

AVALIAÇÃO DA TÉCNICA *IN SITU* PARA A ESTIMATIVA DA DEGRADAÇÃO RUMINAL DE PROTEÍNAS¹

PETER JOHANN BÜRGER², LUIS MARIA BONNECARRÉRE SANCHEZ³,
MARIA BEATRIZ GONÇALVES PIRES e IRINEO ZANNELLA⁴

RESUMO - O presente experimento foi conduzido no período de setembro de 1985 a fevereiro de 1986, no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria. Foram utilizadas duas vacas holandesas, portadoras de fístula ruminal, estabuladas, mantidas com uma dieta de feno de alfafa (*Medicago sativa* L.) oferecida *ad libitum*. Estimou-se, através da técnica *in situ*, o desaparecimento do nitrogênio (N) de alimentos colocados em bolsas de náilon suspensas no rúmen. Os substratos consistiram do farelo de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), farinha de carne, feno de alfafa e capim-elefante, variedade Napier (*Pennisetum purpureum* Schum). Foram estudados cinco tempos de fermentação, às 1, 3, 6, 12 e 24 horas, em três dias consecutivos de ensaio. Adotou-se o delineamento experimental de parcelas subsubdivididas, em blocos com duas repetições. Não houve diferenças significativas ($P < 0,05$) entre animais e duplicatas; porém, verificaram-se diferenças altamente significativas ($P < 0,01$) entre dias, alimentos, interação entre dias e alimentos e interação entre alimentos e tempos de fermentação. Concluiu-se que a técnica *in situ* apresentou um baixo coeficiente de variação, (5,22%), revelando uma boa precisão e reprodutibilidade.

Termos para indexação: degradação de proteínas, rúmen, técnica da bolsa de náilon.

EVALUATION OF *IN SITU* TECHNIQUE FOR PREDICTING RUMINAL PROTEIN DEGRADATION

ABSTRACT - This work was carried out from September 1985 to February 1986, at the Animal Nutrition Laboratory of the Animal Science Department of the Universidade Federal de Santa Maria, in Santa Maria, RS, Brazil. Two Frisian cows with ruminal fistula, maintained indoors on a lucerne (*Medicago sativa* L.) hay *ad libitum* diet were used for the experiment. The nitrogen (N) disappearance from food samples placed in nylon bags at the rumen was estimated with the *in situ* technique. The used substrata were soybean meal (*Glycine max* (L.) Merrill), meat meal, lucerne hay, and napier grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) in five fermentation times: 1, 3, 6, 12 and 24 hours during three consecutive days of the assay. The experimental design used was the split-split-plot in blocks with two replications. There were no significant differences ($P < 0,05$) between animals and replicates. However, high differences between days of assay, substrata, interaction of days vs. substrata, and substrata vs. fermentation times were observed ($P < 0,01$). It was concluded that the *in situ* technique proved to be repeatable and accurate, with low variation coefficient (5,22%). The necessity of standardization, quantification and control of variation factors was emphasised.

Index terms: protein degradation, rumen, nylon bag technique.

¹ Aceito para publicação em 7 de março de 1990
Extraído da dissertação apresentada pelo primeiro autor ao
Curso de Zootecnia da UFSM, para a obtenção do grau de
Mestre.

² Méd. - Vet., Prof., Centro de Ciências Agrovet.
(UDESC), Caixa Postal 767, CEP 88500 Lages, SC.

³ Eng. - Agr., Ph.D., Prof. - Adj., Dep. de Zoot., UFSM,
CEP 97119 Santa Maria, RS.

⁴ Zoot., M.Sc., Prof^o - Assist., Dep. Zoot., UFSM.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de sistemas para a avaliação de proteínas na nutrição dos ruminantes tem recebido a atenção dos pesquisadores. Tal fato é evidenciado pelo aparecimento de alternativas visando atualizar os procedimentos adotados na apreciação das fontes de nitrogênio.

Para Rooke et al. (1982), o requerimento de suprimento de aminoácidos para a absorção intestinal é, nos ruminantes, derivado das proteínas microbianas e da proteína alimentar não degradada no rúmen. Para os ruminantes de elevada produção, assim como para animais jovens e de rápido crescimento, pode ser necessária a suplementação das proteínas microbianas com aminoácidos oriundos de proteína dietética não degradada no rúmen.

A degradação de proteínas dos alimentos tem sido estimada por técnicas *in vivo* com análises de amostragens de conteúdo do abomaso e duodeno (Weakley et al. 1983). Os dados obtidos estão sujeitos a variações pela dificuldade na distinção entre a proteína alimentar não-degradada no rúmen e a proteína microbiana e das secreções endógenas. Somado a esses fatores está o alto custo e os transtornos para a manutenção de animais preparados cirurgicamente, o que conduziu ao desenvolvimento de outros procedimentos para estimar a degradação ruminal de proteínas (Poos-Floyd et al. 1985).

Segundo Orskov et al. (1980), a degradação de proteínas, além das amostragens por métodos *in vivo*, pode ser estimada por métodos *in situ*, com a incubação de amostras de alimentos suspensos em bolsas de materiais sintéticos no rúmen.

O uso da técnica *in situ* remonta aos anos trinta, quando Quinn et al. (1938) utilizaram esse método para investigar a digestão dos alimentos no rúmen de ovinos canulados.

A utilização da técnica da bolsa de fibra artificial tem a vantagem de propiciar uma estimativa rápida e simples da degradação de nutrientes no rúmen, além de permitir o acompanhamento da extensão de degradação ao longo do tempo (Mehrez & Orskov 1977).

Existem vários fatores inerentes à técnica, envolvidos nos procedimentos que, se não forem controlados, podem limitar os resultados, incluindo-se os relacionados ao animal, à bolsa de fibra artificial, ao substrato e à incubação (Nocek 1985).

Harris et al. (1967) fizeram referências quanto ao regime dietético do animal fistula-

do, mencionando que a dieta influi para o desaparecimento da matéria seca, matéria orgânica e celulose, sendo significativamente maior quando os animais eram alimentados com feno e alfafa, comparados com animais alimentados com forragens idênticas aos substratos incubados.

Crawford et al. (1978) utilizaram bolsas de dacron de 4 x 12 e com poros variando de 20 a 70 μ e amostras de 0,5 g secadas a temperatura de 40°C e moldadas em tela de 1 mm, com uma relação entre peso da amostra e área de superfície de bolsa de 3,5 mg/cm².

Os tempos de fermentação variam de acordo com os objetivos propostos pelo trabalho, podendo variar de 30 min a 24 horas (Nocek 1985).

Segundo Nocek et al. (1979), a necessidade de lavagem de amostra após a incubação foi baseada na suposição de que qualquer material que alcança por influxo o interior da bolsa pode ser lavado e que qualquer partícula alimentar removida, ou é solúvel ou é degradada.

Este trabalho visou contribuir na área de nutrição de ruminantes, tendo por objetivos estimar o percentual de desaparecimento do N de substratos suspensos em bolsas de náilon no rúmen e avaliar esta técnica levando em conta as fontes de variação, precisão e repetibilidade dos dados de observação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido nas dependências do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, no período de setembro de 1985 a fevereiro de 1986.

Foram utilizadas, pela técnica descrita por Raiser & Bürger (1985), duas vacas holandesas, portadoras de fistula de rúmen. Os animais foram mantidos estabulados, submetidos a um período de adaptação de 21 dias e alimentados *ad libitum* com feno e alfafa.

Através da técnica *in situ* estimou-se a taxa de degradação do nitrogênio, a partir da quantificação do desaparecimento de alimentos colocados em bolsas de náilon suspensas no rúmen e coletadas em cinco tempos de fermentação, isto é, às 1, 3, 6, 12 e 24 horas e em três dias consecutivos de ensaio. As

bolsas foram confeccionadas nas dimensões de 15 x 5 cm em tecido de náilon com poros de cerca de 28 µ. Amostras de 0,5 g de farelo de soja, farinha de carne, feno de alfafa e capim-elefante foram moídas a 1 mm e secadas a 55°C. A composição dos alimentos encontra-se na Tabela 1, e foi determinada através de análise bromatológica no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria. As bolsas, em duplicata, foram fixadas aos frascos de polietileno com capacidade para 100 ml, repletos de água, sendo que cada suporte recebeu oito bolsas. Previamente à incubação, as bolsas foram imergidas em água por um minuto, sendo os suportes referentes aos cinco tempos de fermentação introduzidos simultaneamente pela fístula ruminal e depositados no saco ventral do rúmen. A cada tempo de fermentação, os suportes, com as bolsas, eram retirados do rúmen, aleatoriamente, sendo imediatamente lavados em água corrente até o clareamento da água. Após a lavagem, as bolsas foram submetidas a congelamento e mais tarde as amostras foram secadas a 55°C e analisadas pelo método micro-Kjeldahl (Association of Official Agricultural Chemists, 1970) para a determinação do N total. As taxas de degradação do N foram calculadas pela expressão, $A = 100 - (B/C) \times 100$ onde, A = taxa de degradação do N (%), B = teor de N do resíduo (mg) e C = teor de N da amostra incubada (mg).

Adotou-se o delineamento experimental de parcela subdividida, em que a parcela principal (repetições) estava organizada em blocos com duas repetições, as subparcelas (tempos de fermentação) estavam designadas ao acaso dentro da parcela principal, e as subsubparcelas (duplicatas) estavam tam-

bém designadas ao acaso dentro das subparcelas. Os fatores dos tratamentos foram duas repetições x quatro alimentos x três dias x cinco tempos de fermentação x duas duplicatas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da variância não mostrou diferenças significativas ($P < 0,05$) entre animais e duplicatas.

Os valores médios das taxas de degradação do N, expressos em percentagem, relativos aos dias de ensaio são apresentados na Tabela 2. A análise da variância evidenciou diferenças altamente significativas ($P < 0,01$) entre dias, com um coeficiente de determinação de 0,0064% que explicou quanto da variação dos dias concorreu para a variação total. Essa baixa variação representou apenas 0,76% do total da variância inferior aos 4,5% observados por Mehrez & Orskov (1977) para a degradação do N.

Os resultados referentes às taxas de degradação do N, expressos em percentagem, da interação entre os alimentos estudados, e os dias de ensaio, estão representados na Tabela 3. Observa-se uma tendência ao decréscimo dos coeficientes de variação para os substratos ao longo dos dias de ensaio, com exceção do segundo dia para a farinha de carne e o feno de alfafa. Nota-se, ainda, uma elevação das taxas de degradação do N ($P < 0,05$) na medi-

TABELA 1. Análise química e bromatológica dos alimentos¹.

Alimentos	Frações						
	MS	N	FB	EE	Cz	Ca	P
	----- % -----						
Farelo de soja	86,86	6,67	4,81	1,58	8,44	0,20	1,00
Farinha de carne	89,20	11,32	1,66	12,80	4,51	0,20	0,52
Feno de alfafa ²	92,27	3,32	20,52	4,19	7,94	1,17	0,22
Capim-elefante	92,04	0,90	33,29	1,85	7,78	0,15	0,24

¹ Segundo Harris (1970), expresso como oferecido.

² Dieta experimental.

da da progressão dos dias para o farelo de soja e o capim-elefante e uma tendência semelhante para o feno de alfafa. Estes resultados são comparáveis aos obtidos por Weakley et al. (1983), que relataram variação entre dias, a qual foi atribuída ao tempo de lavagem das bolsas pós-incubação. Este fato fez com que os autores enfatizassem a necessidade da utilização de formas mecânicas ou tempos fixos de lavagem.

Os valores médios relativos às taxas de degradação do N, expressos em percentagem para a interação entre os alimentos estudados e os tempos de fermentação são apresentados na Tabela 4.

A análise de variância indicou diferenças altamente significativas ($P < 0,01$) para esta interação, devidas, provavelmente, às diferenças entre os alimentos, ou seja, às diferenças estruturais e de solubilidade dos substratos pesquisados, tendo sido aplicado o teste de Duncan para a comparação das médias ao nível de 5%.

Para o farelo de soja, os resultados encontrados após doze horas de incubação podem ser comparados aos resultados obtidos de Weakley et al. (1983) e de Stern et al. (1983). Os tempos iniciais de fermentação foram superiores aos relatados na literatura (Stern et al. 1983, Loerch et al. 1983b e Firkins et al. 1984). Assumindo-se a taxa de degradação do

N, expresso em percentagem, como a variável dependente Y e os tempos de fermentação como a variável independente X, a equação de regressão obtida foi $Y = 82,24 + 1,93 - 0,05 X^2$ ($P < 0,01$), explicada por 62% das variações nos tempos de fermentação. O ponto máximo de fermentação estimado foi às 19 horas e 18 minutos de incubação.

As taxas de degradação do N observadas para a farinha de carne foram superiores às encontradas na literatura, Loerch et al. 1983a, 1983b). De uma maneira geral, podem ser comparados com o resultado de 86,46% registrado para a degradação do N *in vivo*, relatado por Loerch et al. (1983b). A equação que melhor se ajustou para distribuição dos dados foi $Y = 83,37 + 0,40 X$. O coeficiente de determinação foi de 38% ($P < 0,01$), dando conta da contribuição dos tempos de fermentação da variação das taxas de degradação do N.

TABELA 3. Médias e coeficientes de variação das taxas de degradação do nitrogênio, para alimentos estudados, por dias de ensaio, pela técnica *in situ*.

Alimentos	Dias	Taxa de degradação ¹	C.V.
		(%)	(%)
Farelo de soja	1	91,72 b	9,23
	2	90,39 bc	8,69
	3	94,45 a	5,73
Farinha de carne	1	88,31 cd	6,11
	2	86,54 de	7,14
	3	86,18 de	5,00
Feno de alfafa	1	82,32 f	14,19
	2	82,86 f	15,67
	3	83,76 ef	11,25
Capim-elefante	1	54,89 h	23,84
	2	61,94 g	21,11
	3	62,68 g	7,33

TABELA 2. Médias e coeficientes de variação das taxas de degradação do nitrogênio, por dia de ensaio, pela técnica *in situ*.

Dias	Taxa de degradação ¹	C.V.
	(%)	(%)
1	79,31 b	22,23
2	80,43 b	18,78
3	81,77 a	16,26

¹ Médias de 80 valores (2 repetições x 2 duplicatas x 4 alimentos x 5 tempos de fermentação).

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Duncan, ao nível de 5%.

¹ Médias de 20 valores (2 repetições x 2 duplicatas x 5 tempos de fermentação).

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Duncan, ao nível de 5%.

O resultado, nas 24 horas de incubação, da taxa de degradação do N para o feno de alfafa foi comparável aos obtidos por Al-Haydari et al. (1981), sendo os tempos anteriores de fermentação superiores aos relatados na literatura (Nocek et al. 1979 e Loerch et al. 1983a). A análise de regressão registrou um coeficiente de determinação de 83% ($P < 0,01$), sendo que a equação que melhor descreveu a relação entre as taxas de degradação e os tempos de fermentação foi $Y = 64,54 + 3,84X - 0,11 X^2$. O ponto máximo de fermentação foi às 17 horas e 27 minutos de incubação, com taxa de degradação de 98%, o que se aproximou do valor (95%) *in vivo* da degradação do N referido por Burroughs et al. (1975).

TABELA 4. Médias, coeficientes de variação e amplitude das taxas da degradação do N, para os alimentos estudados, por tempos de fermentação, pela técnica *in situ*¹.

Alimentos	T.F.	T.D.	C.V.	Amplitude	
				L.I.	L.S.
	(h)	(%)	(%)	(%)	(%)
Farelo de soja	1	83,35 fg	6,61	74,55	90,77
	3	86,42 ef	6,46	75,38	94,18
	6	95,84 ab	1,60	93,41	97,71
	12	95,81 ab	5,07	85,74	99,59
	24	99,81 a	0,27	99,02	99,83
Farinha de carne	1	80,27 gh	4,06	75,61	85,92
	3	86,33 ef	3,43	81,95	91,31
	6	89,39 cde	4,67	81,04	94,38
	12	86,27 ef	5,08	78,21	93,80
	24	92,81 bc	2,03	90,57	96,42
Feno de alfafa	1	65,60 j	10,97	49,28	74,75
	3	76,69 hi	6,19	69,37	84,79
	6	87,14 def	2,28	83,83	91,28
	12	91,89 bcd	0,81	90,72	93,42
	24	93,59 bc	1,57	91,00	96,68
Capim-elefante	1	49,16 i	17,66	31,74	59,68
	3	56,04 k	17,98	33,78	74,74
	6	56,31 k	14,71	36,07	69,25
	12	64,61 j	9,41	50,14	74,04
	24	73,07 i	8,84	65,94	87,53

¹ Médias de 12 valores (2 repetições x 3 dias x 2 duplicatas). Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Duncan, ao nível de 5%.

T.F. - Tempos de fermentação

T.D. - Taxa de degradação

L.I. - Limite inferior

L.S. - Limite superior

Na bibliografia consultada não foram encontrados resultados de avaliação do capim-elefante relativos à degradação ruminal de proteína *in situ*. O valor médio observado para as 24 horas de incubação foi inferior ao relatado para a estimativa *in vivo* por Burroughs et al. (1975).

O coeficiente de determinação denotou que os tempos de fermentação concorreram com 50% da variação total nas taxas de degradação do N, sendo que a equação que melhor se ajustou foi $Y = 50,94 + 0,97 X$.

Segundo a literatura, dentre os fatores que podem contribuir para a ocorrência de valores mais elevados para as taxas de degradação do N para os tempos iniciais de fermentação dos substratos incubados, destaca-se a dieta exclusiva de volumoso quando fornecida aos animais. Esta incrementa a atividade celulolítica dos microorganismos, expondo mais proteína para a ação proteolítica (Ganev et al. 1979 e Lindberg 1981). No caso da farinha de carne, a degradabilidade das proteínas depende altamente do processamento térmico na fabricação. Supõe-se que os valores elevados observados se devam a um efeito reduzido da solubilidade e degradação por ocasião do processamento desse substrato protéico.

Como segundo fator, poderia ser considerada a possibilidade de uma ação abrasiva entre o material fibroso da digesta ruminal do volumoso com a superfície da bolsa. Esta ação abrasiva, mais a movimentação das bolsas sob pressão, agiriam na desobstrução contínua do material acumulado nos poros, constituído de partículas do conteúdo fibroso e de limo bacteriano (Nocek et al. 1979). No presente trabalho, as bolsas foram recuperadas sempre em associação com o material fibroso do conteúdo do ruminal, permitindo o efeito abrasivo.

Outro fator que pode ter contribuído para a elevação das taxas de degradação do N nos tempos iniciais de fermentação foi a utilização de suportes que permitiram a livre movimentação das bolsas no rúmen. Não se observou embaraçamento de fios, o que é comum na utilização de linha nos suportes das bolsas, trazendo como consequência a interrupção na

incubação (Nocek 1985). A relação de 3,3 mg/cm² entre o peso da amostra e a área de superfície da bolsa também pode ter concorrido como mais um fator para a apresentação de valores elevados para os primeiros tempos de exposição ruminal. A relação utilizada pode implicar menor proporção entre o substrato e o inóculo do rúmen com a possível formação de um microambiente alterado dentro da bolsa (Zinn et al. 1981), Stern et al. (1983) citam uma possível superestimação do desaparecimento de N, associada com transbordamentos na remoção do conteúdo indigerido das bolsas que poderiam ser minimizados com a análise do substrato residual juntamente com a bolsa de fibra artificial pelo método do macro-Kjeldahl.

CONCLUSÕES

1. O método mostrou-se viável, apresentando um baixo coeficiente de variação dando conta da precisão e da repetibilidade das observações.

2. Para a implementação da técnica, deve-se padronizar, quantificar e controlar os fatores de variação, comparando-a cautelosamente com os resultados obtidos em outros trabalhos.

3. Futuras pesquisas são necessárias para, em experimentos *in vivo*, relacionar os resultados do desaparecimento do N obtido *in situ* e as estimativas das taxas de passagem dos alimentos no rúmen, além de associar a degradabilidade protéica com o desempenho animal.

REFERÊNCIAS

- AL-HAYDARI, S.; STALLOUP, O.T.; SPEARS, W. The influence of the stage of growth and species difference of forage on N solubility and degradability. *J. Anim. Sci.*, **53**(1):379, 1981. Supp.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, Washington, EUA. *Official Methods of Analysis*. 11. ed. Washington, DC, 1970. 1015p.
- BURROUGHS, W.; NELSON, D.K.; MERTENS, D.R. Evaluation of protein nutrition by metabolizable protein and urea fermentation potential. *J. Dairy Sci.*, **58**(4):611-9, 1975.
- CRAWFORD, R.J.; HOOVER, W.J.; SNIFFEN, C.J.; CROOKER, B.A. Degradation of feedstuff nitrogen in the rumen vs. nitrogen solubility in three solvents. *J. Anim. Sci.*, **46**(6):1768-75, 1978.
- FIRKINS, J.L.; BERGER, L.L.; FAHEY, G.C.; MERCHEN, N.R. Ruminant nitrogen degradability and escape of wet and dry distillers grains and wet and dry corn gluten feeds. *J. Dairy Sci.*, **67**(9):1936-44, 1984.
- GANEV, G.; ORSKOV, E.R.; SMART, R. The effect of roughage or concentrated feeding and rumen retention time on total degradation of protein in the rumen. *J. Agric. Sci.*, **93**(3):651-6, 1979.
- HARRIS, L.E. Métodos químicos e biológicos. In: _____. **Compilação de dados analíticos e biológicos para o preparo de tabelas de composição de alimentos para o uso nos trópicos da América Latina**. Gainesville, Universidade da Flórida, 1970. Seção 2, p.1401-5301.
- HARRIS, L.E.; LOFGREEN, G.P.; KERCHER, C.J.; RALEIGH, R.J.; BOHMAN, V.R. **Techniques of research in range livestock nutrition**. Utah, s. ed., 1967. 85p.
- LINDBERG, J.E. The effect of basal diet on the ruminal degradation of dry matter, nitrogenous compounds and cell walls in nylon bags. *Swed. J. Agric. Res.*, **11**:159-69, 1981.
- LOERCH, S.C.; BERGER, L.L.; GIANOLA, D.; FAHEY, G.C.J. Effects of dietary protein source and energy level on *in situ* nitrogen disappearance of various protein sources. *J. Anim. Sci.*, **56**(1):206-16, 1983a.
- LOERCH, S.C.; BERGER, L.L.; PLEGGE, S.D.; FAHEY, G.C.J. Digestibility and rumen escape of soybean meal, blood meal, meat and bone meal and dehydrated alfalfa nitrogen. *J. Anim. Sci.*, **57**(4):1037-47, 1983b.
- MEHREZ, A.Z. & ORSKOV, E.R. A study of the artificial fiber bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci.*, **88**(3):645-50, 1977.

- NOCEK, J.E. Evaluation of specific variables affecting *in situ* estimates of ruminal dry matter and protein digestion. **J. Anim. Sci.**, **60**(5):1347-58, 1985.
- NOCEK, J.E.; CUMMINGS, K.A.; POLAN, C.E. Ruminal disappearance of crude protein and dry matter in feeds and combined effects in formulated rations. **J. Dairy Sci.**, **62**(10):1587-98, 1979.
- ORSKOV, E.R.; HOVELL, F.D.D.; MOULD, F. Uso de la técnica de la bolsa nylon para la valuation de los alimentos. **Prod. Anim. Trop.**, **5**:213-33, 1980.
- POOS-FLOYD, M.; KLOPFENSTEIN, T.; BRITTON, R.A. Evaluation of laboratory techniques for predicting ruminal protein degradation. **J. Dairy Sci.**, **68**(4):829-39, 1985.
- QUINN, J.I.; VAN DER WATH, J.G.; MYBURGH, S. Studies on the alimentary tract of merino sheep in South Africa. IV. Description of experimental technique. **Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind.**, **11**(2):341-60, 1938.
- RAISER, A.G. & BÜRGER, P.J. Estudo comparativo entre duas técnicas, em um estágio, para adaptação de fístula ruminal em bovinos. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 9, Santa Maria, **Anais...** Santa Maria, Sociedade de Medicina Veterinária do Rio Grande do Sul, 1985. p.75-6.
- ROOKE, J.A.; NORTON, B.W.; ARMSTRONG, D.G. The digestion of untreated and formaldehyde-treated soya-bean meals and estimation of their rumen degradabilities by different methods. **J. Agric. Sci.**, **99**(2):441-52, 1982.
- STERN, M.D.; ORTEGA, M.E.; SATTER, L.D. Retention time in rumen and degradation of protein supplements fed to lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, **66**(6):1264-71, 1983.
- WEAKLEY, D.C.; STERN, M.D.; SATTER, L.D. Factors affecting disappearance of feedstuffs from bags suspended in the rumen. **J. Anim. Sci.**, **56**(2):493-507, 1983.
- ZINN, R.A.; BULL, L.S.; HEMKEN, R.W. Degradation of supplemental proteins in the rumen. **J. Anim. Sci.**, **53**(2):857-66, 1981.