

Metabolismo nitrogenado em bovinos suplementados a pasto durante a transição águas seca

Goes, R.H.T.B.¹; Gandra, J.R.¹; Marquez, A.F.¹; Oliveira, E.R. de¹; Fernandes, H.J.²; Cardoso, T.J. de L.¹; Brabes, K.C. da S.¹ e Yoshihara, M.M.¹

¹Universidade Federal da Grande Dourados. Faculdade de Ciências Agrárias. Dourados. Mato Grosso do Sul. Brasil.

²Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul. Departamento de Zootecnia. Aquidauana. Mato Grosso do Sul. Brasil.

RESUMO

PALAVRAS CHAVE ADICIONAIS

Metabolismo nitrogenado.
Sal proteinado.
Fermentação ruminal.
Proteína microbiana.

Objetivou-se com este estudo avaliar o consumo, a fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, balanço dos compostos nitrogenados e comportamento ingestivo de suplemento de novilhos mantidos a pasto, suplementados com níveis crescentes de proteína bruta. Foram utilizados 4 novilhos mestiços, com idade média de 24 meses, peso corporal médio de 400 kg, providos de cânula ruminal. Os animais foram mantidos em piquetes individuais, em delineamento quadrado latino 4x4. Os suplementos experimentais foram constituídos por diferentes níveis de proteína: T00= Suplemento mineral (controle); T20= Suplemento concentrado com 20% de PB; T40= Suplemento concentrado com 40% de PB; T60= Suplemento concentrado com 60% de PB. Não foi observado efeito sobre o consumo de matéria seca. Foi observado efeito sobre as concentrações de valerato, porém não foram observadas respostas lineares ou quadráticas. O tratamento T60 apresentou menor velocidade de ingestão de suplemento em relação aos demais. Os níveis de suplementação proteica não influenciaram o consumo de matéria seca, síntese de proteína microbiana e balanço de compostos nitrogenados, porém influenciaram as concentrações de ácidos graxos de cadeia ramificada e a velocidade de consumo de suplemento proteico.

Nitrogen metabolism in steers under grazing during the rainy/dry transition period

SUMMARY

ADDITIONAL KEYWORDS

Nitrogen metabolism.
Protein salt.
Ruminal fermentation.
Microbial protein.

The objective of this study was to evaluate the intake, ruminal fermentation, microbial protein synthesis, balance of nitrogen compounds and ingestive behavior of steers grazing supplemented with increasing levels of crude protein. Four crossbred steers were used, with an average age of 24 months, average body weight of 400 kg, fitted with rumen cannula. The animals were housed in individual paddocks in Latin square design 4x4. The experimental supplements were composed of different protein levels: T00= mineral supplement (control); T20= Supplement concentrate with 20% crude protein; T40= Supplement concentrate with 40% crude protein; T60= concentrated supplement with 60% CP. There was no effect on dry matter intake. There was effect on concentrations of valerate, but were not observed linear or quadratic. The T60 treatment showed lower supplement intake velocity than the other. Protein supplementation levels did not influence the dry matter intake, microbial protein synthesis and nitrogen balance, however they influenced the concentrations of short-chain fatty acids and intake rate of protein supplements.

INFORMACIÓN

Cronología del artículo.
Recibido/Received: 22.1.2015
Aceptado/Accepted: 10.8.2015
On-line: 16.9.2015
Correspondencia a los autores/Contact e-mail:
rafaelgoes@ufgd.edu.br

INTRODUÇÃO

A sazonalidade na produção das forrageiras tropicais, visando o crescimento contínuo de bovinos mantidos em pasto deve ser delimitada dentre as práticas de manejo que têm sido adotadas para minimizar as perdas ocorridas durante o período de escassez de forragem, o diferimento da pastagem destaca-se pela praticidade e baixo custo. Entretanto, pastagens diferidas geralmente apresentam boa oferta, mas baixo valor

nutritivo da forragem ofertada (Euclides *et al.*, 2007). Dessa maneira, para que se obtenha bom desempenho animal, a utilização de pastagens diferidas deve estar associada à suplementação alimentar o que irá permitir a manutenção da curva de crescimento dos bovinos (Silva *et al.*, 2009).

Uma estratégia de suplementação adequada seria aquela destinada a maximizar o consumo e a digestibilidade da forragem disponível. Sendo assim, a

condição básica para se promover a suplementação é que haja boa disponibilidade de massa forrageira na pastagem, mesmo sendo de baixa qualidade. O desafio é prever, com eficiência, o impacto que a suplementação causará no desempenho animal (Silva *et al.*, 2009). Para tanto, torna-se fundamental caracterizar a quantidade e a qualidade da forragem ofertada, bem como avaliar o consumo de forragem pelos animais. Portanto, a utilização de suplementos concentrados pode auxiliar no manejo das pastagens, otimizar o desempenho de animais a pasto e acelerar o sistema de produção de carne, encurtando a idade de abate e atendendo às exigências de mercado por carne de melhor qualidade (Poppi and McLennan, 1995).

O consumo está relacionado à redução de digestibilidade, ao pH ruminal e às respostas ao nível de suplemento oferecido. A presença de carboidratos não estruturais provoca queda no pH e redução no crescimento de bactérias celulolíticas, o que diminui o consumo e degradabilidade de suplementos em níveis elevados (Detmann *et al.*, 2005). Os níveis de amônia são alterados por captação pelos microrganismos e absorção pela parede do rúmen e omaso (Owens and Zinn, 1993). As concentrações de amônia no rúmen podem variar de acordo com a solubilidade da fonte de nitrogênio, alcançando valores máximos de 1 a 2 horas após alimentação (Detmann *et al.*, 2007). A concentração de amônia no rúmen pode ser criticamente baixa quando a dieta é muito pobre em proteína bruta (Goes *et al.*, 2010).

Depois da energia a proteína é o nutriente mais requerido pelos ruminantes, ocorrendo redução no consumo quando os níveis atingem menos de 7% de PB na MS (Lima *et al.*, 2012), por não atender as exigências mínimas dos microrganismos do rúmen. A deficiência de nitrogênio limita o crescimento microbiano, reduz a digestibilidade da parede celular, o consumo e o desempenho animal, e o excesso de proteína promove excreção de uréia via urina (Sales *et al.*, 2008).

O comportamento ingestivo dos ruminantes está diretamente ligado ao próprio animal, ao meio ambiente, às plantas, ao manejo adotado, e ao fornecimento ou não de suplementação. O comportamento ingestivo de suplementos protéicos não é bem discutido na literatura. O embasamento científico sobre o comportamento ingestivo, no entanto, pode melhorar o manejo dos animais. Sabendo-se que a produção de bovinos a pasto está diretamente relacionada ao tempo de pastejo da forragem, fica clara a necessidade do estudo desta característica.

Desta forma o objetivo deste estudo é avaliar a fermentação ruminal, balanço dos compostos nitrogenados e comportamento ingestivo de novilhos mantidos a pasto, suplementados com níveis crescentes de proteína bruta.

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS E DIETAS

O experimento foi conduzido no setor de Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), localizada nas coordenadas 22°11'43,49" de

Tabela I. Composição dos suplementos proteicos experimentais (Composition of experimental protein supplements).

Ingredientes(%)	Suplementos ¹			
	00	20	40	60
Fubá de milho	—	30,00	6,00	5,00
Farelo de arroz	—	14,90	20,00	5,00
Farelo de trigo	—	8,00	5,70	10,00
Farelo de soja	—	—	14,00	18,00
Casca de soja	—	18,00	17,50	20,00
Sal comum	—	13,00	14,80	15,00
Uréia pecuária	—	4,60	10,00	15,00
Carbonato de cálcio	—	—	1,00	1,00
Fosfato bicálcico	—	9,50	9,00	9,00
Flor de enxofre	—	1,00	1,00	1,00
Mistura mineral ²	100	1,00	1,00	1,00
Nutrientes (%)				
MS	99,87	88,98	87,56	86,76
MM	99,90	29,06	37,43	36,24
EE	—	3,88	3,80	2,02
FDN	—	21,25	21,90	19,21
FDA	—	12,78	13,85	12,28

¹Suplemento 00 (sal mineralizado); Suplemento 20 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 40 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 60 (suplemento proteico com 60% de PB). ²Níveis de garantia (kg/produto): Cálcio: 120,00 g; Fósforo: 88,00 g; Iodo: 75,00 mg; Manganês: 1300,00 mg; Sódio: 126,00 g; Selênio: 15,00 mg; Enxofre: 12,00 mg; Zinco: 3630,00 mg; Cobalto: 55,50 mg; Cobre: 1530,00 mg e Ferro: 1800,00 mg.

latitude sul e 54°55'77" de longitude oeste, entre os meses de março a maio de 2010.

Foram utilizados quatro novilhos mestiços, castrados, com idade média de 24 meses, peso corporal médio de 400 kg, providos de cânula ruminal. Os animais foram mantidos em piquetes individuais, em delineamento quadrado latino 4x4 e rotacionados a cada 14 dias a fim de se reduzir o efeito da forragem. O período experimental total de 84 dias, sendo cada período experimental de 21 dias.

Os piquetes eram formados pela forrageira *Brachiária brizantha* 'Marandu', com área de 0,3 ha, divididos por cerca elétrica de dois fios, com bebedouro e cocho. O curral para manejo dos animais se localizava próximo dos piquetes, e os animais eram conduzidos através de corredores. O consumo de suplemento foi controlado e ajustado de acordo com a quantidade consumida a cada três dias. Os tratamentos foram constituídos por diferentes níveis de proteína: T00= Suplemento mineral (controle); T20= Suplemento concentrado com 20% de PB; T40= Suplemento concentrado com 40% de PB; T60= Suplemento concentrado com 60% de PB (**tabela I**).

DISPONIBILIDADE DE FORRAGEM

No primeiro dia de cada período experimental, foi determinada a disponibilidade total de forragem, através do corte rente ao solo de 10 áreas delimitadas por quadrados metálicos (0,25 m²) aleatoriamente dentro

de cada piquete, conforme descrito por McMeniman (1997). Posteriormente, as amostras foram uniformizadas por piquete onde se retiraram duas amostras, uma para a determinação da composição bromatológica.

A coleta da forrageira ingerida pelos animais (extrusa) ocorreu no 14º dia experimental de cada período, através do esvaziamento ruminal (McMenimann, 1997). Anteriormente a coleta os animais foram submetidos a jejum por 12 horas, para se garantir o consumo total da forragem e evitar contaminação do material já presente no rúmen (McMenimann, 1997). A coleta de extrusa foi realizada às 08 h 00 min; o rúmen foi esvaziado e seco com panos de algodão e limpo. Após o esvaziamento ruminal os animais foram recolocados em seus respectivos piquetes e pastejaram por aproximadamente 30 minutos, e recolhidos ao curral onde foi retirado o material ingerido presente no rúmen. Coletou-se em média de 400 g de extrusa, que foi armazenada em sacos plásticos, identificada, e transportada dentro de uma caixa de isopor.

ANÁLISES BROMATOLÓGICAS

As amostras de forragem e de suplemento foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), Cinzas (CZ), conforme técnicas descritas por AOAC (2002) e fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA), lignina (LIG), foram realizadas de acordo com (Van Soest *et al.*, 1991) A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), foi determinada de acordo com metodologia descrita por Tilley and Terry (1963), com uso do incubador *in vitro*, da Tecnal® (TE-150), com modificação do material do saquinho utilizado (confeccionado com TNT - 100 g/m²), conforme sugerido por Casali *et al.* (2008). Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) da pastagem foram estimados segundo equação propostas por (Cappelle *et al.*, 2001). O teor de NDT da forragem foi calculado baseado no teor de FDA, conforme equação:

$$\%NDT = 74,49 - 0,5635 * FDA (R^2 = 0,82).$$

CONSUMO DE MATÉRIA SECA

As sobras dos suplementos foram pesadas diariamente, ajustando o fornecimento para um consumo ad libitum, sendo calculada a média de consumo a cada três dias e fornecendo o suplemento de acordo com a média calculada.

O óxido de cromo foi inserido diretamente por cânula ruminal do 9º ao 19º dia de cada período experimental na dose de 10g/dia 1 vez ao dia. O óxido de cromo foi pesado em balança analítica e colocado em um envelope de papel de celulose, totalmente degradável.

As amostras fecais foram coletadas diretamente na ampola retal dos animais, nos tempos 0, 4, 8, 12, 16, 22, 28, 34, 40, 52, 64, 76 e 100 horas após o fornecimento do indicador, segundo recomendações de Detmann *et al.* (2001). As análises do teor de cromo nas fezes foram realizadas por espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite, conforme metodologia descrita por (Williams *et al.*, 1962).

Para a determinação da produção de matéria seca fecal foi utilizada a fórmula: g MS fecal excretada por

dia = $(100 \times Cr_2O_3 \text{ fornecido}) / (\% \text{ de } Cr_2O_3 \text{ na MS fecal})$. A FDA indigestível foi utilizada para a estimativa de consumo de forragem, determinada segundo Detmann *et al.* (2001) com base na degradabilidade *in situ*, por 144 horas.

O consumo de matéria seca foi determinado empregando-se a equação:

$$CMS = \{[(EF \times CIFZ) - IS] / CIFO\} + CMSS;$$

Onde:

CMS= consumo de matéria seca (kg/dia);

EF= excreção fecal (kg/dia);

CIFZ= concentração do indicador presente nas fezes (kg/kg);

IS= indicador presente no suplemento (kg/dia);

CIFO= concentração do indicador presente na forragem (kg/kg),

CMSS= consumo de matéria seca do suplemento (kg/dia).

PARÂMETROS RUMINAIS

No 21º dia experimental foram coletadas amostras de líquido ruminal, as 08 h 00 min (0h). As coletas de líquido ruminal, para a determinação de pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foram realizadas na interface líquido/sólido do ambiente ruminal, filtradas por uma camada tripla de gaze, antes do fornecimento do concentrado (0h) e 2, 4, 6 e 8 horas após o fornecimento. A determinação do pH foi realizada em 40 ml de líquido ruminal de cada animal em cada tempo, imediatamente após a coleta e aferido com peagâmetro digital. Para a determinação do nitrogênio amoniacal foi utilizado metodologia de acordo com (Campos *et al.*, 2004). Para determinação dos AGCC foi utilizado metodologia de acordo com (Erwin *et al.*, 1961).

SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA E BALANÇO DE COMPOSTOS NITROGENADOS

A coleta de urina foi realizada no 20º dia, na forma *spot*, quatro horas após o fornecimento do suplemento via massagem prepucial ou por micção espontânea dos animais, destinada à determinação da concentração de creatinina urinária, uréia, ácido úrico e alantoína, segundo (Valadares *et al.*, 1999).

As análises de alantoína foram realizadas pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara *et al.* (1987), descrita por Chen and Gomes (1992). A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por meio da equação:

$$DP = 0,85 * Pabs + 0,385 * PV^{0,75},$$

em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e 0,385 PV^{0,75}, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic *et al.*, 1990).

As excreções diárias de N-uréia e N-creatinina foram obtidas por meio do produto das concentrações de uréia e creatinina pelo volume urinário de 24 horas, multiplicado por 0,466 ou 0,3715; correspondente aos teores de N na uréia e creatinina, respectivamente (Rennó *et al.*, 2000).

O volume urinário foi calculado da seguinte maneira:

$$VU \text{ (l/dia)} = (27,36 \times PV) / [\text{creatinina}],$$

Onde 27,36 representam o valor da excreção diária média de creatinina, em ppm PV, obtido por Rennó *et al.* (2000) em novilhos cruzados e zebuínos, PV é o peso vivo do animal e [creatinina] é a concentração de creatinina, em mg/L, encontrada na amostra de urina *spot* dos animais.

No dia 9, 10, 11, 12 e 13 de cada período experimental, as 07 h 00 min, foram realizadas coletas de sangue, totalizando cinco amostragens, para posterior análise dos níveis de uréia plasmática. Para o cálculo do balanço de nitrogênio foi analisado o conteúdo de nitrogênio da urina, fezes e alimentos através do método de Kjeldahl de acordo com (AOAC, 2002), sendo este calculado a partir da diferença entre o consumo de nitrogênio (g/dia) e a excreção de nitrogênio (g/dia) nas fezes e na urina.

COMPORTAMENTO INGESTIVO DE SUPLEMENTO

O comportamento ingestivo dos suplementos concentrados foi determinado no 15º dia por meio do peso das sobras de suplemento nos cochos aos 20, 40, 60, 90, 120, 180, 300, 420, 540 e 1440 minutos após o fornecimento do concentrado (Brody, 1945).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC, 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + D_k + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = variável dependente,

μ = média geral,

A_i = efeito de animal ($j = 1$ a 4),

P_j = efeito do período ($y = 1$ a 4),

D_k = efeito da dieta ($k = 1$ to 4), e

e_{ijk} = erro.

Para os dados obtidos pela fermentação ruminal foram analisados pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + D_k + T_y + T_y(D_k) e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = variável dependente,

μ = média geral,

A_i = efeito de animal ($j = 1$ a 4),

P_j = efeito do período ($y = 1$ a 4),

D_k = efeito do tratamento ($k = 1$ to 4),

T_y = efeito do tempo (1 a 5),

$T_y(D_k)$ = interação entre dieta e tempo e

e_{ijk} = erro.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009), adotando-se nível de significância de 5%. Para o comportamento ingestivo o consumo de suplemento concentrado para cada tratamento, ajustou-se um modelo proposto por Brody do tipo:

$$Y = a * (1 - e^{(-k * X)})$$

Onde a e k são os parâmetros do modelo, e é o algarismo neperiano, e Y e x as variáveis.

Este modelo foi ajustado de forma que descrevesse o padrão de consumo do suplemento concentrado (Y) em função do tempo (X), durante 24 horas, referente aquele tratamento. Os padrões de ingestão dos tratamentos foram comparados através do intervalo de 95% de confiança dos parâmetros estimados do modelo Brody (Kaps and Lamberson, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

DISPONIBILIDADE DE FORRAGEM

A quantidade total de matéria verde (MV) disponível observada durante o experimento foi de 6.813,50 kg/ha e 2.781,40 kg MS/ha. De acordo com Silva *et al.* (2009), a produção adequada de forragem está entre 4.500 kg MV/ha e 1.200 kg MS/ha para que haja seletividade do animal. Ferreira *et al.* (2012) mensuraram a disponibilidade da *Brachiária brizantha* 'Marandu' em búfalos sob pastejo, observando uma média anual de 6.250 kg de MV/ha e 2.360 kg de MS/ha, resultados semelhantes ao presente estudo. A composição bromatológica da pastagem neste período foi de: MS 33,04%; PB 5,04%; FDN 70,94%; FDA 36,01%; LIG 5,90%; NDT 50,56%; DIVMS 62,02% resultados semelhantes observados por (Ferreira *et al.*, 2012).

COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DA EXTRUSA

Em relação à composição das extrusas em função dos suplementos experimentais não foi observado ($p > 0,05$) efeito da suplementação proteica e resposta linear ou quadrática (**tabela II**). A extrusa obtida através do esvaziamento total do rúmen permite obter amostras semelhantes à extrusa esofágica, desta forma a simulação do pastejo, mais representativa de acordo com a seletividade dos bovinos em pastejo. Lima *et al.* (2012) avaliaram a extrusa de bovinos pastejando *Brachiária brizantha* 'Marandu', e observaram resultados semelhantes a média apresentada neste estudo.

O valor médio observado, em termos de PB para a extrusa, foi de 9,77% (**tabela II**) que foi superior aos limites de 6,0 e 8,0% considerado como nível crítico,

Tabela II. Composição bromatológica das extrusas de acordo com os suplementos proteicos experimentais (Bromatological composition of extrusa according to the experimental protein supplements).

Item	¹ Suplementos				CV (%)	² Valor de p		
	00	20	40	60		Suplemento	Linear	Quadrático
MS	15,75	14,80	14,22	13,78	5,82	0,340	0,413	0,430
PB	9,81	8,65	9,78	10,87	9,27	0,334	0,514	0,741
FDN	75,30	70,40	74,82	72,32	3,12	0,769	0,513	0,614
FDA	37,89	27,89	33,00	35,08	12,62	0,876	0,896	0,541
LIG	6,21	5,52	6,36	5,26	9,10	0,564	0,139	0,651
NDT	53,95	54,68	56,22	52,55	2,81	0,874	0,543	0,543
DIVMS	67,25	70,28	67,95	66,40	2,45	0,132	0,412	0,578
CZ	10,43	10,36	9,67	10,06	3,42	0,513	0,651	0,423
NDT:PB	5,49	6,32	5,75	4,83	11,04	0,549	0,513	0,520

¹Suplemento 00 (sal mineralizado); Suplemento 20 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 40 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 60 (suplemento proteico com 60% de PB). ²Probabilidade de efeito de dieta, linear e quadrático.

Tabela III. Consumo de matéria seca total, forragem e suplemento de acordo com os suplementos proteicos experimentais (Total dry matter, forage and supplement intake according to the experimental protein supplements).

Item	¹ Suplementos				CV (%)	² Valor de p		
	00	20	40	60		Suplemento	Linear	Quadrático
Consumo MS (kg/dia)								
Forragem	5,31	3,76	4,63	4,59	19,56	0,123	0,675	0,342
Suplemento	0,126	0,765	0,759	0,615	10,67	0,645	0,453	0,234
Total	5,43	4,52	5,38	5,20	9,78	0,657	0,432	0,554

¹Suplemento 00 (sal mineralizado); Suplemento 20 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 40 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 60 (suplemento proteico com 60% de PB). ²Probabilidade de efeito de dieta, linear e quadrático.

abaixo do qual comprometeria o funcionamento do ambiente ruminal (Poppi and McLennan, 1995).

CONSUMO DE MATÉRIA SECA

Em relação ao consumo de matéria seca não foi observado efeito ($p > 0,05$) da suplementação proteica para o consumo de suplemento, e também não foi observado ($p > 0,05$) resposta linear ou quadrática (**tabela III**). Não foi observado efeito para o consumo de forragem e consumo de matéria seca total. A ausência de alteração sobre o consumo total e de forragem com a modificação dos níveis protéicos dos suplementos não corresponde a relatos sob condições de forragem de baixa qualidade, onde se observam médias elevações no consumo de forragem em função de maiores níveis de PB Detmann *et al.* (2005), este dado confirma que a disponibilidade de forragem foi adequada para bovinos em pastejo no período experimental.

PARÂMETROS RUMINAIS

Os valores de pH ruminal foram influenciados ($p < 0,05$) pelas dietas experimentais, onde ocorreu uma redução significativa, porém não foi observado resposta linear ou quadrática ($p > 0,05$) (**tabela IV**). De acordo Detmann *et al.* (2007), o limite mínimo para que ocorra uma inibição da digestão da fibra, do crescimento microbiano e da fermentação ruminal seria de 6,5. Todos os valores de pH encontrados estão acima deste limite. Valores inferiores a estes acarretam redução significativa do processo de degradação do alimento e valores

inferiores a 6,0 praticamente não ocorre degradação da fibra (Sales *et al.*, 2008).

Em relação ao N-amoniaco foi observado efeito da suplementação proteica ($p < 0,05$), no entanto não foi observado resposta linear ou quadrática ($p > 0,05$). A suplementação mineral apresentou o menor valor entre os suplementos avaliados. Os valores obtidos após suplementação podem ser decorrentes da solubilidade dos suplementos utilizados, principalmente pela utilização da uréia, na composição dos suplementos utilizados.

De acordo com Oliveira *et al.* (2009), as concentrações de N-NH₃ no rúmen estão associadas à velocidade de introdução e liberação das fontes nitrogenadas no rúmen, bem como à sua assimilação em proteínas microbianas, o que é resultado da sincronia de demais nutrientes que compõem as estruturas celulares dos microrganismos.

Em relação às concentrações de AGCC foi observado efeito ($p < 0,05$) da suplementação, para as concentrações de ácido valérico e o total de AGCC. Ainda foi observado resposta linear decrescente ($p < 0,05$) para as concentrações de valerato (**tabela IV**). A produção dos ácidos valérico e os isoácidos (isobutírico e isovalérico) é oriunda da fermentação de proteína (Detmann *et al.*, 2001). Concentrações ruminiais de isovalérico e isobutírico são indicativas de fermentação de aminoácidos, que em altas concentrações, acumulam AGCC principal fator de redução do pH (Oliveira *et al.*, 2009). Este

Tabela IV. Medidas de pH, concentrações de N-NH₃, ácidos graxos de cadeia curta de acordo com os suplementos proteicos experimentais (Measures of pH, concentrations of N-NH₃ and short-chain fatty acids according to the experimental protein supplements).

Item	¹ Suplementos				CV (%)	² Valor de p		
	00	20	40	60		Suplemento	Linear	Quadrático
pH	6,92	6,72	6,67	6,62	2,05	0,020	0,346	0,867
mg/dL								
N-NH ₃	8,42	20,64	25,42	19,21	47,21	0,037	0,832	0,341
mmol/L								
Acetato	81,09	84,91	96,45	81,04	20,96	0,562	0,771	0,267
Propionato	17,05	17,28	19,25	16,38	20,68	0,786	0,737	0,316
Isobutirato	4,02	4,30	4,24	3,77	11,89	0,774	0,173	0,511
Butirato	9,92	10,45	11,53	9,63	21,37	0,648	0,623	0,314
Isovalerato	1,46	1,32	1,51	1,19	17,87	0,450	0,560	0,179
Valerato	2,20	2,18	2,25	1,66	12,70	0,030	0,031	0,084
AGCC total	115,76	120,45	135,27	113,46	19,98	0,020	0,697	0,263
C2/C3	4,75	4,92	5,01	4,99	4,34	0,130	0,637	0,728

¹Suplemento 00 (sal mineralizado); Suplemento 20 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 40 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 60 (suplemento proteico com 60% de PB). ²Probabilidade de efeito de dieta, linear e quadrático.

Tabela V. Excreção de derivados de purinas e síntese de proteína microbiana de acordo com os suplementos proteicos experimentais (Excretion of purine derivatives and microbial protein synthesis according to the experimental protein supplements).

Item	¹ Suplementos				CV (%)	² Valor de p		
	00	20	40	60		Suplemento	Linear	Quadrático
mmol/dia								
Alantoína	221,52	191,46	188,41	283,99	35,95	0,124	0,554	0,127
Acido úrico	11,36	12,16	11,82	10,10	27,10	0,284	0,564	0,543
Purinas abs.	230,16	193,93	190,04	222,46	41,43	0,453	0,456	0,232
Derivados	221,52	199,77	195,97	294,53	35,22	0,768	0,786	0,865
g/dia								
N microbiano	167,33	140,99	138,16	222,46	41,43	0,789	0,453	0,345
PB microbiano	1045	881	864	1390	41,43	0,789	0,453	0,345
gPBmic/kgNDT								
Eficiência	220,07	186,45	176,14	291,33	43,55	0,554	0,209	0,672

¹Suplemento 00 (sal mineralizado); Suplemento 20 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 40 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 60 (suplemento proteico com 60% de PB). ²Probabilidade de efeito de dieta, linear e quadrático.

fato evidencia a ocorrência de alta taxa de desaminação de aminoácidos no rúmen, em que se verifica alta correlação entre os ácidos graxos de cadeia ramificada e o nível de amônia ruminal.

SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA

Não foi obtido efeito ($p > 0,05$) da suplementação proteica sobre a síntese de proteína microbiana e não foi observado ($p > 0,05$) resposta linear ou quadrática em relação às dietas experimentais (tabela V). A quantificação da síntese de proteína microbiana em bovinos pelo método da excreção urinária de derivados de purina indica que o fluxo duodenal de ácidos nucleicos é essencialmente de origem microbiana e, após a digestão intestinal dos nucleotídeos de purinas, as bases adenina e guanina são catabolizadas e excretadas

proporcionalmente na urina como derivados de purinas, principalmente alantoína, e também ácido úrico (Valadares *et al.*, 1999).

A proteína microbiana pode contribuir com 50,0 a 100,0% das exigências de proteína metabolizável requerida por bovinos de corte (Goes *et al.*, 2010). Detmann *et al.* (2005) ressaltaram que fermentações extensas de carboidratos podem ocorrer, mas resultam em baixo crescimento microbiano caso os compostos nitrogenados sejam fornecidos de forma inadequada. Em situações de elevada participação do nitrogênio não-protéico sobre a proteína bruta da dieta basal, com limitação da fração protéica degradada no rúmen de natureza orgânica (aminoácidos e peptídeos), o desempenho animal pode ser comprometido (Detmann *et al.*, 2007).

Tabela VI. Depuração de ureia e creatinina de acordo com os suplementos proteicos experimentais (Urea and creatinine clearance according to the experimental protein supplements).

Item	¹ Suplementos				CV (%)	² Valor de p		
	00	20	40	60		Suplemento	Linear	Quadrático
Urina (L) mg/dL	13,63	12,10	11,44	12,09	26,82	0,567	0,674	0,439
Creatinina plasma	18,28	16,88	19,08	19,11	7,39	0,764	0,365	0,456
Uréia plasma	14,99	17,32	20,67	20,39	13,29	0,145	0,349	0,235
Creatinina urina	34,77	55,45	41,08	91,88	52,60	0,764	0,365	0,456
Uréia urina	17,57	28,40	37,74	42,00	30,25	0,238	0,678	0,675
Excreção (mg/kgPV)								
Uréia	580,30	637,51	839,23	1107,99	15,92	0,123	0,674	0,675
Creatinina	31,27	25,52	22,81	72,86	43,29	0,675	0,453	0,672
Uréia-N	270,42	297,66	390,01	516,32	15,92	0,236	0,678	0,345
Creatinina-N	10,81	13,66	8,92	25,01	43,92	0,563	0,673	0,673

¹Suplemento 00 (sal mineralizado); Suplemento 20 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 40 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 60 (suplemento proteico com 60% de PB). ²Probabilidade de efeito de dieta, linear e quadrático.

Tabela VII. Consumo, excreção e balanço de nitrogênio de acordo com os suplementos proteicos experimentais (Intake, excretion and balance of nitrogen according to the experimental protein supplements).

Item	¹ Suplementos				CV (%)	² Valor de p		
	00	20	40	60		Suplemento	Linear	Quadrático
Consumo (g/dia)								
Nitrogênio	84,65	70,59	124,83	137,08	66,59	0,547	0,234	0,839
Excreção de nitrogênio (g/dia)								
Fezes	19,09	21,65	26,52	32,14	55,83	0,364	0,657	0,645
Urina	22,89	14,99	15,35	19,65	53,66	0,786	0,876	0,378
Balanço de nitrogênio (g/dia)								
Retido	42,67	37,03	82,97	85,29	98,67	0,765	0,219	0,258
Absorvido	65,56	52,02	98,31	104,94	67,56	0,275	0,493	0,693

¹Suplemento 00 (sal mineralizado); Suplemento 20 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 40 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 60 (suplemento proteico com 60% de PB). ²Probabilidade de efeito de dieta, linear e quadrático.

BALANÇO DE COMPOSTOS NITROGENADOS

Não foi obtido efeito ($p>0,05$) da suplementação proteica sobre o balanço de compostos nitrogenados e não foi observada ($p>0,05$) resposta linear ou quadrática em relação às dietas experimentais (**tabela VI**).

A uréia plasmática é eliminada pelos rins, por filtração glomerular e reabsorção tubular por processo passivo, secundário à reabsorção de fluidos (Owens and Zinn, 1993). Assim, a quantidade de uréia excretada é influenciada por estas funções, além de ser, alterada principalmente por sua concentração plasmática, sob várias condições dietéticas. A excreção urinária de creatinina é mensurada a partir da coleta total de urina e parece não ser afetada pela dieta. Rennó *et al.* (2000) concluíram que a excreção diária de creatinina não foi influenciada pela inclusão de concentrado na dieta, apresentando média de 27,36 mg/kg PV, para bovinos de corte. Orskov and Macleod (1982) observaram relativa constância nas excreções basais de compostos

nitrogenados e de creatinina e constataram que, além de a excreção de creatinina ser constante, é também proporcional ao peso corporal e pouco afetada pelo teor de compostos nitrogenados da dieta.

BALANÇO DE NITROGÊNIO

Não foi obtido efeito ($p>0,05$) da suplementação proteica sobre o balanço de nitrogênio e não foi observada ($p>0,05$) resposta linear ou quadrática em relação às dietas experimentais (**tabela VII**).

Mesmo sem efeito estatístico houve, aumento linear no nitrogênio retido e absorvido principalmente para os suplementos 40 e 60. O balanço de nitrogênio (BN) positivo em todos os níveis de suplementos das tratamentos experimentais, indicando adequado balanceamento de proteína e energia nas dietas e ausência de mobilização de reservas corporais, mesmo quando a ração continha maior proporção de volumoso.

Tabela VIII. Comportamento ingestivo de suplemento proteico de acordo com os suplementos proteicos experimentais (Feeding behavior of proteic supplement according to the experimental protein supplements).

Suplemento	Estimativa	Intervalo assintótico de 95% de confiança da estimativa		Erro padrão assintótico
		Limite inferior	Limite superior	
Parâmetro <i>a</i>				
20	1.105	939,4	1.272	82,3
40	821,0	638,4	1.004	90,4
60	858,4	579,6	1.137	138
Parâmetro <i>k</i>				
20	0,0051	0,0032	0,0070	0,0010
40	0,0059	0,0024	0,0095	0,0018
60	0,0045	0,0009	0,0081	0,0018

Suplemento 20 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 40 (suplemento proteico com 20% de PB); Suplemento 60 (suplemento proteico com 60% de PB). Parâmetro *a*= intervalos de consumo; Parâmetro *k*= velocidade de ingestão.

COMPORTAMENTO INGESTIVO DE SUPLEMENTO

A avaliação do comportamento ingestivo mostrou não haver diferença entre o consumo dos suplementos ocorrendo sobreposição (**tabela VII**). Durante o experimento, o consumo diário dos suplementos variou de 579 a 1.272 g/dia. O parâmetro *a* representa a estimativa de consumo dia a dia dos diferentes suplementos com confiabilidade de 95% de certeza.

Apresentando os suplementos 40 e 60 similaridades nos valores com representatividade nas linhas próximas nos valores assintóticos. Porém o limite superior do suplemento 60 no parâmetro *a* obteve valor semelhante ao tratamento de maior ingestão, contrariando dados relatados por Paulino *et al.* (1983), citando que aumento do teor de uréia diminuiu o consumo (kg MS/animal/dia). Estando os valores dos limites inferiores do parâmetro *a* condizente a tal afirmação. Os valores estimados pelo modelo aqui observado estão de acordo com o consumo de suplemento in vivo apresentado na (**tabela III**). Por outro lado, os altos valores de erro padrão assintótico para esta estimativa evidenciaram a variabilidade de consumo observada.

Os intervalos de confiança estimados para o parâmetro velocidade de ingestão (parâmetro *k*) não foram alterados, indicando a não existência de diferenças para a velocidade de ingestão de suplemento. No entanto tendo interação inversa da velocidade e consumo para tratamento de menor valor de consumo apresentando velocidade de ingestão intermediária o suplemento 20.

O consumo de suplemento 60 apresentou a menor estimativa de velocidade relativa a tal observação. Vários fatores podem ter influenciado este parâmetro como o pH ruminal, a quantidade total de concentrado ingerido e a porcentagem de uréia.

CONCLUSÃO

Os níveis de suplementação proteica não influenciaram o consumo de matéria seca, síntese de proteína microbiana e balanço de compostos nitrogenados, porém influenciaram as concentrações de ácidos graxos de cadeia ramificada e a velocidade de consumo de suplemento proteico.

AGRADECIMENTOS

FUNDECT – MS e Cnpq.

BIBLIOGRAFIA

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC Int. Gaithersburg, MD.
- Brody, S. 1945. Bioenergetics and growth. Reinhold Publishing. New York. 1023 pp.
- Campos, F.P.; Nussio, C.M.B. e Nussio, L.G. 2004. Métodos de análise de alimentos. FEALQ. 135 pp.
- Capelle, E.R.; Valadares Filho, S.C. e Silva, J.F.C. 2001. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. *Rev Bras Zootec*, 30: 1837-1856.
- Casali, A.O.; Detmann, E. e Valadares Filho, S.C. 2008. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. *Rev Bras Zootec*, 37: 335-342.
- Chen, X.B. e Gomes, M.J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. Rowett Research Institute. Bucksburn. 21 pp.
- Detmann, E.; Cecon, P.R.; Paulino, M.P.; Valadares Filho, S.C.; Henriques, L.T. e Detmann, K.S.C. 2007. Variáveis ruminais avaliadas por meio de funções matemáticas contínuas. *Pesq Agropec Bras*, 42: 456-467.
- Detmann, E.; Paulino, M.F. e Cecon, P.R. 2005. Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de transição seca/águas: Consumo voluntário e trânsito de partículas. *Rev Bras Zootec*, 34: 1371-1379.
- Detmann, E.; Paulino, M.F.; Zervoudakis, J.T.; Valadares Filho, S.C.; Euclydes, R.F.; Lana, R.P. e Queiroz, D.S. 2001. Cromo e indicadores internos na estimativa do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. *Rev Bras Zootec*, 30: 1600-1609.
- Erwin, E.S.; Marco, G.J. e Emery, E.M. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J Dairy Sci*, 44: 1768-1777.
- Euclides, V.P.B.; Macedo, M.C.M.; Zimmer, A.H.; Medeiros, R.N. e Oliveira, M.P. 2007. Características do pasto de capim-tanzânia adubado com nitrogênio no final do verão. *Pesq Agropec Bras*, 42: 1189-1198.
- Ferreira, G.D.G.; Viana, R.B.; Cardoso, E.C.; Araújo, C.V.; Melo, W.O.; Monteiro, B.M. e Souza, D.C. 2012. Disponibilidade quali-quantitativa da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastejada por búfalos no Pará. *Rev Acad Ciênc Agrár Ambient*, 10: 45-50.
- Fujihara, T.; Orskov, E.R.; Reeds, P.J. e Kyle, D.J. 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *J Agricul Sci*, 10: 7-12.
- Goes, R.H.T.B.; Mancio, A.B.; Lana, R.P.; Cecon, P.R.; Alves, D.D.; Freitas, T.B. e Brabes, K.C.S. 2010. Suplementação proteica e energética para novilhos em recria, durante o período da seca. *Rev Bras Saúde Prod Anim*, 11: 1081-1094.
- Kaps, M. e Lamberson, W.R. 2004. Biostatistics for animal science. Cambridge. CABI Publishing. USA. 445 pp.
- Lima, H.L.; Goes, R.H.T.B.; Cerilo, S.L.M.; Oliveira, E.R.; Brabes, K.C.S. e Teodoro, A.L. 2012. Nutritional value of Marandu grass, under grazing by three sampling methods. *Acta Sci Anim Sci*, 34: 379-384.
- Lima, J.B.M.P.; Rodríguez, N.M.; Martha Júnior, G.B.; Guimarães Júnior, R.; Vilela, L.; Graça, D.S. e Saliba, E.O.S. 2012. Suplementação de

- novilhos Nelore sob pastejo, no período de transição águas-seca. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 64: 943-952.
- McMeniman, N.P. 1997. Methods of estimating intake of grazing animals. In: Simpósio Sobre Tópicos Especiais em Zootecnia, 34, 1997. Anais... SBZ. Juiz de Fora. pp. 131-168.
- Oliveira, L.O.F.; Saliba, E.O.S.S.; Borges, I.; Gonçalves, L.C.; Fialho, M.P.F. e Miranda, P.A.B. 2009. Parâmetros ruminais síntese de proteína metabolizável em bovinos de corte sob suplementação com proteínados contendo diversos níveis de proteína bruta. *Rev Bras Zootecn*, 38: 2506-2515.
- Ørskov, E.R. e Macleod, N.A. 1982. The determination of the minimal nitrogen excretion in steers and dairy cows and physiological and practical implications. *Brit J Nut*, 47: 625-636.
- Owens, F.N. e Zinn, R. 1993. Protein metabolism of ruminant animals. In: Church D.C. (Ed). *The ruminant animal: Digestive physiology and nutrition*. Waveland Press, Inc. Englewood Cliffs, NJ. pp. 227-249.
- Paulino, M.F.; Silva, H.M. e Ruas, J.R.M. 1983. Efeitos de diferentes níveis de uréia sobre o desenvolvimento de novilhas zebu. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 35: 231-245.
- Poppi, D.P. e McLennan, S.R. 1995. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. *J Anim Sci*, 73: 278-290.
- Rennó, L.N.; Valadares, R.F. e Valadares Filho, S.C. 2000. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. *Rev Bras Zootecn*, 29: 1235-1243.
- Sales, M.F.L.; Paulino, M.F. e Valadares Filho, S.C. 2008. Níveis de ureia em suplementos múltiplos para terminação de novilhos em pastagem de capim-braquiária durante o período de transição águas-seca. *Rev Bras Zootecn*, 37: 1704-1712.
- Silva, F.F.; Sá, J.F.; Schio, A.R.; Itavo, L.C.V.; Silva, R.R. e Mateus, R.G. 2009. Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho. *Rev Bras Zootecn*, 38: 371-389.
- Valadares, R.F.D.; Broderick, G.A. e Valadares Filho, S.C. 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *J Dairy Sci*, 82: 2686-2696.
- Van Soest, P.J.; Robertson, J.B. e Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*, 74: 3583-3597.
- Verbic, J.; Chen, X.B.; Macleod, N.A. e Ørskov, E.R. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. *J Agricul Sci*, 114: 243-248.

