

LUIZ ANTONIO DA COSTA LOVADINI
ENGENHEIRO-AGRÔNOMO

EFEITO DA MATURIDADE DA PLANTA SÔBRE A COMPOSIÇÃO EM FIBRA BRUTA, CELULOSE, LIGNINA E DIGESTIBILIDADE DA CELULOSE "IN VITRO", EM VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de "Magister Scientiae"

PIRACICABA
1971

À meus pais,

minha espôsa

e minha filha.

Aqui deixamos expressos nossos agradecimentos:

Ao Prof. Alvin L. Moxon, orientador da Tese, pela orientação segura, sugestões e esclarecimentos inestimáveis, na execução dêste trabalho.

Ao Prof. Aristeu Mendes Peixoto, Coordenador do Curso de Pós-Graduação de Nutrição Animal e Pastagens, que além de contribuir com sugestões para o trabalho, prestou valiosa colaboração, proporcionando tôdas as facilidades materiais para a execução do mesmo.

Ao Eng^o Agr^o Sergio Bicudo Paranhos, Chefe da Estação Experimental de Cana de Piracicaba, pela condução do trabalho no campo.

Ao Dr. Celso Lemaire de Moraes, Prof. Assistente do Departamento de Zootecnia, pelas sugestões e orientação nas análises de laboratório.

Ao Convênio USAID/OSU/ESALQ, na pessoa do Prof. Alvin L. Moxon, pela bolsa recebida, que possibilitou meus estudos de Pós-Graduação, e por proporcionar recursos materiais à realização do trabalho.

À CAPES, pela doação da bolsa, que possibilitou meus estudos de Pós-Graduação.

Ao Dr. Shiro Miyasaka, Chefe da Seção de Leguminosas do Instituto Agronômico pelo apoio e incentivo recebidos.

E, finalmente aos demais Professores da Ex-Cadeira nº 5 (Zootecnia dos Ruminantes), pelo estímulo, bem como a todos que de uma maneira ou de outra, contribuíram na execução do presente trabalho.

Í N D I C E S D E C A P Í T U L O S

<u>Capítulo</u>	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1. Cana-de-açúcar como forrageira	4
2.2. Valor nutritivo da cana-de-açúcar	5
2.3. Digestibilidade da celulose "in vitro"	12
2.3.1. Fermentação "in vitro"	12
2.3.2. Solubilidade da celulose em cobre-etile no-diamina	16
2.4. Efeito da maturidade sôbre a digestibilidade - das forrageiras	17
3. MATERIAL	20
3.1. Variedades	20
4. MÉTODOS	22
4.1. Plantio das variedades no campo	22
4.2. Amostragem	22
4.3. Métodos analíticos	23
4.3.1. Determinação de umidade	23
4.3.2. Determinação da matéria mineral	24
4.3.3. Determinação da proteína bruta	24
4.3.4. Determinação da fibra bruta	25
4.3.5. Determinação da celulose	25
4.3.6. Determinação da lignina	26
4.3.7. Determinação da digestibilidade da celu lose	27
4.3.7.1. Solubilidade em cobre-etileno- diamina	27
4.3.7.2. Digestibilidade da celulose pe la fermentação "in vitro"	28

<u>Capítulo</u>	<u>Página</u>
4.4. Métodos estatísticos	30
5. RESULTADOS	31
5.1. Desenvolvimento das variedades no campo	31
5.2. Influência do estágio de desenvolvimento sô- bre a composição química	33
5.2.1. Proteína bruta	33
5.2.2. Matéria mineral	35
5.2.3. Fibra bruta	37
5.2.4. Celulose	41
5.2.5. Lignina	43
5.3. Digestibilidade da celulose	47
5.3.1. Fermentação "in vitro"	47
5.3.2. Solubilidade da celulose em cobre-eti- leno-diamina	50
5.4. Desaparecimento da matéria sêca	53
6. CONCLUSÕES	55
7. RESUMO	57
8. SUMMARY	59
9. BIBLIOGRAFIA CITADA	61

1. INTRODUÇÃO

A pastagem constitui-se na maneira mais fácil e barata de fornecer alimentos aos bovinos. Porém, em nossas condições de clima tropical, com uma estação quente e chuvosa e outra fria e seca, a produção de alimentos nas pastagens apresenta variações com essa alteração de fatores. Cerca de 90% da matéria seca da forragem produzida nas pastagens, durante o ano, estão disponíveis na estação quente e chuvosa, tornando-se a estação seca um período crítico no qual a produção de forragem é insuficiente (Pedreira, 1968).

Surge, daí, a necessidade de se fornecer nêsse período, um suprimento alimentar aos animais, uma vêz que suas exigências nutritivas para a manutenção são praticamente as mesmas durante todo o ano. Inúmeros são os trabalhos que mostram a necessidade e vantagem dessa suplementação, bem como as maneiras de fazê-la. Dentre outras está a utilização da cana-de-açúcar sob as mais variadas formas.

A cana de açúcar se apresenta com uma boa fonte de forragem, visto que nessa época, quando tôdas as outras graminéas já completaram seu ciclo e estão secas, encontra-se verde. Isso, aliado à alta produção de forragem por área e a facilidade da colheita, faz dessa espécie um recurso alimentar muito conveniente.

O emprêgo da cana-de-açúcar, em nossas condições, vem de longa data. Esta prática acha-se bastante difundida, a tal ponto que numa pesquisa realizada pelo Departamento de Produção Animal, da qual constou a visita a fazendas localizadas nas regiões leiteiras do Estado de São Paulo, constatou-se que

72,5% dessas propriedades forneciam cana aos animais (Alves Neto, 1957).

É provável que, desde sua introdução no Brasil, a cana-de-açúcar venha sendo utilizada na alimentação dos animais. As variedades utilizadas pelos pecuaristas são quase que praticamente as mesmas industriais, pois faltam maiores informações sobre as chamadas canas forrageiras.

Até o presente, os dados de que dispomos para julgar uma variedade como forrageira são apenas aqueles referentes às características agronômicas, como produção de massa verde, rusticidade, resistência a moléstias, capacidade de perfilhamento, ausência de joçá e vigor de rebrota. Porém, realizando um levantamento químico bromatológico em trinta e nove variedades de cana-de-açúcar, Lovadini e colaboradores (1967), encontraram grandes variações, principalmente nos teores de fibra bruta e proteína. Na opinião dos mesmos autores, essa variação encontrada nas frações de nutrientes permite a seleção de variedades mais adequadas do ponto de vista forrageiro.

Seria necessário um estudo a fim de se conhecer até que ponto a fibra bruta, que representa uma larga fração dos carboidratos na maioria das forragens, ainda se encontra aproveitável pelos ruminantes na forma de celulose ou, inaproveitável, já transformada em lignina.

Somente nos últimos dez a quinze anos começou-se a dar maior importância aos métodos de laboratório para se avaliar as forrageiras. Antes disso, apenas se fazia uso dos métodos clássicos de digestibilidade com animais.

Os processos de laboratório ganharam, porém, grande aceitação entre os melhoristas de planta e os nutricionistas no campo animal, porque podem ser aplicados a amostras relativamente pequenas de material, representando grande economia de forragem.

O emprêgo de tais métodos a variedades de cana-de-açúcar tornaria possível o conhecimento daquelas mais interessantes do ponto de vista bromatológico.

O presente trabalho foi elaborado numa tentativa de se conseguir alguns dados que viessem contribuir para os conhecimentos acima mencionados. Os seus objetivos principais - são os seguintes:

1. - Determinar os constituintes químicos bromatológicos, proteína, fibra bruta e matéria mineral em variedades de cana-de-açúcar mais interessantes do ponto de vista forrageiro.
2. - Determinar as frações celulose e lignina, usando os métodos de Crampton-Maynard, e o de Sullivan, respectivamente.
3. - Estimar a digestibilidade da celulose usando o método do cobre-etileno-diamina (C E D), e a fermentação "in vitro".

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. - Cana-de-açúcar como forrageira

É provável que a partir de sua introdução no Brasil, as mesmas canas nobres da espécie Sacharum officinarum tenham sido utilizadas na alimentação animal (Peixoto, 1964).

Segundo Salgado, citado por Peixoto (1964), a primeira introdução de uma variedade forrageira de cana de açúcar, foi a cana Ubá (Sacharum sinensis Roxb.), recebida no Rio de Janeiro em 1856, com o nome de Cana da China.

Assim sendo, a partir da fundação dos primeiros engenhos no Brasil a cana-de-açúcar vem sendo utilizada na alimentação, principalmente dos animais de trabalho. Todavia, como se utilizavam as sobras da indústria, como ainda hoje se faz, na maioria das vezes, não houve a preocupação de se introduzir variedades com o fim específico do forrageamento dos animais.

Segundo Peixoto (1964), nos últimos decênios do século passado e começo deste, diversas outras variedades devem ter sido introduzidas, para fins forrageiros. Penteado (1917) e Rio Corrêa (1926), citados por Peixoto (1964), se referem a numerosas variedades de canas utilizadas quase que exclusivamente para forragem.

Dentre essas variedades ditas forrageiras, durante muito tempo foram usadas as canas taquara, Ubá, Kawangire e Kassoer, sendo a primeira muito citada em trabalhos de autores nacionais.

Atualmente tôdas essas variedades estão em desuso, sendo a maioria pela suscetibilidade ao carvão. As variedades recomendadas exclusivamente como forrageiras pelo Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo são as seguintes: IAC 36-25,

CO 413, CB 49-260.

Parece que os primeiros autores que se referiram a cana como forragem foram Daffert, Potel e Bolliger (1892-93) que, numa relação de 42 variedades mantidas em coleção pelo Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo, citaram duas como sendo utilizadas para alimentação animal. Essas duas variedades eram, Bambú e a Taquara ou Bambú de Taubaté.

Segundo Peixoto (1964), a cana-de-açúcar poderá ser fornecida aos animais sob diversas modalidades. A mais comum é ser cortada a planta e fornecida inteira ou picada ou ainda desfibrada. Outra modalidade de utilização consistiria em serem fornecidas aos animais as pontas que são retiradas dos colmos no corte. As pontas, segundo Peixoto (1964), representam cerca de 30% da produção total, por área, e quando a cana não é queimada antes do corte, esse material é deixado no campo e posteriormente queimado.

A cana-de-açúcar pode ainda ser ensilada sendo que esta modalidade não é comum nas nossas condições, primeiro pela dificuldade em se conseguir silagem de boa qualidade, e em segundo lugar porque é mais fácil mantê-la no campo até a seca e fornecê-la aos animais nessa época, na forma verde.

A cana pode ainda ser desidratada e moída a ser fornecida nesse estado aos animais. Todavia, esta modalidade também é pouco utilizada.

Segundo Athanassof (1917) e Bregger e Kider (1959), o valor da cana de açúcar como forragem reside, principalmente, em sua alta produção de nutrientes digestíveis totais (NDT) ou energia por área, e no fato de que sua colheita coincide com a época da seca.

2.2. - Valor nutritivo da cana-de-açúcar

Um característico que diferencia a cana de açúcar

das outras gramíneas forrageiras, é seu alto teor de extrativos não nitrogenados, principalmente devido a seu conteúdo em sacarose, em média de 15 a 18% nas variedades industriais.

Se examinarmos os dados do (Quadro 1) extraído do trabalho de Lovadini e colaboradores (1967), que fizeram um levantamento sôbre a composição químico-bromatológica de 39 variedades de cana de açúcar, verificaremos que: existe uma variação bastante grande, principalmente nos teores de fibra bruta e proteína das variedades. Contudo, os teores médios de fibra bruta mostram que a cana se coloca em condições de igualdade com as gramíneas comuns. Apenas quanto aos teores médios de proteína a cana se coloca em inferioridade em relação às outras gramíneas. No entanto, deve-se lembrar, que êsses teores se referem à cana colhida em estágio vegetativo onde os teores de proteína não são os maiores.

QUADRO 1. Composição percentual da matéria sêca de 39 variedades forrageiras de cana de açúcar

Variedades	Proteína	Fibra	Matéria Graxa	E.N.N.	Matéria Mineral
Kassoer	2,17	32,31	1,75	62,28	1,09
CP 11-65	2,03	30,40	1,61	64,50	1,46
CO 421	2,17	24,54	1,78	67,83	3,68
CB 41-35	1,29	26,31	2,01	67,75	1,74
CB 40-11	1,98	22,18	1,77	72,44	1,63
Kassoer (verde)	2,43	33,57	2,92	58,65	2,43
IANE 55-34	1,89	25,59	2,17	69,11	1,24
CB 40-69	1,42	17,40	3,20	76,69	1,29
CB 36-24	1,88	25,72	2,57	67,21	2,62
CB 41-76	1,90	28,90	2,42	64,84	1,94
IAC 36-25	3,78	30,67	2,84	58,06	4,65
CB 46-52	1,94	23,53	2,51	70,90	1,12
CB 41-58	2,12	21,47	2,98	71,12	2,31
CP 44-101	2,01	25,84	3,23	67,64	1,28
CO 275	1,92	36,94	2,35	57,16	1,63
CB 49-15	2,05	28,81	2,43	64,01	2,70
NCO 292	2,70	26,72	3,27	65,06	2,25
POJ 28-22	2,29	42,73	2,07	51,20	1,71
CB 41-14	1,92	24,79	2,58	67,88	2,83
S 36-20	2,57	31,28	1,70	62,70	1,75
CB 40-33	2,12	24,89	2,17	69,16	1,66
Kawangire	2,34	29,00	2,44	64,72	1,50
CB 44-90	2,13	30,47	2,59	61,56	3,25
S 34-53	4,33	35,00	2,64	54,69	3,34
NCO 339	2,14	27,91	3,02	65,48	1,45
CB 47-15	2,43	27,54	3,75	62,81	3,47
CO 419	2,51	23,47	5,51	66,00	2,51
CB 40-77	1,79	22,07	3,68	70,74	1,72
CB 47-368	2,11	27,27	2,82	66,25	1,55
CO 413	2,32	25,01	4,01	74,99	2,14
Yporangueira ..	2,24	26,70	3,16	65,87	2,03
NS 16-94	2,25	36,31	2,63	55,50	3,31
S 36-37	3,00	33,81	1,90	59,68	1,61
CB 40-7	2,26	28,01	4,18	63,72	1,83
S 34-793	2,64	27,83	2,35	66,43	0,75
IAC 55-26	2,95	28,29	2,60	72,86	1,30
CB 49-260	2,48	27,04	5,87	61,72	2,89
CB 49-62	1,90	28,50	3,60	64,87	1,13
S 35-46	3,53	32,41	2,38	58,75	2,48
Média geral das variedades	2,31	28,24	2,83	64,95	2,08

Os teores médios de extrativos não nitrogenados - como se pode ver no Quadro 2, realmente são superiores aos das outras gramíneas.

QUADRO 2. Forragens para corte verde

Forragens	Nutrientes brutos na mat. sêca (%)				
	Proteína	Graxa	Fibra	E.N.N.	Cinza
Cana inteira (a).	2,31	2,83	28,24	64,95	2,08
Capim Napier	4,71	2,35	40,00	41,96	10,98
Capim Guatemala..	5,93	1,98	35,97	47,43	8,70
Capim Angolinha..	7,78	1,95	36,58	44,36	9,34

(a) Dados médios obtidos por Lovadini e colaboradores (1967)

O teor de minerais também se mostrou mais baixo - quando comparado com o das outras gramíneas, sendo êsses dados confirmados por Athanasof (1917), Bolliger (1930), Harrison - (1942), Jardim e colaboradores (1951) e Pedreira (1962), que - verificaram também ser a relação cálcio-fósforo desequilibrada.

Segundo Peixoto (1964), a cana-de-açúcar, quando comparada a outras forrageiras exploradas em nosso meio para - corte verde, pode ser considerada uma forragem que se situa - dentro da média, apenas sendo inferior na porcentagem de pro- teína e cinza. Todavia, a variedade utilizada na comparação - foi a Kassoer^(a) inteira, e ponta de CO 413. Se observarmos os - dados de Lovadini e colaboradores (1967), verificamos que as - variedades, além de possuírem teores menores de proteína e cin- za, apresentam teores mais elevados de extrativos não nitroge- nados.

As informações que possuímos sôbre o valor nutri- tivo da cana-de-açúcar são escassos e às vêzes, discordantes.- É o caso da digestibilidade da proteína, que em alguns casos - tem se revelado praticamente nulo.

Pedreira (1962), estudando a composição química e

a digestibilidade das variedades Kassoer, CO 413, e IAC 36-25, encontrou coeficientes de digestibilidade negativos para prote_ína nas variedades Kassoer e CO 413, e valores bastante baixos (5,61%) para a variedade IAC 36-25. Por outro lado, encontrou coeficientes de digestibilidade mais elevados (21,80%) para a prote_ína na ponta de cana da variedade CO 413.

Outros autôres como Work (1942) no Hawai, Harrison (1942) e Butterworth (1962) em Tr_indad, obtiveram coeficientes de digestibilidade mais ou menos semelhantes para as pontas de cana-de-açúcar. Butterworth (1962), encontrou coeficientes bastante baixos para a cana inteira (6,3%), porém, para a ponta de cana acusou valores mais altos (50,6%), que Pedreira (1962).

Harrison (1942), citando observações de Maule e Walker em Tr_indad para ponta de cana, mostrou coeficientes bastante semelhantes aos obtidos pelos outros autôres para todas as frações. Os dados obtidos com a planta inteira para os coeficientes de digestibilidade da prote_ína para cana Ubá também foram altos (56,0% segundo Maule, e 57,6% segundo Walker), ao contrário dos dados encontrados por Butterworth (1962) e Pedreira (1962) para outras variedades.

Harrison (1942), citando Silk e Wills, apresenta dados de digestibilidade de cana jovem, com 5 meses de idade. Segundo aquele autor, mesmo assim, a cana apresentou coeficiente de digestibilidade baixo para a prote_ína (56,2%), comparável ao da cana em estágio mais avançado.

No caso do coeficiente de digestibilidade da fibra bruta, os dados encontrados pelos diversos autôres citados anteriormente são mais ou menos concordantes, estando ao redor de 58%. Apenas Pedreira (1962) encontrou coeficiente mais baixos, ao redor de 36%. O coeficiente mais alto para a digestibilidade de fibra bruta foi encontrado por Silk e Wills, citados

por Harrison (1942), em cana com 5 meses de idade (65,3%).

Como se pode observar pelos dados de digestibilidades apresentados por diversos autores, o valor nutritivo da cana-de-açúcar é bastante variável se considerarmos a planta inteira ou apenas as pontas. Os coeficientes de digestibilidade da proteína nas pontas é bem mais elevado que na planta inteira.

Trabalhos de Tôrres (1961), mostraram que existe uma variação bastante grande na utilização da cana inteira e da ponta de cana. A primeira é muito mais rica em carboidratos, sendo mais recomendada para animais em engorda, e a segunda para gado leiteiro. Muitos dos trabalhos realizados para se estudar o valor nutritivo da cana de açúcar foram feitos utilizando-se apenas as pontas.

Um dos primeiros trabalhos realizados com a finalidade de estudar o valor nutritivo da cana de açúcar para o gado leiteiro foi o de Athanassof (1917). Neste trabalho o autor comparou a mandioca, cana e o capim fino na alimentação de vacas leiteiras. Embora a cana tenha contribuído para a manutenção do peso dos animais, a produção de leite foi reduzida. Llosa e de Alba (1950), Jardim e colaboradores (1951) e Assis (1967), em estudos comparativos posteriores, mostraram que a cana-de-açúcar é sempre inferior à silagem de milho, capim elefante, mandioca e até mesmo fôlhas de bananeiras para a produção de leite. Llosa e Alba (1950), utilizaram pontas de cana, e Jardim e colaboradores (1951) e Assis (1967) cana inteira. Mesmo quando foram utilizadas apenas as fôlhas e bainhas ("strip-cane"), o capim elefante Napier revelou-se melhor na produção de leite. Por outro lado, Kehar e Sahai (1949) na Índia, em estudo comparativo entre pontas de cana, milho indiano, capim elefante Napier e capim Sudão, chegaram à conclusão que as pontas podem ser consideradas equivalentes aos capins Napier e Su

ção. Observa-se, pois, que os dados às vezes não são muito concordantes entre si, sugerindo a existência de uma variação muito grande entre variedades.

Alguns autores estudaram o emprego da cana-de-açúcar para gado de corte, tanto no estado natural como na forma de silagem. Haines e Le Grand (1960), com bovinos em crescimento mantidos em pasto de capim pangola, mostraram que esses animais ganhavam peso quando recebiam um suplemento de cana-de-açúcar. Nas nossas condições, trabalhos de Villares (1949), mostraram que a cana picada, o feno de capim Jaraguá e a silagem de milho não conseguiram evitar a perda de peso de novilhos de corte durante a seca. De igual modo, trabalhos de Correa e colaboradores (1962), mostraram que a cana-de-açúcar, perfazendo um total de 95% de uma ração para engorda em confinamento, foi inferior a outras cujas percentagens de cana eram menores.

Os dados acima mencionados confirmam aqueles encontrados por Kidder e Kirk (1941) em ensaios realizados na Flórida com vacas de corte, onde a cana não conseguiu manter o peso dos animais. Quando submetidos a um regime exclusivo de cana, foi necessária uma suplementação com torta de algodão para que os animais ganhassem peso.

Outros autores como Brenes e Diaz (1947), e Cabrera e Rivera Brenes (1953), em Porto Rico, Bregger e Kidder (1959) na Flórida, Brogadin e Diaz (1957) na Argentina, estudaram a cana-de-açúcar na forma de silagem. Todos são unânimes em afirmar que a silagem de cana, apesar de apresentar qualidade mais baixa que as demais, é bem aceita pelos animais.

Todavia, parece não existir vantagens em se ensilar a cana-de-açúcar, uma vez que, além de sua colheita coincidir com a época seca, não apresenta vantagens em relação à cana fresca.

Segundo Peixoto (1964), se fizermos uma análise -

em conjunto dos dados apresentados pelos diversos autôres, veremos que reconhecidamente a cana-de-açúcar não pode ser considerada um alimento completo. Sua utilização deve ser mais no sentido de um suprimento energético das rações, tendo em vista seu alto conteúdo em sacarose. Esse fato assume grande importância, uma vez que, segundo dados do Departamento de Produção Animal, citados por Peixoto (1964), um bovino adulto em regime exclusivo de cana de açúcar consumiria de 16 a 18 quilos, o que corresponderia a aproximadamente 2,7 quilos de açúcar. Segundo Noller, citado por Peixoto (1964), a sacarose adicionada às rações de carneiros, na proporção de 1 a 3%, estimularia a digestão da celulose.

2.3. - Digestibilidade da Celulose "IN VITRO"

2.3.1. - Fermentação "In vitro"

Johnson (1963) em um simpósio sobre fermentação "in vitro", diz que, apesar de as técnicas de fermentação terem sido conhecidas desde muito tempo, só atualmente começaram a ser utilizadas na prática, devido a inexistência de técnicas básicas.

Johnson (1963) percorrendo a bibliografia, diz ter encontrado revisões completas sobre o assunto feitas por Baker e Harris (1947) e Marston (1948), e mais recentemente Moxon e Bentley (1955) e Bentley (1959) apresentaram revisões sobre técnicas de fermentação "in vitro".

Segundo Marston, citado por Johnson (1963), os primeiros autôres a postularem que os microorganismos do rumen eram os responsáveis pelo desdobramento da celulose foram independentemente Vildt Zuntz e Ducleaux (1874, 1882) e Tappeiner (1887-1888).

No início dos primeiros trabalhos sobre fermentação "in vitro", o método utilizado para medir a atividade mi-

crobiana, consistia em se incubar o líquido do rúmen filtrado com diversos substratos. Utilizando essa técnica, Woodman e Evans (1938), estudando a digestão da celulose, concluíram que a glicose era apenas um produto intermediário do desdobramento da celulose e que os produtos finais eram ácidos graxos voláteis na forma de piruvato e lactato.

Utilizando-se dessa mesma técnica, Pearson e Smith, citados por Johnson (1963), demonstraram que os microorganismos transformavam o nitrogênio da uréia em nitrogênio proteico.

Em 1948, Marston, citado por Johnson (1963), conseguiu criar um sistema que era chamado de rúmen artificial que continha além do licor do rúmen uma solução de minerais composta de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, KH_2PO_4 , MgSO_4 , CaCl_2 e traços de outros minerais. Foi êsse autor quem primeiro estabeleceu as bases para estudos mais definitivos.

Todavia, somente após a publicação da composição da saliva de carneiro por McDougall (1949), é que se intensificaram os estudos no sentido de obter uma solução de minerais que imitasse a composição da mesma. A partir de então, todas as soluções basais tiveram como base a de McDougall.

A solução basal tem por finalidade manter, tanto quanto possível, as mesmas condições encontradas no rúmen do animal.

Diversas modificações foram feitas à solução do McDougall. Burroughs e colaboradores (1950) trabalhando em Ohio utilizaram a solução de McDougall mais uma série de traços de minerais em um processo de fermentação de 36 horas, em que o inóculo usado em uma fermentação era obtido de uma fermentação anterior.

Nêsse mesmo tempo um processo diferente foi idealizado por Louw e colaboradores (1949). Consistia o mesmo em -

se colocar o líquido ruminal e o substrato em um saco de diálise que era mantido em uma solução mineral. Esse processo visava baixar a concentração dos produtos finais da fermentação, supondo-se que estes eram inibidores dos processos. Era u'a maneira de simular a absorção do rúmen. Todavia, Johnson e colaboradores (1958) demonstraram que os produtos finais da fermentação nas quantidades em que apareciam, não eram inibidores do processo.

Louw e colaboradores (1949) encontraram como tempo ótimo de fermentação o de 24 horas. Esse processo foi muito usado por outros autôres.

Warner, em 1956, incorporou uma série de melhoramentos em um sistema de rúmen artificial que talvez tenha sido o mais aperfeiçoado que apareceu até hoje. O mesmo autor estabeleceu uma série de critérios que deveriam ser levados em conta para que o processo "in vitro" mais se assemelhasse ao "in vivo".

A técnica de preparação do inóculo, segundo Johnson (1963) depende, em grande parte, da finalidade a que se destina o processo.

As técnicas empregadas por Pearson e Smith (1942), Quinn (1943) e Hungate (1955), citados por Johnson (1963) empregavam o conteúdo do rúmen espremido através de um tecido especial, e incubado com substrato de carboidrato ou nitrogênio em presença de uma solução mineral.

Outra técnica, é aquela empregada por Louw e colaboradores (1949) e Burroughs e colaboradores (1950), que utiliza o conteúdo do rúmen diluído em solução mineral.

A partir de então, a técnica tem se constituído em utilizar uma solução basal incubada com o líquido do rúmen, do qual os fragmentos maiores são separados por centrifugação fraca.

Segundo Burroughs e colaboradores (1950), o líquido do rúmen carrega consigo certos princípios que ativam o crescimento dos micro-organismos, além de nutrientes necessários a êsses. Johnson e colaboradores (1958), mostraram que um inóculo superior poderia ser obtido desprezando-se o líquido extraído do conteúdo do rúmen, e reextraindo-se a polpa fibrosa com "buffers".

Segundo Johnson e colaboradores (1958), o pH, no caso da digestão da celulose, deverá ser mantido ao redor de 6, 9, e no sistema de fluxo fechado, o mesmo deverá ser corrigido constantemente com solução saturada de carbonato de sódio. A temperatura ocasionalmente poderá sofrer variações, sendo que o importante é que se mantenha constante durante o processo. A temperatura recomendada é de 39°C. (Johnson, 1966). Segundo ainda o mesmo autor, o tempo de fermentação para a celulose varia de 12 a 48 horas. Donefer e colaboradores (1962) encontraram uma correlação alta e positiva entre a digestibilidade da celulose em 12 horas e o índice de valor nutritivo.

Carvalho (1967), em Viçosa, trabalhando com gramíneas tropicais, verificou que o coeficiente de digestibilidade da matéria sêca cresceu linearmente numa proporção de 0,572 unidades para cada hora de fermentação quando a mesma passou de 24 para 48 horas.

Diversos autores, testando a fermentação da celulose "in vitro", com a digestibilidade da matéria sêca "in vivo", têm encontrado coeficientes de correlação bastante altos. Reid e colaboradores (1964), encontraram um coeficiente de correlação de 0,80 entre a fermentação da celulose "in vitro", e a digestibilidade da matéria sêca "in vivo".

No Brasil, Carvalho (1967), trabalhando com capim pangola, capim gordura e sempre-verde, encontrou uma correlação altamente significativa de 0,90 a 0,95 entre os coeficientes -

de digestibilidade "in vitro" e "in vivo" da matéria sêca e ce
lolose.

2.3.2. - Solubilidade da celulose em Cobre- etileno-diamina.

É conhecido o efeito da lignina sôbre a digestibil
lidade da celulose. à medida que a forrageira atinge um está-
gio adiantado de maturação, aumenta o teor de lignina, e, por
consequente, diminui a digestibilidade da celulose. (Crampton
e Maynard 1938).

Dehority e Johnson (1961), observaram que a solu-
bilidade de celulose em cobre-etileno-diamina decrescia na for-
ragem madura. Essa observação sugeria, então, que a celulose -
dissolvida pelo cobre-etileno-diamina ("CED") estaria correla-
cionada com a digestibilidade da celulose "in vitro", pelos mi
croorganismos do rúmen.

Como o valor nutritivo das forrageiras pode ser -
avaliado partindo-se de métodos de laboratório que nos dão a -
digestibilidade da celulose e de outras frações, como têm sido
demonstrado por diversos autôres como Donefer e colaboradores,
(1962), Reid e colaboradores (1964), Baungardt e colaboradores
(1962), a solubilidade da celulose em "CED" poderia ser muito
útil nêsse particular. O método original foi desenvolvido por
Dehority e Johnson (1963). Segundo os autôres, são três os fa
tôres principais que influenciam a porcentagem de celulose dis
solvida: tempo de extração; concentração do solvente; tamanho
da partícula. O tamanho da partícula não apresentou variação a
acima de 4,5% quando se comparou partículas entre 20 e 60 ma-
lhas, e como as forrageiras para as análises de rotina normal
mente são moídas a 40 malhas conservou-se essa condição. O tem
po de extração que melhor resultado ofereceu foi o de 2 horas.

Outra modificação introduzida foi a seguinte: a a
mostra e o "CED" (30 ml a 50%) foram colocados em tubo de 50 -

ml com tampa, e o volume completado com nitrogênio gasoso, o que impedia o contato do solvente com o ar e sua degradação.

Acêrca da concentração do solvente, os autôres utilizaram o "CED" comercial como 100% (CED 2M) da seguinte maneira: colocava-se no tubo 15 ml do solvente 2M mais 15 ml de água destilada. Dessa forma, obtinha-se a concentração final - 30 ml de "CED" 1M. Essa concentração foi a que deu a máxima - dissolução da celulose.

Dehority e Johnson (1963) mostraram a correlação existente entre a percentagem da celulose dissolvida por "CED" e a digestibilidade da celulose por fermentação "in vitro" em 48 horas, para diversas gramíneas. Os dados abaixo ilustram o fato:

<u>Forrageira</u>	<u>Nº de amostras</u>	<u>r</u>
Timothy	10	0,99
Brome	8	0,99
Orchardgrass	7	0,99
Red Canary	5	0,97

Johnson (1960-1961), citado por Dehority e Johnson (1963), mostrou, ainda, a correlação existente entre a celulose solúvel em "CED" e valores "in vitro" para gramíneas:

<u>Valôres "in vitro"</u>	<u>1960</u>	<u>1961</u>
% de M.S. solúvel	0,91	0,95
% de celulose digestível	0,90	0,94
% de energia digestível	0,91	0,92
Índice de valor nutritivo (NVI)	0,84	0,73
Ingestão voluntária	0,76	0,55

2.4. - Efeito da Maturidade sôbre a digestibilidade das forrageiras.

Sabemos que a digestibilidade das forrageiras está intimamente ligada ao estágio vegetativo, tanto assim que,-

sempre que nos referimos à digestibilidade de uma determinada planta, esta deve estar associada à idade da mesma.

Todavia, a diminuição da digestibilidade com a maturação varia de acôrdo com a espécie forrageira e, segundo - Raymond (1966), essa variação é maior em gramíneas que em legu minosas.

Minson e Milford (1966) na Austrália, estudando a energia digestível e o índice de valor nutritivo do capim pan gola, do Sorghum alnum e do Phaseolus atropurpureus, encontraram que a digestibilidade aparente da energia era correlaciona da com a espécie e com a idade das plantas. Mesmo dentro da - mesma espécie, as variedades de maturação mais tardia geralmen te são mais digestíveis que as mais precoces, a uma determina da idade (Lowe e colaboradores, 1962). Anteriormente, Raymond (1959) e Minson e colaboradores (1960), haviam encontrado re sultados semelhantes constatando, entretanto, que a digestibi lidade declinava lentamente no início do ciclo para no final - do mesmo cair ràpidamente.

A digestibilidade pode variar mesmo dentro de u ma planta se considerarmos separadamente as fôlhas e as hastes. As hastes, geralmente mais ricas em fibra, apresentam coefíci entes de digestibilidade menores que as fôlhas. Trabalhos de - Terry e Tilley (1954), nos quais os autôres estudaram, separa damente, as fôlhas, bainhas e hastes, encontraram que o decrés cimo da digestibilidade era menos acentuada nas fôlhas que nas bainhas e hastes.

Nordfelt e colaboradores (1951), no Hawai, traba lhando com capim Napier cortado a 6, 8, 10, 12, 14 e 15 sema nas, mostraram que a digestibilidade "in vitro" da proteína, - graxa, fibra e extrativos não nitrogenados diminuía à medida - que avançava o ciclo vegetativo. Na Venezuela, Butterworth e - Arias (1965), chegaram às mesmas conclusões, em relação a di-

gestibilidade da matéria sêca do capim Napier.

No Brasil, Fonseca e colaboradores (1965), trabalhando com capins Guatemala e Napier em três fases de desenvolvimento, estudaram a digestibilidade "in vitro", concluindo - que a digestibilidade da proteína decrescia à medida que a idade da planta aumentava.

Da Silva e colaboradores (1965), estudaram a digestibilidade "in vitro" de 8 forrageiras tropicais, em diferentes estágios de maturidade, constatando um aumento significativo no teor de celulose da ordem de 19,8% para o capim Napier e um decréscimo na sua digestibilidade da ordem de 22,2%.

Carvalho (1967), estudando a digestibilidade dos capins pangola, gordura e sempre verde, pelo método "in vitro" mostrou que a digestibilidade da matéria sêca apresentava um decréscimo linear com o avanço do estágio da maturidade. Mostrou ainda que a digestibilidade da celulose "in vitro" decrescia linearmente com o avanço da maturidade, encontrando um coeficiente de correlação de 0,90 a 0,95 entre a digestibilidade "in vitro" e "in vivo" da celulose e da matéria sêca.

3. MATERIAL

3.1. - Variedades

Para a escolha das variedades, foram levados em - consideração os resultados obtidos por Lovadini e colaboradores (1967) em trabalho já citado anteriormente. De acôrdo com ês- ses autôres, a grande variação encontrada nas diferentes fra- ções de nutrientes é de molde a permitir a seleção daquelas - mais adequadas do ponto de vista forrageiro. Com base nessas - observações, foram escolhidas as dez variedades mais ricas em proteína para a execução dêste trabalho.

A escolha se baseou nos teores de proteína, uma - vêz que a cana-de-açúcar possui baixos teores dêsse nutriente, de importância fundamental, para a nutrição animal. Desta ma- neira, seria interessante, já de antemão, trabalhar com aque- las variedades que apresentassem teores mais elevados dêsse nu- triente.

As variedades escolhidas foram as seguintes: IAC 36-25, IAC 55-26, CO 419, NCO 292, CB 49-260, S 34-293, S 36-37, S 34,53, S 36-20 e S 35-46.

A variedade IAC 36-25 é uma das recomendadas como forrageira pelo Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo, - devido a seu crescimento rápido, ótimo perfilhamento, rustici- dade, resistência ao mosaico, produção de massa verde e ausên- cia de joçá.

As variedades IAC 55-26, CO 419, CB 49-260 e NCO 292 são variedades industriais, sendo seu teor de sacarose re- lativamente menor que as variedades atuais. A variedade IAC - 55-26 é bastante tardia, amadurecendo de setembro em diante, e a CO 419 é precoce e de alto rendimento, estando todavia conde

nada, atualmente, pela suscetibilidade ao carvão.

As outras no verdadeiro sentido do tema, não podem ser chamadas de variedades, uma vez que são apenas "seedlings", isto é, são seleções que não chegaram a ser lançadas como variedades industriais já que não possuíam características desejáveis. Porém no presente trabalho, para facilidade, - nos referiremos a tôdas como variedades.

As mudas utilizadas para o plantio no campo foram retiradas da coleção mantida na Estação Experimental de Cana - "José Vizioli", em Piracicaba.

4. MÉTODOS

4.1. - Plantio das variedades no campo

As variedades foram plantadas no campo em blocos ao acaso com 3 repetições. Cada bloco com 30 linhas de 7 metros cada um. Em cada bloco foram plantadas 3 linhas de cada variedade espaçadas de 1,5 metros uma da outra. Os blocos eram espaçados 1,0 metro um do outro. A localização das 3 linhas de cada variedade, dentro do bloco, foi dada por sorteio. Foram plantados 21 toletes com 3 gemas em cada linha de 7 metros, para cada variedade, sendo que cada linha recebeu no plantio e no sulco 1 kg da mistura mineral composta de 100 kg de superfosfato simples, 800 kg de sulfato de amônio, 400 kg de fosfato de Araxá e 300 kg de cloreto de potássio. Essa adubação é a mesma utilizada para o plantio da coleção de variedades da Estação Experimental de Cana, em Piracicaba. O plantio foi efetuado em 28 de dezembro de 1.965.

Tôdas as variedades receberam os tratos culturais normais da cultura.

O plantio das variedades no campo foi feito : numa parcela de Latosol Vermelho Escuro-orto, da Estação Experimental de Cana "José Vizioli" em Piracicaba, levemente inclinado no sentido sudeste-sudoeste. O terreno vinha sendo cultivado com cana nos anos anteriores.

4.2. - Amostragem

Foram executadas quatro amostragens durante o ciclo vegetativo das plantas.

A primeira foi executada 4 meses após o plantio (20-04-1966), a segunda 7 meses após o plantio (19-07-66), a

terceira 10 meses após o plantio (21-10-66) e a quarta 13 meses após o plantio (21-01-67). As amostragens foram programadas de maneira que se obtivesse a primeira com suficiente produção de massa verde, porém sem que as variedades apresentassem colmo, e a última coincidissem com o início da colheita pelas usinas. Por ocasião das amostragens, foi tomada a altura vegetativa das variedades.

As amostragens foram executadas retirando-se três plantas inteiras, (colmos e fôlhas) colhidas ao acaso, de cada linha e de cada bloco, para cada variedade, num total de 27 plantas para cada amostra. Essas plantas eram imediatamente conduzidas ao Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", onde eram desintegradas em desfibradeira. O material homogenizado era colocado em estufa a 70°C com circulação forçada de ar para secar, tendo-se antes retirado uma amostra para determinação de umidade. Após sêco, o material era moído em moinho de faca, e posteriormente, em moinho de martelo, com peneira de 40 malhas por polegada quadrada. O material era então passado em subdivisor de amostras sendo colocado em vidros identificados para futuras análises.

4.3. - Métodos Analíticos

As análises foram conduzidas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ex-Cadeira de Zootecnia dos Ruminantes).

Os métodos analíticos utilizados no presente trabalho são descritos adiante.

4.3.1. - Determinação de umidade

Logo após a passagem das amostras pela desfibra-

deira, uma parcela do material era pesado e levado a uma estufa com circulação forçada de ar regulada para 70°C , onde permanecia por, aproximadamente, 24 horas. Após esse período, o material sêco era retirado da estufa, esfriado à temperatura ambiente, pesado novamente e moído. Esse material era colocado em vidros de amostras e desses vidros se retirava uma pequena porção que era pesada, sêca em estufa a 100°C até peso constante para se determinar a umidade a essa temperatura.

4.3.2. - Determinação da matéria mineral

A determinação da matéria mineral era feita a partir de 1 grama de material sêco, que era colocado em um cadinho de porcelana e queimado em mufla a 550°C até combustão total.

4.3.3. - Determinação da proteína bruta

A determinação da proteína bruta, era feita determinando-se o nitrogênio total pelo método de "Kjeldahl", modificado por Gunning e Arnold.

Pesa-se 1 grama de amostra sêca passada em peneira de 40 malhas e coloca-se em um balão de "Kjeldahl" de 800 ml de capacidade. Adiciona-se de 8 a 10 gramas de sulfato de potássio (K_2SO_4), 1 grama de sulfato de cobre (CuSO_4), 25 ml de (H_2SO_4) concentrado lavando-se as paredes internas do balão e misturando-se com movimentos de rotação. Coloca-se no suporte do aquecedor e aquece-se até que a solução tome coloração verde claro transparente. Logo após, esfria-se novamente o balão. Adicionam-se então alguns pedaços de zinco metálico e 80 ml de NaOH a 50%, fazendo com que a solução escorra para o fundo do balão. Acopla-se novamente ao aparelho de destilação com frasco receptor contendo 50 ml de H_3BO_4 e 4 gotas de indicador misto. Liga-se o aquecedor e mistura-se o conteúdo do frasco por movimentos de rotação espaçados. Destila-se cêrca de 150 -

ml e titula-se com ácido sulfúrico decinormal até se obter cor de aço (cinzento claro).

A proteína bruta é calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Proteína bruta \%} = n^{\circ} \text{ de ml de H}_2\text{SO}_4 \text{ N/10} \times 0,875$$

4.3.4. - Determinação da fibra bruta

O método utilizado para determinação da fibra bruta é o descrito pelo A.O.A.C., (1945) com pequenas modificações.

Um grama de forragem seca, passada em peneira de 40 malhas, é colocada em um "Beaker" de 500 ml. Adiciona-se ao copo 100 ml de ácido sulfúrico 1,25%. Acopla-se o copo ao aparelho de refluxo ("Fisher") e quando entrar em ebulição, marca-se 20 minutos. Após esse tempo, retira-se o copo, filtra-se em funil de porcelana porosa, lavando-se o resíduo com água quente. Transfere-se o resíduo do funil, novamente para o copo de "Beaker", lavando-se o resíduo com 100 ml de hidróxido de sódio 1,25%. Acopla-se o "Beaker" ao aparelho e, quando entrar em ebulição, marca-se 20 minutos, após os quais é retirado do aparelho. O resíduo é filtrado novamente ao funil de porcelana, lavando-se o mesmo com água quente, transferindo-o, depois, a um cadinho de "Gooch" com camada de asbesto.

O cadinho, mais o resíduo, devem ser secos em estufa a 100°C, depois pesado, queimado em mufla a 550°C durante 1 hora e pesado novamente. A perda de peso é dada em fibra bruta.

4.3.5. - Determinação da celulose

Na determinação da celulose, foi utilizada a técnica de Crampton-Maynard (1938), abaixo descrita.

Deposita-se 1 grama de amostra seca num tubo grande de centrifuga. Adiciona-se 17,5 ml de ácido acético glacial e 2,5 ml de ácido nítrico concentrado. Agita-se a mistura com

um bastonete de vidro e deposita-se o tubo em banho d'água fervente por 20 minutos. Transfere-se o resíduo para um cadinho - de "Gooch" com camada de asbesto. Lava-se com água quente, álcool etílico, benzeno e éter. Seca-se a 100°C por 24 horas, esfria-se o cadinho e pesa-se. Queima-se o cadinho por 3 horas a 600°C, esfria-se e pesa-se, dando a perda de peso em celulose.

4.3.6. - Determinação da lignina

O método analítico utilizado para determinação de lignina foi o de Sullivan (1955), descrito abaixo.

Um grama de forragem seca, passada em peneira de 40 malhas, é colocada em um "Beaker" de 200 ml. Adiciona-se ao copo a 40 ml de etanol-benzeno (2,5-1) e ferve-se suavemente - em banho-maria por várias horas, ou então deixa-se durante a - noite, fervendo no outro dia por breve espaço de tempo. Derrama-se o conteúdo do "Beaker" num cadinho de "Gooch", com filtro de porcelana porosa de 30C, contendo uma camada de asbesto, deixando-se filtrar com sucção leve. Lava-se o resíduo que não necessita ser transferido quantitativamente para o cadinho - duas a três vezes com etano-benzeno, três vezes com acetona e três vezes com água.

Transfere-se de novo, tanto quanto possível, o material sólido para o "Beaker" incluindo a camada de asbesto e adiciona-se solução de pepsina (1 g de pepsina em 100 ml de solução 0,1 N de HCl). A maior parte do material pode ser removido levantando-se a camada de asbesto com um bastonete de vidro e o restante por lavagem do cadinho com solução de pepsina de um frasco lavador. Usa-se cerca de 40 ml de pepsina para cada amostra. Coloca-se no incubador a 45°C por 20 a 24 horas e mexe-se, ocasionalmente, durante as primeiras horas.

Derrama-se novamente o conteúdo do "Beaker" através do mesmo cadinho e lava-se diversas vezes com água. Derra-

ma-se através do cadinho, cêrca de 25 ml de HCl concentrado - prèviamente resfriado a 15°C, ajustando a velocidade da filtração para 2 minutos. Lava-se com água, álcool e éter, e deixa-se secar ao ar.

Adiciona-se uma porção de H₂SO₄ a 72%, prèviamente resfriado a 15°C, que dê para cobrir todo o conteúdo do cadinho. Agita-se com um bastonete de vidro de 8 cm, mais ou menos, o qual é deixado no cadinho. Deve-se estar seguro de que tôdas as partículas estejam em contato com o ácido e todos os grumos quebrados. Coloca-se o cadinho em "Beaker" de 50 ml feito suporte, de maneira a receber o ácido que vai sendo percolado, mantendo-se a temperatura ao redor de 20°C, Mexe-se, ocasionalmente, e adiciona-se mais ácido fresco quando necessário para manter a mistura fluída.

No final de 3 horas retorna-se o cadinho para o frasco de sucção e remove-se o ácido sem diluição por filtração. Seca-se durante a noite a 105 -110°C e determina-se a lignina insolúvel no ácido por perda de pêsso por incineração a 500°C.

4.3.7. - Determinação da digestibilidade da celulose

Os métodos utilizados para estimar a digestibilidade da celulose foram os da solubilidade da celulose em cobre-etileno ~~diamina~~ "CED" e o da fermentação "in vitro".

4.3.7.1. Solubilidade da celulose em cobre-etileno-diamina.

(CED 1,0 M)

A técnica da solubilidade é a descrita por Dehority e Johnson (1963).

Um grama de forragem sêca, passada em peneira de 40 malhas, é colocada em tubo de centrifuga com tampa de vidro.

São adicionados 15 ml de água destilada mais 15 ml de "CED" para cada tubo. Em seguida completa-se o volume dos tubos com nitrogênio gasoso e tampa-se o mesmo. Os tubos são colocados em agitador por duas horas.

Posteriormente, o resíduo é separado por contrifugação (2000 x G) durante 15 minutos, sendo então lavado duas -
vêzes com "CED" + H₂O (1:1), separando-se o resíduo por centrifugação após cada lavagem.

Determina-se o conteúdo de celulose no resíduo pelo método de Crampton-Maynard (1938). Calcula-se a celulose -
dissolvida pela seguinte fórmula:

$$\text{Solub. da celulose} = \frac{\text{Cel. da amostra} - \text{Cel. do resíduo}}{\text{Celulose da amostra}} \times 100$$

4.3.7.2. - Digestibilidade da celulose - pela fermentação "in vitro".

A técnica utilizada para a determinação da digestibilidade pela fermentação "in vitro" foi descrita por John--
son e colaboradores (1958) e Johnson (1966). Para maior clareza, a técnica modificada usada no presente trabalho é descrita detalhadamente.

Um carneiro, adaptado com uma fístula ruminal permanente mantido com feno de alfafa de boa qualidade, serviu como fonte de microorganismos do rúmen, para tôdas as fermenta-
ções.

Na preparação do inóculo, o licor do rúmen era extraído de uma amostra do conteúdo ruminal (obtida antes da re-
feição matinal) por filtração forçada (funil de "Buchner"), a-través de um tecido grosso num frasco de "Kitassato" ligado a
uma trompa de vácuo.

A fermentação foi conduzida em tubos de centrífu-
ca de fundo redondo com cêrca de 75 ml de capacidade (tipo -
"sorvall").

Foi utilizada 1 g de forragem sêca, prèviamente -
passada por peneira de 40 malhas, que era introduzida em cada
tubo. Eram colocados em cada tubo 30 ml do meio basal, cuja -
composiçãõ se acha abaixo:

Meio para fermentaçãõ "in vitro", preparado no -
dia da utilizaçãõ.

Ingredientes	ml/100 ml
Mistura mineral (x)	2,0
Carborato de sódio Na_2CO_3 (200 mg/ml) ..	1,0
Cloreto férrico FeCl_3 (4,4 mg/ml)	1,0
Cloreto de cálcio CaCl_2 (5,29 mg/ml) .	1,0
Uréia (126 mg/ml)	1,0
Água destilada	94,0

(x) Mistura mineral (mantida em refrigerador)

Na_2HPO_4	56,5 gramas
NaH_2PO_4	54,5 "
KCL	21,5 "
NaCL	21,5 "
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5,82 "
K_2SO_4	7,50

Os tubos eram colocados em banho termostaticamen-
te controlados a 39°C , sendo tampados com tampas de borracha a
daptadas com tubo de vidro com válvulas de "Bunsen", para saí-
da de CO_2 . Antes de se colocar as tampas, os tubos recebiam -
 CO_2 para eliminar o ar nêles contido. Cada tubo recebeu 10 ml
de inóculo. Aproximadamente a cada 4 horas de fermentaçãõ, o -
pH do conteúdo de cada tubo era ajustado para 6,9 por adiçãõ -
de soluçãõ saturada na Na_2CO_3 . O período de fermentaçãõ foi de
48 horas.

No final da fermentaçãõ "in vitro", colocaram-se .
em cada tubo algumas gotas de HgCl_2 para sustar a fermentaçãõ.

O material insolúvel foi decantado por contrifugação, sendo o sobrenadamento descartado, tomando-se o cuidado para não levantar o material sólido assentado na base do tubo. O resíduo foi lavado com água, para remover os produtos solúveis da fermentação, recentrifugado, e o sobrenadamento descartado.

O resíduo foi seco em estufa a 100°C, e o tubo pesado para se determinar a perda da matéria seca, dada pela subtração da tara do tubo, do peso seco do tubo mais o resíduo. Posteriormente, foi determinada a celulose no resíduo pelo método Crampton-Maynard (1938), já descrito.

Em cada determinação prepararam-se "blanks" (inóculo,+ meio para fermentação) para se ter idéia da matéria seca e da celulose adicionadas ao sistema pelo inóculo.

A celulose digerida e o desaparecimento da matéria seca foram sempre calculados pela seguinte fórmula:

$$\text{Dig. da Cel.} = \frac{\text{Cel. da am.} - (\text{Cel. do res.} - \text{Cel. do blank})}{\text{Cel. da am.}} \times 100$$

$$\text{Desap. da M.S.} = \frac{\text{MS da am.} - (\text{M.S. do res.} - \text{M.S. do blank})}{\text{M.S. da am.}} \times 100$$

Desap. = Desaparecimento

Dig. = Digestibilidade

M.S. = Matéria seca

am. = Amostra

res. = Resíduo

Cel. = Celulose

4.4. - Métodos Estatísticos

Os métodos estatísticos utilizados foram os preconizados por Pimentel Gomes (1963), fazendo-se uso de análise de variância e do teste de Tukey.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. - Desenvolvimento das variedades no campo.

Examinando-se o Quadro 3, podemos observar o desenvolvimento das variedades por ocasião das amostragens.

Na primeira amostragem, nenhuma das variedades apresentava colmo, mas, somente fôlhas. Apenas as variedades S 34-53 e IAC 55-26 apresentavam desenvolvimento visivelmente menor que as outras. A partir da segunda amostragem, tôdas as variedades apresentavam colmos já desenvolvidos.

Pelos dados da última amostragem, observa-se que as variedades S 34-53 e CO 419 atingiram desenvolvimento menor que as outras. Isso pode influir bastante na produção de matéria sêca, fator importante na escolha de uma forrageira.

QUADRO 3. Altura das variedades de cana-de-açúcar por ocasião das amostragens.

Variedades	Dias de crescimento vegetativo			
	120	210	300	390
	m	m	m	m
IAC 36-25	1,10	1,50	1,70	2,00
S 34-793	1,10	1,50	1,60	2,00
S 36-37	1,00	1,60	1,80	2,20
S 34-53	0,70	0,90	1,00	1,70
S 36-20	1,30	1,40	1,80	2,00
S 34-46	1,10	1,20	1,70	2,00
NCO 292	1,15	1,50	1,80	2,40
IAC 55-26	0,90	1,10	1,55	2,00
CO 419	1,20	1,65	1,60	1,90
CB 49-260	1,30	1,75	1,75	2,50

O Quadro 4 apresenta os teores de matéria seca - por variedades e por amostragem.

QUADRO 4. Teor de matéria seca das variedades por amostragem.

Variedades	Dias de crescimento vegetativo				
	120	210	300	390	Média
IAC 36-25	19,16	21,86	19,16	21,06	20,31
S 34-793	20,36	23,79	25,05	18,72	20,98
S 36-37	11,56	27,01	15,95	18,66	18,30
S 34-53	18,68	27,24	11,34	19,81	19,27
S 36-20	13,72	26,96	25,03	17,16	20,47
S 35-46	15,65	22,06	21,03	18,63	19,35
NCO 292	17,43	29,42	23,10	23,04	25,30
CO 419	17,09	36,35	22,09	21,93	24,37
IAC 55-26	16,39	23,03	19,14	23,81	20,61
CB 49-260	18,83	24,92	18,64	11,32	18,44
Média	26,81	26,17	20,16	19,42	20,66

Na análise da variância foram encontradas diferenças significativas pelo teste "F", ao nível de 5% de probabilidade entre variedades e ao nível de 1% entre amostragens. (Quadro 5). Todavia, o teste de Tukey, ($\Delta = 8,76$) a 5% de probabilidade não mostrou diferenças significativas entre os teores médios da matéria seca das variedades. O mesmo teste a 1% de probabilidade ($\Delta = 3,59$) mostrou haver dois grupos para as amostragens: o primeiro composto pela primeira e a segunda amostragens, que não diferiram entre si; e o segundo, composto pela terceira e quarta amostragens, que também não diferiram entre si. A primeira e a segunda amostragem foram superiores à terceira e à quarta. O coeficiente de variação foi de 4,1%.

QUADRO 5. Análise da variância dos teores de matéria sêca

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Amostragem	3	475,61	158,53	18,12 ^{***}
Variedades	9	271,97	30,21	3,45 ^{**}
Resíduo	27	236,34	8,75	
T O T A L	39	983,92		

Examinando-se os dados médios da matéria sêca por amostragem nota-se que a mesma decresceu com o aumento do ciclo vegetativo das plantas (figura I). Esse fato está em desacordo com o que tem sido encontrado por outros autores para a maioria das gramíneas. Para o capim Napier, Silveira (1970) encontrou aumento de matéria sêca tanto nas hastes como nas folhas à medida que a planta atinge a maturação.

No caso da cana-de-açúcar, como já foi exposto, foi encontrado justamente o contrário. Talvez isso seja explicado pelo fato de que na cana à medida que avança o ciclo vegetativo, aumenta a proporção do colmo que é mais pobre em matéria sêca que as folhas.

5.2. - Influência do Estágio de desenvolvimento sobre a composição química.

5.2.1. - Proteína bruta

As gramíneas, de maneira geral, apresentam uma variação ampla nos teores de seus constituintes bromatológicos, de acordo com o estágio de seu ciclo vegetativo. Era de esperar que a cana de açúcar, como gramínea, embora difira das outras em sua composição química bromatológica, seguisse as mesmas tendências.

De fato, se observarmos o Quadro 6, veremos que os teores de proteína na matéria seca sofreram alteração, decrescendo com o amadurecimento das plantas. Isso é bem visível se examinarmos os teores médios calculados para as dez variedades nas quatro amostragens. (figura I). O decréscimo foi da ordem de 43%, caindo de 7,62% na primeira amostragem, para 4,35% na quarta.

QUADRO 6. Teores de proteína bruta na matéria seca por variedade e por amostragem

Variedades	Dias de crescimento vegetativo				
	120	210	300	390	Média
IAC 36-25	8,13	5,25	4,45	3,84	5,41
S 34-793	7,42	5,52	5,78	4,39	5,77
S 36-27	8,32	5,36	5,96	4,68	6,08
S 34-53	9,11	6,61	7,98	5,01	7,17
S 36-20	7,17	6,09	5,60	4,76	5,90
S 35-46	6,91	4,64	6,52	4,62	5,67
NCO 292	7,00	5,55	4,21	3,08	5,21
IAC 55-26	7,54	5,72	5,00	3,75	5,50
CO 419	7,20	7,84	5,57	4,51	5,16
CB 49-260	7,41	5,68	4,68	4,95	5,68
Média	7,62	5,82	5,67	4,35	5,84

A análise da variância (Quadro 7), pelo teste "F", a 1% de probabilidade, mostrou serem significativas as diferenças encontradas entre as amostragens, sendo que pelo teste de Tukey, ($\Delta=0,81$), a 5% de probabilidade, apenas a segunda e a terceira amostragens não diferem entre si. Por outro lado, não foram encontrados diferenças significativas entre as variedades. O coeficiente de variação encontrado foi de 11,6%.

QUADRO 7. Análise de variância dos teores percentuais de proteína bruta na matéria sêca

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Amostragem	3	53,89	17,96	38,21 ^{**}
Variedades	9	11,13	1,23	2,61 n.s.
Resíduo	27	12,79		
Total	39	77,81		

As variedades S 36-37 e S 34-53 foram as que apresentaram os teores de proteína mais elevados em tôdas as amostragens, bem como os teores médios mais altos.

Hosterman e Hall, em 1938, estudando a composição de "Timothy" em diferentes estágios, já haviam encontrado que os teores de proteína decresciam com a maturidade, explicando que como as fôlhas contém maior parte da proteína da planta e como a proporção das fôlhas diminui com a maturidade, ao contrário das hastes, o teor total de proteína na planta tende a diminuir no final do ciclo. As mesmas conclusões foram confirmados por Waite e Sastry em 1949.

Phillips e colaboradores (1954) e Sullivan e colaboradores (1956), trabalhando com 8 gramíneas cortadas em cinco estágios de desenvolvimento durante 4 anos, também encontraram que os teores de proteína decresciam com a maturação.

Sullivan e colaboradores (1955), estudando o capim de pomar, encontrou coeficientes de correlação negativos, porém significativos, entre o teor de proteína e o estágio de formação dos botões florais.

5.2.2. - Matéria mineral

Da mesma forma que a proteína, a matéria mineral também sofreu decréscimo com a maturação das plantas. Apesar de a queda não ter sido gradativa, pois caiu na segunda amos-

tragem e tornou a aumentar na terceira, a mesma foi da ordem - de 38%, caindo de 7,15% na primeira amostragem para 4,42% na - quarta (figura I).

QUADRO 8. Teores percentuais de matéria mineral na matéria sêca por variedade e por amostragem

	Dias de crescimento vegetativo				
	120	210	300	390	Média
IAC 36-25	7,54	3,97	4,89	4,69	5,27
S 34-793	7,16	4,39	5,26	4,39	5,30
S 36-37	4,87	4,36	5,06	4,69	4,74
S 34-53	9,30	4,20	7,02	5,01	6,38
S 36-20	7,08	7,46	4,96	4,76	6,06
S 34-46	8,11	3,73	5,75	4,62	5,55
NCO 292	6,95	4,48	4,17	3,08	4,67
IAC 55-26	6,95	6,81	9,63	3,75	6,78
CO 419	7,00	5,25	4,25	4,51	5,25
CB 49-260	6,58	4,28	9,77	4,76	6,34
Média	7,15	4,89	6,07	4,42	5,63

Na análise da variância, o teste "F" a 5% de probabilidade, mostrou não haver diferenças significativas entre variedades, havendo no entanto entre amostragens (Quadro 9). O coeficiente de variação foi de 23%, relativamente alto. O teste de Tukey ($\Delta = 1,78\%$), a 5% de probabilidade, mostrou que os teores médios da primeira e terceira amostragens não diferiram entre si, bem como os teores da segunda e quarta amostragem.

QUADRO 9. Análise da variância dos teores percentuais de matéria mineral na matéria sêca.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Amostragem	3	41,50	15,03	8,44 ^{***}
Variedades	9	20,90	2,32	n.s.
Resíduo	27	48,30	1,78	
Total	39	114,30		

Contudo, como normalmente acontece com as gramíneas, a tendência foi de decrescerem os teores da matéria mineral à medida que o ciclo vegetativo avançava. Apenas não encontramos uma explicação plausível para o decréscimo da matéria mineral na segunda amostragem e o aumento na terceira. (figura I).

Os dados confirmam, o que já havia sido observado em trabalho anterior por Lovadini e colaboradores (1967), de que a cana de açúcar possui teores de matéria mineral menores que as gramíneas mais comuns. O teor médio encontrado para as variedades nas quatro amostragens (5,62%), quando comparado com os teores médios (8,85%) das gramíneas mais comuns citados no Quadro 10 mostrou-se inferior.

QUADRO 10. Matéria mineral na matéria seca. Forragem verde para corte.

Forragens	Matéria mineral	Referências
Capim Imperial	8,44	Lovadini e cols. 1967
Capim Elefante Napier	10,98	Peixoto 1964
Capim Elefante Mercker	6,83	" "
Capim Guatemala	8,70	" "
Capim Angolinha	9,34	" "
Cana-de-açúcar (a)	5,62	

(a) Teor médio geral das variedades utilizadas no presente trabalho.

5.2.3.- Fibra bruta

O Quadro 11 apresenta os dados de fibra bruta em porcentagem de matéria seca por variedade e por amostragem.

QUADRO 11. - Teores percentuais de fibra bruta na matéria sêca por variedades e por amostragem.

Variedades	Dias de crescimento vegetativo				Média
	120	210	300	390	
IAC 36-25	34,61	36,49	32,40	34,50	34,05
S 34-793	31,65	31,58	33,47	30,96	31,94
S 36-37	33,42	29,84	31,63	31,67	31,64
S 34-53	32,22	27,85	33,74	26,42	30,05
S 36-20	31,75	34,56	33,60	31,60	32,87
S 35-46	34,60	30,10	33,83	32,41	32,73
NCO 292	36,42	33,51	34,01	29,41	33,33
IAC 55-26	37,33	30,40	36,30	31,29	33,83
CO 419	34,07	33,04	31,13	27,63	31,46
CB 49-260	35,01	32,74	33,54	28,89	32,54
Média	34,10	32,00	33,30	30,40	32,45

Na análise da variância, teste "F", mostrou não haver diferenças significativas entre variedades, contudo, ao nível de 1% de probabilidade, as diferenças entre amostragens foram significativas (quadro 12). O teste de Tukey ($\Delta = 1,39$), a 5% de probabilidade, mostrou que o teor médio da segunda amostragem foi inferior ao da primeira, o da terceira foi superior ao da segunda e não diferiu da primeira e o da quarta foi inferior ao da primeira, da segunda e ao da terceira amostragens. O coeficiente de variação foi de 3,53%.

QUADRO 12. - Análise da variância dos teores percentuais de fibra bruta na matéria sêca.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Amostragem	3	76,78	25,59	11,17 ^{***}
Variedades	9	59,02	6,55	2,86 n.s.
Resíduo	27	61,95	2,29	
Total	39	197,95		

Como se observa, os resultados aqui apresentados - contrariam as tendências da maioria das gramíneas. Gramíneas - em estágio de maturação avançado possuem alto teor de fibra - bruta e lignina (Swift e Sullivan, 1963), sendo êsses os fatôres que mais contribuem para a baixa digestibilidade das mes-
mas.

De acôrdo com os dados apresentados no presente - trabalho (figura II), os teores de fibra bruta decresceram. Isto é, a cana-de-açúcar quando cortada nova, ainda sem colmo, apresentou teores de fibra mais elevados que quando cortada aos 390 dias, já no final do ciclo.

A maioria dos autôres tem encontrado para outras - gramíneas justamente o contrário do que foi observado para a - cana-de-açúcar.

Sen e Mabey (1965), estudando a composição química de algumas gramíneas da savana de Gana, demonstraram que a fibra bruta atinge ràpidamente altos níveis com a maturação da - planta.

Trabalhos de Hosterman e Hall (1938) com "Timothy" mostraram que os teores de fibra bruta aumentavam à medida que a forrageira atingia o estágio de maturação. Os autôres explicam que como a proporção relativa de hastes aumenta com a maturação da planta, e, sendo mais ricas em fibra que as fôlhas, - fazem com que o teor relativo em fibra bruta se eleve naquele estágio.

Armstrong e colaboradores (1950), trabalhando com 4 gramíneas observaram que a fibra bruta crescia até o flôrescimento e em alguns casos até a formação de sementes. Além - disso, a fibra bruta num estágio avançado de maturação possuía teores mais baixos de celulose que em estágio imaturo.

No caso da cana-de-açúcar, explicação para êsse fato não é muito fácil uma vêz que essa variação tanto pode ser

devida a diferente composição do colmo em relação ao das outras gramíneas, como pode ser devida ao método de determinação de fibra bruta.

No primeiro caso, poderíamos dizer que os colmos da cana-de-açúcar possuem composição química diferente em relação ao das outras gramíneas. Essa diferença de composição é principalmente quanto ao teor da matéria seca do colmo em estágio de maturação avançado, que se mostrou menor que na planta jovem, conforme se observou quando se discutiu a variação desse teor nos diferentes estágios de amostragem. O fator que mais contribuiu para o não aumento do teor de fibra bruta talvez seja o alto teor de extrativos não nitrogenados, apresentado pela cana do final do ciclo, em detrimento da fibra bruta.

Talvez, devido a essa variação na composição química da planta, o método de determinação da fibra possa fornecer resultados diferentes quando utilizado para plantas jovens ou para plantas em estágio de maturação avançado.

Phillips e colaboradores (1954), trabalhando com 8 gramíneas cortadas em cinco estágios de vegetação diferentes, encontraram que os teores de fibra bruta aumentavam com o amadurecimento das plantas. Encontraram também coeficientes de correlação positivos e significativos a 1% de probabilidade entre os teores de fibra bruta e lignina, fibra bruta e celulose e coeficientes negativos e significativos a 1% de probabilidade entre os teores de fibra bruta e proteína, e fibra bruta e matéria mineral.

No presente trabalho foi encontrado coeficiente de correlação positivo e significativo a 5% de probabilidade ($r=0,36$) entre os teores de proteína e fibra bruta, o que confirmou os dados obtidos anteriormente por Lovadini e colaboradores (1967), contrariando os dados obtidos por Phillips e colaboradores (1954) já citados acima. Segundo esses autores, e-

xiste uma correlação negativa entre os teores de fibra bruta e proteína, pois à medida que a planta atinge a maturação o teor de fibra bruta aumenta e decresce o de proteína.

5.2.4.- Celulose

O Quadro 13 apresenta os teores de celulose, em porcentagem da matéria sêca, por variedade e por amostragem.

QUADRO 13.- Teor porcentual de celulose na matéria sêca por variedades e por amostragem

Variedades	Dias de crescimento vegetativo				
	120	210	300	390	Média
IAC 36-25	38,83	38,83	38,16	38,45	38,56
S 34-793	36,17	34,69	38,93	36,94	36,68
S 36-37	36,69	33,77	37,07	34,70	35,56
S 34-53	35,12	35,16	37,07	36,60	35,98
S 36-20	37,82	37,55	36,75	36,49	37,15
S 35-46	37,36	33,51	37,68	35,90	36,11
NCO 292	36,69	36,19	37,72	33,08	35,98
IAC 55-26	34,41	34,85	39,07	37,25	36,39
CO 419	36,77	34,67	35,52	31,74	34,67
CB 49-260	36,34	35,27	35,39	33,17	35,04
Média	36,64	35,44	37,33	35,43	36,21

Como se observa, pelos dados apresentados, e como aconteceu com a fibra bruta, apesar de terem sido encontradas diferenças significativas entre amostragens, pelo teste "F" a 5% de probabilidade, (Quadro 14), o teor de celulose não aumentou com o amadurecimento das plantas, como seria de se esperar, (figura II). O teste de Tukey ($\Delta = 1,66$), a 5% de probabilidade, não conseguiu detetar as diferenças entre amostragens. O coeficiente de variação encontrado foi de 3,4%.

QUADRO 14.- Análise d variância dos teores de celulose na ma-
téria sêca

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Amostragem	3	27,07	9,02	4,82 [✕]
Variedades	9	41,70	4,63	2,47 n.s.
Resíduos	27	50,71	1,87	
Total	39	119,48		

Trabalhos de Armstrong e colaboradores (1950), já citados anteriormente, mostraram que o teor de celulose cresce até o florescimento e em alguns casos até a formação de sementes. Os mesmos dados foram encontrados por Patton e Giesecker - (1942) e Patton (1943) em diversas gramíneas que ocorrem no Estado de Montana.

Examinando-se os teores médios de fibra bruta (Quadro 11), e os de celulose (Quadro 13), na terceira e na quarta amostragens, quando as variedades estão em estágio de matura--ção avançado, observa-se que os teores de fibra bruta são menores que os de celulose. Esse fato tem sido notado frequentemente em gramíneas e se deve ao método utilizado para a determinação de fibra bruta.

Segundo Crampton e Maynard (1938), em gramíneas novas, os teores de fibra bruta e celulose são semelhantes. Porém, em estágio avançado de maturação, os teores de fibra bruta são maiores que os de celulose. Para que se evite um êrro - de tal natureza, os mesmos autôres têm recomendado o uso dos - teores de celulose e de lignina para substituir os de fibra - bruta. Isso porque a lignina é a substância de baixa ou nenhuma digestibilidade, e a celulose tem sua digestibilidade modificada pelo grau de lignificação.

Uma explicação pode ser sugerida para o não aumen-

to dos teores tanto de fibra bruta como de celulose. À medida que a planta avança em maturidade, como acontece com a maioria das gramíneas, a proporção de colmo tende a aumentar em relação as folhas, e esse colmo acreditamos possua uma composição mais ou menos semelhante ao das outras gramíneas, com exceção de que com a maturação há um aumento relativamente bastante maior de extrativos não nitrogenados. Dessa maneira, o colmo da cana-de-açúcar seria qualitativamente semelhante aos das outras gramíneas, porém quantitativamente seria muito mais rico em extrativos não nitrogenados, dos quais a sacarose representa uma grande proporção. Portanto, aumentando o teor relativo dos extrativos não nitrogenados, os teores relativos de fibra e celulose decresceriam.

Phillips e colaboradores (1954) em trabalho já citado anteriormente, encontraram coeficiente de correlação negativo, e significativo a 1% de probabilidade, entre os teores de celulose e proteína, e entre celulose e matéria mineral. No presente trabalho não foram encontradas tais correlações.

5.2.5.- Lignina

O Quadro 15 fornece os dados relativos aos teores de lignina, em porcentagem da matéria seca, por variedades e por amostragem.

QUADRO 15.- Teores percentuais de lignina na matéria sêca por variedade e por amostragem.

Variedades	Dias de crescimento vegetativo				Média
	120	210	300	390	
IAC 36-25	10,85	11,15	15,94	13,12	12,76
S 34-793	10,80	10,33	11,19	9,69	10,50
S 36-37	12,83	9,76	12,25	11,20	11,51
S 34-53	8,98	10,10	11,81	7,99	9,72
S 36-20	11,04	9,04	11,04	11,45	10,64
S 35-46	12,67	10,34	11,01	9,84	10,96
NCO 292	8,35	7,77	12,34	7,07	8,88
IAC 55-26	11,16	14,17	11,03	8,46	11,20
CO 419	9,43	11,70	5,36	9,39	8,92
CB 49-260	9,68	13,85	17,09	9,09	12,42
Média	10,57	10,85	11,90	9,73	10,75

A análise da variância revelou não existirem diferenças significativas tanto entre variedades, como entre amostragens. O coeficiente de variação foi de 18,79%.

QUADRO 16.- Análise da variância dos teores de lignina

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Amostragem	3	24,11	8,03	1,95 n.s.
Variedades	9	61,97	6,88	1,65 n.s.
Resíduo	27	111,17	4,15	
Total	39	197,25		

Examinando-se os teores médios, calculados para as 10 variedades nas quatro amostragens, observa-se que os mesmos não aumentam com o amadurecimento da planta, havendo até certo decréscimo na última amostragem, embora não significativa pelo teste de Tukey ($\Delta = 2,43$), a 5% de probabilidade (figura II).

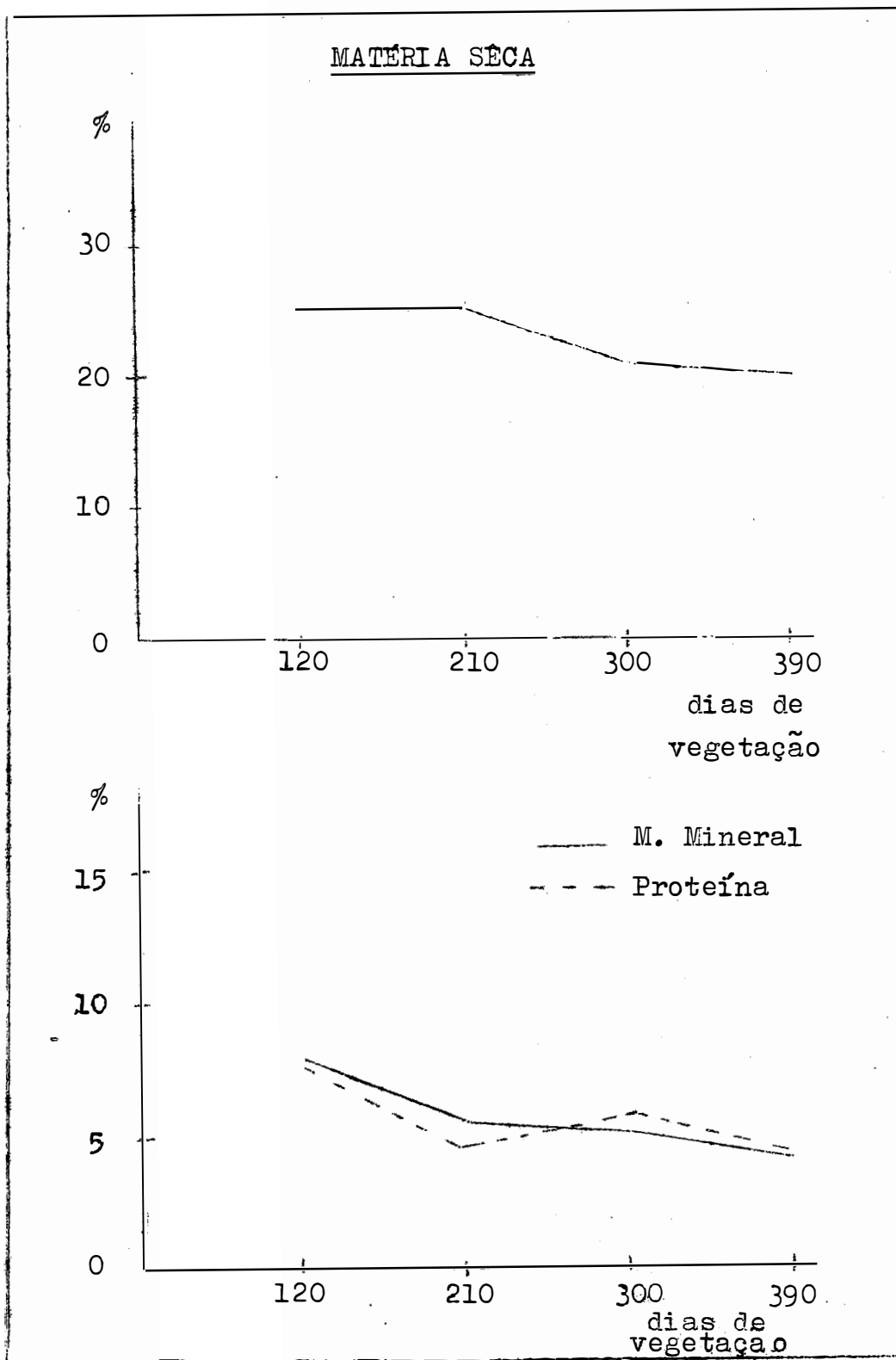


Fig. I - Composição em matéria sêca e teores médios de M. mineral e proteína na matéria sêca da cana de açúcar.

Não nos ocorre outra explicação para êsse fato, se não aquela já exposta quando discutimos os teores de fibra e celulose.

A afirmação de Swift e Sullivan (1963) de que com a maturação cresce a concentração de fibra bruta lignificada - parece não se aplicar à cana-de-açúcar, como se observa. Segundo os mesmos autores, os teores de lignina variam nas forrageiras de 3 a 20%, dependendo do estágio de desenvolvimento. A esses teores está associada a baixa digestibilidade dos nutrientes.

Segundo trabalhos de Armstrong e colaboradores (1950), o teor de lignina de 4 gramíneas estudadas cresceu até o florescimento, e, em alguns casos, até a formação das sementes. A idênticos resultados chegaram Phillips e colaboradores (1954), trabalhando com 8 gramíneas cortadas em cinco estágios diferentes de desenvolvimento.

Os teores de lignina encontrados no presente trabalho são relativamente altos, e isso explica talvez os baixos coeficientes de digestibilidade encontrados por alguns autores para outros constituintes da cana-de-açúcar.

Phillips e colaboradores (1954), encontraram coeficientes de correlação positivos e significativos a 1% de probabilidade entre os teores de lignina e celulose, lignina e fibra bruta, e coeficientes negativos e também significativos entre os teores de lignina e proteína.

Os coeficientes de correlação encontrados no presente trabalho tanto entre os teores de proteína e lignina ($r=0,23$) como entre os de lignina e celulose ($r=0,23$) não foram significativos.

Por êstes dados, e pelos anteriormente apresentados, podemos observar que a cana de açúcar praticamente contraria todos os conceitos conhecidos e válidos para a maioria das

gramíneas. Isso talvez contribua para esclarecer os resultados desfavoráveis obtidos por Assis (1967) com a cana de açúcar para vacas leiteiras.

5.3.- Digestibilidade da Celulose

5.3.1.- Fermentação "in vitro"

Os coeficientes de digestibilidade determinados pela fermentação "in vitro" para a celulose podem ser observados no Quadro 17.

QUADRO 17.- Digestibilidade porcentual da celulose determinada pela fermentação "in vitro", por variedade e por amostragem na matéria seca.

Variedades	Dias de crescimento vegetativo				Média
	120	210	300	390	
IAC 36-25	34,08	29,07	28,07	30,04	30,31
S 34-793	59,30	34,36	41,31	30,74	41,42
S 36-37	45,00	38,68	31,07	30,28	36,50
S 34-33	49,50	23,03	20,33	35,20	32,01
S 36-20	57,40	22,76	36,90	33,02	37,70
S 35-46	56,30	34,31	22,85	30,79	36,06
NCO 292	53,10	43,71	23,00	25,15	26,24
IAC 55-26	62,30	35,55	26,40	32,10	30,33
CO 419	62,60	43,42	40,00	34,93	45,23
CB 49-260	56,80	29,50	32,20	32,46	37,99
Média ...	53,63	30,67	30,31	31,47	36,52

Na análise da variância (Quadro 18), o teste "F"-mostrou não haver diferenças significativas entre os coeficientes médios das variedades ao nível de 5% de probabilidade. Porém, houve diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade entre amostragens. O teste de Tukey ($\Delta=7,85$), ao

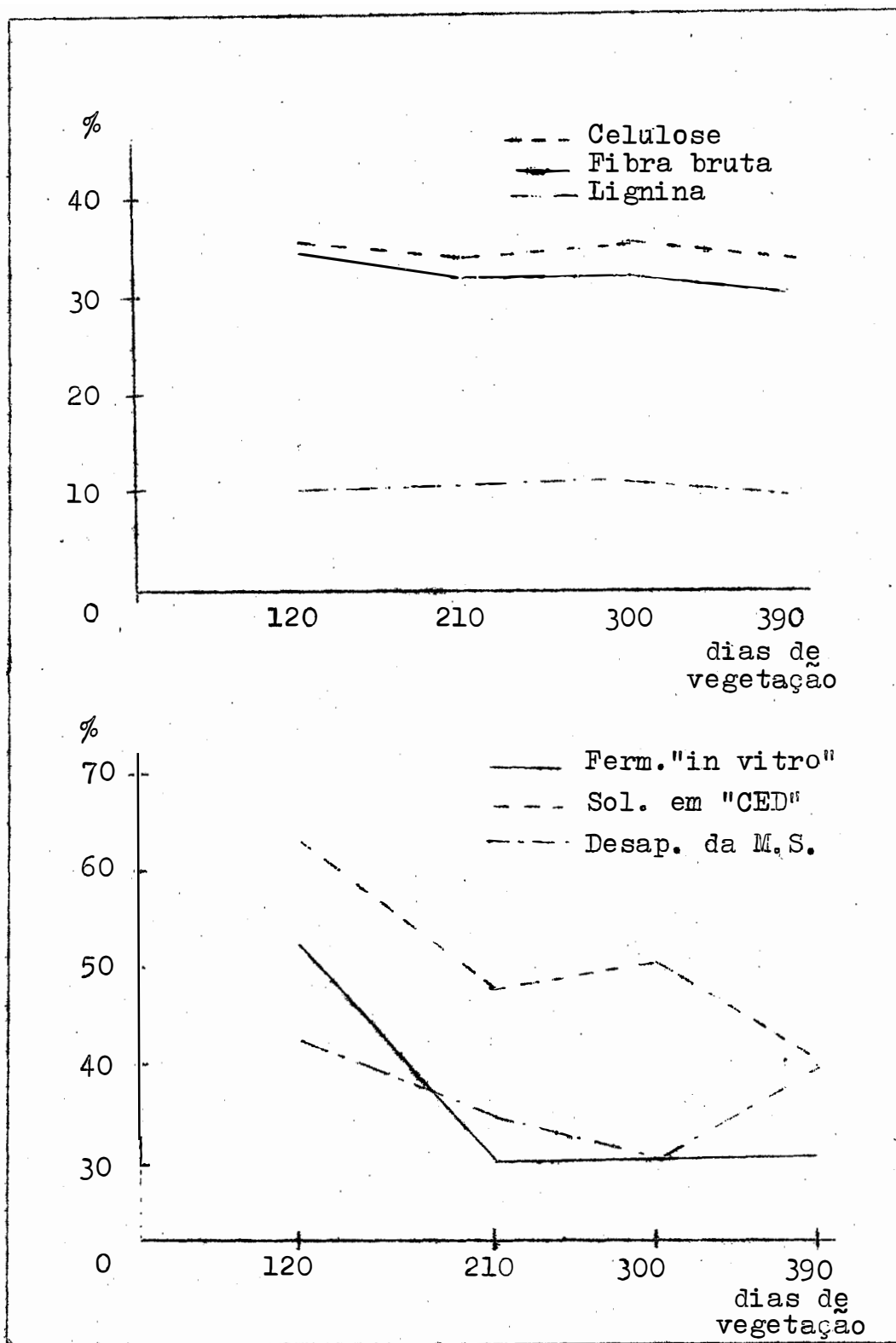


Fig. II - Teores médios de celulose fibra bruta e lignina na matéria sêca, digestibilidade da celulose e desaparecimento da matéria sêca.

nível de 1% de probabilidade, mostrou que apenas o coeficiente médio da primeira amostragem diferiu dos outros. Portanto, a digestibilidade da celulose foi maior na primeira amostragem, caindo na segunda e permanecendo estável até a quarta (figura II).

O coeficiente de variação encontrado foi de 17,23%.

Trabalhos de Da Silva e colaboradores (1965), onde foi estudada a digestibilidade do capim Napier, mostram que o aumento da celulose do mesmo foi de 19,8%, enquanto o decréscimo da digestibilidade foi da ordem de 22,2%.

Carvalho (1967), estudando a digestibilidade dos capins pangola, gordura e sempre-verde pelo método "in vitro", mostrou que a digestibilidade da celulose decrescia linearmente com o avanço da maturidade. Esses dados não puderam ser confirmados, no caso da cana-de-açúcar, conforme podemos observar pelos dados apresentados.

QUADRO 18.- Análise da variância para a digestibilidade da celulose "in vitro"

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Amostragem	3	3638,57	1212,85	293,59 ^{***}
Variedades	9	654,92	72,76	1,76 n.s.
Resíduo	27	1115,59		
Total	39	5409,08		

Os coeficientes aqui encontrados estão abaixo daqueles encontrados para gramíneas em geral. Segundo Sullivan (1965), o coeficiente de digestibilidade da celulose para gramíneas varia de 56 a 89%.

A teoria de Crampton e Maynard (1938) de que o grau de lignificação diminui a digestibilidade da celulose não foi válida no presente caso. Não foi encontrada correlação entre os teores de lignina e o coeficiente de digestibilidade da

celulose, como acontece normalmente com a maioria das forrageiras. O coeficiente encontrado foi de 0,059, não significativo. Isso seria de se esperar, uma vez que os teores de lignina não aumentaram com a maturação da planta.

O decréscimo da digestibilidade da celulose da primeira para as amostragens posteriores talvez se explique por uma influência do elevado teor de sacarose dessa planta com o amadurecimento, uma vez que nem os próprios teores de celulose e nem os teores de lignina sofreram acréscimo. Isso, talvez, explique também o fato de não haver correlação entre os teores de lignina e a digestibilidade da celulose. Isso parece não estar de acordo com a afirmação de Swift e Sullivan (1963), de que com a maturação cresce a concentração de fibra bruta lignificada, e que aos elevados teores de lignina está associada a baixa digestibilidade.

Também, os teores de celulose não estão correlacionados com a digestibilidade da mesma. O coeficiente de correlação encontrado não foi significativo.

5.3.2.- Solubilidade da celulose em cobre-etileno-diamina.

Os dados obtidos pela solubilidade da celulose em cobre-etileno-diamina ("CED") estão resumidos no Quadro 19. Referem-se à celulose solúvel expressa em porcentagem da matéria seca.

QUADRO 19.- Solubilidade da celulose em cobre-etileno-diamina (CED 1,0 M), por variedades e por amostragem, sendo a celulose expressa em porcentagem da matéria - seca.

Variedades	Dias de crescimento vegetativo				
	120	210	300	390	Média
IAC 36-25	50,60	47,70	47,50	48,60	45,38
S 34-793	61,61	49,40	45,90	45,86	50,69
S 36-37	69,60	51,10	48,30	37,42	51,60
S 34-53	61,40	43,60	58,10	49,27	46,52
S 36-20	70,40	32,20	41,90	41,56	46,52
S 35-46	69,10	48,80	47,30	45,27	52,11
NCO 292	75,00	57,00	48,90	31,81	53,17
IAC 55-26	62,60	47,50	68,40	44,32	55,70
CO 419	63,70	57,85	66,70	43,17	55,85
CB 49-260	52,61	48,24	51,86	42,18	51,47
Média	63,61	48,24	51,86	42,18	51,47

A análise da variância (Quadro 20) mostrou não haver diferenças significativas entre variedades ao nível de 5% de probabilidade. Porém, houve diferença significativa entre amostragens ao nível de 1% de probabilidade. O coeficiente de variação encontrado foi de 14,7%.

QUADRO 20.- Análise da variância para solubilidade em cobre-etileno-diamina

C.V.	G.D.	S.Q.	Q.M.	F.
Amostragem	3	2441,86	813,95	14,16 ^{XX}
Variedades	9	540,26	60,03	1,04 n.s.
Resíduo	27	1551,78	57,47	
Total	39	4533,91		

Examinando-se o quadro 19, observa-se que a solubi

lidade na primeira amostragem foi alta, caindo na segunda, elevando-se um pouco na terceira, para cair novamente na quarta, muito embora pelo teste de Tukey ($\Delta=9,24$) a 5% de probabilidade de a segunda, terceira e a quarta amostragens não tenham diferido entre si, sendo apenas a primeira superior as demais.

Comparando-se a solubilidade (quadro 19) em "CED" com a digestibilidade pela fermentação "in vitro", (Quadro 17) nota-se que os coeficientes de solubilidade são maiores que os de digestibilidade. A análise estatística, porém, mostrou haver correlação positiva entre a solubilidade e a digestibilidade da celulose, apresentando um coeficiente de correlação ($r=0,77$) positivo e significativo a 1% de probabilidade.

Desta maneira, seria possível saber-se a digestibilidade "in vitro" da celulose conhecendo-se apenas a solubilidade da mesma em "CED", a partir da equação de regressão ($y=25,2615 + 0,6888x$). Isso facilita bastante, uma vez que é muito mais fácil e rápida a determinação da solubilidade da celulose em ("CED"), que a determinação da digestibilidade pela fermentação "in vitro".

Esses dados confirmam aqueles encontrados por Dehority e Johnson (1963) e por Johnson (1960,61) citado por Dehority e Johnson (1963), para gramíneas, que mostraram ser a solubilidade da celulose em "CED" altamente correlacionado com a digestibilidade da celulose "in vitro".

Não foi encontrada correlação entre os teores de lignina e a solubilidade da celulose em "CED". O coeficiente de correlação encontrado foi ($r=0,03$), não significativo. Também não foi significativo o coeficiente de correlação encontrado ($r=0,26$) entre o teor de celulose e a solubilidade da mesma.

Isso seria de se esperar, uma vez que no caso de digestibilidade "in vitro" também não foi encontrada correlação

e a solubilidade em ("CED") está altamente correlacionada com a digestibilidade "in vitro".

5.4.- Desaparecimento da matéria seca.

O desaparecimento da matéria seca é dado pela porcentagem da matéria seca desaparecida após a fermentação "in vitro". Os dados por variedades e por amostragem encontram-se no Quadro 21.

QUADRO 21.- Porcentagem de desaparecimento da matéria seca, após a fermentação "in vitro".

Variedades	Dias de crescimento vegetativo				
	120	210	300	390	Média
IAC 36-25	19,61	22,25	43,48	32,74	29,52
S 34-793	48,91	44,23	19,15	37,17	37,36
S 36-37	19,29	46,25	24,15	40,96	32,66
S 34-53	47,13	36,39	43,60	40,89	42,00
S 36-20	46,95	27,87	25,41	52,98	38,30
S 35-46	48,77	40,91	24,87	52,54	41,77
NCO 292	47,24	31,98	29,08	37,34	36,41
IAC 55-26	50,80	34,99	25,47	35,70	36,74
CO 419	50,00	40,18	39,83	41,64	42,91
CB 49-260	49,63	35,88	26,03	44,22	38,94
Média	42,83	36,09	30,10	41,61	37,61

Na análise da variância, o teste "F", para o desaparecimento da matéria seca não mostrou diferenças significativas entre variedades, porém, entre amostragens, ao nível de 5% de probabilidade houve diferenças significativas (Quadro 22).- O coeficiente de variação foi de 24,72%.

QUADRO 22.- Análise da variância para a porcentagem de desaparecimento da matéria sêca

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Amostragem	3	1019,29	339,76	3,92 ^x
Variedades	9	639,55	70,72	0,81 n.s.
Resíduo	27	2339,57	86,64	
Total	39	3995,41		

Como se observa no Quadro 21, pelos coeficientes médios calculados para as amostragens, o desaparecimento da matéria sêca cai da primeira amostragem para a terceira e aumenta de novo na quarta, embora, pelo teste de Tukey ($\Delta = 11,37$), à 5% de probabilidade, essa diferença não tenha sido significativa. Observa-se ainda, que existe grande variação nos resultados, mesmo dentro das variedades, em diferentes amostragens.

A análise estatística mostrou não haver correlação ($r=0,20$) entre os teores de fibra bruta e o desaparecimento da matéria sêca, o mesmo acontecendo com os teores de lignina ($r=0,23$). Uma correlação positiva e significativa ao nível de 1% de probabilidade foi encontrada entre os teores de celulose e o desaparecimento da matéria sêca ($r=0,52$).

Êsses dados até certo ponto estão em desacordo com aqueles encontrados por Butterworth e Arias (1965), para o capim Napier, e Carvalho (1967), para os capins pangola, gordura e sempre verde, que mostraram sofrer a digestibilidade da matéria sêca um decréscimo linear com a maturidade.

6. CONCLUSÕES

Os dados expostos permitem estabelecer as seguintes conclusões gerais:

- 7.1. - Os conceitos conhecidos e válidos para a maioria das gramíneas não se aplicam, na sua totalidade, às variedades de cana-de-açúcar aqui estudadas.
- 7.2. - Os teores de matéria mineral e de proteína bruta decresceram com o amadurecimento das plantas, não havendo diferenças significativas entre os teores médios das variedades.
- 7.3. - Com exceção da primeira amostragem, os teores de matéria mineral e de proteína bruta foram inferiores aos teores das gramíneas mais comuns, utilizadas para corte verde.
- 7.4. - Os teores de fibra bruta e celulose não aumentaram com o amadurecimento das plantas, não havendo diferenças significativas entre os teores médios das variedades.
- 7.5. - Foi encontrada uma correlação baixa, porém, positiva, da ordem de 0,36 entre fibra e proteína, e uma correlação positiva da ordem de 0,59 entre fibra bruta e celulose.
- 7.6. - Os teores médios de fibra bruta nas amostragens foram inferiores aos mesmos teores médios de celulose.
- 7.7. - Os teores de lignina não aumentaram com o amadurecimento das plantas, havendo até um decréscimo na última amostragem. Não houve diferenças significativas.

tivas entre os teores médios das variedades.

- 7.8. - Com exceção da primeira amostragem, os coeficientes médios de digestibilidade da celulose (obtidos pela fermentação "in vitro) não sofreram alteração com o amadurecimento das plantas.
- 7.9. - Não foi encontrada correlação entre os teores de lignina e os coeficientes de digestibilidade da celulose.
- 7.10. - Os coeficientes médios de solubilidade da celulose em "CED" 1,0M decresceram com o amadurecimento das plantas, não havendo diferença significativa entre os teores médios das variedades.
- 7.11. - Apesar de os coeficientes de solubilidade da celulose serem superiores aos coeficientes de digestibilidade, foi encontrada uma correlação positiva da ordem de 0,77 entre os mesmos.
- 7.12. - Não foi encontrada correlação entre os teores de lignina e os coeficientes de solubilidade da celulose.
- 7.13. - Os coeficientes de desaparecimento da matéria seca tenderam a decrescer com o amadurecimento das plantas, não havendo diferenças significativas entre os coeficientes médios das variedades.
- 7.14. - Não foi encontrada correlação entre os teores de lignina, de fibra bruta e os coeficientes de desaparecimento da matéria seca. Foi encontrada correlação positiva da ordem de 0,52 entre os teores de celulose e os coeficientes de desaparecimento da matéria seca.

7. RESUMO

O presente trabalho cuida do estudo da composição química bromatológica de dez variedades de cana-de-açúcar, que haviam sido anteriormente selecionadas pelos seus teores mais elevados em proteína, para fins forrageiros.

As variedades em estudo foram inicialmente plantadas no campo, três linhas de 7 metros com três repetições para cada variedade. Posteriormente, foram executadas quatro amostragens sendo: aos 4 meses, aos 7 meses, aos 10 meses e aos 12 meses após o plantio, colhendo-se três plantas inteiras (parte aérea), de cada variedade por bloco.

Nessas amostras foram determinadas a proteína bruta, fibra bruta, a matéria mineral, a celulose, a lignina e determinada a digestibilidade da celulose, pela fermentação "in vitro" e pela solubilidade da celulose em cobre-etileno-diamina ("CED 1,0 M) e o desaparecimento da matéria seca após a fermentação "In vitro".

A fibra bruta, a celulose e a lignina não aumentaram com o amadurecimento das plantas, decrescendo a proteína e a matéria mineral. Os teores de fibra bruta foram inferiores aos teores de celulose em todas as amostragens, havendo porém correlação positiva entre ambos.

Foi encontrada uma tendência para que as variedades, com teor de proteína bruta mais elevada, tenham maiores teores de fibra bruta.

Os coeficientes de solubilidade da celulose em ("CED") e os coeficientes de desaparecimento da matéria seca decresceram com o amadurecimento das plantas enquanto a digestibilidade da celulose "in vitro" permaneceu estável.

Os teores de celulose estão correlacionados com a digestibilidade da mesma e com o desaparecimento da matéria sêca. Não foi encontrada correlação entre os teores de lignina e a digestibilidade da celulose.

8. SUMMARY

This paper deals with the chemical composition of ten sugar-cane varieties which were previously selected for the high protein contents for animal feed.

The varieties were planted in Ortho Dark Red Lato sol. The design used was a randomized block with three replications. Each plot consisted of three lines of 7 meters and the spacing between lines was 1.5 meters. After a period of four, seven, ten, and 12 months three plants (above ground parts) were harvested from each replication, dried and chemically analyzed.

The analyses carried out were: crude protein, crude fiber, ash, cellulose, lignin, digestibility of cellulose by fermentation "in vitro", by the solubility of cellulose in Copper Etylene Diamine ("CED") and dry matter disappearance after fermentation "in vitro".

The results obtained showed:

- 1) That crude fiber, cellulose, lignin and dry matter did not increase with maturity of the plants; there was a decrease of protein and ash.
- 2) A tendency was shown for the varieties with high crude protein to contain higher contents of crude fiber.
- 3) The coefficient of solubility of cellulose in ("CED") and the coefficient of dry matter disappearance decreased with maturity of the plants the digestibility of cellulose "in vitro" remained stable.

- 4) The cellulose content was not correlated with digestibility and dry matter disappearance. - There was no correlation between lignin content and digestibility of cellulose.
- 5) The digestibility of cellulose by fermentation "in vitro" was correlated ($r=0,77$) with solubility of cellulose in ("CED").

9. BIBLIOGRAFIA CITADA

- ALVES NETO, F. - 1957. O custo da produção de leite no Estado de São Paulo. Bol. Ind. Animal 16:11.
- A.O.A.C. - 1945. Oficial and tentative methods of analysis of the Association of Agr. Chemists, 6 th E. Washington D.S.
- ARMSTRONG, D.C., H. COOK and T. BRYNMOR. - 1950. The lignin - and cellulose contents of certain grassland species at different stages of growth. Jour. Agr. Sci. 40:93.
- ASSIS, F. DE PAULA - 1967. A importância dos alimentos volumosos e grosseiros na dieta de vacas leiteiras. São Paulo. (Companhia Industrial e Comercial Brasileira de Produtos Alimentares) 22 fls. (mimeografado).
- ATHANASSOF, N. - 1917. Contribuição para o estudo da mandioca cana e capim fino utilizados como forragem na alimentação do gado leiteiro. Secret. Agr. Com. Obras Públicas, S.P.
- BAUNGARDT, B.R., J.L. CASON and M. W. TAYLOR. - 1962. Evaluation of forages in the laboratory. II. Simplified - artificial rumen procedure for obtaining repeatable estimates of forages nutritive value. J. Dairy Sci. 45:62.
- BOLLIGER, R. - 1930. Análises de forragens, Instituto Agrônomico, S.P.
- BREGGER, R. and R. W. KIDDER. - 1959. Growing sugar cane for forage. Circ. -S.117, Flórida Agric. Exp. Sta., p. 12.

- BRENES, E.A. and A.B. DIAZ - 1947. Studies in silage in Puerto Rico. I. Methods of ensiling and resulting quality of Mercher, Cane Tops and Para grass. Jour. Agric.-Univ. Puerto Rico 3:168.
- BROGADIN, E.A. and A.B. DIAZ. - 1957. Silage made from tops - and leaves of sugar cane. Its value for fodder. Rev. Ind. Agric.
- BURROUGHS, W., N.A. FRANKS, P. GERLAUGH and R.M. BETHKE.-1950. Preliminary observations upon factors influencing - cellulose digestion by rumen microorganisms. J.Nutr. 40:9.
- BUTTERWORTH, M.A. - 1962. The digestibility of sugar cane tops, rice aftermath and bamboo grass. Empire Jour. Exp.-Agric. 30:77.
- BUTTERWORTH, M.A. and P.J. ARIAS - 1965. Nutritive value of elephant grass cut at various ages. Anais do IX Congresso Internacional de Pastagens, D.P.A., São Paulo 1:616.
- CABRERA, J.I. and L. RIVERA BRENES. - 1953. The value of grass silage for feeding dairy cows in Puerto Rico. J. Agric. Univ. Puerto Rico, 37,1, p. 59-73.
- CARVALHO, M.M. - 1967. A técnica do rúmem artificial na estimativa da digestibilidade aparente de forrageiras tropicais. Tese de M.S., Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, Viçosa. Minas Gerais.
- CRAMPTON, E.W. and L.A. MAYNARD - 1938. The relation of cellulose and lignin content to nutritive value of animal feeds. Jour. Nutr. 15:383.
- CORREIA, A., GERALDO L. ROCHA, MANOEL BECKER, AFONSO TUNDINI, - BENJAMIM CINTRA, DINIVAL MARTINELLI, JOÃO BARRISON -

- VILLARES e LICIO VELOSO - 1962. O emprêgo da cana - de açúcar no crescimento de bovinos mestiços de corte. Bol. Ind. Animal 20:307.
- DAFFERT, W., H. POTEL e R. BOLLIGER - 1892-93. Sôbre as canas de açúcar nacionais - Relatórios do Instituto Agronômico Campinas, S.P.
- DA SILVA, D.J., J.H. CONRAD e J. CAMPOS - 1965. Da digestibilidade "in vitro" de algumas forrageiras tropicais. Anais do Congresso Internacional de Pastagens, D.P.A. São Paulo 1:529.
- DEHORITY, B.A. and R.R. JOHNSON. 1963. Celulose solubility as estimate of cellulose digestibility and nutritive - value of grasses. J. Animal Sci. 22:222
- DONEFER, E., L.E. LLOYD and E.W. CRAMPTON - 1962. Prediction - of the nutritive value index of forages fed chopped or ground using an "in vitro" rumen fermentation method. J. Animal Sci. 19:545.
- FONSECA, J.B., J. CAMPOS e J.H. CONRAD - 1965. Estudos de digestibilidade de forrageiras tropicais pelo processo convencional. Anais do IX Congresso Internacional de Pastagens, D.P.A., São Paulo, 1:530.
- GOMES, F.P. - 1963. Curso de Estatística Experimental - 2ª Ed., ESALQ, USP. Piracicaba.
- HAINES, C.S. and F. LE GRAND. - 1960. Sugar cane as a pasture supplement during the winter of yearling cattle. Sugar Journal 23:13.
- HARRISON, E. - 1942. Digestibility trials of green fodders. - Tropical Agriculture 19:147.
- HOSTERMAN, W.H. and W.L. HALL. 1938. Time of cutting: effect - on the proportion of leaf sheaths stems and heads -

end on their crude protein ether extract crude fiber contents. Agron. Jour. 30:564.

JARDIM, W.R., C.L. MORAES e A.M. PEIXOTO. - 1961 - Estudo comparativo entre a silagem de milho e cana taquara na alimentação suplementar de vacas leiteiras. Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz" 8:153.

JOHNSON, R.R., B.A. DEHORITY and O.G. BENTLEY - 1958. Studies on the "in vitro" rumen proceeding improved inoculum preparation and effects of volatile fatty acids on cellulose digestion. J. Animal Sci. 17:841.

JOHNSON, R.R. - 1963. Symposium on microbial digestion in ruminants: "in vitro" rumen fermentations techniques. - J. Animal Sci. 22:790.

JOHNSON, R.R. - 1966. Techniques and procedures for "in vitro" and "in vivo" rumen studies. J. Animal Sci. 25:855.

KEHAR, N.D. and D. SAHAI. - 1949. Sugar cane top as a feed for cattle. Indian Veterinary Research 15:198.

KIDDER, R.W. and W.C. KIRK - 1941. Cattle feeding in Southern Florida. Fla. Agr. Exp. Sta. Bull. 360.

LOVADINI, L.A.C., C.L. MORAES e S.B. PARANHOS - 1967. Levantamento sôbre a composição química bromatológica de 39 variedades forrageiras de cana-de-açúcar. Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz", 24:189.

LLOSA, H.G. e J. de ALBA. - 1950. Valor comparativo de hojas de banano puntas de canã de açúcar e pasto elefante para producion de leche. Turrialba 1:78.

LOUW, J.G., H.H. WILLIAMS and L.A. MAYNARD - 1949. A new method for the study of "in vitro" rumen digestion. - Science 110:478.

- LOWE, C.C., J.T. REID and W.R. MEREDITH. - 1962. Effect of maturity differences among comparative feeding value of harvested forage. Agron. Abstr. p. 94.
- MCDUGALL, E.I. - 1949. Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep saliva. Biochem. J. - 43:99.
- MINSON, D.J. and R. MILFORD. - 1966. The energy values and nutritive indices of *Digitaria decumbes*, *Sorghum alatum*, and *Phaseolus atropurpureus*. Aust. Jour. Agr.-Res. 17:411.
- MINSON, D.J., W.F. RAYMOND and C.E. HARRIS - 1960. Studies in the digestibility of herbage. VIII. The digestibility of S37 cocksfoot, S23 Rye-grass and S24 Rye-grass. J. Brit. Grassl. Soc. 15:174.
- MORRISON, F.G. - 1956. Feeds and feeding, 22nd. Ed. - The Morrison Publishing Co., Ithaca. New York.
- NORDFELT, S., I. IWANAGA, A. TOM and C.A. HENKE - 1951. Studies of Napier grass. Tech. Bull. 12 Univ. of Hawaii Agr. Exp. Sta.
- PATTON, A.R. - 1943. Seasonal changes in the lignin and cellulose content of some Montana grasses. Jour. An. Sci. 2:59.
- PATTON, A.R. and GIESEKER LEONARD, - 1942. Seasonal changes in the lignin and cellulose content of some Montana grasses. Jour. An. Sci. 1:22.
- PEIXOTO, A.M. - 1964. A cana de açúcar como forrageira. In "Cultura e adubação da cana de açúcar", Cap. X., Instituto Bras. de Potassa, São Paulo.p. 307
- PEDREIRA, J.V.S. - 1962. Ensaio de digestibilidade (aparente) de cana-de-açúcar. Bol. Ind. Animal, 20:281.

- PEDREIRA, J.V.S. - 1968. Produção estacional de forragem no -
Brasil Central. (mimeografado). Seminário do Curso
de Pós-Graduação de Nutrição Animal e Pastagens, E.
S.A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba.
- PHILLIPS, T.G., J.T. SULLIVAN, M.E., LOUGHLIN and V.G. SPRAQUE.
1954. Chemical composition of some forage grasses.-
I. Changes with plant maturity. Agron. Jour. 46:361.
- RAYMOND, W.F. - 1959. The measurement of grassland productivi-
ty. 156 Ed. I.D. Ivins: Butterworth, London.
- REID, J.T., G.A. JUNG and S. MARRAY - 1964. The measurement of
nutritive qualities in a blue grass pasture using -
"in vivo" and "in vitro" techniques. J. Animal Sci.
23:700.
- SEN, K.M. and G.L. MABEY - 1965. The chemical composition of -
some indigenous grasses of coastal savana of Gana -
at differnt stage of growth. Anais do IX Congresso
Internacional de Pastagens, D.P.A., S. Paulo, 1:763.
- SILVEIRA, A.C. - 1970. Efeito da maturidade da planta e diferen
tes tratamentos sôbre a digestibilidade "in vitro"-
de silagens de capim elefante, variedade Napier -
(Pennisetum purpureum, Schum). Tese de M.S., E.S.A."
Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo,
Pira-cicaba, - S.P.
- SULLIVAN, J.T., T.G. PHILLIPS, M.E. LOUGHLIN and V.G. SPRAQUE
1956. Chemical composition of some forage grasses.-
II. Successive cuttings during the growing season.-
Agron. Jour. 48:11.
- SULLIVAN, J.T. and D.G. RANTLEY - 1955. The relation of pro-
tein content of forage grasses to earliness of flo
wering. Agron. Jour. 37:206.

- SULLIVAN, J.T. - 1955. Cellulose and lignin in forage grasses and their digestion coefficients. J. Animal Sci., - 14:3.
- SWIFT, R.W. and E.F. SULLIVAN - 1963. Composition and nutritive value of forages. In "Forages", 2^a, Ed. Iowa - State Univ. Press, Ames, Iowa, U.S.A.p. 42
- TERRY, R.A. y J.M.A. TILLEY - 1954. The digestibility of the leaves and stems of perennial rye-grass, cocksfoot, timothy, tall fescue, lucerne and sainfoin, as measured by an "in vitro" procedure. J. British - Grassl. Soc. 19:363.
- TORRES, A.P. - 1961. Forragens verdes cortadas - Supl. Agric. - do "Estado de São Paulo", nº 334.
- VILLARES, J.B. - 1949. Climatologia Zootecnica. Aspectos da - produção de carne em certas zonas tropicais. Departamento da Produção Animal, São Paulo.
- WARNER, A.C.I. - 1956. Criteria for establishing the validity of "in vitro" studies with rumen microorganisms in so-called artificial rumen systems. J. Gen. Microbial 14:733.
- WAITE, R. and K.N.S. SASTRY - 1949. The composition of "timothy" (Phleum pratense) and some other grasses during seasonal growth. Empire Jour, Exp. Agr. 17:179.
- WOODMAN, H.E. and R.E. EVANS - 1938. The mechanism of cellulose digestion in the ruminant organism. IV. Further observations from "in vitro" studies of the behavior of rumen bacteria and their bearing on the problem of the nutritive value of cellulose. J. Agr. - Sci. 28:43.
- WORK, S.H. - 1942. Digestible nutrient content of some hawaiian feeds and forages. Hawaiian Agr. Exp. Sta. Tech. - Bull. nº 4.