



Equação de regressão para estimar volume de gases ruminais e correlação entre composição química e parâmetros da fermentação

Regression equation to estimate volume of ruminal gases and correlation between chemical composition and fermentation parameters

Vinicius da Silva Oliveira¹; Jucileia Aparecida da Silva Morais²;
Jailson Lara Fagundes²; Juliana Caroline Santos Santana³; Evandro Neves Muniz⁴;
Roberta de Lima Valença⁵

¹ORCID: 0000-0002-5694-0347; Pós-Doutorando em Zootecnia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE. viny_olivira@yahoo.com.br;

²ORCID: 0000-0001-6412-0130; Professor Adjunto do Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE. juci_morais@yahoo.com.br;

³ORCID: 0000-0003-2303-3377; Mestranda em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS. jukrol@hotmail.com;

⁴ORCID: 0000-0003-2806-229X; Pesquisador Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. evandro.muniz@embrapa.com;

⁵ORCID: 0000-0003-1341-1602; Pós-Doutoranda em Ciência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, PE. robertalimav@hotmail.com.

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 01 de maio de 2020; Aceito em: 16 de agosto de 2020; publicado em 10 de 10 de 2020. Copyright© Autor, 2020.

RESUMO: Objetivou-se determinar a equação de regressão para se estimar o volume de gases para implantação da técnica semiautomática de produção de gases *in vitro* e avaliar a correlação entre os parâmetros de fermentação ruminal e de composição bromatológica de forrageiras tropicais. As espécies avaliadas foram *Urochloa brizantha* cv. MG-5, *Andropogon gayanus*, *Urochloa humidicola* e *Digitaria umfolozi*. As forrageiras foram avaliadas quanto a composição química e cinética de fermentação ruminal pela técnica de produção de gases *in vitro* semiautomática. A pressão mínima de gases obtida foi de 0,09 psi, sendo a pressão máxima registrada foi de 4,8 psi, o volume mínimo de gases registrado foi de 0,30 ml e o máximo de 20 mL. A equação linear é a que melhor prediz os dados de volume de gases em relação a pressão, por possuir valor de R² e correlação variando de 0,94 a 1,00, respectivamente). O aumento no teor de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e lignina reduzem o volume total de gases produzido. A composição químico-bromatológica correlaciona-se com alguns parâmetros de fermentação ruminal, refletido na cinética da degradação das forrageiras.

PALAVRAS-CHAVE: Degradabilidade digestibilidade, forrageiras, gramínea, produção de gás, técnica semiautomática.

ABSTRACT: The objective was to determine the regression equation to estimate the volume of gases for the implementation of the semi-automatic technique of *in vitro* gas production and to evaluate the correlation between ruminal fermentation parameters and chemical composition of tropical forages. The species evaluated were *Urochloa brizantha* cv. MG-5, *Andropogon gayanus*, *Urochloa humidicola* and *Digitaria umfolozi*. Forages were evaluated for chemical and kinetic composition of ruminal fermentation using the semi-automatic *in vitro* gas production technique. The minimum gas pressure obtained was 0.09 psi, with the maximum recorded pressure being 4.8 psi, the minimum registered gas volume was 0.30 ml and the maximum 20 ml. The linear equation is the one that best predicts gas volume data in relation to pressure, as it has an R² value and a correlation ranging from 0.94 to 1.00, respectively). The increase in dry matter, organic matter, crude protein and lignin content reduces the total volume of gases produced. The chemical-bromatological composition correlates with some ruminal fermentation parameters, reflected in the degradation kinetics of forages.

KEYWORDS: Degradability, digestibility, forage, grass, gas production, semi-automatic technique.

INTRODUÇÃO

O uso da técnica de produção de gases *in vitro* permite o conhecimento detalhado da dinâmica da degradação do alimento a nível ruminal, pois possibilita estimar a taxa de degradação das frações que compõem o alimento (OLIVEIRA et al., 2017). Essa técnica consiste na incubação de amostras de alimento em garrafas de vidro, inoculadas com líquido ruminal, onde são realizadas leituras no interior das garrafas de pressão e volume de gases (PALMER et al., 2005; OWENS e BASALAN, 2016; ZOU et al., 2018).

A produção de gases *in vitro* pode ser obtida pela técnica automática e semiautomática, sendo que a produção de gases automática é obtida com aparelho apropriado (ANKOM®), onde pressão de gases dentro dos frascos é registrada por sensores de pressão localizados nas tampas dos frascos ou módulos, os quais transferem as informações de cada frasco por meio de uma base coordenadora conectada a um computador (SILVA et al., 2015). Para utilização da técnica semiautomática é preciso acoplar ao sistema um medidor de pressão de gases, e uma seringa graduada, para se obter a pressão e o volume de gases produzidos ao longo do tempo (OLIVEIRA et al., 2014). No entanto, para que essa técnica seja implantada em um determinado laboratório é necessário que se estabeleça a relação entre o volume e a pressão exercida pelos gases nesse determinado local, estabelecendo-se assim uma equação de regressão capaz de prever essa relação (MAURICIO et al., 2003).

A técnica de produção de gases *in vitro* vem sendo amplamente utilizada em avaliações corriqueiras de amostras de alimento (MAURÍCIO et al., 1999), por possibilitar o conhecimento detalhado da cinética de fermentação ruminal (OLIVEIRA et al., 2017). No entanto, é importante também que se estabeleça qual a relação que há entre a composição química do alimento e a sua cinética de degradação ruminal, para que as análises prévias realizadas no alimento possam ser utilizadas para explicar os resultados obtidos pelo uso dessa técnica.

Objetivou-se determinar a equação de regressão para se estimar o volume de gases para implantação da técnica semiautomática de produção de gases *in vitro* e a relação entre volume e pressão de gases para implantação da técnica semiautomática de produção de gases *in vitro* no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal

de Sergipe, e avaliar a correlação entre a cinética de fermentação ruminal e composição químico-bromatológica de forrageiras tropicais.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O experimento foi realizado de outubro de 2012 a agosto de 2013, na fazenda experimental Campus Rural e no Laboratório de Nutrição Animal pertencentes à Universidade Federal de Sergipe, localizados no município de São Cristóvão – SE.

Foram utilizadas quatro espécies forrageiras (*Urochloa brizantha* cv. MG5, *Andropogon gayanus*, *Urochloa humidicola* e *Digitaria umfolozi*), as forrageiras foram cultivadas em canteiros experimentais com 4 m² (2x2 m), sendo que foram utilizados oito canteiros experimentais por espécie forrageira, que constituíram-se nas repetições.

No início do período experimental foi realizada uma adubação e um corte de uniformização nas parcelas experimentais, com base na análise de solo realizada pelo Instituto de Pesquisa e Tecnologia de Sergipe (ITPS). Foram utilizados 50 kg.ha⁻¹ de N, 150 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ e 80 kg.ha⁻¹ de K₂O em uma única dose. Foram realizados dois cortes em cada canteiro em uma área de 0,25 m², rente ao solo com intervalo de 45 dias entre cada corte. Após coletadas as amostras foram pesadas e separadas nos componentes morfológicos (lâmina foliar, colmo e material morto). Posteriormente os componentes foram colocados em estufa com circulação de ar forçada a 55°C por 72 h.

As amostras das lâminas foliares foram avaliadas quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB) de acordo com metodologia descrita na AOAC (1990). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados de acordo com metodologia proposta por Van Soest et al. (1991) e o teor de FDN foi corrigido para cinzas e proteínas (FDN_{cp}). Para determinação da lignina foi usada metodologia descrita por Van Soest (1967), utilizando ácido sulfúrico a 72%.

Na Tabela 1, estão apresentados os dados referentes à produção e composição química e morfológica das lâminas foliares das quatro espécies forrageiras.

Tabela 1 – Produção e composição química e morfológica das lâminas foliares de quatro espécies forrageiras cultivadas na região dos Tabuleiros Costeiros de Sergipe

	Espécies Forrageiras			
	<i>D. umfolozi</i>	Andropogon	Humidicola	MG-5
Produção de matéria seca (kg/ha)	6282	10101	7708	5951
Lâmina foliar (kg/ha)	2274	4121	2613	2374
Colmo (kg/ha)	1395	3333	2806	1684
Matéria morta (kg/ha)	2607	2657	2289	1892
Matéria seca (g/kg)	302	306	261	303
Matéria orgânica (g/kg de MS)	942	952	936	939
Proteína bruta (g/kg de MS)	65,2	81,4	67,1	62,0
Fibra em detergente neutro (g/kg de MS)	750	755	754	736
Fibra em detergente ácido (g/kg de MS)	437	506	487	507
Lignina (g/kg de MS)	64,3	85,6	58,2	54,8

As amostras de lâminas foliares foram analisadas quanto à produção de gases *in vitro* semiautomática de acordo com metodologia descrita por Theodorou et al. (1994). Para isso, após a secagem em estufa com circulação forçada de ar a 55°C, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey com peneira com crivos de 5 mm. O líquido ruminal foi coletado de dois ovinos machos castrados canulados no rúmen, alimentados com gramínea fresca, de acordo com protocolo do comitê de ética 05/2013 CEPAP. O inóculo ruminal foi preparado pela mistura do líquido dos dois animais, sendo filtrado em gaze, durante o processo de preparo o líquido ruminal foi mantido fluxo constante de CO₂ e acondicionado em garrafas térmicas pré-aquecidas com água a 38 °C.

As amostras foram incubadas em frascos de vidro tipo penicilina com capacidade total de 100 mL. Cada frasco continha 670 mg de amostra em 67 mL de solução de incubação. Na solução de incubação utilizou-se cisteína-HCl como agente redutor e 20% de inóculo ruminal, sendo mantido fluxo constante de CO₂.

Os frascos foram inoculados manualmente, em seguida foram vedados com rolhas de borracha (14 mm), lacradas com lacre de alumínio e mantidos em banho-maria a 39 °C. Realizaram-se duas séries de incubação com as amostras, com 68 frascos por série, sendo que em cada uma foram utilizados quatro frascos sem amostras (brancos).

As leituras de produção de gases foram obtidas a 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 e 96 horas de incubação, registrando-se a pressão no interior do frasco com um transdutor de pressão digital (Delta Ohm DO 9704), acoplado a uma válvula de três vias, sendo que a pressão foi registrada em psi. Imediatamente após as leituras de pressão o volume de gases foi obtido por uma seringa graduada, acoplada a válvula e o êmbolo da seringa foi deslocado até que a pressão do transdutor retornasse a zero.

Os dados de volume e pressão de gases foram tabulados para obtenção dos modelos estatísticos linear, quadrático e cúbico, a fim de determinar a correlação entre volume de gases produzido e pressão de gases. Os referidos modelos, e equações de regressões foram obtidas pelo comando PROC REG do pacote estatístico do SAS (SAS University Edition). Os dados de pressão de gases e os volumes obtidos pelos modelos (linear, quadrático e cúbico) foram submetidos a análise de correlação linear de Pearson, utilizando-se o procedimento PROC CORR do software estatístico do SAS (SAS University Edition). O modelo considerado satisfatório foi aquele que apresentou maior valor de R^2 e a maior correlação, acima de 0,85, entre o volume e pressão de gases.

Após a obtenção do modelo matemático, estimou-se o volume total de gases e outros parâmetros. Posteriormente, a produção de gases em cada tempo foi corrigida para a produção de gases média obtida de frascos contendo o meio de incubação sem amostra. Os volumes médios de produção de gases para cada tratamento nos respectivos tempos de incubação foram ajustados ao modelo logístico bicompartimental (Schofield et al., 1994), descrito a seguir: $VT = Vf_1 / (1 + \exp(2 - 4 * C1 * (T - L))) + Vf_2 / (1 + \exp(2 - 4 * C2 * (T - L)))$. Sendo: VT = volume total de gases (ml/100 mg MS) acumulado no tempo, Vf_1 = volume de gases (ml) da fração de rápida digestão, C1 = taxa de degradação da fração de rápida digestão (1/h), L = lag time tempo de colonização da fibra (h), Vf_2 = volume de gases (ml) da fração de lenta digestão, C2 = taxa de degradação da fração de lenta digestão (1/h).

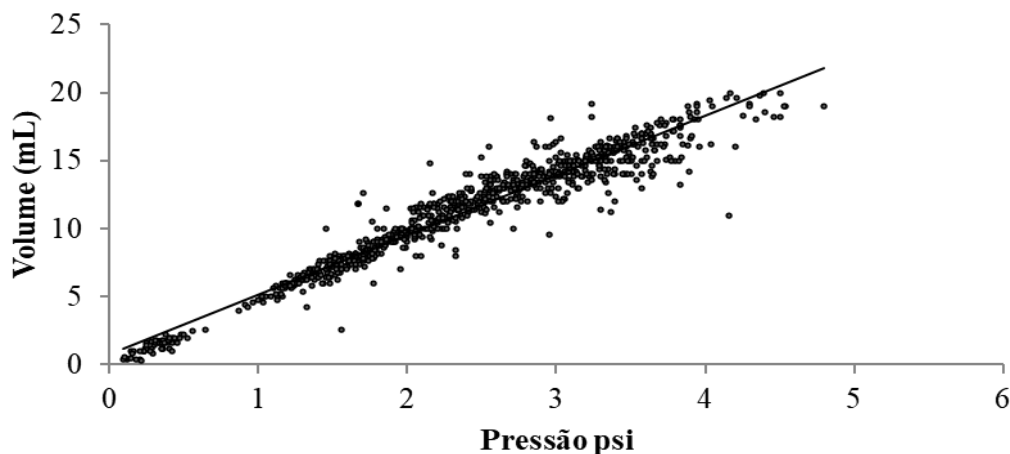
Os parâmetros foram estimados por modelo matemático utilizando-se métodos interativos não lineares. Os resultados foram ajustados por estimativas de quadrados mínimos, utilizando-se o método Marquardt, através do procedimento PROC NLIN do software estatístico SAS (SAS University Edition). Os dados estimados dos parâmetros de cinética de fermentação ruminal e composição bromatológica foram submetidos à análise de correlação linear de Pearson, utilizando-se o procedimento PROC CORR do

pacote estatístico do SAS (SAS University Edition), sendo consideradas significativas quando $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram geradas 952 leituras de pressão e volume de gases correspondentes. No gráfico são apresentados os dados da relação entre a pressão e o volume de gases a partir da fermentação de quatro espécies forrageiras.

Gráfico 1 - Relação entre pressão e volume de gases obtidos pela técnica de produção de gases *in vitro* semiautomática de gramineas forrageiras



A menor pressão de gases (0,09 psi) foi registrada após duas horas de incubação, sendo a pressão máxima de 4,8 psi, o volume mínimo de gases obtido foi de 0,30 mL e o máximo foi de 20 mL. Theodorou et al. (1994) afirmam que a pressão máxima de gases não deve ultrapassar 7,0 psi, pois pressões superiores afetam negativamente o crescimento microbiano. Portanto, os resultados do presente trabalho ficaram abaixo da pressão máxima recomendada.

Giraldo et al. (2006), estabelecendo a relação entre pressão e volume de gases de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), braquiária (*Brachiaria humidicola*) obtiveram pressão de gases entre 0,04 e 5,06 psi e um volume entre 1 e 27 mL. Já Azevedo et al. (2010), implantando a técnica de produção de gases *in vitro* semiautomática, através da

fermentação de cinco cultivares de caju, obtiveram uma pressão de gases entre 0 e 6,2 psi, e o volume entre 0 e 35 mL.

A equação de regressão que melhor prediz os dados de volume de gases obtido a partir da pressão é a linear (Tabela 2), pois além de apresentar um valor de R² elevado (0,94) foi a que apresentou o valor de correlação 1,00, pois, quanto maior o R² e a correlação entre o volume e a pressão dos gases, melhor é a acurácia da equação para determinar o volume a partir da pressão dos gases, no local onde a técnica de produção de gases *in vitro* semiautomática foi utilizada.

Tabela 2 - Equações de regressão e valores de R² obtidos pela técnica de produção de gases *in vitro* de gramíneas forrageiras submetidas ou não a irrigação

	Equação de regressão	R ²	Correlação
Linear	$\hat{Y} = 0,8261 + 4,3661X$	0,94	1,00
Quadrático	$\hat{Y} = -0,772 + 6,0878X - 0,3822X^2$	0,95	0,99
Cúbico	$\hat{Y} = -0,3416 + 5,1282X + 0,1348X^2 - 0,0782X^3$	0,95	0,99

y = volume estimado de gases; x = pressão dos gases em psi (Polegadas por libras quadradas).

A equação de regressão para predizer os dados de volume de gases a partir da pressão, obtida no presente estudo difere das equações obtidas por Azevedo et al. (2010) e Silva et al., (2012), como visto na Tabela 2, esses estudos obtiveram uma equação quadrática que melhor prediz a relação volume e pressão, sendo que, essas equações possuem um R² maior que a do presente estudo (0,99). Já Silva et al. (2012), também obtiveram uma equação quadrática, no entanto, com menor valor de R² (0,77). Entretanto Marques et al. (2013), obtiveram uma equação de regressão linear da relação volume e pressão dos gases, como obtido no presente estudo, porém com menor valor de R² (0,90) utilizando 4 variedades de silagem mandioca.

No presente estudo uma pressão de um psi equivale a um volume de 5,19 mL de gases. Esse resultado se assemelha aos obtidos nos estudos de Azevedo et al. (2010), onde a pressão de um psi corresponde a um volume de 4,88; 4,84 e 4,55 mL de gases, respectivamente. Porém, esse resultado diferiu dos trabalhos de Silva et al. (2012) e Marques et al. (2013), onde a pressão de um psi geraram volumes de 129,4 e 6,287 mL de gases, respectivamente.

Na Tabela 3 são apresentados os dados de correlação entre a composição bromatológica e os parâmetros estimados de fermentação ruminal. Para o teor de MS foi observada correlação negativa ($P < 0,05$) com o volume total de gases (VT), com o volume da fração de rápida e lenta degradação (Vf_1 e Vf_2 , respectivamente) e com a taxa de produção de gases da fração de lenta degradação (C_2). O aumento do teor de MS ocorre com o avançar da idade da forrageiras, sendo que plantas com idade avançada possuem maior proporção de tecidos lignificados, principalmente forrageiras topicais, que possuem rápido crescimento e lignificação dos seus tecidos (SILVA et al., 2014), o que reduz a degradabilidade da forragem, explicando esses resultados. Todavia, na tabela de composição a MS variou pouco entre as forrageiras avaliadas.

Os teores de MO e PB apresentaram correlação negativa ($P < 0,05$) com o VT e Vf_1 , sendo que foi observada correlação positiva ($P < 0,05$) entre essas frações e o tempo de colonização da fibra (*lag time*, L). Para o Vf_2 foi observado correlação positiva ($P < 0,05$) com o teor de PB. Os teores de FDN e FDA não se correlacionaram ($P > 0,05$) com nenhum dos parâmetros estimados de fermentação ruminal. O teor de lignina se correlacionou ($P < 0,05$) negativamente com o VT, Vf_1 e com o Vf_2 , houve correlação ($P < 0,05$) positiva entre o teor de lignina e a fase de latência (Tabela 3).

Tabela 3 - Correlação entre composição bromatológica e parâmetros de fermentação ruminal, obtidos pela técnica de produção de gases *in vitro* semiautomática de gramíneas tropicais

	Matéria seca	Matéria Orgânica	Proteína Bruta	FDN ¹	FDA ²	Lignina
VT ³	-0,73	-0,52	-0,57	-	-	-0,73
Vf_1 ⁴	-0,60	-0,64	-0,69	-	-	-0,71
C1 ⁵	-	-	-	-	-	-
L ⁶	-	0,37	0,37	-	-	0,48
Vf_2 ⁷	-0,63	-	0,49	-	-	-0,56
C2 ⁸	-0,45	-	-	-	-	-

¹Fibra em detergente neutro; ²Fibra em detergente ácido; ³Volume total de gases (mL/100 mg MS) acumulado no tempo T; ⁴Volume de gases (mL) da fração de rápida digestão; ⁵Taxa de degradação da fração de rápida digestão (1/h); ⁶*Lag time* tempo de colonização da fibra (h); ⁷Volume de gases (mL) da fração de lenta digestão; ⁸Taxa de degradação da fração de lenta digestão (1/h).

A redução observada no VT, Vf₁ e o aumento da fase de latência ocorrido com o aumento do teor de MO são explicados pelo aumento nos teores de celulose e lignina da forragem, visto que, esses componentes apresentam mais lenta degradação ruminal resultando assim em uma reduzida taxa de degradação ruminal (REIS et al., 2005), e elevam o teor de MO com o avanço da idade da planta.

A redução do VT e Vf₁, e aumento do *lag time* e o do VF₂ ocorridos com o aumento do teor de PB (correlações negativas, Tabela 3), se devem ao fato de que quando o teor de PB das forrageiras aumenta, há proporcionalmente uma redução no teor de carboidratos, pois, essas proporções são relativas a MS. Sendo que, as proteínas não contribuem significativamente para o aumento da produção de gases. Para os microrganismos ruminais se desenvolverem adequadamente no ecossistema ruminal, é necessário o fornecimento adequado de proteína e energia (RUSSUEL et al., 1992).

O fato do aumento do teor de lignina reduzir o VT, Vf₁, Vf₂ e C₁, além de aumentar o tempo de colonização da fibra é explicado por conta desse componente da forragem não ser degradável, criando uma barreira mecânica para ação dos microrganismos, dificultando a degradação da fibra (VAN SOEST, 1994).

CONCLUSÃO

A equação linear predita no presente estudo estima de forma satisfatória o volume de gases de gramíneas forrageiras, podendo ser aplicada em estudos de produção de gases *in vitro* realizados na Universidade Federal de Sergipe. A composição químico-bromatológica da forragem se correlaciona com alguns parâmetros de fermentação ruminal, influenciando a degradação da planta a nível ruminal.

REFERÊNCIAS

1. Association of Official Analytical Chemists AOAC 1990. Official Methods of Analysis. 15 ed. Arlington, V.A.

2. AZEVÊDO, M. M. R., VASCONCELOS, V. R., PIMENTEL, J. C. M., PINTO, B. Í. S., DE ARAÚJO NETO, J. C., CARVALHO, A. A. Estimativa do Volume de Gases por Meio de Equação de Regressão para Implantação da Técnica *In Vitro* Semiautomática de Produção de Gases. *Revista Científica de Produção Animal*, v.10, n.1, p.15-20, 2010.
3. GIRALDO, LA., GUTIÉRREZ, L.A., SÁNCHEZ, J., BOLÍVAR, P.A. Relación entre presión y volumen para el montaje de la técnica in vitro de producción de gas en Colombia. *Livestock Research for Rural Development*, v. 18, n. 6, 2006.
4. MARQUES, K. M. S., ROCHA JÚNIOR, V. R., REIS, S. T. D., SOUZA, V. M. D., PIRES, D. A. D. A., PALMA, M. N. N. D., SILVA, G.W,V,S, ANTUNES, A. P. D. S. Cinética de fermentação in vitro de silagens da parte aérea de mandioca. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 14, n. 1, p. 233-247, 2013.
5. MAURICIO, R. M., MOULD, F. L., DHANOA, M. S., OWEN, E., CHANNA, K. S., & THEODOROU, M. K. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, v. 79, n. 4, p. 321-330, 1999.
6. MAURÍCIO, R. M., PEREIRA, L. G. R., GONÇALVES, L. C., RODRIGUEZ, N. M. Relação entre pressão e volume para implantação da técnica in vitro semi-automática de produção de gases na avaliação de forrageiras tropicais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 55, n. 2, p. 216-219, 2003.
7. OLIVEIRA, V. D. S., VALENÇA, R. D. L., SANTANA-NETO, J. A., SANTANA, J. C. S., SANTOS, C. B., LIMA, I. G. S. Utilização da técnica de produção de gás in vitro para estimar a digestibilidade dos alimentos. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, v. 23, n. 12, 2014.
8. OLIVEIRA, V. S., MORAIS, J. A. S., MUNIZ, E. N., FAGUNDES, J. L., LIMA, I. G. S., SANTANA, J. S., & SANTOS, C. B. Cinética ruminal de forrageiras tropicais submetidas ou não a sistema de irrigação. *Boletim de Indústria Animal*, v. 74, n. 3, p. 195-204, 2017.

9. OWENS, F. N.; BASALAN, M. Ruminal fermentation. In: Rumenology. Springer, Cham, 2016. p. 63-102.
10. PALMER, M. J. A., JESSOP, N. S., FAWCETT, R., ILLIUS, A. W. Interference of indirect gas produced by grass silage fermentation acids in an in vitro gas production technique. *Animal feed science and technology*, v. 123, p. 185-196, 2005.
11. REIS, R. A., MELO, G. D., Bertipaglia, L. M. A., Oliveira, A. P. Otimização da utilização da forragem disponível através da suplementação estratégica. *Volumosos na produção de ruminantes. Jaboticabal: Funep*, p. 187-238, 2005.
12. RUSSELL, J. B., O'CONNOR, J. D., FOX, D. G., VAN SOEST, P. J., SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *Journal of animal science*, v. 70, n. 11, p. 3551-3561, 1992.
13. SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of animal science*, v. 72, n. 11, p. 2980-2991, 1994.
14. SILVA, C. F. P. G., FIGUEIREDO, M. P., PEDREIRA, M. S., BERNARDINO, F. S., FARIAS, D. H., & AZÊVEDO, J. A. G. Cinética e parâmetros de fermentação ruminal in vitro de silagens de parte aérea e raízes de mandioca. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 64, n. 6, p. 1639-1648, 2012.
15. SILVA, D. C. D., ALVES, A. A., LACERDA, M. D. S. B., MOREIRA FILHO, M. A., OLIVEIRA, M. E. D., LAFAYETTE, E. A. Valor nutritivo do capim-andropogon em quatro idades de rebrota em período chuvoso. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 15, n. 3, p. 626-636, 2014.
16. SILVA, L. H. X., GOES, R. H. T. B., CARNEIRO, M. M. Y., BURIN, P. C., DE OLIVEIRA, E. R., SOUZA, K. A., ÍTAVO, L.C.V., BRANCO, A.F., OLIVEIRA, R. T. Produção total de gases e degradabilidade in vitro de dietas com torta de girassol. *Archivos de zootecnia*, v. 64, n. 248, p. 365-371, 2015.
17. THEODOROU, M. K., WILLIAMS, B. A., DHANOA, M. S., MCALLAN, A. B., FRANCE, J. A simple gas production method using a

pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal feed science and technology*, v. 48, n. 3-4, p. 185-197, 1994.

18. VAN SOEST, Peter J. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell university press, 1994, 476p.

19. VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *Journal of animal Science*, v. 26, n. 1, p. 119-128, 1967.

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

21. ZUO, S., NIU, D., ZHENG, M., JIANG, D., TIAN, P., LI, R., XU, C. Effect of *Irpex lacteus*, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus* pretreatment of corn stover on its improvement of the in vitro rumen fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 98, n. 11, p. 4287-4295, 2018.