12	41,42
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	3,07	33,36	44,12	41,42	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	5,31	8,13	8,02	5,06	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	12,89	37,34	39,76	49,96	
0	8,4	1	0,00	0,00	0,00	6,53	38,14	44,01	46,11	
		2	0,00	0,00	0,00	2,41	23,46	30,93	33,11	
		3	0,00	0,00	0,00	7,27	32,98	38,23	43,06	
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	7,27	32,98	38,23	43,06	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	5,28	8,25	6,67	8,83	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	43,12	38,76	45,58
20	0	1	0,00	0,00	0,00	0,00	24,25	28,36	30,38	
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	26,37	35,33	35,88	
		3	0,00	0,00	0,00	4,86	31,25	34,15	37,28	
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	1,62	31,25	34,15	37,28	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	2,81	10,34	5,30	7,70	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	37,08	35,85	36,96
20	2,8	1	0,00	0,00	0,00	0,00	35,40	35,46	39,20	
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	33,21	33,16	39,94	
		3	0,00	0,00	0,00	9,53	35,23	34,82	38,70	
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	3,18	35,23	34,82	38,70	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	5,50	1,94	1,45	1,55	
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	43,45	38,86	38,55
20	5,6	1	0,00	0,00	0,00	0,00	36,59	36,04	32,68	
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	36,59	36,04	32,68	

Continuação do apêndice 3

			3	0,00	0,00	0,00	0,00	35,45	31,56	40,61
			MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	38,49	35,49	37,28
			DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	4,33	3,68	4,11
20	8,4		1	0,00	0,00	0,00	14,24	60,59	53,10	58,78
			2	0,00	0,00	0,00	0,00	28,56	30,84	36,99
			3	0,00	0,00	0,00	0,00	23,05	31,95	40,34
			MÉDIA	0,00	0,00	0,00	4,75	37,40	38,63	45,37
			DESVIO	0,00	0,00	0,00	8,22	20,27	12,54	11,74
40	0		1	0,00	0,00	0,00	5,80	38,31	49,88	49,36
			2	0,00	0,00	0,00	0,00	34,19	41,96	46,43
			3	0,00	0,00	0,00	8,45	28,11	29,09	32,47
			MÉDIA	0,00	0,00	0,00	4,75	33,54	40,31	42,75
			DESVIO	0,00	0,00	0,00	4,32	5,13	10,49	9,03
40	2,8		1	0,00	0,00	0,00	0,00	32,85	38,77	42,33
			2	0,00	0,00	0,00	0,00	33,38	53,89	47,67
			3	0,00	0,00	0,00	0,00	27,03	34,68	29,67
			MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	31,09	42,45	39,89
			DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	3,52	10,12	9,24
40	5,6		1	0,00	0,00	0,00	0,00	51,51	51,52	56,90
			2	0,00	0,00	0,00	0,00	9,98	29,44	47,37
			3	0,00	0,00	0,00	0,00	44,51	34,41	28,31
			MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	35,33	38,46	44,19
			DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	22,23	11,58	14,56
40	8,4		1	0,00	0,00	0,00	0,00	41,56	45,99	45,92
			2	0,00	0,00	0,00	0,00	31,23	35,79	40,59
			3	0,00	0,00	0,00	0,00	34,59	27,99	34,80
			MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	35,79	36,59	40,44
			DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	5,27	9,02	5,56
60	0		1	0,00	0,00	0,00	0,00	51,35	43,47	57,38
			2	0,00	0,00	0,00	0,00	35,09	47,68	38,19
			3	0,00	0,00	0,00	0,00	36,11	29,15	36,68
			MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	40,85	40,10	44,09
			DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	9,11	9,71	11,54
60	2,8		1	0,00	0,00	0,00	0,00	39,73	43,63	48,62
			2	0,00	0,00	0,00	0,00	37,07	44,19	43,59
			3	0,00	0,00	0,00	0,00	36,50	32,74	40,09
			MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	37,77	40,19	44,10
			DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	1,72	6,45	4,29
60	5,6		1	0,00	0,00	0,00	0,00	47,02	55,35	57,36
			2	0,00	0,00	0,00	0,00	25,47	35,68	49,59
			3	0,00	0,00	0,00	0,00	28,39	39,44	40,07
			MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	33,63	43,49	49,01
			DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	11,69	10,44	8,66
60	8,4		1	0,00	0,00	0,00	0,00	54,53	55,08	53,39
			2	0,00	0,00	0,00	0,00	29,45	41,48	45,85
			3	0,00	0,00	0,00	0,00	28,40	40,83	40,54
			MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	37,46	45,80	46,59
			DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	14,79	8,05	6,46

Apêndice 4. DIVFDN (%) de todas combinações de fatores estudados nos diferentes horários e períodos no ensaio 2

DIVFDN (%)									
Milho (%)	PDR (%)	PER	HORA 0	HORA 4	HORA 8	HORA 16	HORA 48	HORA 72	HORA 96
0	0	1	0,00	0,00	0,00	0,00	31,07	31,14	36,60
		2	0,00	0,00	0,00	16,68	44,23	44,15	51,03
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	26,97	39,65	35,50
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	5,56	34,09	38,31	41,05
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	9,63	9,02	6,61	8,67
0	2,8	1	0,00	0,00	0,00	1,90	34,53	38,75	35,27
		2	0,00	0,00	0,00	7,56	38,49	48,24	48,98
		3	0,00	0,00	0,00	5,23	30,24	31,24	39,63
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	4,90	34,42	39,41	41,29
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	2,84	4,13	8,52	7,00
0	5,6	1	0,00	0,00	0,00	3,13	44,26	43,40	41,92
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	39,74	38,54	41,79
		3	0,00	0,00	0,00	7,89	25,12	38,53	39,79
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	3,67	36,37	40,15	41,17
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	3,97	10,00	2,81	1,19
0	8,4	1	0,00	0,00	0,00	9,98	40,58	49,41	45,71
		2	0,00	0,00	4,41	13,81	35,83	43,62	43,88
		3	0,00	0,00	0,00	4,25	25,86	39,72	38,28
		MÉDIA	0,00	0,00	1,47	9,35	34,09	44,25	42,62
		DESVIO	0,00	0,00	2,55	4,81	7,51	4,87	3,87
20	0	1	0,00	0,00	0,00	0,00	28,97	45,34	40,56
		2	0,00	0,00	0,00	15,98	32,84	34,84	33,82
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	28,72	37,13	38,02
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	5,33	30,18	39,10	37,47
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	9,22	2,31	5,52	3,40
20	2,8	1	0,00	0,00	0,00	3,06	33,51	45,80	38,89
		2	0,00	0,00	0,00	12,89	23,12	41,75	41,97
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	39,93	45,41	48,95
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	5,32	32,19	44,32	43,27
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	6,74	8,49	2,23	5,15
20	5,6	1	0,00	0,00	0,00	0,00	32,31	44,66	42,94
		2	0,00	0,00	0,00	7,94	31,01	35,83	36,70
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	28,98	35,43	38,76
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	2,65	30,77	38,64	39,47
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	4,58	1,68	5,22	3,17
20	8,4	1	0,00	0,00	0,00	5,21	36,68	42,59	41,90
		2	0,00	0,00	0,00	10,89	33,55	30,19	36,57
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	30,75	25,37	32,38
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	5,37	33,66	32,72	36,95
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	5,45	2,96	8,88	4,77
40	0	1	0,00	0,00	0,00	0,00	29,19	37,72	37,01
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	19,65	39,61	38,19
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	34,26	40,23	41,09
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	27,70	39,19	38,76
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	7,41	1,31	2,10
40	2,8	1	0,00	0,00	0,00	0,00	38,40	36,56	43,30
		2	0,00	0,00	0,00	15,73	25,01	39,64	41,68
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	38,96	28,94	38,94
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	5,24	34,12	35,05	41,31
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	9,08	7,90	5,51	2,20
40	5,6	1	0,00	0,00	0,00	0,00	38,90	43,97	44,35
		2	0,00	0,00	0,00	2,75	27,59	26,20	34,90
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	32,86	31,87	43,47
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	19,56	27,76	24,68

Continuação do apêndice 4

		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	2,22	3,35	0,97
40	8,4	1	0,00	0,00	0,00	0,00	34,74	43,02	34,79
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	26,64	36,43	38,95
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	29,77	35,74	36,55
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	10,92	15,91	18,38
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,48	2,30
60	0	1	0,00	0,00	0,00	0,00	60,98	55,29	49,18
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	39,57	42,61	37,69
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	33,63	44,81	43,05
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	44,73	47,57	43,31
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	14,38	6,78	5,75
60	2,8	1	0,00	0,00	0,00	0,00	45,32	58,59	52,93
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	32,12	36,24	35,51
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	32,89	37,13	40,16
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	36,77	43,99	42,87
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	7,41	12,65	9,02
60	5,6	1	0,00	0,00	0,00	0,00	30,90	50,37	45,43
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	25,29	40,00	36,36
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	40,78	40,20	40,36
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	32,33	43,52	40,72
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	7,84	5,93	4,55
60	8,4	1	0,00	0,00	0,00	0,00	30,35	44,73	37,76
		2	0,00	0,00	0,00	0,00	26,93	37,60	35,06
		3	0,00	0,00	0,00	0,00	28,12	45,56	35,80
		MÉDIA	0,00	0,00	0,00	0,00	28,47	42,63	36,21
		DESVIO	0,00	0,00	0,00	0,00	1,74	4,37	1,40

Apêndice 5. Parâmetros de degradação da MO no ensaio 1

PARÂMETRO								
Milho (%)	PDR (%)	PER	A (%)	B (%)	C (%/h)	LAG (h)	DE 2% (%)	DE 5% (%)
0	0	1	31,14	44,77	0,0239	10,82	52,90	42,10
		2	32,00	46,93	0,0191	9,44	53,80	43,50
		3	33,11	30,86	0,0771	10,13	56,90	50,50
		MÉDIA	32,08	40,85	0,04	10,13	54,53	45,37
		DESVIO	0,99	8,72	0,03	0,69	2,10	4,50
0	2,8	1	32,32	38,29	0,0309	0,00	53,70	44,20
		2	30,53	68,40	0,0114	10,22	54,00	41,60
		3	30,18	33,88	0,0381	15,52	52,40	44,80
		MÉDIA	31,01	46,86	0,03	8,58	53,37	43,53
		DESVIO	1,15	18,79	0,01	7,89	0,85	1,70
0	5,6	1	28,24	46,33	0,0377	13,48	52,50	39,60
		2	32,58	41,62	0,0388	11,50	55,80	44,50
		3	23,66	41,90	0,0630	15,46	52,90	42,50
		MÉDIA	28,16	43,28	0,05	13,48	53,73	42,20
		DESVIO	4,46	2,64	0,01	1,98	1,80	2,46
0	8,4	1	23,96	46,93	0,0504	12,03	54,20	42,10
		2	29,50	49,92	0,0225	5,61	54,20	42,70
		3	19,11	44,95	0,0631	15,95	52,90	43,50
		MÉDIA	24,19	47,27	0,05	11,20	53,77	42,77
		DESVIO	5,20	2,50	0,02	5,22	0,75	0,70
20	0	1	34,05	43,37	0,0406	28,93	57,50	45,40
		2	27,52	48,19	0,0364	20,11	58,10	47,00

Continuação do apêndice 5

			3	29,33	45,56	0,0434	37,75	60,50	50,50
			MÉDIA	30,30	45,71	0,04	28,93	58,70	47,63
			DESVIO	3,37	2,41	0,00	8,82	1,59	2,61
20	2,8		1	22,66	48,68	0,0549	10,91	55,90	44,00
			2	27,54	51,47	0,0528	18,51	61,00	47,70
			3	24,65	53,60	0,0435	14,71	60,10	47,40
			MÉDIA	24,95	51,25	0,05	14,71	59,00	46,37
			DESVIO	2,45	2,47	0,01	3,80	2,72	2,06
20	5,6		1	26,11	48,41	0,0544	25,31	57,60	44,90
			2	37,35	41,90	0,0486	18,22	62,50	51,00
			3	36,17	41,83	0,0469	32,40	62,00	50,90
			MÉDIA	33,21	44,05	0,05	25,31	60,70	48,93
			DESVIO	6,18	3,78	0,00	7,09	2,70	3,49
20	8,4		1	39,27	49,53	0,0224	29,08	65,00	54,00
			2	37,46	43,91	0,0302	18,53	62,10	51,40
			3	24,92	50,80	0,0516	24,92	61,50	50,70
			MÉDIA	33,88	48,08	0,03	24,18	62,87	52,03
			DESVIO	7,82	3,67	0,02	5,31	1,87	1,74
40	0		1	22,99	59,65	0,1024	21,63	66,60	51,60
			2	42,60	47,96	0,0353	25,41	67,80	54,80
			3	42,24	36,90	0,0479	23,52	72,00	63,90
			MÉDIA	35,94	48,17	0,06	23,52	68,80	56,77
			DESVIO	11,22	11,38	0,04	1,89	2,84	6,38
40	2,8		1	35,67	48,05	0,0347	33,31	60,20	47,10
			2	33,78	43,51	0,0687	36,19	64,60	53,90
			3	31,11	48,97	0,0620	30,42	65,20	53,10
			MÉDIA	33,52	46,84	0,06	33,31	63,33	51,37
			DESVIO	2,29	2,92	0,02	2,88	2,73	3,72
40	5,6		1	43,43	45,76	0,0551	28,07	71,80	59,20
			2	45,36	45,25	0,0313	28,27	68,20	56,20
			3	44,72	38,70	0,0678	27,87	71,00	60,90
			MÉDIA	44,50	43,24	0,05	28,07	70,33	58,77
			DESVIO	0,98	3,94	0,02	0,20	1,89	2,38
40	8,4		1	16,93	74,96	0,0347	33,43	64,50	47,60
			2	17,33	70,58	0,0455	31,00	66,40	51,00
			3	22,91	62,37	0,0369	35,86	63,40	49,40
			MÉDIA	19,06	69,30	0,04	33,43	64,77	49,33
			DESVIO	3,34	6,39	0,01	2,43	1,52	1,70
60	0		1	35,92	56,68	0,0484	20,54	76,00	63,80
			2	43,35	47,00	0,0578	49,18	78,30	68,60
			3	29,35	60,19	0,0735	40,23	76,70	65,20
			MÉDIA	36,21	54,62	0,06	36,65	77,00	65,87
			DESVIO	7,00	6,83	0,01	14,65	1,18	2,47
60	2,8		1	6,66	82,95	0,0663	20,23	70,40	53,90
			2	39,00	55,14	0,0324	32,46	73,10	60,70
			3	26,18	67,22	0,0445	26,34	72,50	57,80
			MÉDIA	23,95	68,44	0,05	26,34	72,00	57,47
			DESVIO	16,29	13,94	0,02	6,11	1,42	3,41
60	5,6		1	27,21	66,06	0,0670	28,34	73,40	57,00
			2	43,37	54,37	0,0346	32,01	77,80	65,60
			3	27,21	65,31	0,0459	30,18	69,20	52,80

Continuação do apêndice 5

		MÉDIA	32,60	61,91	0,05	30,18	73,47	58,47
		DESVIO	9,33	6,54	0,02	1,84	4,30	6,52
60	8,4	1	38,79	53,45	0,0567	28,63	73,30	59,00
		2	48,86	47,90	0,0447	35,06	77,20	64,20
		3	41,65	49,58	0,0567	32,53	73,40	60,10
		MÉDIA	43,10	50,31	0,05	32,07	74,63	61,10
		DESVIO	5,19	2,85	0,01	3,24	2,22	2,74

Apêndice 6. Parâmetros de degradação da MO no ensaio 2

		PARÂMETRO						
Milho (%)	PDR (%)	PER	A (%)	B (%)	C (%/h)	LAG (h)	DE 2% (%)	DE 5% (%)
0	0	1	32,32	40,11	0,0397	5,63	53,70	42,60
		2	22,48	55,04	0,0348	3,29	56,80	44,00
		3	31,93	35,05	0,0470	4,46	49,60	39,40
		MÉDIA	28,91	43,40	0,04	4,46	53,37	42,00
		DESVIO	5,57	10,39	0,01	1,17	3,61	2,36
0	2,8	1	21,59	46,89	0,0377	0,00	49,50	37,60
		2	26,93	62,61	0,0178	5,00	56,40	43,40
		3	30,65	38,45	0,0343	5,00	52,40	42,60
		MÉDIA	26,39	49,32	0,03	3,33	52,77	41,20
		DESVIO	4,55	12,26	0,01	2,89	3,46	3,14
0	5,6	1	31,26	39,57	0,0482	4,81	51,90	40,30
		2	28,38	43,41	0,0482	4,81	52,30	39,80
		3	24,79	46,85	0,0375	4,81	53,10	41,40
		MÉDIA	28,14	43,28	0,04	4,81	52,43	40,50
		DESVIO	3,24	3,64	0,01	0,00	0,61	0,82
0	8,4	1	27,36	50,37	0,0354	5,01	55,30	42,10
		2	27,00	57,30	0,0235	7,27	57,90	45,30
		3	28,28	45,86	0,0291	2,10	53,70	42,50
		MÉDIA	27,55	51,18	0,03	4,79	55,63	43,30
		DESVIO	0,66	5,76	0,01	2,59	2,12	1,74
20	0	1	30,66	58,23	0,0183	20,25	57,70	45,20
		2	30,57	43,93	0,0385	18,56	59,40	49,60
		3	30,49	45,19	0,0428	19,41	55,80	43,30
		MÉDIA	30,57	49,12	0,03	19,41	57,63	46,03
		DESVIO	0,09	7,92	0,01	0,84	1,80	3,23
20	2,8	1	36,67	44,33	0,0278	18,11	61,20	50,60
		2	41,46	42,23	0,0223	12,44	63,70	54,50
		3	32,93	47,10	0,0427	8,79	59,90	47,00
		MÉDIA	37,02	44,55	0,03	13,11	61,60	50,70
		DESVIO	4,28	2,44	0,01	4,70	1,93	3,75
20	5,6	1	38,46	58,74	0,0142	17,27	62,80	51,40
		2	35,87	52,28	0,0252	24,74	65,00	53,40
		3	22,62	62,34	0,0287	9,80	59,40	45,40
		MÉDIA	32,32	57,79	0,02	17,27	62,40	50,07
		DESVIO	8,50	5,10	0,01	7,47	2,82	4,16
20	8,4	1	34,06	47,40	0,0356	12,65	64,40	53,80
		2	33,80	44,09	0,0900	11,97	67,70	58,10
		3	25,56	51,61	0,0397	11,28	59,10	47,20
		MÉDIA	31,14	47,70	0,06	11,97	63,73	53,03
		DESVIO	4,83	3,77	0,03	0,68	4,34	5,49

Continuação do apêndice 6

40	0	1	34,27	57,68	0,0199	22,38	62,60	50,10
		2	41,48	45,63	0,0280	26,63	67,30	56,60
		3	32,14	53,10	0,0492	18,13	67,20	54,00
		MÉDIA	35,96	52,14	0,03	22,38	65,70	53,57
		DESVIO	4,89	6,08	0,02	4,25	2,69	3,27
40	2,8	1	39,86	49,36	0,0274	21,33	67,90	56,70
		2	41,08	51,68	0,0314	15,90	72,70	61,00
		3	39,07	44,55	0,0454	10,47	65,60	53,60
		MÉDIA	40,00	48,53	0,03	15,90	68,73	57,10
		DESVIO	1,01	3,64	0,01	5,43	3,62	3,72
40	5,6	1	37,80	49,09	0,0482	23,78	67,80	54,50
		2	49,26	35,92	0,0573	38,52	73,70	64,80
		3	37,56	45,44	0,0591	21,47	66,90	54,70
		MÉDIA	41,54	43,48	0,05	27,92	69,47	58,00
		DESVIO	6,69	6,80	0,01	9,25	3,69	5,89
40	8,4	1	34,56	50,92	0,0408	0,00	68,60	57,30
		2	30,43	60,64	0,0339	22,53	68,60	54,90
		3	40,03	41,67	0,0632	32,17	69,00	58,70
		MÉDIA	35,01	51,08	0,05	18,23	68,73	56,97
		DESVIO	4,82	9,49	0,02	16,51	0,23	1,92
60	0	1	36,24	58,08	0,0663	35,83	78,00	64,30
		2	42,27	50,32	0,0687	41,84	81,10	71,10
		3	40,31	48,87	0,0386	37,63	76,00	67,80
		MÉDIA	39,61	52,42	0,06	38,43	78,37	67,73
		DESVIO	3,08	4,95	0,02	3,08	2,57	3,40
60	2,8	1	37,25	60,38	0,0423	20,19	74,40	58,90
		2	37,57	53,50	0,0733	43,57	75,70	62,50
		3	37,89	53,48	0,0759	40,45	75,10	61,30
		MÉDIA	37,57	55,79	0,06	34,74	75,07	60,90
		DESVIO	0,32	3,98	0,02	12,70	0,65	1,83
60	5,6	1	40,47	56,38	0,0536	29,96	76,40	61,40
		2	41,16	50,32	0,0798	27,57	74,70	60,80
		3	41,59	49,81	0,0653	30,69	73,50	59,70
		MÉDIA	41,07	52,17	0,07	29,40	74,87	60,63
		DESVIO	0,57	3,65	0,01	1,63	1,46	0,86
60	8,4	1	38,61	54,70	0,0548	30,98	74,00	59,60
		2	32,96	60,42	0,0624	31,83	74,20	58,90
		3	27,31	65,60	0,0523	30,33	73,10	58,10
		MÉDIA	32,96	60,24	0,06	31,05	73,77	58,87
		DESVIO	5,65	5,45	0,01	0,75	0,59	0,75

Apêndice 7. Parâmetros de degradação da FDN no ensaio 1

PARÂMETRO							
Milho (%)	PDR (%)	PER	B (%)	C (%/h)	LAG (h)	DE 2% (%)	DE 5% (%)
0	0	1	52,09	0,0305	3,78	31,47	19,74
		2	62,09	0,0158	2,62	27,39	14,90
		3	48,47	0,0154	3,83	21,10	11,42
		MÉDIA	54,22	0,02	3,41	26,65	15,35
		DESVIO	7,05	0,01	0,69	5,22	4,18
0	2,8	1	62,04	0,0186	5,15	29,86	16,79

Continuação apêndice 7

			2	76,36	0,0110	4,12	27,14	13,80
			3	56,55	0,0104	5,43	19,29	9,70
			MÉDIA	64,98	0,01	4,90	25,43	13,43
			DESVIO	10,23	0,00	0,69	5,49	3,56
0	5,6		1	64,06	0,0159	5,33	28,36	15,45
			2	58,58	0,0211	3,97	30,09	17,40
			3	69,93	0,0089	5,61	21,52	10,56
			MÉDIA	64,19	0,02	4,97	26,66	14,47
			DESVIO	5,68	0,01	0,88	4,53	3,52
0	8,4		1	61,30	0,0175	3,25	28,65	15,93
			2	60,71	0,0179	4,25	28,63	15,97
			3	54,18	0,0114	4,82	19,67	10,06
			MÉDIA	58,73	0,02	4,11	25,65	13,99
			DESVIO	3,95	0,00	0,79	5,18	3,40
20	0		1	59,38	0,0178	5,10	28,00	15,62
			2	46,74	0,0130	5,35	18,46	9,67
			3	46,74	0,0130	5,35	18,46	9,67
			MÉDIA	50,96	0,01	5,27	21,64	11,66
			DESVIO	7,30	0,00	0,14	5,51	3,43
20	2,8		1	48,22	0,0200	5,07	24,13	13,79
			2	53,29	0,0167	5,18	24,25	13,35
			3	46,90	0,0209	3,54	23,94	13,81
			MÉDIA	49,47	0,02	4,60	24,11	13,65
			DESVIO	3,38	0,00	0,92	0,16	0,26
20	5,6		1	49,47	0,0229	4,94	26,42	15,55
			2	43,00	0,0232	4,98	23,11	13,64
			3	55,82	0,0148	5,17	23,73	12,74
			MÉDIA	49,43	0,02	5,03	24,42	13,98
			DESVIO	6,41	0,00	0,12	1,76	1,43
20	8,4		1	66,59	0,0283	3,70	39,01	24,06
			2	59,86	0,0112	5,35	21,52	10,97
			3	87,77	0,0068	6,03	22,16	10,45
			MÉDIA	71,40	0,02	5,03	27,56	15,16
			DESVIO	14,57	0,01	1,20	9,92	7,71
40	0		1	70,24	0,0156	4,47	30,75	16,68
			2	79,81	0,0105	5,45	27,52	13,88
			3	37,80	0,0232	3,52	20,28	11,96
			MÉDIA	62,62	0,02	4,48	26,18	14,17
			DESVIO	22,02	0,01	0,97	5,36	2,37
40	2,8		1	67,51	0,0121	5,39	25,42	13,14
			2	84,91	0,0112	5,61	30,42	15,50
			3	43,17	0,0175	5,25	20,17	11,21
			MÉDIA	65,20	0,01	5,41	25,34	13,28
			DESVIO	20,97	0,00	0,18	5,12	2,15
40	5,6		1	77,44	0,0167	5,18	35,24	19,39
			2	67,86	0,0123	5,12	25,78	13,36
			3	38,34	0,0317	4,66	23,52	14,89
			MÉDIA	61,21	0,02	4,99	28,18	15,88
			DESVIO	20,38	0,01	0,28	6,22	3,14
40	8,4		1	64,16	0,0170	5,21	29,45	16,26
			2	65,63	0,0116	5,38	24,03	12,32
			3	43,37	0,0194	5,03	21,34	12,11
			MÉDIA	57,72	0,02	5,21	24,94	13,56
			DESVIO	12,45	0,00	0,18	4,13	2,34
60	0		1	76,46	0,0156	5,13	33,49	18,17
			2	56,19	0,0182	5,27	26,75	14,98
			3	45,88	0,0190	5,03	22,34	12,62
			MÉDIA	59,51	0,02	5,14	27,53	15,26

Continuação do apêndice 7

		DESVIO	15,56	0,00	0,12	5,61	2,78
60	2,8	1	73,28	0,0132	5,30	29,20	15,35
		2	63,58	0,0154	5,30	27,65	14,97
		3	53,13	0,0165	5,14	24,05	13,21
		MÉDIA	63,33	0,02	5,25	26,97	14,51
		DESVIO	10,07	0,00	0,09	2,64	1,14
60	5,6	1	86,13	0,0140	5,33	35,46	18,84
		2	89,40	0,0070	5,65	23,10	10,93
		3	71,73	0,0103	5,54	24,32	12,21
		MÉDIA	82,42	0,01	5,51	27,63	13,99
		DESVIO	9,40	0,00	0,16	6,81	4,24
60	8,4	1	70,64	0,0206	5,07	35,81	20,58
		2	71,00	0,0110	5,53	25,14	12,77
		3	73,40	0,0102	5,57	24,77	12,42
		MÉDIA	71,68	0,01	5,39	28,57	15,26
		DESVIO	1,50	0,01	0,28	6,27	4,62

Apêndice 8. Parâmetros de degradação da FDN no ensaio 2

PARÂMETRO							
Milho (%)	PDR (%)	PER	B (%)	C (%/h)	LAG (h)	DE 2% (%)	DE 5% (%)
0	0	1	52,36	0,0143	5,24	21,85	11,66
		2	56,46	0,0260	3,19	31,89	19,30
		3	58,09	0,0130	5,49	22,84	11,96
		MÉDIA	55,63	0,02	4,64	25,53	14,30
		DESVIO	2,95	0,01	1,26	5,53	4,33
0	2,8	1	47,04	0,0208	4,80	24,00	13,83
		2	66,59	0,0168	4,19	30,38	16,73
		3	54,97	0,0139	4,14	22,58	11,98
		MÉDIA	56,20	0,02	4,38	25,65	14,18
		DESVIO	9,84	0,00	0,37	4,15	2,39
0	5,6	1	53,08	0,0235	4,60	28,65	16,95
		2	55,26	0,0183	5,12	26,40	14,80
		3	64,00	0,0116	3,76	23,44	12,02
		MÉDIA	57,45	0,02	4,49	26,16	14,59
		DESVIO	5,78	0,01	0,69	2,61	2,47
0	8,4	1	57,67	0,0225	3,89	30,54	17,90
		2	51,15	0,0244	2,47	28,11	16,78
		3	62,92	0,0119	4,60	23,43	12,07
		MÉDIA	57,25	0,02	3,65	27,36	15,58
		DESVIO	5,89	0,01	1,08	3,61	3,09
20	0	1	68,58	0,0117	5,57	25,30	12,99
		2	37,57	0,0351	2,93	23,93	15,49
		3	62,51	0,0118	5,45	23,24	11,96
		MÉDIA	56,22	0,02	4,65	24,16	13,48
		DESVIO	16,43	0,01	1,49	1,05	1,82
20	2,8	1	55,22	0,0182	4,79	26,30	14,73
		2	68,36	0,0111	2,79	24,42	12,43
		3	73,70	0,0136	5,32	29,82	15,75
		MÉDIA	65,76	0,01	4,30	26,85	14,30
		DESVIO	9,51	0,00	1,34	2,74	1,70
20	5,6	1	70,66	0,0122	5,48	26,82	13,90
		2	45,56	0,0209	3,81	23,28	13,43
		3	64,99	0,0110	5,44	23,11	11,75
		MÉDIA	60,40	0,01	4,91	24,41	13,03
		DESVIO	13,16	0,01	0,95	2,10	1,13

Continuação do apêndice 8							
20	8,4	1	55,11	0,0192	4,39	26,99	15,29
		2	39,89	0,0269	3,34	22,87	13,94
		3	41,31	0,0177	5,07	19,42	10,82
		MÉDIA	45,44	0,02	4,27	23,09	13,35
		DESVIO	8,41	0,00	0,87	3,79	2,29
40	0	1	58,02	0,0133	5,40	23,16	12,18
		2	86,60	0,0071	6,22	22,77	10,81
		3	60,45	0,0147	5,32	25,63	13,75
		MÉDIA	68,36	0,01	5,65	23,85	12,25
		DESVIO	15,85	0,00	0,50	1,55	1,47
40	2,8	1	59,16	0,0158	5,18	26,07	14,18
		2	55,82	0,0154	2,41	24,32	13,17
		3	47,71	0,0192	4,99	23,34	13,22
		MÉDIA	54,23	0,02	4,19	24,58	13,52
		DESVIO	5,88	0,00	1,54	1,38	0,57
40	5,6	1	62,97	0,0161	5,25	28,12	15,36
		2	62,97	0,0161	5,25	28,12	15,36
		3	75,44	0,0095	5,32	24,24	12,01
		MÉDIA	39,99	0,01	5,44	16,07	8,53
		DESVIO	4,42	0,00	0,10	1,22	1,02
40	8,4	1	49,33	0,0202	5,16	24,81	14,21
		2	75,32	0,0089	5,57	23,13	11,34
		3	55,31	0,0139	5,34	22,67	12,03
		MÉDIA	47,93	0,01	5,82	10,51	4,86
		DESVIO	18,22	0,00	0,25	1,98	0,78
60	0	1	64,19	0,0260	4,87	36,27	21,94
		2	51,32	0,0210	5,06	26,29	15,18
		3	67,74	0,0133	5,43	27,09	14,26
		MÉDIA	61,08	0,02	5,12	29,88	17,13
		DESVIO	8,64	0,01	0,28	5,54	4,20
60	2,8	1	78,05	0,0161	5,32	34,76	18,97
		2	49,69	0,0171	5,22	22,92	12,68
		3	60,20	0,0137	5,32	24,46	12,93
		MÉDIA	62,65	0,02	5,29	27,38	14,86
		DESVIO	14,34	0,00	0,06	6,43	3,56
60	5,6	1	83,94	0,0104	5,65	28,66	14,42
		2	65,39	0,0108	5,61	22,94	11,62
		3	53,04	0,0202	5,07	26,65	15,26
		MÉDIA	67,46	0,01	5,44	26,08	13,77
		DESVIO	15,55	0,01	0,32	2,90	1,91
60	8,4	1	59,14	0,0148	5,43	25,13	13,49
		2	56,68	0,0129	5,46	22,25	11,64
		3	57,51	0,0148	5,48	24,43	13,12
		MÉDIA	57,78	0,01	5,46	23,94	12,75
		DESVIO	1,25	0,00	0,03	1,50	0,98

Apêndice 9. Concentração de N-NH₃ (mg/dl) nos diferentes horários de incubação do ensaio 1

		N-NH ₃ (mg/dl)									
Milho (%)	PDR (%)	REP	HORA 0	HORA 4	HORA 8	HORA 16	HORA 48	HORA 72	HORA 96	MÉDIA	
0	0	1	2,13	10,51	12,33	8,06	9,01	10,14	10,81	9,00	
		2	3,90	8,88	12,91	16,05	11,56	6,67	7,32	9,61	
		3	5,05	7,88	9,71	7,38	7,07	14,80	6,04	8,28	
		MÉDIA	3,70	9,09	11,65	10,50	9,21	10,54	8,06	8,96	
		DESVIO	1,47	1,33	1,70	4,82	2,25	4,08	2,47	0,67	
0	2,8	1	8,72	10,96	11,76	17,70	10,92	12,61	16,50	12,74	
		2	7,89	11,41	8,60	9,69	13,24	10,85	13,89	10,80	
		3	3,50	8,41	12,19	18,97	13,57	12,96	8,80	11,20	
		MÉDIA	6,70	10,26	10,85	15,45	12,58	12,14	13,06	11,58	
		DESVIO	2,81	1,62	1,96	5,03	1,45	1,13	3,92	1,02	
0	5,6	1	8,09	12,53	14,52	16,35	8,73	14,33	15,75	12,90	
		2	7,00	14,25	15,60	14,92	17,72	15,61	17,88	14,71	
		3	5,11	13,46	12,40	13,74	14,10	13,42	15,15	12,48	
		MÉDIA	6,73	13,42	14,17	15,01	13,51	14,46	16,26	13,37	
		DESVIO	1,51	0,86	1,63	1,31	4,53	1,10	1,44	1,19	
0	8,4	1	10,89	22,79	21,10	26,18	27,69	25,29	27,95	23,13	
		2	7,41	23,19	23,61	23,81	22,51	23,67	24,64	21,26	
		3	3,14	10,77	9,08	15,93	15,72	19,39	18,83	13,27	
		MÉDIA	7,15	18,92	17,93	21,97	21,97	22,79	23,80	19,22	
		DESVIO	3,88	7,06	7,77	5,37	6,00	3,05	4,62	5,24	
20	0	1	8,58	11,41	9,71	9,50	6,11	11,13	13,55	10,00	
		2	5,53	8,81	9,57	9,77	8,88	9,95	14,16	9,52	
		3	4,35	8,37	4,35	4,98	12,75	14,41	9,86	8,44	
		MÉDIA	6,15	9,53	7,88	8,08	9,25	11,83	12,52	9,32	
		DESVIO	2,19	1,64	3,06	2,69	3,34	2,31	2,33	0,80	
20	2,8	1	6,89	12,46	12,05	13,06	10,28	17,53	16,30	12,65	
		2	4,97	14,44	18,45	11,37	12,51	12,08	15,12	12,70	
		3	6,06	11,27	10,81	9,43	10,46	10,81	13,92	10,39	
		MÉDIA	5,97	12,72	13,77	11,29	11,08	13,48	15,11	11,92	
		DESVIO	0,96	1,60	4,10	1,81	1,24	3,57	1,19	1,32	
20	5,6	1	4,98	13,39	15,30	15,00	12,82	13,36	8,65	11,93	
		2	7,30	17,69	13,82	15,65	17,40	20,62	15,49	15,42	
		3	4,30	10,32	21,58	10,48	19,68	20,42	15,54	14,62	
		MÉDIA	5,53	13,80	16,90	13,71	16,63	18,13	13,23	13,99	
		DESVIO	1,57	3,70	4,12	2,82	3,49	4,13	3,96	1,83	
20	8,4	1	9,09	17,17	24,60	17,88	24,05	23,43	22,27	19,79	
		2	8,12	18,21	22,71	23,31	22,52	24,99	21,25	20,16	
		3	2,93	10,99	18,76	13,60	15,08	11,83	12,68	12,27	
		MÉDIA	6,71	15,46	22,02	18,26	20,55	20,09	18,73	17,40	
		DESVIO	3,31	3,90	2,98	4,87	4,80	7,19	5,27	4,45	
40	0	1	6,54	12,19	12,01	8,79	6,11	9,32	24,51	11,35	
		2	6,36	9,95	9,35	4,94	13,54	17,27	7,45	9,84	
		3	1,59	9,84	8,73	4,84	4,31	6,71	6,29	6,04	
		MÉDIA	4,83	10,66	10,03	6,19	7,99	11,10	12,75	9,08	
		DESVIO	2,81	1,32	1,74	2,25	4,89	5,50	10,20	2,73	
40	2,8	1	12,61	17,25	12,23	14,03	16,35	17,55	12,96	14,71	
		2	9,73	13,62	14,74	17,58	16,54	16,99	14,65	14,84	
		3	8,80	12,38	11,69	7,52	14,55	8,30	4,06	9,62	
		MÉDIA	10,38	14,42	12,89	13,05	15,81	14,28	10,56	13,05	
		DESVIO	1,99	2,53	1,63	5,10	1,09	5,19	5,69	2,98	
40	5,6	1	8,94	14,93	19,52	14,93	15,75	18,24	18,15	15,78	
		2	7,18	15,04	13,24	18,18	15,71	18,90	18,90	15,31	
		3	4,15	12,98	17,38	11,48	20,69	13,57	10,67	12,99	
		MÉDIA	6,76	14,32	16,72	14,86	17,39	16,90	15,91	14,69	

Continuação do apêndice 9

		DESVIO	2,42	1,16	3,19	3,35	2,86	2,91	4,55	1,49
40	8,4	1	4,35	17,94	20,07	19,73	15,86	20,28	23,61	17,41
		2	8,90	14,14	17,21	11,37	16,58	13,39	25,29	15,27
		3	3,00	10,92	13,88	13,25	14,41	16,50	20,42	13,20
		MÉDIA	5,42	14,33	17,06	14,78	15,62	16,72	23,11	15,29
		DESVIO	3,09	3,52	3,10	4,38	1,10	3,45	2,48	2,10
60	0	1	8,04	11,67	11,06	6,70	7,82	16,37	11,56	10,46
		2	7,41	9,73	8,46	3,14	10,02	13,18	6,46	8,34
		3	3,46	8,44	8,58	4,31	8,34	9,40	5,94	6,92
		MÉDIA	6,30	9,95	9,37	4,72	8,72	12,98	7,99	8,58
		DESVIO	2,48	1,63	1,47	1,81	1,15	3,49	3,11	1,78
60	2,8	1	6,97	15,00	10,57	10,66	10,14	13,66	15,37	11,77
		2	4,71	16,09	11,82	9,13	9,95	19,38	10,49	11,65
		3	3,50	11,13	10,99	7,74	10,99	12,89	15,58	10,40
		MÉDIA	5,06	14,07	11,13	9,18	10,36	15,31	13,81	11,27
		DESVIO	1,76	2,61	0,64	1,46	0,55	3,55	2,88	0,76
60	5,6	1	9,35	15,68	15,08	13,43	18,30	19,04	18,22	15,59
		2	6,36	18,11	21,78	10,40	20,50	18,69	21,94	16,82
		3	6,46	12,05	13,44	8,44	9,86	17,98	15,90	12,02
		MÉDIA	7,39	15,28	16,77	10,76	16,22	18,57	18,68	14,81
		DESVIO	1,70	3,05	4,42	2,51	5,62	0,54	3,05	2,50
60	8,4	1	8,42	16,42	22,56	18,45	20,69	19,54	22,86	18,42
		2	9,50	21,03	21,33	13,92	24,47	23,85	21,73	19,40
		3	3,18	16,89	18,90	16,43	25,29	20,52	16,82	16,86
		MÉDIA	7,03	18,11	20,93	16,26	23,48	21,30	20,47	18,23
		DESVIO	3,38	2,53	1,86	2,27	2,45	2,26	3,21	1,28

Apêndice 10. Concentração de N-NH₃ (mg/dl) nos diferentes horários de incubação do ensaio 2

		N-NH ₃ (mg/dl)									
Milho (%)	PDR (%)	REP	HORA 0	HORA 4	HORA 8	HORA 16	HORA 48	HORA 72	HORA 96	MÉDIA	
0	0	1	7,17	9,62	4,42	11,01	10,66	13,36	10,63	9,55	
		2	6,81	10,10	10,70	6,21	11,22	15,65	10,99	10,24	
		3	2,19	9,61	10,02	9,64	5,86	8,90	2,86	7,01	
		MÉDIA	5,39	9,78	8,38	8,96	9,25	12,64	8,16	8,94	
		DESVIO	2,78	0,28	3,44	2,47	2,95	3,43	4,59	1,70	
0	2,8	1	7,60	10,36	12,16	11,04	9,02	15,45	14,63	11,46	
		2	6,96	8,98	10,93	8,01	14,82	16,78	17,06	11,93	
		3	5,72	9,89	9,50	12,64	13,32	13,71	12,96	11,11	
		MÉDIA	6,76	9,74	10,86	10,56	12,38	15,31	14,88	11,50	
		DESVIO	0,95	0,70	1,33	2,35	3,01	1,54	2,06	0,41	
0	5,6	1	6,92	11,86	11,49	8,87	13,21	16,72	17,25	12,33	
		2	5,61	11,15	11,07	13,39	14,29	13,60	18,19	12,47	
		3	4,63	10,56	9,96	7,17	11,40	14,87	11,83	10,06	
		MÉDIA	5,72	11,19	10,84	9,81	12,97	15,07	15,76	11,62	
		DESVIO	1,15	0,65	0,79	3,22	1,46	1,57	3,43	1,35	
0	8,4	1	8,34	10,78	12,46	14,86	17,17	24,13	24,46	16,03	
		2	8,23	14,97	12,16	14,14	20,13	24,21	16,24	15,72	
		3	6,15	10,28	10,63	10,17	16,43	14,41	17,13	12,17	
		MÉDIA	7,57	12,01	11,75	13,06	17,91	20,92	19,28	14,64	
		DESVIO	1,24	2,57	0,98	2,52	1,96	5,63	4,51	2,14	
20	0	1	5,60	8,67	11,02	8,01	12,08	12,99	14,89	10,47	
		2	3,97	10,63	9,95	4,34	12,80	15,79	15,61	10,44	
		3	5,51	14,41	9,01	5,51	9,28	10,00	7,88	8,80	

Continuação do apêndice 10

		MÉDIA	5,02	11,24	9,99	5,96	11,39	12,93	12,79	9,90
		DESVIO	0,92	2,92	1,01	1,88	1,86	2,90	4,27	0,96
20	2,8	1	5,72	15,30	12,23	12,83	12,31	16,62	15,12	12,88
		2	4,94	10,03	9,35	14,52	10,25	13,04	15,08	11,03
		3	2,15	11,76	14,13	9,43	12,68	17,56	18,05	12,25
		MÉDIA	4,27	12,36	11,91	12,26	11,75	15,74	16,08	12,05
		DESVIO	1,88	2,69	2,41	2,59	1,31	2,39	1,70	0,94
20	5,6	1	7,52	15,83	15,34	11,57	20,54	19,72	24,92	16,49
		2	5,54	10,78	13,02	8,61	16,51	16,78	22,22	13,35
		3	2,23	14,73	9,04	9,15	15,86	18,19	17,88	12,44
		MÉDIA	5,09	13,78	12,47	9,78	17,64	18,23	21,67	14,09
		DESVIO	2,68	2,66	3,18	1,58	2,53	1,47	3,55	2,13
20	8,4	1	12,46	11,71	17,40	15,90	21,59	26,26	14,59	17,13
		2	4,79	11,60	12,05	14,52	24,77	18,03	12,12	13,98
		3	3,50	11,02	12,08	8,83	17,95	15,47	20,31	12,74
		MÉDIA	6,92	11,44	13,84	13,08	21,43	19,92	15,68	14,62
		DESVIO	4,84	0,37	3,08	3,75	3,41	5,64	4,20	2,26
40	0	1	7,45	9,36	13,85	12,76	5,73	9,24	10,03	9,77
		2	5,54	9,50	10,93	9,20	6,73	11,04	11,98	9,27
		3	2,15	9,47	10,49	14,27	8,23	15,01	16,43	10,87
		MÉDIA	5,05	9,44	11,76	12,08	6,90	11,76	12,81	9,97
		DESVIO	2,68	0,07	1,83	2,60	1,26	2,95	3,28	0,81
40	2,8	1	7,67	13,43	13,66	11,11	14,18	13,40	16,65	12,87
		2	5,54	14,29	10,40	8,01	15,41	14,45	14,48	11,80
		3	5,72	10,46	10,53	6,64	15,40	13,39	15,79	11,13
		MÉDIA	6,31	12,73	11,53	8,59	15,00	13,75	15,64	11,93
		DESVIO	1,18	2,01	1,84	2,29	0,71	0,61	1,09	0,88
40	5,6	1	7,89	12,54	14,40	10,59	15,98	18,37	15,75	13,65
		2	6,21	9,73	10,40	9,65	11,75	18,40	17,49	11,95
		3	2,08	8,62	10,00	11,15	16,04	20,74	17,88	12,36
		MÉDIA	5,40	10,30	11,60	10,46	14,59	19,17	17,04	12,65
		DESVIO	2,99	2,02	2,44	0,76	2,46	1,36	1,13	0,89
40	8,4	1	7,89	14,92	15,83	14,99	21,14	25,67	28,06	18,36
		2	9,99	11,45	10,93	8,08	16,31	23,85	17,77	14,05
		3	4,24	10,49	11,80	9,29	18,93	22,57	26,74	14,87
		MÉDIA	7,37	12,29	12,85	10,79	18,80	24,03	24,19	15,76
		DESVIO	2,91	2,33	2,61	3,69	2,42	1,55	5,60	2,29
60	0	1	4,90	15,68	16,13	8,46	7,67	9,67	14,30	10,97
		2	2,15	9,89	8,51	5,51	7,21	12,57	7,63	7,64
		3	2,68	15,51	6,08	7,35	7,95	16,64	11,90	9,73
		MÉDIA	3,25	13,69	10,24	7,10	7,61	12,96	11,28	9,45
		DESVIO	1,46	3,29	5,25	1,49	0,37	3,50	3,38	1,68
60	2,8	1	7,07	13,65	12,91	11,49	13,21	18,82	21,25	14,06
		2	2,51	9,40	10,92	6,70	13,04	12,86	15,26	10,10
		3	8,69	9,47	12,93	6,56	8,69	19,39	18,40	12,02
		MÉDIA	6,09	10,84	12,25	8,25	11,64	17,02	18,31	12,06
		DESVIO	3,21	2,43	1,16	2,80	2,56	3,62	3,00	1,98
60	5,6	1	8,04	12,76	14,70	12,46	14,16	19,17	17,41	14,10
		2	6,63	14,10	11,27	15,72	12,01	26,18	10,60	13,79
		3	5,51	10,49	17,24	13,32	14,84	19,32	10,03	12,96
		MÉDIA	6,73	12,45	14,40	13,83	13,67	21,56	12,68	13,62
		DESVIO	1,27	1,82	3,00	1,69	1,48	4,00	4,11	0,59
60	8,4	1	11,26	11,40	14,63	11,56	23,83	21,63	28,66	17,57
		2	4,56	9,57	10,49	17,84	20,56	15,97	20,03	14,15
		3	4,35	9,86	14,13	11,30	14,22	23,07	18,48	13,63
		MÉDIA	6,72	10,28	13,08	13,57	19,54	20,22	22,39	15,11
		DESVIO	3,93	0,98	2,26	3,70	4,89	3,75	5,49	2,14

Apêndice 11. Produção cumulativa de gás *in vitro* (ml/g de MO incubada) nos diferentes horários de leitura (1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 e 96 horas)

Produção cumulativa de gás (ml/g MO incubada)																
Milho (%)	PDR (%)	Fonte	PER	Hora 1	Hora 3	Hora 6	Hora 9	Hora 12	Hora 18	Hora 24	Hora 30	Hora 36	Hora 48	Hora 60	Hora 72	Hora 96
0	0	URÉIA	1	1,74	5,46	8,35	14,69	19,84	29,39	39,26	48,38	57,35	74,07	81,02	88,30	93,00
			2	0,35	1,66	6,70	13,32	16,71	21,69	30,29	42,36	46,82	54,91	62,08	69,42	86,83
			3	1,34	3,22	7,07	11,80	15,47	21,26	28,11	34,89	46,11	58,76	67,16	74,35	85,70
		MÉDIA		1,14	3,45	7,38	13,27	17,34	24,11	32,56	41,87	50,09	62,58	70,09	77,36	88,51
		DESVIO		0,72	1,91	0,86	1,45	2,25	4,58	5,91	6,76	6,30	10,14	9,80	9,79	3,93
0	2,8	URÉIA	1	0,26	1,92	2,52	11,74	14,79	19,64	27,01	42,34	53,00	72,03	85,39	90,51	103,29
			2	1,58	3,56	10,81	15,29	21,16	26,01	31,56	39,39	50,49	69,36	81,28	86,80	97,53
			3	0,39	2,57	7,16	15,30	18,83	22,14	28,52	41,01	53,51	70,20	83,99	95,85	110,86
		MÉDIA		0,74	2,68	6,83	14,11	18,26	22,60	29,03	40,91	52,33	70,53	83,55	91,05	103,89
		DESVIO		0,73	0,82	4,16	2,05	3,22	3,21	2,32	1,47	1,62	1,36	2,09	4,55	6,69
0	5,6	URÉIA	1	0,14	2,96	4,92	10,43	14,15	20,58	28,18	42,83	53,04	65,55	79,10	85,04	95,25
			2	0,69	2,35	6,56	11,69	18,03	23,81	31,56	38,55	49,31	67,47	79,44	83,84	94,89
			3	1,36	5,35	11,15	17,18	19,33	23,56	30,79	38,23	49,51	63,94	77,54	90,81	107,16
		MÉDIA		0,73	3,55	7,55	13,10	17,17	22,65	30,18	39,87	50,62	65,65	78,69	86,57	99,10
		DESVIO		0,61	1,58	3,23	3,59	2,69	1,80	1,77	2,57	2,10	1,77	1,01	3,73	6,98
0	8,4	URÉIA	1	0,00	4,19	7,68	14,11	17,78	25,28	33,64	47,54	58,20	68,52	81,29	87,33	91,27
			2	1,70	3,61	8,17	11,96	18,27	23,81	28,38	39,85	49,69	66,95	81,76	87,34	95,48
			3	1,11	3,99	9,79	15,22	17,22	23,14	27,87	39,87	50,95	61,08	73,35	87,30	102,50
		MÉDIA		0,94	3,93	8,55	13,76	17,76	24,08	29,96	42,42	52,95	65,52	78,80	87,32	96,42
		DESVIO		0,86	0,29	1,11	1,66	0,53	1,09	3,20	4,43	4,59	3,92	4,73	0,02	5,67
20	0	URÉIA	1	2,11	7,00	9,98	16,67	21,71	40,79	56,93	74,31	90,75	103,00	110,60	119,14	132,71
			2	3,53	5,86	9,55	19,48	27,34	46,00	61,05	73,07	80,98	90,98	98,22	108,20	123,94
			3	1,16	4,83	10,33	15,25	20,82	38,31	58,87	66,53	79,84	89,31	96,82	105,73	118,03
		MÉDIA		0,23	3,18	9,69	17,47	24,15	35,37	45,87	56,36	66,97	83,12	101,09	108,34	120,38
		DESVIO		0,22	1,11	1,59	2,49	0,44	1,08	2,08	2,41	2,39	6,06	7,73	8,12	6,15
20	2,8	URÉIA	1	0,00	3,94	11,22	16,48	19,58	28,73	42,34	55,50	69,91	91,11	107,84	113,32	115,70

Continuação do apêndice 11

20	5,6	URÉIA	0,40	3,10	9,04	15,75	26,01	38,84	52,37	61,40	71,47	84,97	97,58	104,64	112,00
			1,09	4,46	12,46	19,79	24,37	32,64	43,86	53,30	66,52	82,37	98,83	107,48	120,19
			0,50	3,83	10,90	17,34	23,32	33,41	46,19	56,73	69,30	86,15	101,42	108,48	115,96
			0,55	0,69	1,73	2,15	3,34	5,09	5,41	4,19	2,53	4,49	5,60	4,42	4,10
			0,00	2,70	5,48	10,66	13,68	21,64	36,29	49,63	68,23	81,00	97,13	102,45	106,61
			0,00	2,70	7,91	13,92	22,94	35,89	44,16	52,70	62,17	72,70	85,23	91,91	100,77
			1,29	3,81	12,27	17,49	22,97	30,46	38,63	47,46	62,43	78,23	93,12	100,65	110,54
			0,43	3,07	8,55	14,02	19,87	29,33	39,69	49,93	64,28	77,31	91,83	98,34	105,97
			0,74	0,64	3,44	3,42	5,35	7,19	4,04	2,63	3,43	4,23	6,05	5,64	4,92
20	8,4	URÉIA	0,00	1,88	6,51	11,82	18,92	27,80	41,72	55,61	74,82	82,61	96,76	102,07	111,39
			0,35	3,04	7,63	13,19	20,92	33,86	46,67	57,12	68,23	80,79	93,14	98,80	105,33
			0,77	3,92	10,25	15,80	21,69	28,92	36,41	55,24	67,73	82,80	96,15	102,80	115,74
			0,37	2,95	8,13	13,60	20,51	30,19	41,60	55,99	70,26	82,07	95,35	101,22	110,82
			0,39	1,02	1,92	2,02	1,43	3,22	5,13	1,00	3,96	1,11	1,93	2,14	5,23
40	0	URÉIA	1,21	7,93	11,99	20,53	26,58	43,28	75,42	87,12	93,59	103,78	111,33	119,75	131,52
			2,05	5,27	7,13	11,41	20,05	43,24	63,88	80,77	90,81	100,48	108,71	114,81	121,30
			0,68	3,67	8,72	17,73	29,52	51,05	63,78	78,08	87,84	99,38	105,56	111,92	119,37
			1,31	5,62	9,28	16,56	25,39	45,85	67,69	81,99	90,75	101,21	108,54	115,49	124,06
			0,69	2,15	2,48	4,67	4,85	4,50	6,69	4,65	2,88	2,29	2,89	3,96	6,53
40	2,8	URÉIA	0,38	3,21	9,45	16,24	24,26	39,65	56,22	73,60	84,27	107,30	122,71	134,91	139,52
			0,69	3,61	8,90	17,69	30,00	49,19	68,76	82,71	92,49	102,44	120,52	128,61	135,74
			0,70	3,10	12,75	20,85	27,91	42,99	56,86	71,30	80,41	99,54	114,14	121,93	128,84
			0,59	3,31	10,37	18,26	27,39	43,94	60,61	75,87	85,73	103,09	119,12	128,48	134,70
			0,18	0,27	2,08	2,36	2,90	4,84	7,06	6,03	6,17	3,92	4,45	6,49	5,41
40	5,6	URÉIA	0,38	5,15	10,55	17,75	23,67	38,20	52,44	70,06	81,31	104,18	121,26	130,21	139,95
			0,57	3,78	10,13	21,30	27,86	44,74	67,94	81,97	91,55	110,91	125,46	135,08	136,83
			0,43	3,08	10,40	16,34	23,78	39,64	49,98	63,97	74,41	93,54	111,50	118,40	130,59
			0,46	4,01	10,36	18,46	25,10	40,86	56,79	72,00	82,42	102,88	119,40	127,90	135,79
			0,09	1,05	0,21	2,55	2,39	3,44	9,74	9,15	8,62	8,76	7,16	8,58	4,76

Continuação do Apêndice 11

40	8,4	URÉIA	1	0,14	4,72	7,96	15,10	21,13	37,92	57,99	75,99	90,64	115,95	129,79	139,68	146,03
			2	0,69	3,61	8,68	17,26	28,15	41,28	64,52	76,05	84,36	102,64	111,86	121,41	126,56
			3	1,24	4,11	8,72	14,92	21,38	33,45	55,46	74,43	88,22	104,91	118,03	124,48	133,31
		MÉDIA		0,69	4,15	8,45	15,76	23,55	37,55	59,32	75,49	87,74	107,83	119,89	128,52	135,30
		DESVIO		0,55	0,56	0,43	1,30	3,99	3,93	4,67	0,92	3,17	7,12	9,11	9,79	9,89
60	0	URÉIA	1	5,34	15,43	20,74	34,60	43,55	80,24	113,53	129,79	141,04	149,19	162,56	171,96	178,63
			2	1,58	5,37	10,05	19,94	29,75	58,26	83,86	98,63	113,15	123,12	133,80	142,19	150,74
			3	1,24	3,78	8,61	21,83	32,96	52,03	77,33	91,27	102,73	114,69	127,03	138,16	148,17
		MÉDIA		2,72	8,19	13,13	25,45	35,42	63,51	91,57	106,56	118,97	129,00	141,13	150,77	159,18
		DESVIO		2,28	6,32	6,62	7,97	7,22	14,82	19,29	20,45	19,81	17,99	18,86	18,46	16,90
60	2,8	URÉIA	1	3,61	7,10	11,26	21,55	29,68	57,82	92,31	118,25	135,63	153,63	166,27	175,65	182,05
			2	1,70	5,31	11,71	24,48	36,97	60,34	93,64	110,53	123,90	141,25	150,01	159,12	165,85
			3	0,73	3,60	10,31	22,03	31,56	52,15	88,43	116,45	127,60	144,30	156,31	164,58	170,20
		MÉDIA		2,01	5,34	11,09	22,69	32,74	56,77	91,46	115,08	129,04	146,39	157,53	166,45	172,70
		DESVIO		1,46	1,75	0,72	1,57	3,79	4,19	2,71	4,04	6,00	6,45	8,20	8,42	8,38
60	5,6	URÉIA	1	0,00	4,31	8,47	22,10	35,55	77,78	107,22	124,60	132,52	143,02	148,93	155,28	158,05
			2	0,57	4,43	10,52	22,33	31,74	65,20	91,65	109,67	118,09	126,86	132,82	140,99	144,75
			3	0,90	3,52	9,15	16,95	30,89	63,76	89,78	102,13	110,26	121,85	127,25	139,31	139,69
		MÉDIA		0,49	4,09	9,38	20,46	32,72	68,91	96,22	112,13	120,29	130,58	136,34	145,20	147,49
		DESVIO		0,46	0,49	1,05	3,04	2,48	7,71	9,57	11,44	11,29	11,06	11,26	8,78	9,48
60	8,4	URÉIA	1	0,00	1,00	6,99	19,96	35,06	86,85	118,50	129,24	134,86	139,53	142,31	145,71	147,72
			2	0,47	4,11	9,98	21,92	30,58	61,36	88,60	106,12	117,33	125,36	128,19	135,20	138,51
			3	0,97	3,17	7,29	18,50	31,27	65,32	90,09	99,65	106,27	116,07	124,22	132,01	147,44
		MÉDIA		0,48	2,76	8,09	20,13	32,30	71,18	99,06	111,67	119,49	126,99	131,57	137,64	144,56
		DESVIO		0,48	1,60	1,65	1,72	2,41	13,72	16,85	15,56	14,42	11,81	9,51	7,17	5,24
0	0	PIS	1	1,74	5,46	8,35	14,69	19,84	29,39	39,26	48,38	57,35	74,07	81,02	88,30	93,00
			2	0,35	1,66	6,70	13,32	16,71	21,69	30,29	42,36	46,82	54,91	62,08	69,42	86,83
			3	1,34	3,22	7,07	11,80	15,47	21,26	28,11	34,89	46,11	58,76	67,16	74,35	85,70
		MÉDIA		1,14	3,45	7,38	13,27	17,34	24,11	32,56	41,87	50,09	62,58	70,09	77,36	88,51

Continuação do Apêndice 11

20	8,4	PIS	MÉDIA	1,00	4,87	9,25	14,68	21,19	32,72	45,07	55,08	66,69	77,13	85,05	93,05	106,33
			DESVIO	0,08	1,76	1,75	2,25	3,35	3,18	4,31	4,23	5,70	5,96	4,53	4,05	6,95
				1	4,48	7,04	13,73	22,57	36,84	51,55	63,28	75,94	87,01	92,69	99,32	109,05
				2	4,10	6,85	11,09	17,78	31,37	45,74	55,16	62,69	71,37	79,67	87,33	97,43
				3	4,94	10,00	17,38	25,72	37,98	44,56	51,66	62,86	73,25	79,10	84,98	98,88
			MÉDIA	1,38	4,51	7,96	14,07	22,02	35,40	47,28	56,70	67,17	77,21	83,82	90,54	101,79
			DESVIO	0,31	0,42	1,76	3,16	4,00	3,53	3,74	5,96	7,60	8,54	7,69	7,69	6,33
40	0	PIS		1	7,93	11,99	20,53	26,58	43,28	75,42	87,12	93,59	103,78	111,33	119,75	131,52
				2	5,27	7,13	11,41	20,05	43,24	63,88	80,77	90,81	100,48	108,71	114,81	121,30
				3	3,67	8,72	17,73	29,52	51,05	63,78	78,08	87,84	99,38	105,56	111,92	119,37
			MÉDIA	1,31	5,62	9,28	16,56	25,39	45,85	67,69	81,99	90,75	101,21	108,54	115,49	124,06
			DESVIO	0,69	2,15	2,48	4,67	4,85	4,50	6,69	4,65	2,88	2,29	2,89	3,96	6,53
40	2,8	PIS		1	8,57	13,30	24,42	31,40	53,67	80,27	93,25	101,23	111,29	119,76	127,77	139,34
				2	3,86	5,24	17,42	26,70	47,85	71,63	88,97	98,98	110,06	119,03	126,29	135,15
				3	5,16	9,59	19,26	28,36	49,38	76,84	87,11	96,78	105,46	113,91	120,36	128,01
			MÉDIA	1,79	5,87	9,38	20,37	28,82	50,30	76,24	89,77	99,00	108,94	117,57	124,81	134,17
			DESVIO	1,12	2,43	4,04	3,63	2,39	3,02	4,35	3,15	2,23	3,08	3,19	3,92	5,72
40	5,6	PIS		1	8,89	18,98	27,77	34,63	56,76	80,65	97,08	103,56	113,70	121,41	127,85	134,71
				2	4,53	7,87	16,84	25,51	53,82	81,37	93,69	102,78	111,86	119,27	127,26	133,59
				3	4,79	10,22	25,00	39,70	60,61	75,34	91,13	101,57	109,94	119,05	126,75	134,41
			MÉDIA	2,01	6,07	12,35	23,20	33,28	57,06	79,12	93,97	102,64	111,83	119,91	127,29	134,24
			DESVIO	1,21	2,44	5,85	5,68	7,19	3,41	3,30	2,99	1,00	1,88	1,30	0,55	0,58
40	8,4	PIS		1	7,82	18,04	28,92	37,54	60,81	83,08	98,64	108,85	119,81	127,69	134,09	143,41
				2	3,17	16,44	25,08	35,38	51,90	77,88	94,25	107,02	117,09	125,68	132,21	143,75
				3	5,23	11,26	24,72	37,21	56,36	70,65	79,76	91,38	101,38	114,37	125,76	132,14
			MÉDIA	2,68	5,41	15,25	26,24	36,71	56,36	77,20	90,88	102,41	112,76	122,58	130,69	139,77
			DESVIO	2,45	2,33	3,54	2,33	1,16	4,45	6,24	9,88	9,60	9,95	7,18	4,37	6,61
60	0	PIS		1	15,43	20,74	34,60	43,55	80,24	113,53	129,79	141,04	149,19	162,56	171,96	178,63
				2	5,37	10,05	19,94	29,75	58,26	83,86	98,63	113,15	123,12	133,80	142,19	150,74

Apêndice 12. DIVVMO (%) no ensaio 3

DIVVMO (%)						
Inclusão Milho (%)	PDR (%)	Fonte	Rep.	DIVVMO (%)	Média (%)	Desvio
0	0	URÉIA	1	62,54	57,98	3,97
			2	56,08		
			3	55,31		
0	2,8	URÉIA	1	64,71	62,48	2,04
			2	62,04		
			3	60,69		
0	5,6	URÉIA	1	65,92	62,16	3,26
			2	60,21		
			3	60,34		
0	8,4	URÉIA	1	66,18	61,37	4,53
			2	60,74		
			3	57,18		
20	0	URÉIA	1	69,88	64,32	5,04
			2	63,02		
			3	60,07		
20	2,8	URÉIA	1	71,70	66,69	4,85
			2	66,36		
			3	62,01		
20	5,6	URÉIA	1	71,12	64,59	5,65
			2	61,33		
			3	61,32		
20	8,4	URÉIA	1	71,53	65,13	5,55
			2	61,60		
			3	62,27		
40	0	URÉIA	1	75,38	67,84	9,14
			2	70,46		
			3	57,68		
40	2,8	URÉIA	1	77,02	69,33	7,17
			2	68,17		
			3	62,81		
40	5,6	URÉIA	1	77,39	67,32	9,23
			2	59,26		
			3	65,31		
40	8,4	URÉIA	1	78,78	71,29	6,67
			2	69,10		
			3	65,98		
60	0	URÉIA	1	80,29	75,87	5,69
			2	77,87		
			3	69,45		
60	2,8	URÉIA	1	83,85	74,34	8,27
			2	70,30		
			3	68,87		
60	5,6	URÉIA	1	73,88	72,78	2,51
			2	74,56		
			3	69,91		
60	8,4	URÉIA	1	72,63	72,16	1,30
			2	70,70		
			3	73,16		
0	0	PIS	1	62,54	57,98	3,97
			2	56,08		
			3	55,31		
0	2,8	PIS	1	63,32	55,01	8,70
			2	55,76		
			3	45,97		
0	5,6	PIS	1	65,59	56,93	11,88

Continuação do Apêndice 12						
				2	61,82	
				3	43,38	
0	8,4	PIS	1	63,46	55,54	8,75
			2	57,01		
			3	46,15		
20	0	PIS	1	69,88	64,32	5,04
			2	63,02		
			3	60,07		
20	2,8	PIS	1	69,09	63,53	4,82
			2	60,96		
			3	60,53		
20	5,6	PIS	1	64,32	61,71	3,82
			2	63,49		
			3	57,32		
20	8,4	PIS	1	69,52	64,95	7,08
			2	68,54		
			3	56,79		
40	0	PIS	1	75,38	67,84	9,14
			2	70,46		
			3	57,68		
40	2,8	PIS	1	74,99	68,60	6,02
			2	67,79		
			3	63,03		
40	5,6	PIS	1	77,21	70,20	6,25
			2	65,21		
			3	68,19		
40	8,4	PIS	1	73,27	71,60	4,55
			2	75,09		
			3	66,46		
60	0	PIS	1	80,29	75,87	5,69
			2	77,87		
			3	69,45		
60	2,8	PIS	1	83,36	79,93	2,99
			2	77,87		
			3	78,54		
60	5,6	PIS	1	82,14	80,09	2,58
			2	77,20		
			3	80,94		
60	8,4	PIS	1	80,08	79,61	1,18
			2	78,26		
			3	80,47		

Apêndice 13. Fator de partição (FP, mg MO degradada/ml de gás produzido)

FP (mg de MO degradada/ml de gás produzido)						
Inclusão Milho (%)	PDR (%)	Fonte	Rep.	FP	Média	Desvio
0	0	URÉIA	1	5,40	5,18	0,27
			2	5,27		
			3	4,89		
0	2,8	URÉIA	1	5,33	4,93	0,40
			2	4,95		
			3	4,52		
0	5,6	URÉIA	1	5,65	5,18	0,51
			2	5,26		
			3	4,64		

Continuação do Apêndice 13

0	8,4	URÉIA	1	5,82	5,20	0,62
			2	5,20		
			3	4,57		
20	0	URÉIA	1	4,37	4,28	0,08
			2	4,23		
			3	4,24		
20	2,8	URÉIA	1	5,23	4,86	0,46
			2	5,00		
			3	4,35		
20	5,6	URÉIA	1	5,25	4,89	0,32
			2	4,79		
			3	4,62		
20	8,4	URÉIA	1	5,58	4,96	0,58
			2	4,86		
			3	4,44		
40	0	URÉIA	1	5,06	4,57	0,50
			2	4,61		
			3	4,05		
40	2,8	URÉIA	1	4,84	4,42	0,38
			2	4,27		
			3	4,14		
40	5,6	URÉIA	1	4,90	4,26	0,63
			2	3,65		
			3	4,22		
40	8,4	URÉIA	1	4,56	4,38	0,20
			2	4,40		
			3	4,17		
60	0	URÉIA	1	3,98	4,12	0,23
			2	4,39		
			3	3,99		
60	2,8	URÉIA	1	3,81	3,63	0,17
			2	3,61		
			3	3,46		
60	5,6	URÉIA	1	3,96	4,12	0,23
			2	4,38		
			3	4,02		
60	8,4	URÉIA	1	4,01	4,26	0,23
			2	4,33		
			3	4,45		
0	0	PIS	1	5,40	5,18	0,27
			2	5,27		
			3	4,89		
0	2,8	PIS	1	6,48	5,48	1,09
			2	5,63		
			3	4,33		
0	5,6	PIS	1	5,79	5,24	1,00
			2	5,84		
			3	4,09		
0	8,4	PIS	1	5,98	5,36	0,64
			2	5,40		

Continuação do Apêndice 13

				3	4,70		
20	0	PIS	1	4,37	4,28	0,08	
			2	4,23			
			3	4,24			
20	2,8	PIS	1	5,41	5,10	0,32	
			2	4,78			
			3	5,10			
20	5,6	PIS	1	5,04	4,83	0,44	
			2	5,12			
			3	4,32			
20	8,4	PIS	1	5,03	5,15	0,63	
			2	5,83			
			3	4,58			
40	0	PIS	1	5,06	4,57	0,50	
			2	4,61			
			3	4,05			
40	2,8	PIS	1	4,66	4,34	0,28	
			2	4,22			
			3	4,13			
40	5,6	PIS	1	5,14	4,42	0,62	
			2	4,11			
			3	4,03			
40	8,4	PIS	1	4,29	4,30	0,09	
			2	4,40			
			3	4,21			
60	0	PIS	1	3,98	4,12	0,23	
			2	4,39			
			3	3,99			
60	2,8	PIS	1	4,70	4,37	0,34	
			2	4,37			
			3	4,02			
60	5,6	PIS	1	4,03	4,28	0,26	
			2	4,28			
			3	4,54			
60	8,4	PIS	1	4,59	4,36	0,26	
			2	4,08			
			3	4,42			

Apêndice 14. Parâmetros de fermentação obtidos no ensaio 3

Milho (%)	PDR (%)	Fonte	REP	PARÂMETRO					
				A (ml)	B (%/h)	C (h)	D (ml)	E (%/h)	F (h)
0	0	URÉIA	1	23,08	0,0661	4,07	68,54	0,0218	13,54
			2	49,99	0,0326	4,86	46,61	0,0167	46,41
			3	55,42	0,0253	5,13	34,85	0,0165	37,47
			MÉDIA	42,83	0,0413	4,68	50,00	0,0183	32,47
			DESVIO	17,32	0,0217	0,55	17,10	0,0030	17,00
0	2,8	URÉIA	1	78,68	0,0261	10,64	30,59	0,0167	45,18
			2	78,54	0,0186	6,47	49,18	0,0204	22,42
			3	65,54	0,0244	6,16	50,35	0,0177	36,69
			MÉDIA	74,26	0,0231	7,76	43,37	0,0183	34,76

Continuação do Apêndice 14

			DESVIO	7,55	0,0039	2,50	11,09	0,0019	11,50
0	5,6	URÉIA	1	58,01	0,0305	8,08	39,10	0,0191	32,93
			2	82,71	0,0197	5,81	30,68	0,0123	63,01
			3	83,17	0,0163	1,19	27,99	0,0244	52,83
			MÉDIA	74,63	0,0222	5,03	32,59	0,0186	49,59
			DESVIO	14,40	0,0074	3,51	5,80	0,0061	15,30
0	8,4	URÉIA	1	63,69	0,0302	5,40	27,69	0,0290	37,93
			2	11,56	0,1405	5,32	82,81	0,0206	14,62
			3	63,42	0,0244	4,05	41,07	0,0272	50,05
			MÉDIA	46,22	0,0650	4,92	50,52	0,0256	34,20
			DESVIO	30,02	0,0654	0,76	28,75	0,0044	18,01
20	0	URÉIA	1	100,65	0,0334	6,95	36,72	0,0196	46,02
			2	75,25	0,0434	4,99	55,09	0,0158	33,24
			3	75,13	0,0417	6,48	46,81	0,0169	32,04
			MÉDIA	83,68	0,0395	6,14	46,21	0,0174	37,10
			DESVIO	14,70	0,0054	1,02	9,20	0,0019	7,75
20	2,8	URÉIA	1	21,83	0,0600	2,86	93,70	0,0250	16,17
			2	48,04	0,0572	5,09	63,24	0,0213	20,53
			3	27,45	0,0652	3,41	91,65	0,0189	15,95
			MÉDIA	32,44	0,0608	3,79	82,86	0,0217	17,55
			DESVIO	13,80	0,0041	1,16	17,02	0,0031	2,58
20	5,6	URÉIA	1	31,38	0,0518	10,50	77,08	0,0172	46,73
			2	38,20	0,0674	5,47	61,98	0,0198	19,49
			3	17,08	0,1194	4,28	91,40	0,0202	13,70
			MÉDIA	28,89	0,0795	6,75	76,82	0,0190	26,64
			DESVIO	10,77	0,0354	3,30	14,71	0,0016	17,64
20	8,4	URÉIA	1	80,42	0,0333	8,42	32,24	0,0217	38,58
			2	48,36	0,0490	5,67	56,31	0,0220	21,54
			3	82,93	0,0267	6,43	37,29	0,0173	38,97
			MÉDIA	70,57	0,0363	6,84	41,95	0,0204	33,03
			DESVIO	19,28	0,0114	1,42	12,70	0,0026	9,95
40	0	URÉIA	1	96,53	0,0421	6,33	38,32	0,0196	40,57
			2	85,78	0,0471	8,29	36,32	0,0197	27,71
			3	62,20	0,0605	6,02	54,45	0,0219	17,00
			MÉDIA	81,50	0,0499	6,88	43,03	0,0204	28,43
			DESVIO	17,56	0,0095	1,23	9,94	0,0013	11,80
40	2,8	URÉIA	1	62,73	0,0453	5,91	77,23	0,0233	23,65
			2	82,27	0,0490	6,03	53,82	0,0244	31,39
			3	51,82	0,0527	4,16	76,14	0,0224	19,81
			MÉDIA	65,61	0,0490	5,37	69,06	0,0234	24,95
			DESVIO	15,43	0,0037	1,05	13,21	0,0010	5,90
40	5,6	URÉIA	1	57,21	0,0418	5,14	82,27	0,0214	21,68
			2	79,21	0,0453	5,52	58,33	0,0266	27,61
			3	42,96	0,0574	5,31	86,41	0,0206	19,54
			MÉDIA	59,79	0,0482	5,33	75,67	0,0229	22,94
			DESVIO	18,27	0,0082	0,19	15,16	0,0033	4,18
40	8,4	URÉIA	1	66,84	0,0437	7,41	78,57	0,0231	21,57
			2	70,44	0,0477	5,93	55,98	0,0226	23,98
			3	90,81	0,0362	8,16	43,37	0,0204	29,83
			MÉDIA	76,03	0,0425	7,17	59,31	0,0220	25,12

Continuação do Apêndice 14

			DESVIO	12,93	0,0058	1,14	17,83	0,0014	4,25
60	0	URÉIA	1	142,90	0,0425	4,71	35,95	0,0296	42,10
			2	102,56	0,0483	7,03	49,05	0,0198	27,17
			3	94,02	0,0463	6,18	55,56	0,0205	30,48
			MÉDIA	113,16	0,0457	5,97	46,85	0,0233	33,25
			DESVIO	26,11	0,0029	1,18	9,99	0,0055	7,84
60	2,8	URÉIA	1	135,56	0,0415	8,07	47,25	0,0225	30,29
			2	113,12	0,0458	6,53	52,53	0,0215	24,67
			3	133,60	0,0419	8,25	36,93	0,0261	36,34
			MÉDIA	127,43	0,0431	7,62	45,57	0,0234	30,43
			DESVIO	12,43	0,0024	0,94	7,93	0,0024	5,84
60	5,6	URÉIA	1	120,24	0,0603	7,72	37,24	0,0239	23,06
			2	113,43	0,0507	7,07	32,01	0,0219	30,02
			3	99,48	0,0592	7,54	41,31	0,0229	25,96
			MÉDIA	111,05	0,0567	7,45	36,85	0,0229	26,35
			DESVIO	10,58	0,0053	0,33	4,66	0,0010	3,50
60	8,4	URÉIA	1	127,95	0,0710	8,50	19,09	0,0246	24,09
			2	114,22	0,0480	7,20	24,72	0,0210	29,13
			3	97,41	0,0624	7,67	54,00	0,0165	30,30
			MÉDIA	113,19	0,0605	7,79	32,61	0,0207	27,84
			DESVIO	15,30	0,0116	0,66	18,74	0,0041	3,30
0	0	PIS	1	23,08	0,0661	4,07	68,54	0,0218	13,54
			2	49,99	0,0326	4,86	46,61	0,0167	46,41
			3	55,42	0,0253	5,13	34,85	0,0165	37,47
			MÉDIA	42,83	0,0413	4,68	50,00	0,0183	32,47
			DESVIO	17,32	0,0217	0,55	17,10	0,0030	17,00
0	2,8	PIS	1	43,30	0,0282	2,77	43,78	0,0174	23,74
			2	44,50	0,0326	4,01	41,72	0,0182	41,55
			3	61,51	0,0267	7,96	22,32	0,0252	51,51
			MÉDIA	49,77	0,0292	4,91	35,94	0,0203	38,93
			DESVIO	10,18	0,0031	2,71	11,84	0,0043	14,07
0	5,6	PIS	1	71,11	0,0247	4,63	19,67	0,0444	63,88
			2	50,64	0,0297	5,84	41,88	0,0175	41,02
			3	69,44	0,0246	6,56	18,03	0,0594	66,61
			MÉDIA	63,73	0,0263	5,68	26,53	0,0404	57,17
			DESVIO	11,36	0,0029	0,97	13,32	0,0212	14,05
0	8,4	PIS	1	75,87	0,0250	3,56	14,41	0,1217	68,84
			2	70,63	0,0256	4,60	16,37	0,0502	64,10
			3	49,42	0,0294	4,67	32,94	0,0195	34,76
			MÉDIA	65,30	0,0266	4,28	21,24	0,0638	55,90
			DESVIO	14,00	0,0024	0,62	10,18	0,0524	18,46
20	0	PIS	1	100,65	0,0334	6,95	36,72	0,0196	46,02
			2	75,25	0,0434	4,99	55,09	0,0158	33,24
			3	75,13	0,0417	6,48	46,81	0,0169	32,04
			MÉDIA	83,68	0,0395	6,14	46,21	0,0174	37,10
			DESVIO	14,70	0,0054	1,02	9,20	0,0019	7,75
20	2,8	PIS	1	89,10	0,0335	6,38	25,14	0,0216	40,12
			2	69,21	0,0332	3,91	43,86	0,0171	42,66
			3	66,99	0,0278	3,12	35,56	0,0165	34,14
			MÉDIA	75,10	0,0315	4,47	34,85	0,0184	38,97

Continuação do Apêndice 14

			DESVIO	12,18	0,0032	1,70	9,38	0,0028	4,37
20	5,6	PIS	1	78,59	0,0328	5,54	45,80	0,0160	45,15
			2	60,15	0,0381	6,26	46,40	0,0180	34,34
			3	34,37	0,0623	4,44	65,35	0,0186	15,22
			MÉDIA	57,70	0,0444	5,41	52,52	0,0175	31,57
			DESVIO	22,22	0,0158	0,92	11,11	0,0014	15,16
20	8,4	PIS	1	74,61	0,0382	6,37	36,51	0,0176	31,08
			2	57,25	0,0443	6,59	42,69	0,0177	30,44
			3	35,63	0,0693	4,80	61,98	0,0165	13,93
			MÉDIA	55,83	0,0506	5,92	47,06	0,0173	25,15
			DESVIO	19,53	0,0165	0,98	13,29	0,0007	9,73
40	0	PIS	1	96,53	0,0421	6,33	38,32	0,0196	40,57
			2	85,78	0,0471	8,29	36,32	0,0197	27,71
			3	62,20	0,0605	6,02	54,45	0,0219	17,00
			MÉDIA	81,50	0,0499	6,88	43,03	0,0204	28,43
			DESVIO	17,56	0,0095	1,23	9,94	0,0013	11,80
40	2,8	PIS	1	99,49	0,0427	5,33	43,21	0,0177	33,84
			2	94,64	0,0464	7,58	41,38	0,0202	30,61
			3	91,85	0,0473	6,56	37,28	0,0195	29,85
			MÉDIA	95,33	0,0455	6,49	40,62	0,0191	31,43
			DESVIO	3,87	0,0024	1,13	3,04	0,0013	2,12
40	5,6	PIS	1	104,69	0,0393	4,06	31,24	0,0204	33,71
			2	96,22	0,0531	7,82	38,42	0,0200	28,81
			3	79,10	0,0563	5,01	54,06	0,0204	19,78
			MÉDIA	93,34	0,0496	5,63	41,24	0,0202	27,43
			DESVIO	13,04	0,0090	1,95	11,66	0,0002	7,07
40	8,4	PIS	1	103,85	0,0405	4,04	41,05	0,0178	27,11
			2	107,36	0,0388	5,34	38,97	0,0184	35,18
			3	66,03	0,0625	4,65	66,84	0,0197	20,47
			MÉDIA	92,41	0,0473	4,68	48,95	0,0186	27,59
			DESVIO	22,92	0,0132	0,65	15,53	0,0009	7,36
60	0	PIS	1	142,90	0,0425	4,71	35,95	0,0296	42,10
			2	102,56	0,0483	7,03	49,05	0,0198	27,17
			3	94,02	0,0463	6,18	55,56	0,0205	30,48
			MÉDIA	113,16	0,0457	5,97	46,85	0,0233	33,25
			DESVIO	26,11	0,0029	1,18	9,99	0,0055	7,84
60	2,8	PIS	1	117,10	0,0437	5,32	43,79	0,0251	32,97
			2	112,26	0,0459	5,95	40,09	0,0223	30,20
			3	117,07	0,0549	5,79	49,76	0,0229	24,20
			MÉDIA	115,48	0,0482	5,69	44,55	0,0234	29,12
			DESVIO	2,78	0,0059	0,33	4,88	0,0015	4,48
60	5,6	PIS	1	124,00	0,0429	5,17	47,76	0,0207	33,93
			2	111,24	0,0524	7,67	42,62	0,0228	26,87
			3	110,17	0,0457	6,61	43,61	0,0194	30,72
			MÉDIA	115,14	0,0470	6,49	44,67	0,0209	30,51
			DESVIO	7,69	0,0049	1,26	2,73	0,0017	3,54
60	8,4	PIS	1	115,05	0,0482	5,45	45,15	0,0196	26,04
			2	110,81	0,0529	8,01	51,32	0,0219	21,28
			3	98,75	0,0483	5,81	59,03	0,0198	31,87
			MÉDIA	108,20	0,0498	6,42	51,83	0,0204	26,40
			DESVIO	8,46	0,0027	1,38	6,96	0,0013	5,31

Apêndice 15. Tabela de Anova para DIVVMO (%) com 48 horas de incubação no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	6113,99	2038,00	251,65	<0,0001
PDR	3	230,70	76,90	9,50	0,0006
Período	2	261,92	130,96	16,17	<0,0001
Inclusão Milho*PDR	9	379,62	42,18	5,21	0,0015
Inclusão Milho*Período	6	62,75	10,46	1,29	0,3104
PDR*Período	6	64,11	10,68	1,32	0,2989
Erro	18	145,78	8,10		
Total	47	7258,88			

Apêndice 16. Tabela de Anova para DIVVMO (%) com 48 horas de incubação no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	3936,59	1312,20	44,24	<0,0001
PDR	3	107,46	35,82	1,21	0,3239
Período	2	23,62	11,81	0,40	0,6751
Inclusão Milho*PDR	9	187,63	20,85	0,70	0,7013
Erro	30	889,89	29,66		
Total	47	5145,19			

Apêndice 17. Tabela de Anova para DIVFDN (%) com 48 horas de incubação no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	29,23	9,74	0,40	0,7555
PDR	3	218,62	72,87	2,98	0,0587
Período	2	1748,28	872,14	35,79	<0,0001
Inclusão Milho*PDR	9	627,30	69,70	2,85	0,0279
Inclusão Milho*Período	6	387,44	64,57	2,64	0,0511
PDR*Período	6	150,45	25,07	1,03	0,4400
Erro	18	439,69	24,43		
Total	47	3600,99			

Apêndice 18. Tabela de Anova para DIVFDN (%) com 48 horas de incubação no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	85,91	28,64	0,75	0,5338
PDR	3	122,77	40,92	1,07	0,3796
Período	2	274,94	137,47	3,58	0,0517
Inclusão Milho*PDR	9	547,45	60,83	1,59	0,1697
Erro	27	1035,71	38,36		
Total	44	20,66,78			

Apêndice 19. Tabela de Anova para o parâmetro C (%/h) da MO no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	19,19	6,40	3,30	0,0496
PDR	3	7,13	2,38	1,23	0,3351
Período	1	1,91	1,91	0,99	0,3366
Inclusão Milho*PDR	9	16,82	1,87	0,96	0,5040
Erro	15	29,09	1,94		
Total	31	74,14			

Apêndice 20. Tabela de Anova para o parâmetro C (%/h) da MO no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	51,75	17,25	10,24	<0,0001
PDR	3	5,15	1,72	1,02	0,3983
Período	2	7,42	3,71	2,20	0,1282
Inclusão Milho*PDR	9	29,13	3,24	1,92	0,0872
Erro	15	50,55	1,68		
Total	47	143,99			

Apêndice 21. Tabela de Anova para o parâmetro C (%/h) da FDN no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	0,64	0,21	0,70	0,5608
PDR	3	0,37	0,12	0,40	0,7530
Período	2	1,56	0,78	2,57	0,0935
Inclusão Milho*PDR	9	2,66	0,30	0,97	0,4808
Erro	30	9,11	0,30		
Total	47	14,33			

Apêndice 22. Tabela de Anova para o parâmetro C (%/h) da FDN no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	0,73	0,24	2,05	0,1649
PDR	3	0,69	0,23	1,94	0,1810
Período	1	0,04	0,04	0,31	0,5908
PDR*Período	9	3,07	0,34	2,88	0,0410
Erro	11	1,30	0,12		
Total	27	5,83			

Apêndice 23. Tabela de Anova para DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	2758,93	919,64	271,77	<0,0001
PDR	3	60,62	20,21	5,97	0,0052
Período	2	27,25	13,63	4,03	0,0359
Inclusão Milho*PDR	9	112,59	12,51	3,70	0,0088
Inclusão Milho*Período	6	27,43	4,57	1,35	0,2864
PDR*Período	6	40,09	6,68	1,97	0,1230
Erro	18	60,91	3,38		
Total	47	3087,83			

Apêndice 24. Tabela de Anova para DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	3174,57	1058,19	265,54	<0,0001
PDR	3	17,75	5,92	1,48	0,2524
Período	2	110,50	55,25	13,86	0,0002
Inclusão Milho*PDR	9	123,61	13,73	3,45	0,0122
Inclusão Milho*Período	6	23,73	3,95	0,99	0,4596
PDR*Período	6	8,43	1,40	0,35	0,8993
Erro	15	71,73	3,99		
Total	31	3530,32			

Apêndice 25. Tabela de Anova para DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	1387,77	462,59	36,01	<0,0001
PDR suplementar	3	99,47	33,16	2,58	0,0922
Período	1	0,005	0,005	0,00	0,9845
Inclusão Milho*PDR	9	130,41	14,49	1,13	0,4018
Erro	15	192,72	12,85		
Total	31	1810,36			

Apêndice 26. Tabela de Anova para DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	2738,12	912,71	146,89	<0,0001
PDR	3	4,27	1,42	0,23	0,8748
Período	2	139,03	69,51	11,19	0,0007
Inclusão Milho*PDR	9	256,47	28,50	4,59	0,0029
Inclusão Milho*Período	6	70,53	11,76	1,89	0,1376
PDR*Período	6	19,13	3,19	0,51	0,7907
Erro	18	111,84	6,21		
Total	47	3339,39			

Apêndice 27. Tabela de Anova para DE (%) da FDN a uma taxa de passagem de 2 %/h no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	63,11	21,04	2,80	0,0695
PDR	3	17,90	5,97	0,79	0,5128
Período	2	616,95	308,48	41,07	<0,0001
Inclusão Milho*PDR	9	61,76	6,86	0,91	0,5351
Inclusão Milho*Período	6	99,98	16,66	2,22	0,0889
PDR*Período	6	90,97	15,16	2,02	0,1160
Erro	18	135,21	7,51		
Total	47	1085,89			

Apêndice 28. Tabela de Anova para DE (%) da FDN a uma taxa de passagem de 2 %/h no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	24,98	8,33	1,03	0,4055
PDR	3	23,31	7,77	0,97	0,4346
Período	1	9,69	9,69	1,20	0,2898
Inclusão Milho*PDR	9	45,20	5,02	0,62	0,7599
Erro	15	120,72	8,05		
Total	31	223,90			

Apêndice 29. Tabela de Anova para DE (%) da FDN a uma taxa de passagem de 5 %/h no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	9,45	3,15	1,06	0,3850
PDR suplementar	3	5,74	1,91	0,64	0,5949
Período	2	82,08	41,04	13,80	0,0001
Inclusão Milho*PDR	9	21,90	2,43	0,82	0,6053
Erro	24	71,40	2,98		
Total	41	190,58			

Apêndice 30. Tabela de Anova para DE (%) da FDN a uma taxa de passagem de 5 %/h no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	21,52	7,17	1,58	0,2293
PDR	3	4,08	1,36	0,30	0,8257
Período	2	43,10	21,55	4,74	0,0222
Milho*Período	6	58,56	9,76	2,15	0,0976
PDR*Período	6	8,91	1,49	0,33	0,9141
Inclusão Milho*PDR	9	113,42	12,60	2,49	0,0292
Erro	18	81,81	4,54		
Total	47	259,52			

Apêndice 31. Tabela de Anova para *Lag-time* da FDN no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	6,05	2,02	5,23	0,0050
PDR	3	2,10	0,70	1,82	0,1656
Período	2	0,16	0,08	0,21	0,8146
Inclusão Milho*PDR	9	5,18	0,58	1,49	0,1960
Erro	30	11,56	0,39		
Total	47	25,04			

Apêndice 32. Tabela de Anova para *Lag-time* da FDN no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	6,16	2,05	6,29	0,0024
PDR	3	0,74	0,25	0,76	0,5275
Período	2	0,75	0,37	1,14	0,3346
Inclusão Milho*PDR	9	1,98	0,22	0,68	0,7233
Erro	26	8,48	0,33		
Total	43	18,11			

Apêndice 33. Tabela de Anova para N-NH₃ (mg/dl) médio no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	0,35	0,12	0,05	0,9836
PDR	3	459,30	153,10	68,01	<0,0001
Período	2	79,66	39,83	17,69	<0,0001
Inclusão Milho*PDR	9	49,40	5,49	2,44	0,0514
Inclusão Milho*Período	6	4,76	0,79	0,35	0,8990
PDR*Período	6	29,17	4,86	2,44	0,0514
Erro	18	40,52	2,25		
Total	47	663,17			

Apêndice 34. Tabela de Anova para N-NH₃ (mg/dl) médio no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	1,62	0,54	0,39	0,7635
PDR	3	88,53	29,51	21,17	<0,0001
Período	1	1,56	1,56	1,12	0,3065
Inclusão Milho*PDR	9	7,41	0,82	0,59	0,7857
Erro	15	20,91	1,39		
Total	31	120,03			

Apêndice 35. Tabela de Anova para produção cumulativa de gás (ml) *in vitro*

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	33902,09	11300,70	359,77	<0,0001
PDR	3	268,70	89,57	2,85	0,0493
Período	1	195,97	195,97	6,24	0,0167
Inclusão Milho*PDR	9	1773,71	197,08	6,27	<0,0001
Inclusão Milho*Fonte PDR	3	786,31	262,10	8,34	0,0002
PDR suplementar*Fonte PDR	3	342,46	114,15	3,63	0,00207
Erro	40	1256,44	31,41		
Total	63	38529,54			

Apêndice 36. Tabela de Anova para DIVVMO (%) no ensaio 3

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	4031,48	1343,83	108,44	<0,0001
PDR	3	20,97	6,99	0,56	0,6410
Fonte PDR	1	0,35	0,35	0,03	0,8668
Período	2	1567,40	783,70	63,24	<0,0001
Inclusão Milho*PDR	9	50,88	5,65	0,46	0,8975
Inclusão Milho*Fonte PDR	3	300,10	100,03	8,07	0,0001
PDR*Fonte PDR	3	14,93	4,98	0,40	0,7524
Inclusão Milho*Período	6	119,21	19,87	1,60	0,1630
PDR*Período	6	57,31	9,55	0,77	0,5961
Fonte PDR*Período	2	36,03	18,01	1,45	0,2423
Erro	57	706,34	12,39		
Total	95	6904,99			

Apêndice 37. Tabela de Anova para fator de partição (FP, mg de mo degr./ml de gás prod.) no ensaio 3

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	16,29	5,43	65,62	<0,0001
PDR	3	0,47	0,16	1,90	0,1482
Fonte PDR	1	0,48	0,48	5,84	0,0214
Período	1	0,98	0,98	11,91	0,0016
Inclusão Milho*PDR	9	2,63	0,29	3,54	0,0036
Inclusão Milho*Fonte PDR	3	0,30	0,10	1,22	0,3190
PDR*Fonte PDR	3	0,35	0,12	1,40	0,2601
Inclusão Milho*Período	3	0,48	0,17	1,91	0,1450
PDR*Período	3	0,32	0,11	1,28	0,2978
Fonte PDR*Período	1	0,02	0,02	0,25	0,6176
Erro	33	2,73	0,08		
Total	63	25,46			

Apêndice 38. Tabela de Anova para o parâmetro A (ml) do ensaio 3

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	30284,01	10094,67	80,51	<0,0001
PDR	3	492,25	164,08	1,31	0,2836
Fonte PDR	1	851,70	851,70	6,79	0,0124
Período	2	305,70	152,85	1,22	0,3053
Inclusão Milho*PDR	9	5262,05	584,67	4,66	0,0002
Inclusão Milho*Fonte PDR	3	5118,98	1706,33	13,61	<0,0001
PDR*Fonte PDR	3	658,65	219,55	1,75	0,1705
Erro	44	5516,88	125,38		
Total	68	48490,22			

Apêndice 39. Tabela de Anova para o parâmetro B (%/h) no ensaio 3

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	74,69	24,90	35,17	<0,0001
PDR	3	1,25	0,42	0,59	0,6241
Fonte PDR	1	0,81	0,81	1,14	0,2900
Período	2	4,15	2,08	2,93	0,0602
Inclusão Milho*PDR	9	7,56	0,84	1,19	0,3179
Inclusão Milho*Fonte PDR	3	3,48	1,16	1,64	0,1891
PDR*Fonte PDR	3	2,53	0,84	1,19	0,3190
Erro	67	47,43	0,71		
Total	91	141,91			

Apêndice 40. Tabela de Anova para o parâmetro C (h) no ensaio 3

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	47,51	15,84	3,81	0,0137
PDR	3	17,05	5,68	1,37	0,2598
Fonte N	1	7,65	7,65	1,84	0,1793
Período	2	3,82	1,91	0,46	0,6332
Inclusão Milho*PDR	9	43,46	4,82	1,16	0,3328
Inclusão Milho*Fonte PDR	3	11,88	3,96	0,95	0,4199
PDR*Fonte PDR	3	15,58	5,19	1,25	0,2984
Erro	69	286,65	4,15		
Total	93	433,61			

Apêndice 41. Tabela de Anova para o parâmetro D (ml) no ensaio 3

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	4953,06	1651,02	13,92	<0,0001
PDR suplementar	3	1844,92	614,97	5,18	0,0040
Fonte PDR	1	1580,02	1580,02	13,32	0,0007
Período	2	871,55	435,77	3,67	0,0341
Inclusão Milho*Período	6	667,61	111,27	0,94	0,4785
PDR*Período	6	1609,10	268,18	2,26	0,0562
Fonte PDR*Período	2	348,65	174,33	1,47	0,2419
Inclusão Milho*PDR suplementar	9	1786,32	198,48	1,67	0,1270
Inclusão Milho*Fonte PDR	3	2504,74	834,91	7,04	0,0006
PDR suplementar*Fonte PDR	3	2908,14	969,38	8,17	0,0002
Erro	41	4863,35	118,62		
Total	79	23937,45			

Apêndice 42. Tabela de Anova para o parâmetro E (%/h) no ensaio 3

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	1,74	0,58	8,03	0,0001
PDR	3	0,18	0,06	0,82	0,4848
Fonte PDR	1	0,56	0,56	7,81	0,0068
Período	2	0,43	0,21	2,96	0,0587
Inclusão Milho*PDR	9	1,32	1,15	2,03	0,0488
Inclusão Milho*Fonte PDR	3	0,19	0,06	0,89	0,4488
PDR*Fonte PDR	3	0,20	0,07	0,92	0,4380
Erro	67	4,84	0,07		
Total	91	9,46			

Apêndice 43. Tabela de Anova para o parâmetro F (h) no ensaio 3

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Inclusão Milho	3	3109,74	1036,58	9,36	<0,0001
PDR suplementar	3	137,09	45,70	0,41	0,7445
Fonte PDR	1	417,88	417,88	3,77	0,0561
Período	2	269,19	134,60	1,22	0,3028
Inclusão Milho*PDR suplementar	9	1879,00	208,78	1,88	0,0682
Inclusão Milho*Fonte PDR	3	198,10	66,03	0,60	0,6196
PDR suplementar*Fonte PDR	3	187,55	62,52	0,56	0,6403
Erro	71	7864,22	110,76		
Total	95	14062,75			

Apêndice 44. Tabela de análise de regressão para DIVVMO (%) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, sem a inclusão de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	180,27	180,27	21,81	0,0016
Quadrática	1	3,12	3,12	0,38	0,5560
Cúbica	1	14,50	14,50	1,75	0,2219
Erro	8	66,03	8,27		
Total	11	264,03			

Apêndice 45. Tabela de análise de regressão para DIVVMO (%) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 20% de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	2,14	2,14	0,12	0,7366
Quadrática	1	76,91	76,91	4,35	0,0704
Cúbica	1	7,98	7,98	0,45	0,5206
Erro	8	141,38	17,67		
Total	11	228,42			

Apêndice 46. Tabela de análise de regressão para DIVVMO (%) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, 40% de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	79,72	79,72	9,16	0,0164
Quadrática	1	12,32	12,32	1,42	0,2681
Cúbica	1	204,17	204,17	23,47	0,0013
Erro	8	69,60	8,70		
Total	11	365,81			

Apêndice 47. Tabela de análise de regressão para DIVVMO (%) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, 60% de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	16,26	16,26	0,51	0,4974
Quadrática	1	9,52	9,52	0,30	0,6013
Cúbica	1	3,41	3,41	0,11	0,7530
Erro	8	257,43	32,18		
Total	11	286,61			

Apêndice 48. Tabela de análise de regressão para DIVVMO (%) em função da inclusão de milho no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	3717,47	3717,47	135,34	<0,0001
Quadrática	1	212,69	212,69	7,74	0,0079
Cúbica	1	6,43	6,43	0,23	0,6309
Erro	44	1208,60	27,47		
Total	47	5145,19			

Apêndice 49. Tabela de análise de regressão para DIVFDN (%) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, sem a inclusão de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	101,00	101,00	3,44	0,1227
Quadrática	1	27,20	27,20	0,93	0,3798
Cúbica	1	20,78	20,78	0,71	0,4384
Erro	5	146,67	29,33		
Total	8	295,65			

Apêndice 50. Tabela de análise de regressão para DIVFDN (%) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 20% de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	3,88	3,88	0,37	0,5636
Quadrática	1	306,77	306,77	29,49	0,0016
Cúbica	1	12,37	12,37	1,19	0,3174
Erro	6	62,41	10,40		
Total	9	385,44			

Apêndice 51. Tabela de análise de regressão para DIVFDN (%) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 40% de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	12,43	12,43	0,80	0,4059
Quadrática	1	10,71	10,71	0,69	0,4386
Cúbica	1	139,55	139,55	8,97	0,0242
Erro	6	93,39	15,57		
Total	19	256,09			

Apêndice 52. Tabela de análise de regressão para DIVFDN (%) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 60% de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	108,41	108,41	48,06	0,0010
Quadrática	1	1,59	1,59	0,70	0,4400
Cúbica	1	78,52	78,52	34,81	0,0020
Erro	5	11,28	2,26		
Total	8	199,79			

Apêndice 53. Tabela de análise de regressão para o parâmetro C (%/h) da MO em função da inclusão de milho no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	15,30	15,30	7,80	0,0093
Quadrática	1	0,05	0,05	0,03	0,8689
Cúbica	1	3,83	3,83	1,95	0,1733
Erro	28	54,95	1,96		
Total	31	74,14			

Apêndice 54. Tabela de análise de regressão para o parâmetro C (%/h) da MO em função da inclusão de milho no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	44,02	44,02	31,64	<0,0001
Quadrática	1	17,73	17,73	12,75	0,0009
Cúbica	1	0,50	0,50	0,36	0,5500
Erro	43	59,82	1,39		
Total	46	122,07			

Apêndice 55. Tabela de análise de regressão o parâmetro C (%/h) da FDN entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, sem a inclusão de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,06	0,06	0,16	0,7027
Quadrática	1	0,04	0,04	0,12	0,7382
Cúbica	1	0,00	0,00	0,00	0,9967
Erro	8	2,88	0,36		
Total	11	2,98			

Apêndice 56. Tabela de análise de regressão o parâmetro C (%/h) da FDN entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 20% de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	1,11	1,11	5,83	0,0465
Quadrática	1	0,12	0,12	0,63	0,4547
Cúbica	1	0,10	0,10	0,53	0,4892
Erro	7	1,33	0,19		
Total	10	2,66			

Apêndice 57. Tabela de análise de regressão o parâmetro C (%/h) da FDN entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 40% de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,19	0,19	7,79	0,0493
Quadrática	1	0,00	0,00	0,03	0,8786
Cúbica	1	0,08	0,08	3,16	0,1503
Erro	4	0,10	0,02		
Total	7	0,36			

Apêndice 58. Tabela de análise de regressão o parâmetro C (%/h) da FDN entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 60% de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	1,01	1,01	28,68	0,0017
Quadrática	1	0,76	0,76	21,59	0,0035
Cúbica	1	0,40	0,40	1,14	0,3277
Erro	6	0,21	0,04		
Total	9	2,02			

Apêndice 59. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, sem a inclusão de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,56	0,56	0,25	0,6298
Quadrática	1	1,08	1,08	0,48	0,5065
Cúbica	1	0,52	0,52	0,23	0,6415
Erro	8	17,87	2,23		
Total	11	20,03			

Apêndice 60. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 20% de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	30,25	30,25	5,84	0,0420
Quadrática	1	2,61	2,61	0,50	0,4975
Cúbica	1	0,13	0,13	0,03	0,8777
Erro	8	41,41	5,18		
Total	11	74,40			

Apêndice 61. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 40% de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	3,90	3,90	0,73	0,4176
Quadrática	1	0,01	0,01	0,00	0,9710
Cúbica	1	94,00	94,00	17,59	0,0030
Erro	8	42,74	5,34		
Total	11	140,65			

Apêndice 62. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 60% de milho, no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	4,76	4,76	0,71	0,4241
Quadrática	1	28,52	28,52	4,25	0,0732
Cúbica	1	6,86	6,86	1,02	0,3413
Erro	8	53,67	6,71		
Total	11	93,82			

Apêndice 63. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, sem a inclusão de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	6,27	6,27	0,84	0,3865
Quadrática	1	10,83	10,83	1,45	0,2632
Cúbica	1	1,60	1,60	0,21	0,6559
Erro	8	59,83	7,47		
Total	11	78,53			

Apêndice 64. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 20% de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	54,72	54,72	6,48	0,0344
Quadrática	1	5,20	5,20	0,62	0,4551
Cúbica	1	2,05	2,05	0,24	0,6351
Erro	8	67,51	8,44		
Total	11	129,49			

Apêndice 65. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 40% de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	14,50	14,50	1,70	0,2279
Quadrática	1	10,64	10,64	1,25	0,2959
Cúbica	1	0,10	0,10	0,01	0,9146
Erro	8	68,06	8,51		
Total	11	93,31			

Apêndice 66. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 2 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 60% de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	29,40	29,40	12,39	0,0079
Quadrática	1	3,63	3,63	1,53	0,2513
Cúbica	1	2,40	2,40	1,01	0,3441
Erro	8	18,99	2,37		
Total	11	54,42			

Apêndice 67. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h em função da inclusão de milho no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	1385,33	1385,33	91,79	<0,0001
Quadrática	1	2,42	2,42	0,16	0,6919
Cúbica	1	0,02	0,02	0,00	0,9743
Erro	28	422,59	15,09		
Total	31	1810,36			

Apêndice 68. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, sem a inclusão de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	1,54	1,54	0,32	0,5866
Quadrática	1	9,72	9,72	2,03	0,1920
Cúbica	1	1,73	1,73	0,36	0,5640
Erro	8	38,30	4,79		
Total	11	51,29			

Apêndice 69. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 20% de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	62,22	62,22	3,46	0,1000
Quadrática	1	2,17	2,17	0,12	0,7375
Cúbica	1	11,88	11,88	0,66	0,4400
Erro	8	143,98	18,00		
Total	11	220,25			

Apêndice 70. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 40% de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	18,48	18,48	1,18	0,3099
Quadrática	1	15,64	15,64	0,99	0,3478
Cúbica	1	0,07	0,07	0,00	0,9472
Erro	8	125,79	15,72		
Total	11	159,99			

Apêndice 71. Tabela de análise de regressão para a DE (%) da MO a uma taxa de passagem de 5 %/h entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR, com 60% de milho, no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	108,27	108,27	26,68	0,0009
Quadrática	1	19,25	19,25	4,75	0,0610
Cúbica	1	9,76	9,76	2,41	0,1595
Erro	8	32,46	4,06		
Total	11	169,75			

Apêndice 72. Tabela de análise de regressão para o *Lag-time* da FDN em função da inclusão de milho no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	5,28	5,28	12,24	0,0011
Quadrática	1	0,34	0,34	0,78	0,3832
Cúbica	1	0,43	0,43	1,00	0,3232
Erro	44	18,99	0,43		
Total	47	25,04			

Apêndice 73. Tabela de análise de regressão para o *Lag-time* da FDN em função da inclusão de milho no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	7,41	7,41	16,36	0,0002
Quadrática	1	0,20	0,20	0,44	0,5090
Cúbica	1	2,62	2,62	5,79	0,0206
Erro	42	19,02	0,45		
Total	45	29,26			

Apêndice 74. Tabela de análise de regressão para N-NH₃ médio em função da PDR no ensaio 1

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	454,99	454,99	98,20	<0,0001
Quadrática	1	0,58	0,58	0,12	0,7255
Cúbica	1	3,74	3,74	0,81	0,3740
Erro	44	203,86	4,63		
Total	47	663,17			

Apêndice 75. Tabela de análise de regressão para N-NH₃ médio em função da PDR no ensaio 2

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	86,83	86,83	77,18	<0,0001
Quadrática	1	0,71	0,71	0,63	0,4352
Cúbica	1	0,99	0,99	0,88	0,3561
Erro	28	31,50	1,13		
Total	31	120,03			

Apêndice 76. Tabela de análise de regressão para produção cumulativa de gás (ml) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, sem a inclusão de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	52,70	52,70	0,55	0,4731
Quadrática	1	88,22	88,22	0,92	0,3567
Cúbica	1	0,50	0,50	0,01	0,9438
Erro	12	1152,38	96,03		
Total	15	1293,80			

Apêndice 77. Tabela de análise de regressão para produção cumulativa de gás (ml) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 20 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	609,24	609,24	13,30	0,0033
Quadrática	1	145,50	145,50	3,18	0,1000
Cúbica	1	0,14	0,14	0,00	0,9575
Erro	12	549,62	45,80		
Total	15	1304,50			

Apêndice 78. Tabela de análise de regressão para produção cumulativa de gás (ml) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 40 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	365,26	365,26	19,25	0,0009
Quadrática	1	132,60	132,60	6,99	0,0214
Cúbica	1	12,31	12,31	0,65	0,4363
Erro	12	227,75	18,98		
Total	15	737,91			

Apêndice 79. Tabela de análise de regressão para produção cumulativa de gás (ml) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 60 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	26,83	26,83	0,49	0,4967
Quadrática	1	114,65	114,65	2,10	0,1730
Cúbica	1	494,47	494,47	9,05	0,0109
Erro	12	655,30	54,61		
Total	15	1291,25			

Apêndice 80. Tabela de análise de regressão para produção cumulativa de gás (ml) entre a interação do nível de inclusão de milho com uréia

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	12236,00	12236,00	155,92	<0,0001
Quadrática	1	68,68	68,68	0,89	0,3541
Cúbica	1	13,46	13,46	0,17	0,6820
Erro	28	2197,33	78,48		
Total	31	14516,47			

Apêndice 81. Tabela de análise de regressão para produção cumulativa de gás (ml) entre a interação do nível de inclusão de milho com PIS

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	22345,71	22345,71	432,15	<0,0001
Quadrática	1	15,47	15,47	0,30	0,5887
Cúbica	1	8,08	8,08	0,16	0,6957
Erro	28	1447,85	51,71		
Total	31	23817,10			

Apêndice 82. Tabela de análise de regressão para DIVVMO (%) entre a interação do nível de inclusão de milho com uréia, no ensaio 3

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	1065,64	1065,64	39,93	<0,0001
Quadrática	1	1,29	1,29	0,05	0,8272
Cúbica	1	1,37	1,37	0,05	0,8217
Erro	44	1174,28	26,69		
Total	47	2242,57			

Apêndice 83. Tabela de análise de regressão para DIVVMO (%) entre a interação do nível de inclusão de milho com PIS, no ensaio 3

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	3237,46	3237,46	101,84	<0,0001
Quadrática	1	12,58	12,58	0,40	0,5326
Cúbica	1	13,25	13,25	0,42	0,5219
Erro	44	1398,78	31,79		
Total	47	4664,06			

Apêndice 84. Tabela de análise de regressão para FP (ml gás/mg MO degr.) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, sem a inclusão de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,14	0,14	0,88	0,3663
Quadrática	1	0,09	0,09	0,56	0,4676
Cúbica	1	0,00	0,00	0,03	0,8663
Erro	12	1,89	0,16		
Total	15	2,12			

Apêndice 85. Tabela de análise de regressão para FP (ml gás/mg MO degr.) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 20 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	1,82	1,82	22,32	0,0005
Quadrática	1	0,28	0,28	3,44	0,0885
Cúbica	1	0,28	0,28	3,47	0,0873
Erro	12	0,98	0,08		
Total	15	3,37			

Apêndice 86. Tabela de análise de regressão para FP (ml gás/mg MO degr.) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 40 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,35	0,35	2,13	0,1699
Quadrática	1	0,09	0,09	0,55	0,4707
Cúbica	1	0,02	0,02	0,10	0,7612
Erro	12	1,95	0,16		
Total	15	2,40			

Apêndice 87. Tabela de análise de regressão para FP (ml gás/mg MO degr.) entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 60 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,01	0,01	0,11	0,7428
Quadrática	1	0,02	0,02	0,22	0,6452
Cúbica	1	0,00	0,00	0,01	0,9432
Erro	12	1,25	0,10		
Total	15	1,29			

Apêndice 88. Tabela de análise de regressão para o parâmetro A (ml) no ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, sem a inclusão de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	766,18	766,18	6,56	0,0237
Quadrática	1	294,96	294,96	2,52	0,1362
Cúbica	1	169,72	169,72	1,45	0,2497
Erro	13	1519,35	116,87		
Total	16	2750,21			

Apêndice 89. Tabela de análise de regressão para o parâmetro A (ml) no ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 20 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,48	0,48	0,00	0,9692
Quadrática	1	2554,54	2554,54	8,29	0,0139
Cúbica	1	68,58	68,58	0,22	0,6456
Erro	12	3697,83	308,15		
Total	15	6321,43			

Apêndice 90. Tabela de análise de regressão para para o parâmetro A (ml) no ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 40 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	51,59	51,59	0,11	0,7434
Quadrática	1	538,36	538,36	1,17	0,2996
Cúbica	1	24,12	24,12	0,05	0,8227
Erro	13	5996,07	461,24		
Total	16	6610,14			

Apêndice 91. Tabela de análise de regressão para o parâmetro A (ml) no ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 60 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	229,53	229,53	3,10	0,0985
Quadrática	1	847,59	847,59	11,46	0,0041
Cúbica	1	337,51	337,51	4,56	0,0496
Erro	15	1109,78	73,99		
Total	18	2524,42			

Apêndice 92. Tabela de análise de regressão para o parâmetro A (ml) no ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com uréia

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	9907,78	9907,78	29,36	<0,0001
Quadrática	1	8906,46	8906,46	26,39	<0,0001
Cúbica	1	44,64	44,64	0,13	0,7187
Erro	29	9786,89	337,48		
Total	32	28645,77			

Apêndice 93. Tabela de análise de regressão para o parâmetro A (ml) no ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com PIS

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	14813,39	14813,39	192,04	<0,0001
Quadrática	1	90,23	90,23	1,17	0,2884
Cúbica	1	309,54	309,54	4,01	0,0578
Erro	29	2236,99	77,14		
Total	32	17450,15			

Apêndice 94. Tabela de análise de regressão para o parâmetro B (%/h) do ensaio 3 em função da inclusão de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	57,13	57,13	74,79	<0,0001
Quadrática	1	15,26	15,26	19,97	<0,0001
Cúbica	1	2,31	2,31	3,03	0,0854
Erro	88	67,22	0,76		
Total	91	141,91			

Apêndice 95. Tabela de análise de regressão para o parâmetro C (h) do ensaio 3 em função da inclusão de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	36,53	36,53	20,16	<0,0001
Quadrática	1	0,15	0,15	0,08	0,7779
Cúbica	1	0,01	0,01	0,00	0,9547
Erro	90	163,11	1,81		
Total	93	199,80			

Apêndice 96. Tabela de análise de regressão para o parâmetro D (ml) do ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com uréia

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	1,00	1,00	0,00	0,9540
Quadrática	1	5056,45	5056,45	17,07	0,0002
Cúbica	1	19,29	19,29	0,07	0,8001
Erro	36	10664,16	296,23		
Total	39	15740,90			

Apêndice 97. Tabela de análise de regressão para o parâmetro D (ml) do ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com PIS

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	1432,53	1432,53	19,27	<0,0001
Quadrática	1	79,42	79,42	1,07	0,3080
Cúbica	1	254,19	254,19	3,42	0,0724
Erro	37	2750,28	74,33		
Total	40	4516,42			

Apêndice 98. Tabela de análise de regressão para o parâmetro D (ml) do ensaio 3 entre a interação da PDR suplementar com uréia

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	257,60	257,60	0,73	0,3975
Quadrática	1	2779,54	2779,54	7,91	0,0079
Cúbica	1	57,93	57,93	0,16	0,6871
Erro	36	12645,83	351,27		
Total	39	15740,90			

Apêndice 99. Tabela de análise de regressão para o parâmetro D (ml) do ensaio 3 entre a interação da PDR suplementar com PIS

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	216,88	216,88	1,92	0,1741
Quadrática	1	120,93	120,93	1,07	0,3075
Cúbica	1	0,06	0,06	0,00	0,9817
Erro	37	4178,55	112,93		
Total	40	4516,42			

Apêndice 100. Tabela de análise de regressão para o parâmetro E (%/h) do ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, sem a inclusão de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,58	0,58	4,05	0,0614
Quadrática	1	0,21	0,21	1,49	0,2405
Cúbica	1	0,18	0,18	1,24	0,2824
Erro	16	2,28	0,14		
Total	19	3,24			

Apêndice 101. Tabela de análise de regressão para o parâmetro E (%/h) do ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 20 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,02	0,02	0,30	0,5880
Quadrática	1	0,07	0,07	1,27	0,2737
Cúbica	1	0,13	0,13	2,47	0,1314
Erro	20	1,08	0,05		
Total	23	1,30			

Apêndice 102. Tabela de análise de regressão para o parâmetro E (%/h) do ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 40 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,00	0,00	0,00	0,9768
Quadrática	1	0,07	0,07	1,39	0,2526
Cúbica	1	0,00	0,00	0,07	0,7997
Erro	20	0,94	0,05		
Total	23	1,01			

Apêndice 103. Tabela de análise de regressão para o parâmetro E (%/h) do ensaio 3 entre a interação do nível de inclusão de milho com PDR suplementar, com 60 % de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	0,28	0,28	3,02	0,0974
Quadrática	1	0,03	0,03	0,35	0,5618
Cúbica	1	0,01	0,01	0,09	0,7674
Erro	20	1,85	0,09		
Total	23	2,18			

Apêndice 104. Tabela de análise de regressão para o parâmetro F (h) do ensaio 3 em função da inclusão de milho

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Linear	1	1990,92	1990,92	16,72	<0,0001
Quadrática	1	1118,14	1118,14	9,39	0,0029
Cúbica	1	0,67	0,67	0,01	0,9402
Erro	92	10953,02	119,05		
Total	95	14062,75			

8. VITA

Cássio André Wilbert, filho de Luiz Roberto Wilbert e Nair Clair Wilbert, nascido em 19 de julho de 1983, em Taquara, Rio Grande do Sul.

Estudou na Escola Municipal de Ensino Fundamental Machado de Assis, no município de Igrejinha, onde concluiu o ensino fundamental, em 1997, e no Colégio de Ensino Médio e Fundamental Santa Teresinha, em Taquara, onde completou o ensino médio, em 2000. Em 2001 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), onde, em 2002, começou a trabalhar como Bolsista de Iniciação Científica no Departamento de Zootecnia sob orientação do professor Harold Ospina Patino, até 2004, quando passou a ser orientado pelo professor Ênio Rosa Prates, o que ocorreu até fins de 2005. Neste ano, passou a ser orientado pelo professor Júlio Otávio Jardim Barcellos, até o fim de 2006. Cumpriu o estágio curricular obrigatório na Universidade do Litoral, em Esperanza - Argentina, e no Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária (INTA), em Rafaela – Argentina, formando-se Médico Veterinário em dezembro de 2006 e recebendo os prêmios de melhor desempenho acadêmico e excelência em zootecnia. Ingressou no curso de mestrado em zootecnia, área de produção animal, em março de 2007, sob a orientação do professor Ênio Rosa Prates e co-orientação do professor Júlio Otávio Jardim Barcellos.