

DOUGLAS DOS SANTOS PINA

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA CANA-DE-AÇÚCAR ACRESCIDA DE
ÓXIDO DE CÁLCIO EM DIFERENTES TEMPOS DE ARMAZENAMENTO
PARA BOVINOS**

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para
obtenção do Título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

DOUGLAS DOS SANTOS PINA

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA CANA-DE-AÇÚCAR ACRESCIDA DE ÓXIDO
DE CÁLCIO EM DIFERENTES TEMPOS DE ARMAZENAMENTO PARA
BOVINOS

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para
obtenção do Título de *Doctor Scientiae*.

Aprovada: 7 de outubro de 2008.

Prof.^a Rilene Ferreira Diniz Valadares
(Co-orientador)

Prof. Edenio Detmann
(Co-orientador)

Prof. Mario Luiz Chizzotti

D.Sc. Lara Toledo Henriques

Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Aos meus país e avós, pelo carinho, apoio, compreensão e insistência.

Aos meus irmãos Pablo e Aiala dos Santos Pina, pela amizade e pelo apoio nos momentos mais difíceis.

A Hyana pela amizade, compreensão, paciência e carinho durante a maior parte do curso de doutorado.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida,... e por tudo.

Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa e ao CNPq.

Ao professores Sebastião de Campos Valadares Filho e Rilene Ferreira Diniz Valadares, pela orientação, pelos ensinamentos desde o meu período de graduação.

Ao professor Luis Orlindo Tedeschi, pelos conselhos e pelo aprendizado durante o período do Doutorado Sanduíche na Texas A&M University.

Ao professor Edenio Detmann, pelas sugestões, pela amizade e boa vontade em participar deste trabalho.

À professora Maria Ignez Leão, pela contribuição e pela amizade.

Ao professor Mário Luiz Chizzotti e a D.Sc. Lara Toledo Henriques pelas sugestões, pela amizade e boa vontade em contribuir e participar deste trabalho.

Aos amigos Analívia, Mozart, José Augusto e família (Karina, Arthur e Juliana) pelo apoio, incentivo, convivência e pela amizade durante o período do doutorado.

Aos professores Pedro Veiga e Odilon pela amizade.

A secretária da Pós-Graduação Celeste, pela paciência em nós atender, pela dedicação e competência com a qual exerce sua função.

Aos bolsistas de Iniciação Científica e a todos os estagiários pela ajuda durante a fase de coleta de dados, manejo dos animais e análises químicas do material coletado.

Aos Funcionários (Marcelo Cardoso, José Geraldo e Natanael “Justino”) do laboratório de nutrição de ruminantes (DZO-UFV) pelo auxílio na condução deste trabalho.

Ao pessoal do laboratório de nutrição de ruminantes da Texas A&M University André, Flávio, Carolina, Elisae Rafael.

À todos da associação de brasileiros em College Station – TX.

BIOGRAFIA

DOUGLAS DOS SANTOS PINA, filho de Evilázio José Pereira Pina e Tereza dos Santos Pina , nasceu em Leopoldina, Minas Gerais, em 04 de novembro de 1976.

Em março de 1999 iniciou o curso de Zootecnia na UFV, graduando-se em agosto de 2003.

Em agosto de 2003 iniciou o curso de Mestrado, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes. Em fevereiro de 2005, concluiu o curso de mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa,

Em março de 2005, iniciou o curso de doutorado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes, submetendo-se a defesa de Tese no dia 07 de outubro de 2008.

Em março de 2005, iniciou o curso de doutorado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes, submetendo-se a defesa de Tese no dia 07 de outubro de 2008.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	viii
ABSTRACT.....	xii
INTRODUÇÃO	16
LITERATURA CITADA	19
Níveis de Inclusão e Tempo de Exposição da Cana-de-Açúcar ao Óxido de Cálcio sobre Parâmetros Digestivos e o Desempenho de Novilhas Nelore.	21
Resumo	21
Abstract.....	22
Introdução	23
Material e Métodos	25
Resultados e Discussão	28
Conclusão.....	38
Literatura Citada	39
 Níveis de Inclusão e Tempos de Exposição do Óxido de Cálcio à Cana-de-Açúcar sobre Parâmetros Digestivos e Fisiológicos de Novilhas Nelore.....	 42
Resumo	42
Abstract.....	43
Introdução	44
Material e Métodos	45
Resultados e Discussão	49
Conclusão.....	58
Literatura Citada	59
 Níveis de Inclusão e Tempos de Exposição da Cana-de-Açúcar ao Óxido de Cálcio sobre a Síntese Ruminal de Proteína Microbiana em Novilhas Nelore	 62
Resumo	62
Abstract.....	63

Introdução	64
Material e Métodos	65
Resultados e Discussão	70
Conclusão.....	78
Literatura Citada	79

Influence of calcium oxide level and time of exposure to sugarcane on in vitro and in situ digestive kinetics	82
Abstract.....	82
Introduction.....	83
Materials and Methods.....	84
Results and Discussion	89
Conclusion	96
Literature Cited.....	97
Tables.....	99

RESUMO

PINA, Douglas dos Santos, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2008.

Avaliação nutricional da cana-de-açúcar acrescida de óxido de cálcio em diferentes tempos de armazenamento para bovinos. Orientador: Sebastião de Campos Valadares Filho. Co-Orientadores: Luis Orlindo Tedeschi, Rilene Ferreira Diniz Valadares e Edenio Detmann.

Foram realizados 4 experimentos com o objetivo de avaliar a composição bromatológica e a cinética de digestão *in situ* e *in vitro* da cana-de-açúcar, o consumo e digestibilidade dos nutrientes, o desempenho, e parâmetros ruminais de animais alimentados com cana-de-açúcar acrescida de óxido de cálcio em diferentes tempos de armazenamento. No primeiro experimento, objetivou-se avaliar o efeito da inclusão de óxido de cálcio (cal) e dos tempos de exposição (TE) da cana-de-açúcar à cal sobre o desempenho de novilhas Nelore e comparar o dióxido de titânio (Ti) com o óxido crômico (Cr) para estimar o consumo individual de concentrado e as digestibilidades dos nutrientes. Utilizaram-se 30 fêmeas Nelore, com idade aproximada de 24 meses e pesos médios de 285 ± 31 kg alojadas em seis baias coletivas. Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 3×2 , sendo 3 níveis de inclusão de cal (0; 0,5 ou 1% na MN da cana-de-açúcar) e 2 TE (0 e 3 dias), com 5 repetições (6 grupos de 5 animais). O experimento foi conduzido em três períodos de 28 dias após adaptação de 14 dias. Não foram observados efeitos ($P > 0,05$) dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal (0 ou 3 dias) sobre os consumos de MS, MO, PB e NDT e o ganho de peso (GMD). Porém, os mesmos influenciaram ($P < 0,05$) os consumos de EE, FDNcp e CNF. Os níveis de cal influenciaram de forma linear decrescente ($P < 0,05$) os consumos de MO, FDNcp, CNF e NDT, e o GMD. Todavia, não foram observados efeitos ($P > 0,05$) dos indicadores (Ti e Cr), nem das interações entre os níveis de cal e o tempo de armazenamento ($P > 0,05$) sobre os consumos de MS, MO, PB, EE, FDNcp, CNF e NDT. Interações significativas ($P < 0,05$) entre o tempo de exposição e o nível de inclusão de cal foram observadas, para as digestibilidades aparentes (DA) total da MS, MO, PB e FDN e para o teor de NDT. O aumento do TE influenciou positivamente a DA da MS, MO, PB, FDN e o teor de NDT dentro dos níveis de inclusão de 0,5 e 1,0% de cal, estimando-se em 0,5% o nível ótimo de inclusão de cal. Contudo, dentro do nível zero de inclusão de cal, houve redução na digestibilidade aparente total da MO e no teor de NDT. Considerando que a hidrólise da cana-de-açúcar com cal, após três dias de armazenagem, resulte em melhoria na digestibilidade de alguns nutrientes, incorre em redução do consumo de NDT e, conseqüentemente, em redução do ganho de peso, não se recomenda fornecer a cana-de-açúcar tratada com cal. Conclui-se

também que os indicadores Ti e Cr são igualmente efetivos para estimar os consumos individuais de concentrado de bovinos alimentados em grupo, e que o armazenamento da cana-de-açúcar durante três dias sem qualquer tratamento não altera o desempenho de novilhas Nelore em crescimento. No segundo experimento, avaliou-se o efeito da cal e dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal sobre as digestibilidades totais e parciais, o consumo de nutrientes e os parâmetros ruminais, bem como, foram comparados o Ti e o Cr como indicadores externos para estimar a excreção de matéria seca fecal (MSF) e o fluxo de matéria seca abomasal (MSABO). Utilizaram-se seis fêmeas Nelore, com pesos médios de 250 ± 19 kg, fistuladas no rúmen e no abomaso, distribuídas em quadrado latino 6 x 6 incompleto. O experimento constou de quatro períodos, com duração de 12 dias cada, sendo sete para adaptação e cinco para coletas de amostras. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 3 x 2, sendo três níveis de inclusão de cal (0; 0,5 ou 1% na matéria natural da cana-de-açúcar) e dois tempos de armazenamento da cana (0 e 3 dias). Não houve efeito ($P>0,05$) dos tempos de armazenamento, nem da interação entre os tratamentos ($P>0,05$) sobre os consumos MS, MO, PB, EE, FDNcp, e CNF. Contudo, os níveis de inclusão de cal aumentaram linearmente ($P<0,05$) os consumos de MS, MO, e CNF, mas não afetaram ($P>0,05$) os de PB, EE e FDNcp. Os tempos de armazenamento reduziram ($P<0,05$) a digestibilidade aparente total da MS, MO e FDNcp, mas não influenciaram ($P>0,05$) a digestibilidade aparente ruminal dos nutrientes. A inclusão de cal aumentou ($P<0,05$) o consumo de NDT (kg/ dia), porém não afetou ($P>0,05$) a digestibilidade total e ruminal dos nutrientes. Os indicadores produziram resultados similares ($P>0,05$) para as estimativas de digestibilidade aparente total e ruminal de todos os nutrientes avaliados. Foram observadas interações entre o tempo de amostragem e o nível de cal e entre o nível de cal e o tempo de armazenamento ($P<0,05$) para o pH ruminal. Contudo, os valores de N-NH₃ foram influenciados somente pelos tempos de amostragem ($P<0,001$). Conclui-se que a adição de cal não teve efeito sobre a preservação da cana-de-açúcar, mas influenciou positivamente o consumo de MS, MO e NDT pelos animais, e que os indicadores produziram estimativas similares para a digestibilidade aparente total e ruminal de todos os nutrientes avaliados. No terceiro experimento, objetivou-se avaliar o efeito dos níveis de inclusão (0; 0,5 ou 1% na MN da cana-de-açúcar) e tempos de exposição (0 e 3 dias) da cana-de-açúcar à cal sobre a síntese e eficiência de síntese de nitrogênio (NMic) ou proteína microbiana ruminal (PBMic). A produção microbiana foi estimada utilizando a excreção urinária de derivados de purinas (DPU) obtida a partir de amostras *spot* de urina ou o fluxo abomasal de bases purinas determinado com o Ti (BPTi) ou o Cr (BPCr) como indicadores do fluxo de MS abomasal. Para isso, foram utilizados os dados provenientes do primeiro experimento conduzido com 30 fêmeas Nelores, com pesos médios de 315 ± 37 kg, alojadas em 6 baias coletivas (aproximadamente 50 m²) contendo cinco animais por baia, o qual foi conduzido em três períodos de 28 dias após um período de adaptação de 14 dias. E do segundo experimento, conduzido com 6 fêmeas Nelores, com pesos médios de 250 ± 19 kg fistuladas no rúmen e no abomaso, alocadas em um quadrado latino 6 x 6 incompleto e balanceado para efeito

residual, constituído por 6 tratamentos e 4 períodos experimentais de 12 dias. Os tratamentos foram arrançados em um esquema fatorial 3 x 2 e as comparações entre médias foram realizadas através de contrastes ortogonais, respeitando-se os delineamentos experimentais de cada experimento. As coletas de digesta abomasal foram efetuadas com intervalo de 22 horas durante cinco dias, enquanto as amostras *spot* de urina foram obtidas 4 horas após a alimentação. A quantidade de PBMic sintetizada no rúmen não foi influenciada ($P>0,05$) pelos tempos de exposição ou pela inclusão de cal à cana-de-açúcar em ambos os experimentos. Os indicadores utilizados para estimar a síntese de PBMic (DPU, BPTi e BPCr) produziram estimativas similares ($P>0,05$) de síntese e eficiência de síntese de PBMic. Dessa forma, pode-se concluir que os indicadores foram adequados para estimar a síntese e a eficiência de síntese de NMic ou PBMic, e que a utilização de amostras *spot* de urina para estimar a excreção urinária de DP, mostrou-se tão eficiente quanto os métodos baseados no fluxo abomasal de bases purínicas para determinar a síntese e a eficiência de síntese microbiana ruminal. No quarto experimento, objetivou-se avaliar por meio das técnicas *in vitro* e *in situ* o efeito de 3 níveis de inclusão da cal (0; 0,5 ou 1% na MN da cana-de-açúcar) e 4 tempos de exposição (0, 24, 48, e 72 h) da cana-de-açúcar à cal sobre a cinética de digestão e sobre a composição bromatológica da cana-de-açúcar. Os tratamentos foram arrançados em um esquema fatorial 3 x 4. A cana-de-açúcar picada foi tratada com cal e separada em montes de aproximadamente 150 kg, os quais foram armazenados em um galpão a fim de prevenir a exposição direta do material ao sol e a chuva. Durante 1 dia de cada semana por 3 semanas consecutivas, a temperatura inferior (Ti) e superior (Ts) e o pH dos montes de cana-de-açúcar tratados foram avaliados antes e depois das coletas de amostra, respectivamente. O EE e a MS não foram influenciados ($P = 0,01$) por ambos, TE ou nível de inclusão. Contudo, a PB e a MO diminuíram linearmente ($P = 0,01$ e $P<0,0001$; respectivamente) com o aumento do TE e do nível de inclusão da cal, respectivamente. Interações entre os níveis de cal e os tempos de armazenamento não foram observadas para MS, MO, PB, EE, Ti, e Ts. Todavia, interações significativas foram observadas para CNF, FDN, e pH. Efeitos quadráticos do TE da cana-de-açúcar à cal foram observados sobre a Ti ($Ti = 24,5297 (\pm 1,8258) + 1,1874 (\pm 0,1241) \times T - 0,0116 (\pm 0,0017) \times T^2$; $R^2 = 82,3$; RMSE= 5,612) e Ts ($Ts = 24,1717 (\pm 1,9307) + 1,2065 (\pm 0,1292) \times T - 0,0119 (\pm 0,0017) \times T^2$; $R^2 = 80,7$; RMSE= 5,942), sendo a temperatura máxima obtida com aproximadamente 51 h de exposição. A cal influenciou a fração insolúvel potencialmente digestível da MS e da FDN ($P = 0,001$ e $P = 0,001$; respectivamente) e a fração indigestível da FDN ($P = 0,001$) da cana-de-açúcar obtidas através da técnica *in situ*. Interações entre os tratamentos foram observadas para as frações solúvel ($P = 0,0001$) e indigestível ($P = 0,01$) da MS da cana-de-açúcar. Contudo, nenhuma interação entre os níveis de cal e os tempos de armazenamento foi observada para os parâmetros da cinética digestiva da FDN ($P>0,27$). A taxa de fracional de digestão (kd) da MS e da FDN não foram influenciadas pelos tratamentos ($P>0,56$). Os valores médios de 0,0235 e 0,0215 h⁻¹ foram obtidos para o kd da MS e da FDN, respectivamente. Os parâmetros da cinética digestiva obtidos por meio da técnica de produção de gás não foram

influenciados pelos tratamentos ($P>0,15$). Dessa forma, concluí-se que o óxido de cálcio aumentou a fração insolúvel potencialmente digestível da MS e da FDN da cana-de-açúcar quando determinada por meio da técnica *in situ*, contudo o mesmo não influenciou a taxa fracional de digestão. Os parâmetros da cinética digestiva da MS e da FDN da cana-de-açúcar não foram influenciados pelos tratamentos quando os mesmos foram obtidos por meio da técnica *in vitro* de produção de gás.

ABSTRACT

PINA, Douglas dos Santos, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2008.
Nutritional evaluation of sugarcane treated with calcium oxide at different times of exposure to cattle. Advisor: Sebastião de Campos Valadares Filho. Co-Advisors: Luis Orlindo Tedeschi, Rilene Ferreira Diniz Valadares and Edenio Detmann.

Were performed 4 experiments aiming evaluate the chemical composition and *in vitro* and *in situ* digestive kinetics of sugarcane treated with calcium oxide at different exposure times under nutrients intake and digestibility, performance, and ruminal parameters of Nellore heifers. The first experiment aimed to evaluate the effects of levels of inclusion and exposing duration of sugarcane to calcium oxide on the digestive parameters and performance of Nellore heifers. In addition, titanium dioxide (Ti) and chromium oxide (Cr) were compared as external markers to estimate the concentrate intake and digestibility of all nutrients. Thirty Nellore heifers with mean body weight of 285 ± 31 kg and age of 24 months were fed in 6 pens (50 m² approximately) containing 5 animals in each pen (feeding group). The treatments were allocated in a factorial arrangement 3 x 2, containing three levels of calcium oxide (0; 0.5 and 1.0 in the sugarcane fresh matter) and two levels of exposing duration (0 and 3 days) of the sugarcane to the calcium oxide. The trial was carrying out in 3 periods of 28 days after 14 days of adaptation. Mean comparisons were performed by orthogonal contrast and the “t” test. There were no effects ($P > 0.05$) of calcium oxide exposing duration on the intake of DM, OM, CP and TDN, but, it affected ($P < 0.05$) the intake of EE, NDFcp, and NFC. The levels of calcium oxide decreased linearly ($P < 0.05$) the intake of DM, OM, CP and TDN. However, no effects were found ($P > 0.05$) for markers (titanium and chromium) or interactions among treatments on the intake of nutrients. Significant interactions were observed between the calcium oxide exposing duration and levels on the total tract apparent digestibility of DM, OM, CP, NDFcp and TDN. As exposing duration increased from 0 to 3 days, there was a positive effect on the total tract apparent digestibility coefficient for DM, OM, CP, NDF and TDN within the calcium oxide levels of 0.5 and 1.0%. According to the sugarcane hydrolysis with calcium oxide

after three days of exposing time results on improvement on the digestibility of some nutrients but decreased the TDN intake and consequently the animal performance, the use of sugarcane treated with calcium oxide is not recommended. It is also concluded that the external markers Ti and Cr produced similar estimative of intake and total tract apparent digestibility to all nutrients to cattle group feeding, and that 3 days of sugarcane exposing time with 0% of calcium oxide do not affect the Nellore Heifers performance. The second experiment was conducted to evaluate the effect of calcium oxide inclusion levels and exposition time on sugarcane base diets under the partial or total tract digestibility, ruminal parameters and nutrient intakes. The titanium dioxide and chromium oxide also were evaluated as a marker to estimate the fecal (FDMF) and abomasal (ADMF) dry matter flux. Six Nellore heifers with mean body weight at 250 ± 19 kg rumen and abomasum cannulated were allocated in 6×6 Incomplete Latin Square design fitted by carryover effect. The trial was carrying out in 4 periods each period had 12 days, such 7 days for dietary adaptation and 5 days to sample collecting. The treatments were allocated in a factorial arrangement 3×2 , containing three levels of calcium oxide (0; 0.5 and 1.0 in the sugarcane fresh matter) and two levels of exposing duration (0 and 3 days) of the sugarcane to the calcium oxide. There were not effects ($P>0.05$) of calcium oxide exposing time neither interactions between treatments ($P>0.05$) on the intake of DM, OM, CP, EE, NDF and NFC. However, the levels of calcium oxide inclusion linearly affected ($P<0.05$) the intake of DM (kg/ day or % BW), OM and NFC, but did not affect ($P>0.05$) the intake of CP, EE and NDF. The calcium oxide exposing time decreased ($P<0.05$) the total tract apparent digestibility of DM, OM and NDF. However, the ruminal apparent digestibilities of all nutrients were not affecting by the calcium oxide exposing time. The level of calcium oxide inclusion increased ($P<0.05$) the intake of TDN (kg/ day). Nevertheless, any effects ($P>0.05$) on the digestibility of all nutrients were observed. The markers yielded similar ($P>0.05$) estimates to ruminal and total tract apparent digestibility of all nutrients. The ruminal pH was affected by treatments ($P<0.01$) and interactions between treatments ($P<0.05$) were observed. On the other hand, the ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration was affected only by the time over sampling ($P<0.001$). In conclusion, the addition of calcium oxide did not have effect on the sugar cane preservation, but had a positively influence on the intake of DM, OM and TDN by the animals. The markers produced similar estimative to total tract and ruminal apparent digestibility of all nutrients. The third experiment was performed to evaluate the effect of calcium oxide inclusion level (0, 0.5 and 1.0%

fresh matter of sugarcane) and the exposing time (0 or 3 days) under sugarcane based diets on the microbial protein (MCP) synthesis and efficiency of synthesis using the data set obtained at two previous experiment. The urinary purine derivatives excretion (UPD) obtained through urinary spot sampling or abomasum purine bases determined using titanium dioxide (PBTi) or chromic oxide (PBCr) as a maker to estimate the abomasum DM flux, were used to determine the MCP synthesis and efficiency of synthesis. In the first, 6 Nellore heifers with mean body weight of 250 ± 19 kg, ruminally and abomasally cannulated, were allocated in one uncompleted Latin Square design fitted to carry-over effects, constituted by 6 treatments and 4 periods. In the second, 30 Nellore heifers with mean body weight of 315 ± 37 kg were fed in 6 pens (50 m^2 approximately). The experiment was carried out in three periods of 28 days, after 12 days of adaptation. The treatments were allocated in a 3×2 factorial arrangement and the means comparisons were performed by orthogonal contrasts. The abomasum sampling were performed in intervals of 22 hours during 5 consecutive days, rather than urinary spot samples were take 4 hours after feeding. The amount of MCP ruminally synthesized was not affect ($P > 0.05$) by the calcium oxide exposing time (0 or 3 days) or inclusion level (0, 0.5 and 1.0% fresh matter of sugarcane) in both experiments. The microbial markers yielded similar ($P > 0.05$) estimates of synthesis or efficiency of synthesis of MCP. Therefore, we concluded that all markers were adequate to estimate the MCP synthesis and efficiency of synthesis. And the urinary purine derivatives excretion obtained through the urinary spot samples are as efficient as the methods based on the purine bases in the abomasum to determine the ruminal microbial synthesis and efficiency of synthesis. The fourth experiment was carried out to evaluate the effects of 3 inclusion levels of calcium oxide (0, 5, and 10 g/kg of sugarcane fresh matter) and 4 exposure times (0, 24, 48, and 72 h) of sugarcane to calcium oxide on the chemical composition and digestive kinetic parameters of sugarcane using *in vitro* and *in situ* techniques. The treatments were arranged in a 3 by 4 factorial design. Freshly-cut sugarcane (whole plant) was treated with calcium oxide and separated into twelve piles inside a barn to prevent direct exposure to sunlight, rain, and wind. Every day, before and after animal feeding, the calcium oxide was proportionally hand-mixed with approximately 150 kg of freshly-cut sugarcane to make up the dietary treatments. The inferior (**Ti**) and superior (**Ts**) temperature and pH of the treated sugarcane piles were measured immediately before and after sampling. The ether extract (**EE**) and DM were not affected ($P > 0.05$) by either exposure time or inclusion level. However, CP

increased linearly ($P = 0.01$) and OM decreased linearly ($P < 0.0001$) as the exposure time and calcium oxide inclusion level increased. Interactions between inclusion level and exposure time on DM, OM, CP, EE, Ti, and Ts were not observed. However, significant interactions were detected for non-fiber carbohydrate (**NFC**), neutral detergent fiber (**NDF**), and pH. Quadratic effects of exposure time on the Ti [Ti = $24.5297 (\pm 1.8258) + 1.1874 (\pm 0.1241) \times T - 0.0116 (\pm 0.0017) \times T^2$; $R^2 = 82.3$; RMSE = 5.612] and Ts [Ts = $24.1717 (\pm 1.9307) + 1.2065 (\pm 0.1292) \times T - 0.0119 (\pm 0.0017) \times T^2$; $R^2 = 80.7$; RMSE = 5.942] were observed. The maximum temperature was reached with approximately 51 h of exposure time. Calcium oxide affected the insoluble potentially digestible fraction of sugarcane DM and NDF ($P = 0.001$ and $P = 0.001$, respectively), and the undegradable fraction of sugarcane NDF ($P = 0.001$). Interactions between inclusion level and exposure time on soluble and undegradable fractions of sugarcane DM ($P = 0.0001$ and $P = 0.01$, respectively) were found. However, no interactions ($P > 0.27$) were found between inclusion level and exposure time on NDF digestive kinetic parameters. The fractional digestion rate (**kd**) of sugarcane DM and NDF was not influenced by treatments ($P > 0.05$). The mean values of kd for sugarcane DM and NDF were 0.0235 and 0.0215 h⁻¹, respectively. The gas production kinetics parameters were not affected ($P > 0.05$) by treatments. In summary, the inclusion of calcium oxide improved the *in situ* potentially digestible fraction of sugarcane DM and NDF; however, it did not influence the fractional digestion rate. No effects were observed on the *in vitro* digestive kinetic parameters.

Introdução

Aproximadamente 80% do rebanho bovino brasileiro é composto por raças zebuínas. Dentre estas, a raça Nelore constitui cerca de 100 milhões de animais, sendo a principal destinada à produção de carne no país (Sainz et al., 2004). Contudo, trabalhos com bovinos Nelores, comparando consumo, digestibilidades total e parcial, produção microbiana, balanço de nitrogênio, e parâmetros ruminais, bem como outras variáveis nutricionais, são escassos, limitando o desenvolvimento de modelos para predizerem o desempenho produtivo.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, a qual se destaca entre as gramíneas tropicais como a planta de maior potencial para produção de matéria seca e energia por unidade de área, em um único corte por ano. Aliado a estes fatos, a facilidade e tradição de cultivo, o baixo custo por unidade de matéria seca produzida, a maturidade coincidindo com o período de escassez de pasto e por constituir uma opção competitiva quando comparada a outras fontes de volumosos, são importantes vantagens adicionais que justificam a utilização da cana-de-açúcar como recurso forrageiro. No entanto, a mesma apresenta limitações de ordem nutricional, devido aos baixos teores protéicos e da maioria dos minerais (principalmente fósforo) e a baixa digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN).

A utilização clássica da cana-de-açúcar é na forma *in natura* desintegrada e fornecida diariamente para alimentação animal. Em grandes rebanhos essa técnica torna-se o maior empecilho para utilização deste volumoso, pois requer mão-de-obra diária para cortes, despalhamento, trituração e transporte. Assim, a possibilidade de conservação deste material para fornecimento aos animais por pelo menos 72 horas após o corte, permitiria uma melhor logística para a utilização do mesmo e consequentemente uma redução dos custos associados com corte, transporte e trituração.

A baixa digestibilidade da FDN da cana-de-açúcar está relacionada à alta concentração de lignina e a sua ligação com os carboidratos estruturais (hemicelulose e celulose) que impede a ação dos microrganismos ruminais sobre estes carboidratos. No entanto, essas ligações do tipo éster, nas gramíneas, são particularmente susceptíveis à ação hidrolítica, justificando a utilização de álcalis no tratamento da cana-de-açúcar, promovendo solubilização de parte da lignina pelo aumento de pH (Van Soest, 1994).

Agentes alcalinizantes como o hidróxido de sódio (NaOH); hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2); amônia anidra (NH_3) e mais recentemente o óxido de cálcio (CaO) podem ser utilizados para melhorar os coeficientes de digestibilidade de resíduos agroindustriais, palhas e cana-de-açúcar *in natura* (Oliveira et al., 2002). O uso do óxido de cálcio, ou cal virgem, para tratamento hidrolítico de forragens tem por base a formação de hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 , um agente alcalino com moderado poder de hidrólise da fibra (Berger et al., 1994).

Uma provável vantagem da utilização do óxido de cálcio para hidrólise da cana-de-açúcar é a possibilidade de armazenamento da mesma já desintegrada. Visto que ocorrem perdas de matéria seca tanto na cana-de-açúcar *in natura* quanto na hidrolisada, sendo esta perda menor na cana hidrolisada com 1,0 e 1,5% de cal, quando armazenada por até dez dias já picada (Santos et al., 2005).

O aspecto nutricional é um dos principais fatores que afeta o desempenho animal. O desenvolvimento de programas de alimentação que busquem conhecer com maior precisão as interações e o impacto produzidos pelo uso de diferentes ingredientes da dieta sobre o consumo voluntário e a utilização de nutrientes no trato gastrointestinal de bovinos Nelore, é fundamental para a maximização da eficiência de aproveitamento dos alimentos e implementação de sistemas eficientes de produção.

Além do consumo adequado do alimento, há necessidade do conhecimento da composição química dos alimentos, bem como a sua digestibilidade, que proporciona a obtenção do valor energético das dietas e a utilização dos nutrientes pelos animais, o que é obtido por meio de estudos de digestão.

O método convencional de avaliação do coeficiente de digestibilidade total, com coleta total de fezes, é laborioso e, em determinadas circunstâncias, inviável. De acordo com Judkins et al. (1990), a técnica *in vitro* tem como principais limitações a impossibilidade de se quantificar o efeito associativo, o nível de consumo, as diferentes taxas de passagem e a composição química variável das dietas, em comparação aos estudos *in vivo*. Vários autores, recentemente, têm avaliado os indicadores internos e externos, em busca de estimativas mais confiáveis de produção fecal, fluxo duodenal e digestibilidades total e parcial (Berchielli et al., 2005; Dias, 2005; Oliveira Jr. et al., 2004).

Indicadores internos apresentam a vantagem de serem componentes indigestíveis presentes no alimento, não havendo, portanto, a necessidade de prévio preparo. Os componentes indigestíveis da parede celular, como fibra em detergente

neutro (FDNi) e fibra em detergente ácido (FDAi) indigestíveis têm sido usados (Ítavo et al., 2002; Zeoula et al., 2002), podendo ser obtidos pela incubação ruminal em sacos de náilon ou incubação *in vitro* em líquido ruminal (Freitas et al., 2002).

O óxido crômico, apesar de apresentar alguns problemas, como recuperação diferente de 100%, variação na recuperação fecal entre animais e concentração nas fezes variável no decorrer do dia, é o indicador externo mais comumente empregado em estudos de digestão por ser de baixo custo e analisado com relativa facilidade (Titgemeyer, 1997). Porém, Titgemeyer et al. (2001) ressaltaram que o cromo não é aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) como aditivo alimentar. Assim, o dióxido de titânio (TiO₂) surge como alternativa ao cromo como indicador em estudos de digestão, podendo ser adicionado legalmente ao alimento em quantidades que não excedam a 1,0% do produto final (AAFCO, 1996). Adicionalmente, também surge como alternativa em função do seu preço (R\$35,00/kg). Segundo Kincheloe (2004), o dióxido de titânio tem se mostrado efetivo como indicador externo em não-ruminantes, entretanto, existem ainda poucos estudos com animais ruminantes.

No entanto, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas para que se comprove a viabilidade de utilização do óxido de cálcio como agente hidrolisante e conservante da cana-de-açúcar. Dessa forma, o objetivo-se avaliar o efeito da adição do óxido de cálcio à cana-de-açúcar sobre: a composição química, a cinética de digestão *in situ* e *in vitro*, o consumo, a digestibilidade, o desempenho, e parâmetros ruminais de animais alimentados com cana-de-açúcar adicionada de óxido de cálcio em diferentes tempos de armazenamento.

LITERATURA CITADA

- AAFCO. Official Publication. Association of American Feed Control Officials, Atlanta, GA. 1996.
- BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S. G.; CARRILHO, E.N.V.M. et al. Comparação de marcadores para estimativas de produção fecal e de fluxo de digesta em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.3, p.987-996, 2005.
- BERGER, L.L.; FAHEY, G.C; BOURQUIN, L.D. et al. Modification of forage after harvest. In: FAHEY, D.C. (Ed.) *Forage quality, evaluation, and utilization*. 1.ed. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society, Soil Science Society, 1994. p.922-966.
- DIAS, M. Técnicas para estimativa de parâmetros de digestibilidade e produção microbiana em bovinos. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 105p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R.N. Produção fecal e fluxo duodenal de matéria seca e matéria orgânica estimados por meio de marcadores. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.3, p.1521-1530, 2002 (suplemento).
- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Comparação de marcadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo de digesta em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1833-1839, 2002.
- KINCHELOE, J.J. Variation in supplement intake by grazing beef cows. M.S. Montana State University, 2004.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGHUGU, V. et al. Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of Animal Science*, v.82, p.179-183, 2004.
- OLIVEIRA, M.D.S.; QUEIROZ, M.A.A.; CALDEIRÃO, E.; et al. Efeito da hidrólise com NaOH sobre a digestibilidade “in vitro” da matéria seca da cana-de-açúcar (*saccharum officinarum* L.). *Ars Veterinária*, v18, n.2, p. 167-173, 2002.
- OLIVEIRA JR., R.C.; PIRES, A.V.; FERNANDES, J.J.R. Substituição total do farelo de soja por uréia ou amiréia, em dietas com alto teor de concentrado, sobre a amônia ruminal, os parâmetros sanguíneos e o metabolismo do nitrogênio em bovinos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.3, p.738-748, 2004.

- SAINZ, R.D.; BARIONI, L.G.; PAULINO, P.V.R. et al. Growth patterns of Nellore vs. British beef cattle breeds assessed using a dynamic, mechanistic model of cattle growth and composition. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON MODELLING NUTRIENT UTILIZATION IN FARM ANIMALS, 6., 2004, Wageningen. Proceedings... Wageningen: Wageningen University, 2004. 21p.
- SANTOS, M.C.; NUSSIO, L.G.; SOUSA, D.P. et al. Estabilidade aeróbia e perda de matéria seca de cana-de-açúcar in natura tratada com níveis crescentes de óxido de cálcio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., Goiânia, 2005. Anais... Goiânia: SBZ, CD ROM, 2005.
- SILVA, T. M.; OLIVEIRA, M. S.; SAMPAIO, A. A.M.; et al. Efeito da hidrólise de diferentes variedades de cana-de-açúcar sobre a digestibilidade ruminal “in vitro”. . In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. Anais... Goiânia: S.B.Z., 2005 (CD-ROM – Nutrição de Ruminantes).
- TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *Journal of Animal Science*, v.75, n.8, p.2235-2247, 1997.
- TITGEMEYER; E.C.; ARMENDARIZ, C. K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *Journal of Animal Science*. v. 79, p.1059-1063, 2001.
- VAN SOEST, P.J. 1994 Nutritional ecology of the ruminant. 2ed. Ithaca: Cornell University. 476 p.
- ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M. et al. Recuperação fecal de marcadores internos avaliados em ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1865-1874, 2002.

Níveis de Inclusão e Tempo de Exposição da Cana-de-Açúcar ao Óxido de Cálcio sobre Parâmetros Digestivos e o Desempenho de Novilhas Nelore

Resumo: Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão de óxido de cálcio (cal) e dos tempos de exposição (TE) da cana-de-açúcar à cal sobre o desempenho de novilhas Nelore e comparar o dióxido de titânio (Ti) com o óxido crômico (Cr) para estimar o consumo individual de concentrado e as digestibilidades dos nutrientes. Utilizaram-se 30 fêmeas Nelore, com idade aproximada de 24 meses e pesos médios de 285 ± 31 kg, alojadas em seis baias coletivas. Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 3×2 , sendo 3 níveis de inclusão de cal (0; 0,5 ou 1% na MN da cana-de-açúcar) e 2 TE (0 e 3 dias), com 5 repetições (6 grupos de 5 animais). O experimento foi conduzido em três períodos de 28 dias após adaptação de 14 dias. Não foram observados efeitos ($P > 0,05$) dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal (0 ou 3 dias) sobre os consumos de MS, MO, PB e NDT e o ganho de peso (GMD). Porém, os mesmos influenciaram ($P < 0,05$) os consumos de EE, FDNcp e CNF. Os níveis de cal influenciaram de forma linear decrescente ($P < 0,05$) os consumos de MO, FDNcp, CNF e NDT, e o GMD. Todavia, não foram observados efeitos ($P > 0,05$) dos indicadores (Ti e Cr), nem das interações entre os tratamentos ($P > 0,05$) sobre os consumos de MS, MO, PB, EE, FDNcp, CNF e NDT. Interações significativas ($P < 0,05$) entre o tempo de exposição e o nível de inclusão de cal foram observadas para as digestibilidades aparentes (DA) totais da MS, MO, PB e FDN e para o teor de NDT. O aumento do TE influenciou positivamente a DA da MS, MO, PB, FDN e o teor de NDT dentro dos níveis de inclusão de 0,5 e 1,0% de cal, estimando-se em 0,5% o nível ótimo de inclusão de cal. Contudo, dentro do nível zero de inclusão de cal, houve redução na DA da MO e no teor de NDT. Considerando que a hidrólise da cana-de-açúcar com cal, após três dias de armazenamento, resulte em melhoria na digestibilidade de alguns nutrientes, incorre em diminuição do consumo de NDT e, conseqüentemente, em redução do ganho de peso, não se recomenda fornecer a cana-de-açúcar tratada com cal. Conclui-se também que os indicadores Ti e Cr são igualmente efetivos para estimar os consumos individuais de concentrado de bovinos alimentados em grupo, e que a cana-de-açúcar armazenada durante três dias sem qualquer tratamento não altera o desempenho de novilhas Nelore em crescimento.

Palavras-chave: digestibilidade, dióxido de titânio, ganho de peso, óxido crômico

Levels and Time Exposure of Sugarcane to Calcium Oxide on the Digestive Parameters and Performance of Nellore Heifers

Abstract: A trial was conducted to evaluate the effects of levels of inclusion and exposing duration of sugarcane to calcium oxide on the digestive parameters and performance of Nellore heifers. In addition, titanium dioxide (Ti) and chromium oxide (Cr) were compared as external markers to estimate the concentrate intake and digestibility of all nutrients. Thirty Nellore heifers with mean body weight of 285 ± 31 kg and age of 24 months were fed in 6 pens (50 m^2 approximately) containing 5 animals in each pen (feeding group). The treatments were allocated in a factorial arrangement 3×2 , containing three levels of calcium oxide (0; 0.5 and 1.0 in the sugarcane fresh matter) and two levels of exposing duration (0 and 3 days) of the sugarcane to the calcium oxide. The trial was carrying out in 3 periods of 28 days after 14 days of adaptation. Mean comparisons were performed by orthogonal contrast and the “t” test. There were no effects ($P > 0.05$) of calcium oxide exposing duration on the intake of DM, OM, CP and TDN, but, it affected ($P < 0.05$) the intake of EE, NDFcp, and NFC. The levels of calcium oxide decreased linearly ($P < 0.05$) the intake of DM, OM, CP and TDN. However, no effects were found ($P > 0.05$) for markers (titanium and chromium) or interactions among treatments on the intake of nutrients. Significant interactions were observed between the calcium oxide exposing duration and levels on the total tract apparent digestibility of DM, OM, CP, NDFcp and TDN. As exposing duration increased from 0 to 3 days, there was a positive effect on the total tract apparent digestibility coefficient for DM, OM, CP, NDF and TDN within the calcium oxide levels of 0.5 and 1.0%. According to the sugarcane hydrolysis with calcium oxide after three days of exposing time results on improvement on the digestibility of some nutrients but decreased the TDN intake and consequently the animal performance, the use of sugarcane treated with calcium oxide is not recommended. It is also concluded that the external markers Ti and Cr produced similar estimative of intake and total tract apparent digestibility to all nutrients to cattle group feeding, and that 3 days of sugarcane exposing time with 0% of calcium oxide do not affect the Nellore Heifers performance.

Key words: chromium, digestibility, markers, weight gain and titanium

Introdução

A utilização clássica da cana-de-açúcar é na forma *in natura* desintegrada e fornecida diariamente para alimentação de ruminantes. Em grandes rebanhos essa técnica torna-se o maior empecilho para utilização deste volumoso, pois requer mão-de-obra diária para cortes, despalhamento, trituração e transporte. Assim, a possibilidade de conservação deste material para fornecimento aos animais por pelo menos 72 horas após o corte, permitiria melhor logística para a utilização do mesmo e consequentemente redução dos custos associados com corte, transporte e trituração.

Apesar da especialização digestiva, os animais ruminantes podem ser limitados nutricionalmente pelos componentes da dieta (Ortiz-Rubio et al., 2007). A fermentação espontânea da cana-de-açúcar, a qual ocorre logo após a sua desintegração em pequenos pedaços, pode conduzir à conversão de metade dos açúcares solúveis em ácidos orgânicos (Gonzalez & MacLeod, 1976). Embora, esses produtos finais possam ser metabolizados pelos animais, possuem pouco valor nutritivo para os microrganismos ruminais, assim, o processo de fermentação da cana-de-açúcar pode reduzir a síntese microbiana ruminal, afetando o desempenho dos animais (Alvarez et al., 1997).

A cana-de-açúcar, apesar de possuir interessantes características como volumoso na alimentação de ruminantes, possui restrições nutricionais, como, por exemplo: baixa concentração protéica e alta proporção de fibra (FDN) com baixa digestibilidade. Dessa forma, animais alimentados com cana-de-açúcar como volumoso exclusivo, podem não terem suas exigências nutricionais atendidas, culminando em desempenhos observados abaixo dos esperados.

A porção da fibra ingerida que é resistente à fermentação pelos microrganismos ruminais, acumula-se no rúmen em relação a fração potencialmente fermentável (Allen & Mertens, 1987), tendo efeito direto na redução do consumo de alimento e no desempenho dos animais. Portanto, alternativas para aumentar a fração potencialmente degradável da fibra ou sua taxa de degradação, podem ter impactos positivos sobre o consumo e o desempenho dos animais.

Agentes alcalinizantes como o hidróxido de sódio (NaOH); hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2); amônia anidra (NH_3) e mais recentemente o óxido de cálcio (CaO) podem ser utilizados para melhorar os coeficientes de digestibilidade de resíduos agroindustriais, palhas e cana-de-açúcar *in natura* (Oliveira et al., 2002).

Além do consumo adequado de alimento, há necessidade do conhecimento da composição química dos alimentos, bem como de sua digestibilidade, que proporciona a obtenção do valor energético das dietas e a utilização dos nutrientes pelos animais, o que é obtido por meio de estudos de digestão (Valadares Filho et al., 2006b). A técnica dos indicadores talvez seja a mais amplamente utilizada e aceita para estimação de consumo e digestibilidade. De acordo com Detmann et al. (2004), esta baseia-se na obtenção inicial de um parâmetro básico de indigestibilidade da dieta consumida, lançando-se mão, posteriormente, de artifícios indiretos de determinação da digestibilidade da dieta. Assim, obtém-se por meio de uma relação reversa àquelas empregadas em animais alimentados individualmente, a quantidade de alimento consumida diariamente.

Dessa forma, o experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de cal e dos tempos exposição da cana-de-açúcar à cal sobre a digestibilidade aparente total e o consumo voluntário estimados pela técnica dos indicadores externos (dióxido de titânio e o óxido crômico) e o desempenho de novilhas Nelores.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Animais e de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG. Foram utilizadas 30 fêmeas Nelores, com idade aproximada de 24 meses e pesos médios de 285 ± 31 kg. Os animais foram alojados em baias coletivas (aproximadamente 50 m²) contendo cinco animais por baia, com piso de concreto e providas de comedouros e de bebedouros coletivos.

O experimento foi conduzido em três períodos de 28 dias após um período de adaptação de 14 dias, nos quais os animais foram pesados para ajuste da quantidade de concentrado fornecida ao grupo, sendo o mesmo procedimento realizado no início e final de cada período experimental. As dietas foram constituídas por 80% de volumoso (cana-de-açúcar adicionada de 1% de uréia/SA na base da MN imediatamente antes de seu fornecimento) e 20% de concentrado na base da MS. Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 3 x 2, sendo 3 níveis de inclusão da cal (0; 0,5 ou 1% na base da MN da cana-de-açúcar) e 2 tempos de armazenamento da cana tratada com cal (0 ou 3 dias). As dietas foram balanceadas de acordo com Valadares Filho et al. (2006a), para conter aproximadamente 11,5% de PB. A proporção dos ingredientes na mistura de concentrados e a composição das dietas experimentais pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1- Proporção dos ingredientes na mistura de concentrados e composição bromatológica das dietas experimentais

Item	Tempo de Exposição (dias)					
	0			3		
	0 % Cal	0,5 % Cal	1,0 % Cal	0 % Cal	0,5 % Cal	1,0 % Cal
Composição da Dieta						
MS (%)	40,57	41,54	42,66	39,56	42,53	43,59
MO ¹	95,82	95,94	93,86	96,38	95,88	93,68
PB ¹	11,66	11,38	10,96	12,06	11,88	11,30
EE ¹	2,06	2,04	2,08	2,20	2,24	2,25
FDN _{cp} ¹	40,48	39,07	38,44	43,66	42,02	40,28
CNF ¹	41,62	43,45	42,93	38,08	39,75	40,22
Ca ¹	0,36	1,34	2,36	0,36	1,34	2,36

¹ Proporção na matéria seca da dieta.

Proporção dos ingredientes do concentrado (%MN): fúba de milho = 76,67; farelo de soja = 20,00; mistura mineral = 3,33.

M. Mineral: Ca = 240,00 g; P = 174,00g; Zn = 5.270,00 mg; Mn = 2.000,00 mg; F = 1.740,00 mg; Cu = 1.250,00 mg; Co = 100,00 mg; I = 90,00 mg e Se = 15,00 mg. Quantidade por kg de mistura mineral.

Nos três períodos experimentais, a alimentação foi oferecida *ad libitum* duas vezes ao dia, sempre às 8:00 e 16:00 h, na forma de ração completa, permitindo-se sobras de, no máximo, 5 a 10% da matéria natural oferecida. O consumo diário foi mensurado pela diferença entre o fornecido e as sobras, sendo que, amostras diárias do alimento fornecido e das sobras foram coletadas durante todos os períodos e ao final de cada semana foi feita uma amostra composta representativa por grupo de alimentação, sendo esta, armazenada em saco plástico e congelada a -20°C, para posteriormente ser analisada.

O consumo individual foi estimado segundo Valadares Filho et al. (2006b), utilizando a LIPE fornecida na quantidade de 500mg por dia como indicador externo, administrada em dose única por via oral para estimar a excreção de MS fecal, iniciando-se o fornecimento três dias antes do início das coletas de fezes e terminando no último dia de coleta. Os indicadores externos fornecidos no concentrado para estimar o consumo individual de concentrado foram o óxido crômico e o dióxido de titânio (0,3%

na MN do concentrado) e o indicador interno utilizado para estimar o consumo de volumosos foi a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi).

$$Cc = \frac{EF * [Ind\ fezes]}{[Ind\ no\ Cc]}$$

onde: Cc = consumo de MS do concentrado; $[Ind]$ = concentração do indicador (Ti ou Cr) no concentrado ou nas fezes.

$$Cv = \frac{EF * [FDNi\ fezes] - Cc * [FDNi\ concentrado]}{[FDNi\ volumoso]}$$

onde: Cv = consumo de MS do volumoso; $[FDNi]$ = concentração do FDNi.

As amostras de fezes foram coletadas uma vez ao dia (durante 5 dias), simultaneamente, em intervalos de 22 horas, iniciando-se às 16:00 horas no primeiro dia e terminando às 8:00 horas no último. As análises de MS, MO, PB, EE, FDN e lignina foram realizadas conforme procedimentos descritos por Silva & Queiroz (2002). As determinações de FDN (Van Soest & Robertson, 1985) foram realizadas utilizando-se o extrator ANKON200 (Ankom Technology Corp., Fairport, NY, USA).

As amostras de fezes e sobras foram submetidas à análise de teor de cromo em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme método descrito por Willians et al. (1962) e de titânio, por colorimetria conforme método descrito por Myers et al. (2004). Os teores de NDT foram determinados conforme a equação proposta pelo NRC (2001): $NDT = PBd + 2,25EEd + FDNd + CNFd$, em que “d” caracteriza a fração do nutriente que é digestível.

O experimento foi analisado segundo delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2, sendo três níveis de inclusão da cal e dois tempos de exposição à cal. O efeito de indicador foi avaliado no esquema de parcelas subdivididas, em função dos indicadores (Ti ou Cr). Os resultados foram avaliados por intermédio do procedimento PROC MIXED SAS (SAS, 1999), adotando-se 0,05 como

nível crítico de probabilidade para o erro tipo I, sendo as comparações entre médias realizadas através de contrastes ortogonais (Kaps & Lamberson, 2004).

Resultados e Discussão

O efeito da concentração de cal e dos tempos de exposição à cal sobre os consumos de MS, MO, PB, EE, FDNcp e CNF, pode ser observado na Tabela 2. Não foram observados efeitos ($P>0,05$) dos tempos de exposição da cana-de-açúcar (0 ou 3 dias) sobre os consumos de MS, MO, PB e NDT. Porém, após três dias de armazenamento, os consumos de EE e FDNcp aumentaram e os de CNF diminuíram ($P<0,05$). O aumento no consumo de FDNcp e a redução do consumo dos CNF observados durante o armazenamento da cana-de-açúcar por três dias, pode ser devido à fermentação da cana-de-açúcar ocorrida durante o seu armazenamento, o que refletiu na composição química das dietas (Tabela 1).

Não foram observados efeitos ($P>0,05$) dos indicadores (Ti e Cr), nem interações entre os níveis de inclusão da cal e os tempos de armazenamento ($P>0,05$) sobre as estimativas de consumos de MS, MO, PB, EE, FDNcp, CNF e NDT (Tabela 2).

Tabela 2- Efeito da inclusão de cal (0; 0,5 e 1,0% MN da cana-de-açúcar), dos tempos de exposição da cana-de açúcar à cal (0 ou 3 dias) e dos indicadores externos: dióxido de titânio (Ti) ou óxido crômico(Cr) nas estimativas dos consumos da MS, MO, PB, EE, FDNcp, CNF e NDT em novilhas Nelore

Item	Tempos (D)		P	Indicador (I)		P	Cal (C)			P	DVP	Interações			
	0	3		Ti	Cr		0	0,5	1,0			DxC	DxI	CxI	DxCxI
Consumo (kg/dia)															
MS	5,95	6,19	0,32	6,05	6,08	0,44	6,29	6,26	5,65	0,05	0,18	0,49	0,73	0,65	0,52
MO	5,61	5,78	0,45	5,68	5,72	0,44	6,00	5,88	5,21	0,01	0,18	0,56	0,75	0,65	0,52
PB	0,68	0,70	0,56	0,69	0,69	0,44	0,71	0,71	0,65	0,07	0,03	0,34	0,76	0,69	0,51
EE	0,10	0,11	0,02	0,10	0,10	0,43	0,11	0,10	0,10	0,11	0,01	0,38	0,99	0,85	0,17
FDNcp	2,05	2,49	<0,01	2,27	2,27	0,46	2,43	2,34	2,05	0,01	0,02	0,26	0,81	0,83	0,46
CNF	2,80	2,46	0,002	2,62	2,64	0,43	2,71	2,76	2,42	0,02	0,13	0,21	0,72	0,67	0,50
NDT	3,37	3,55	0,27	3,44	3,48	0,43	3,60	3,74	3,04	<0,01	0,18	0,06	0,72	0,66	0,49

	Contraste (P- valor)		Equações Lineares e Quadráticas	R ²	DVP
	Linear	Quadrático			
MS	0,03	0,24	$\hat{Y}_{MS} = 6,3906 - 0,6450 * C$	15,29	0,6303
MO	<0,01	0,24	$\hat{Y}_{MO} = 6,0954 - 0,7965 * C$	23,88	0,5904
FDNcp	<0,01	0,35	$\hat{Y}_{FDN} = 2,4605 - 0,3775 * C$	14,44	0,3410
CNF	0,02	0,06	$\hat{Y}_{CNF} = 2,7747 - 0,2885 * C$	11,38	0,3343
NDT	<0,01	0,02	$\hat{Y}_{NDT} = 3,6000 + 1,1050 * C - 1,6620 * C^2$	31,27	0,4565

DVP = Desvio padrão e R² = coeficiente de determinação das equações lineares ou quadráticas.

A ausência de efeito do tempo de exposição sobre os consumos de MS, MO, PB e NDT está de acordo com as observações de Pina et al. (2008a), os quais, trabalhando com novilhas Nelore fistuladas no rúmen e no abomaso, não observaram efeitos dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal sobre os consumos de MS, MO, PB, EE, FDNcp, CNF e NDT. Pontes (2007), trabalhando com ovinos alimentados com cana-de-açúcar acrescida de cal (0; 0,5 e 1,0% na base da MN) com tempos de exposição de 0 e 24 horas, não observou efeito desses tempos, nem da interação entre os tratamentos sobre o consumo dos nutrientes. Minor & Hovell (1977), avaliando o efeito de dois períodos de exposição (0 e 24 horas) da cana-de-açúcar ao hidróxido de sódio (0, 30 e 60g/kg de MN), também não observaram efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos em relação ao consumo de MS dos animais, que variou de 2,80 a 3,88 kg/dia.

Dessa forma, a possibilidade de conservação deste material para fornecimento aos animais por pelo menos 72 horas após o corte, não influenciaria o consumo de nutrientes, como observado neste experimento, mas permitiria melhor logística e conseqüentemente uma redução dos custos associados com corte, transporte e trituração. Segundo Santos et al.(2005), a única vantagem da utilização da cal como aditivo `a cana-de-açúcar é a possibilidade de armazenamento da mesma já desintegrada. Uma vez que, ocorrem perdas de matéria seca tanto na cana-de-açúcar *in natura* quanto na hidrolisada, sendo esta perda menor na cana hidrolisada com 1,0 e 1,5% de cal, quando armazenada por até dez dias já desintegrada.

Os níveis de inclusão da cal influenciaram ($P<0,01$) de forma linear decrescente os consumos de MS, MO, FDNcp, CNF. Mas não influenciaram os consumos de PB e EE (Tabela 2). Esses resultados são distoantes dos obtidos por Pina et al. (2008a) que observaram efeito linear crescente do nível de inclusão do óxido de cálcio sobre os consumos de MS, MO e CNF. Losada et al. (1977), estudando o efeito da inclusão de

quatro níveis de NaOH (0, 2, 4 e 6%) na matéria seca da cana, encontraram tendência de aumento linear no consumo de acordo com o nível de NaOH (6,82; 7,66; 7,80 e 8,12 kg de MS por dia, para os níveis de 0 a 6%, respectivamente). O consumo de NDT apresentou comportamento quadrático, estimando-se consumo máximo com 0,33% de cal (Tabela 2).

Os efeitos da inclusão de cal, dos tempos de exposição, dos indicadores externos (Ti e Cr) e interações entre tratamentos sobre as estimativas de digestibilidade aparente total dos nutrientes, e o ganho de peso dos animais, podem ser observados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Assim como em relação às estimativas do consumo, não foram observadas influências ($P>0,05$) dos indicadores (Ti ou Cr) sobre as estimativas de digestibilidade da MS, MO, PB, EE, FDNcp e CNF e sobre o teor de NDT. De forma semelhante aos resultados do presente experimento, Titgemeyer et al. (2001) não observaram diferença entre o dióxido de titânio e o óxido de crômico, quando utilizados para estimar a digestibilidade total da MS.

Tabela 3- Efeito da inclusão de cal (0; 0,5 e 1,0% na MN da cana-de-açúcar), dos tempos de exposição da cana-de açúcar à cal (0 ou 3 dias) e dos indicadores externos: dióxido de titânio (Ti) ou óxido crômico(Cr) nas estimativas das digestibilidades aparentes total da MS, MO, PB, EE, FDNcp e dos CNF, no teor de NDT e nos ganhos de peso (GP) em novilhas Nelore

Item	Tempos (D)		P	Indicador (I)		P	Cal (C)			P	DVP	Interacoes			
	0	3		Ti	Cr		0	0,5	1,0			DxC	DxI	CxI	DxCxI
Digestibilidade Aparente Total (%)															
MS	54,91	57,10	0,02	55,85	56,16	0,37	56,69	58,09	53,24	<0,01	1,33	<0,01	0,62	0,77	0,61
MO	57,94	59,32	0,10	58,51	58,75	0,52	58,92	60,74	56,23	<0,01	1.41	<0,01	0,39	0,80	0,73
PB	56,15	66,50	<0,0001	61,12	61,53	0,44	60,25	63,83	59,90	0,06	2,00	<0,01	0,62	0,66	0,55
EE	68,70	71,86	0,32	69,91	70,65	0,15	67,04	70,71	73,08	0,30	1,95	0,44	0,29	0,64	0,55
FDNcp	21,86	35,65	<0,0001	28,70	28,81	0,46	29,74	30,67	25,85	0,09	0,53	0,01	0,63	0,74	0,64
CNF	84,42	80,60	<0,01	82,43	82,59	0,40	83,12	85,04	79,37	<0,01	0,70	0,24	0,95	0,90	0,66
NDT	56,38	56,64	0,36	56,64	56,93	0,36	57,09	59,57	53,69	<0,01	1.19	<0,01	0,62	0,78	0,60
													Contraste (P - valor)		
													Linear	Quadrático	
GP (kg)	0,458	0,596	0,11	-	-	-	0,683	0,561	0,336	0,01	0,23	0,69	0,01	0,56	

DVP = Desvio padrão

Tabela 4- Efeito da interação entre a inclusão de cal (0; 0,5 e 1,0% na MN da cana-de-açúcar) e os tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal (0 ou 3 dias) nas estimativas das digestibilidades aparentes total da MS, MO, PB, FDNcp, e teor de NDT em novilhas Nelore

Item	Tempo de Exposição (Dias)	Cal			Contraste (<i>P</i> - valor)	
		0	0,5	1,0	L C/ D	Q C/ D
MS	0	57,85	56,23a	50,65a	<0,0001	0,13
	3	55,52	59,96b	55,83b	0,84	<0,01
MO	0	60,41a	59,03a	54,39a	<0,01	0,20
	3	57,44b	62,45b	58,07b	0,66	<0,01
PB	0	59,11	57,14a	52,20a	<0,01	0,49
	3	61,39	70,53b	67,60b	0,02	<0,01
FDNcp	0	26,81	22,88a	15,89a	<0,01	0,58
	3	32,67	38,46b	35,81b	0,33	0,13
NDT	0	59,39	578,66a	52,10a	<0,0001	0,15
	3	54,79	61,47b	55,29b	0,74	<0,0001

* Médias de dias dentro do mesmo nível de cal seguidas por letras diferentes, diferem pelo teste t ($P < 0,05$). C/ D corresponde ao efeito do nível de cal (0; 0,5 e 1,0% MN da cana-de-açúcar) dentro do tempo de exposição (0 ou 3 dias).

Pina et al. (2008b), avaliando o efeito dos níveis de concentrado (20 e 40% MS da dieta) e de PNDR (25 e 40% PB) em dietas à base de silagem de milho, em novilhas Nelore, não observaram diferenças entre os indicadores externos (Ti ou Cr), quando utilizados para estimar os fluxos de matéria seca (MS) fecal, ileal e abomasal .

Não foi observada interação significativa entre o tempo de exposição e o nível de inclusão de cal para o ganho de peso ($P = 0,69$). O tempo de exposição da cana-de-açúcar à cal não influenciou o desempenho dos animais ($P = 0,11$), contudo o nível de inclusão de cal reduziu linearmente ($P = 0,01$) o ganho de peso dos animais. Esse efeito da cal sobre o desempenho dos animais pode ser consequência do efeito da mesma sobre o consumo de MO, já que esse consumo reduziu linearmente ($P < 0,01$) com a inclusão de cal.

Alleoni et al. (2006), avaliando a utilização da cana-de-açúcar como volumoso exclusivo (80% da MS dietética) acrescida com quatro diferentes suplementos concentrados (20% na base da MS dietética), observaram variação na ingestão de MS de 4,46 a 5,97 kg/ dia e no ganho de peso médio diário dos animais de 320 a 621g. Esses valores são próximos da variação encontrada no presente experimento, que foi de 5,65 a 6,29 kg/ dia e de 336 a 683 g/dia, para o consumo de MS dietética e o ganho de peso médio diário, respectivamente (Tabelas 2 e 3).

Alvarez et al. (1977), alimentando novilhos com cana-de-açúcar imediatamente após o corte ou após 24 horas de armazenamento, relataram redução no ganho de peso médio diário, que variou de 795 a 658 g/dia. Porém, não foi observado efeito significativo do período de armazenamento sobre o consumo, que variou de 6,27 a 6,17 kg de MS por dia. Dessa forma, o efeito no desempenho foi atribuído a uma menor eficiência de utilização do alimento ingerido, quando o mesmo foi pré-fermentado antes do fornecimento aos animais.

Foram observadas interações significativas ($P<0,05$) entre o tempo de exposição e o nível de inclusão de cal para as estimativas de digestibilidade aparente total da MS, MO, PB e FDNcp e para o teor de NDT, (Tabela 3). O desdobramento das interações pode ser observado na Tabela 4 e as respectivas equações de regressão nas Figuras 1 e 2.

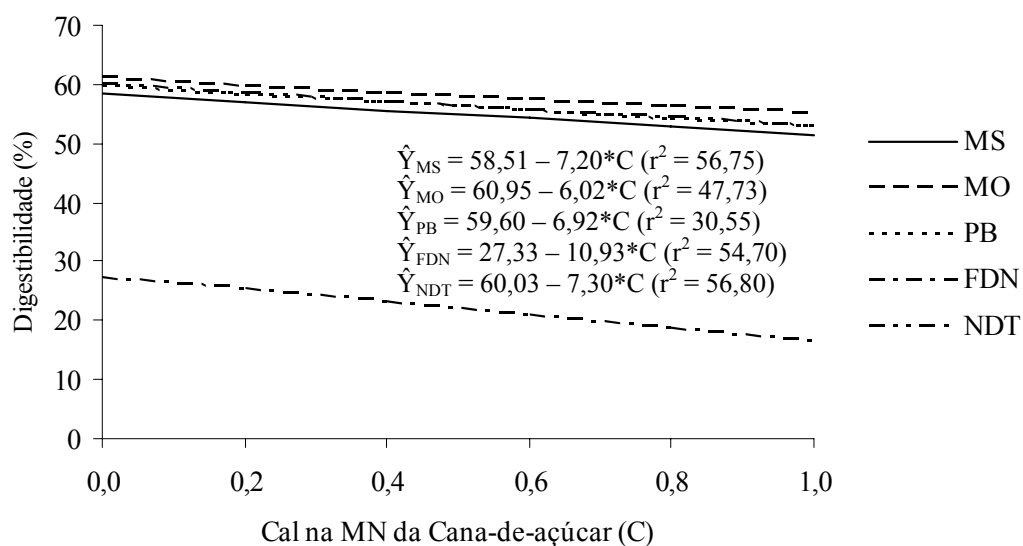


Figura 1 – Relação entre o nível de inclusão de cal (%MN) e o coeficiente de digestibilidade aparente total da MS, MO, PB, FDN e o total de nutrientes digestíveis (NDT) dentro do tempo de exposição de 0 dias.

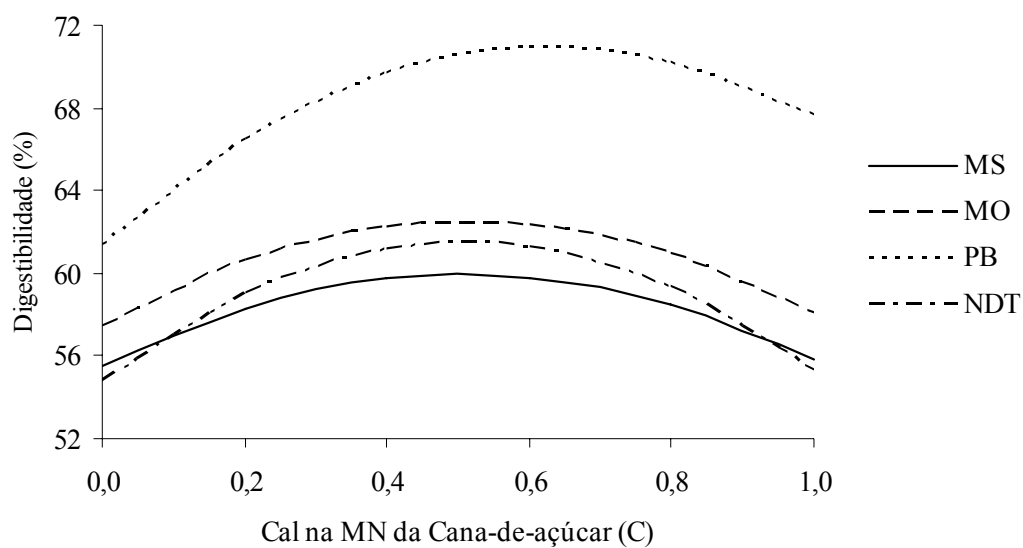


Figura 2 – Relação entre o nível de inclusão de cal (%MN) e o coeficiente de digestibilidade aparente total da MS, MO, PB e o NDT dentro do tempo de exposição de 3 dias.

Não foi observado efeito dos tempos de exposição, nem dos níveis de inclusão de cal sobre o coeficiente de digestibilidade aparente total do EE ($P = 0,32$ e $P = 0,30$, respectivamente). Contudo, o coeficiente de digestibilidade aparente total do CNF foi

reduzido ($P<0,01$) de 84,42 para 80,60% na dieta contendo cana-de-açúcar armazenada durante 3 dias. O nível de inclusão de cal influenciou quadraticamente ($P<0,01$) o coeficiente de digestibilidade aparente total dos CNF (Table 3).

O aumento do tempo de exposição da cana-de-açúcar de 0 para 3 dias influenciou positivamente os coeficientes de digestibilidade aparente total da MS, MO, PB e FDN e os teores de NDT dentro dos níveis de inclusão de 0,5 e 1,0% de cal. Contudo, na ausência de cal (nível zero de inclusão), o aumento no tempo de armazenamento reduziu a digestibilidade da MO e o teor de NDT, mas não foram observados efeitos do tempo de exposição dentro do nível zero de inclusão de cal para a digestibilidade aparente total da MS, PB e FDNcp.

Analizando o efeito da inclusão de cal dentro de cada tempo de armazenamento, observa-se que a inclusão reduziu linearmente ($P<0,01$) os coeficientes de digestibilidade aparente total da MS, MO, PB e FDNcp e o teor de NDT das dietas dentro do tempo de exposição zero (Figura 1). Todavia, comportamento quadrático ($P<0,01$) foi observado para os coeficientes de digestibilidade da MS, MO, PB e para o teor de NDT das dietas em relação ao nível de inclusão de cal após 3 dias de armazenamento da cana-de-açúcar (Figura 2). Os pontos de máximo para os coeficientes de digestibilidades aparente total da MS, MO, PB e do teor de NDT foram obtidos com um nível de inclusão de 0,51; 0,52; 0,63 e 0,51 % de cal na MN da cana-de-açúcar.

Minor & Hovell (1977), avaliando o efeito de um período de exposição (0 e 24 horas) da cana-de-açúcar ao hidróxido de sódio (0, 30 e 60 g/kg de MN) sobre o coeficiente de digestibilidade aparente total da MS, não observaram efeito significativo dos tratamentos em relação ao mesmo, o qual variou de 54,30 a 59,7%. Alleoni et al. (2006), avaliando a utilização da cana-de-açúcar como volumoso exclusivo (80% na

base da MS dietética) acrescida com quatro diferentes suplementos concentrados (20% na base da MS dietética), observaram uma variação na digestibilidade aparente total da MS de 58,55 a 64,16% e no teor de NDT de 63,12 a 66,04%. Estes valores encontram-se próximos aos do presente experimento, no qual, a digestibilidade aparente total da MS variou de 50,65 a 59,96% e o teor de NDT de 52,10 a 61,47% em relação ao nível de inclusão independentemente do tempo de exposição. Porém, são inferiores aos valores relatados por Preston (1977), que variaram de 66,70 a 68,20% para cana-de-açúcar triturada em pedaços de aproximadamente 20; 7,5; e 3,5 mm.

Diante do exposto, pode-se inferir que o nível de inclusão de cal afeta positivamente a digestibilidade dos nutrientes, quando se permite um tempo de exposição de 3 dias à mesma, de modo que sua ação hidrolítica possa aumentar a disponibilidade dos nutrientes. Já a inclusão de cal na cana-de-açúcar para o fornecimento imediato aos animais, influenciou de maneira negativa a disponibilidade e o consumo de alguns nutrientes.

Conclusão

Considerando que a hidrólise da cana-de-açúcar com cal, após três dias de armazenamento, resulta em melhoria na digestibilidade de alguns nutrientes, mas em diminuição do consumo de NDT e, conseqüentemente, em redução do ganho de peso, não se recomenda fornecer a cana-de-açúcar tratada com cal.

Conclui-se também que os indicadores Ti e Cr são igualmente efetivos para estimar os consumos individuais de concentrado de bovinos alimentados em grupo, e que a cana-de-açúcar armazenada durante três dias sem qualquer tratamento não altera o desempenho de novilhas Nelore em crescimento.

Literatura Citada

ALLEN, M.S. and MERTENS, D.R. Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. The Journal of Nutrition. p. 261-270, 1987.

- ALLEONI, G.F.; BOIN, C.; BEISMANN, D.A. Utilização de diferentes suplementos no desempenho de bovinos alimentados com dietas básicas de cana-de-açúcar. Boletim da Indústria Animal. v. 63, p. 165-175, 2006.
- ALVAREZ, F.J.; WILSON, A.; PRESTON, T.R. Effect of spontaneous fermentation of sugar cane on performance of zebu bulls. Tropical Animal Production. v. 4, n. 1, p. 51-54, 1977.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Avaliação da técnica de indicadores na estimação do consumo por ruminantes em pastejo. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia. n.46, p.40-57, 2004.
- GONZALES, E. and MACLEOD, N. A. Spontaneous fermentation of sugarcane Tropical Animal Production. v. 1, p. 80 - 85, 1976.
- KAPS, A.; LAMBERSON, W. Biostatistics for animal science. CABI publishing. Cambridge. MA. USA. 2004. 445p.
- LIMA, J.A.; CUNHA, E.A.; JÚNIOR, E.F. et al. Valor nutritivo da silagem de cana-de-açúcar aditivada com hidróxido de cálcio. B. Industr. Anim. v. 64, p. 329-338, 2007.
- LOSADA, H.; ARANDA, E.; ALDERETE, R.; RUIZ, L. et al. The voluntary intake by cattle of chopped sugar cane treated with sodium hydroxide. Tropical Animal Production. v. 4, n. 1, p. 49-52, 1977.
- MINOR, S. and HOVELL, S.D. Digestibility of sugarcane treated with sodium hydroxide. In: THIRD ANNUAL MEETING DOMINICAN CENTRE FOR LIVESTOCK RESEARCH WITH SUGAR CANE (Division de Ganaderia y Boyada del Consejo Estatal del Azúcar (CEAGANA) 30, 31 January and 1 February 1978.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. Journal of Animal Science, v.82, p.179-183, 2004.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7 ed. Whashington, D.C. National Academic Press, 2001. 381 p.
- OLIVEIRA, M.D.S.; QUEIROZ, M.A.A.; CALDEIRÃO, E.; et al. Efeito da hidrólise com NaOH sobre a digestibilidade “in vitro” da matéria seca da cana-de-açúcar (saccharum officinarum L.). Ars Veterinária, v18, n.2, p. 167-173, 2002.

- ORTIZ-RUBIO, M.A.; ORSKOV, E.R.; MILNE, J. et al. Effects of different sources of nitrogen on in situ degradability and feed intake of zebu cattle fed sugarcane tops (*Saccharum officinarum*). *Animal Feed Science and Technology*. v. 139, p. 143-158, 2007.
- PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. et al. Níveis de inclusão e tempos de exposição do óxido de cálcio à cana-de-açúcar sobre parâmetros digestivos e fisiológicos de novilhas Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia* (submetido). 2008a.
- PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; TEDESCHI, L.O. et al. Influence of different levels of concentrate and ruminally undegraded protein on the digestive parameters in beef heifers. *Journal of Animal Science* (submitted). 2008b.
- PONTES, R.A.M. Desempenho de ovinos alimentados com cana-de-açúcar in natura ou ensilada com óxido de cálcio. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 75p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- PRESTON, T.R. Nutritive value of sugarcane for ruminants. *Tropical Animal Production*. v. 2, n. 2, p. 125-142, 1977.
- SANTOS, M.C.; NUSSIO, L.G.; SOUSA, D.P. et al. Estabilidade aeróbia e perda de matéria seca de cana-de-açúcar in natura tratada com níveis crescentes de óxido de cálcio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., Goiânia, 2005. Anais... Goiânia: SBZ, CD ROM, 2005.
- SCHMIDT, P., MARI, L., J.; NUSSIO, L., G. Cana-de-açúcar tratada com cal virgem: fatos & mitos. In: Milkpoint, 2006. [Http://www.milkpoint.com.br](http://www.milkpoint.com.br), 2006.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. SAS/STAT user's guide (Release 8.0), Cary: 1999.
- TITGEMEYER; E.C.; ARMENDARIZ, C. K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *Journal of Animal Science*. v. 79, p.1059-1063, 2001.
- VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos BR-CORTE. VIÇOSA : UFV, DZO, 2006a. 142 p.
- VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, E.H.B.C.; DETMANN, E. et al. Perspectiva do uso de indicadores para estimar o consumo individual de bovinos alimentados em

- grupo. In: ANAIS DE SÍMPOSIOS DA 43ª REUNIÃO ANUAL DA SBZ, João Pessoa – PB, 2006b. p. 291-322
- VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2. ed. London: Comstock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. Analysis of forages and fibrous foods. Ithaca: Cornell University, 1985. 202p.
- WILLIAMS, C.H., DAVID, D.J., IISMA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. Journal of Agricultural Science, v.59, n.3, p.381-385, 1962.

Níveis de Inclusão e Tempos de Exposição do Óxido de Cálcio à Cana-de-Açúcar sobre Parâmetros Digestivos e Fisiológicos de Novilhas Nelore

Resumo: O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de óxido de cálcio (cal) e dos tempos exposição da cana-de-açúcar à cal sobre as digestibilidades totais e parciais, o consumo de nutrientes e os parâmetros ruminais, bem como, comparar o dióxido de titânio (Ti) e o óxido crômico (Cr) para estimar a excreção de matéria seca fecal (MSF) e abomasal (MSABO). Utilizaram-se seis fêmeas Nelore, com pesos médios de 250 ± 19 kg, fistuladas no rúmen e no abomaso, distribuídas em um quadrado latino 6 x 6 incompleto. O experimento constou de quatro períodos, com duração de 12 dias cada, sendo sete para adaptação e cinco para coletas de amostras. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 3 x 2, sendo três níveis de inclusão de cal (0; 0,5 ou 1% na matéria natural da cana-de-açúcar) e dois tempos de armazenamento da cana (0 e 3 dias). Não houve efeito ($P>0,05$) dos tempos de armazenamento, nem da interação entre os tratamentos ($P>0,05$) sobre os consumos de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDNcp) e carboidratos não fibrosos (CNF). Contudo, os níveis de inclusão de cal aumentaram linearmente ($P<0,05$) os consumos de MS, MO e CNF, mas não afetaram ($P>0,05$) os de PB, EE e FDNcp. Os tempos de armazenamento reduziram ($P<0,05$) a digestibilidade aparente da MS, MO e FDNcp, mas não influenciaram ($P>0,05$) a digestibilidade aparente ruminal dos nutrientes. A inclusão de cal aumentou ($P<0,05$) o consumo de NDT (kg/ dia), porém não afetou ($P>0,05$) a digestibilidade total e ruminal dos nutrientes. Os indicadores produziram resultados similares ($P>0,05$) para as estimativas de digestibilidade aparente total e ruminal de todos os nutrientes avaliados. Foram observadas interações ($P<0,05$) para o pH ruminal. Contudo, os valores de $N-NH_3$ foram influenciados somente pelos tempos de amostragem ($P<0,001$). Conclui-se que a adição de cal não teve efeito sobre a preservação da cana-de-açúcar, mas influenciou positivamente o consumo de MS, MO e NDT pelos animais, e que os indicadores produziram estimativas similares para a digestibilidade aparente total e ruminal de todos os nutrientes avaliados.

Palavras-chave: cromo, digestibilidade, fistulados, indicadores e titânio

Levels and Time of Exposure of Sugarcane to Calcium Oxide on the Physiologic and Digestive Parameters of Nellore Heifers

Abstract: The experiment was conducted to evaluate the effect of calcium oxide inclusion levels and exposition time on sugarcane base diets under the partial or total tract digestibility, ruminal parameters and nutrient intakes. The titanium dioxide and chromium oxide also were evaluated as a marker to estimate the fecal (FDMF) and abomasal (ADMF) dry matter flux. Six Nellore heifers with mean body weight at 250 ± 19 kg rumen and abomasum cannulated were allocated in 6×6 Incomplete Latin Square design fitted by carryover effect. The trial was carrying out in 4 periods each period had 12 days, such 7 days for dietary adaptation and 5 days to sample collecting. The treatments were allocated in a factorial arrangement 3×2 , containing three levels of calcium oxide (0; 0.5 and 1.0 in the sugarcane fresh matter) and two levels of exposing duration (0 and 3 days) of the sugarcane to the calcium oxide. There were not effects ($P > 0.05$) of calcium oxide exposing time neither interactions between treatments ($P > 0.05$) on the intake of DM, OM, CP, EE, NDF and NFC. However, the levels of calcium oxide inclusion linearly affected ($P < 0.05$) the intake of DM (kg/ day or % BW), OM and NFC, but did not affect ($P > 0.05$) the intake of CP, EE and NDF. The calcium oxide exposing time decreased ($P < 0.05$) the total tract apparent digestibility of DM, OM and NDF. However, the ruminal apparent digestibilities of all nutrients were not affecting by the calcium oxide exposing time. The level of calcium oxide inclusion increased ($P < 0.05$) the intake of TDN (kg/ day). Nevertheless, any effects ($P > 0.05$) on the digestibility of all nutrients were observed. The markers yielded similar ($P > 0.05$) estimates to ruminal and total tract apparent digestibility of all nutrients. The ruminal pH was affected by treatments ($P < 0.01$) and interactions between treatments ($P < 0.05$) were observed. On the other hand, the ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration was affected only by the time over sampling ($P < 0.001$). In conclusion, the addition of calcium oxide did not have effect on the sugar cane preservation, but had a positively influence on the intake of DM, OM and TDN by the animals. The markers produced similar estimative to total tract and ruminal apparent digestibility of all nutrients.

Key words: cannulated, digestibility, chromium, markers and titanium

Introdução

A utilização clássica da cana-de-açúcar é na forma *in natura*, desintegrada e fornecida diariamente para alimentação animal. Em grandes rebanhos essa técnica torna-se o maior empecilho para utilização deste volumoso, pois requer mão-de-obra diária para cortes, despalhamento, trituração e transporte. Assim, a possibilidade de conservação deste material para fornecimento aos animais por pelo menos 72 horas após o corte, permitiria melhor logística para a utilização do mesmo e conseqüentemente redução dos custos associados com corte, transporte e trituração.

A baixa digestibilidade da FDN da cana-de-açúcar está relacionada à alta concentração de lignina e à sua ligação com os carboidratos estruturais (hemicelulose e celulose), que impede parcialmente a ação dos microrganismos ruminais sobre estes carboidratos. No entanto, essas ligações do tipo éster, nas gramíneas, são particularmente susceptíveis à ação hidrolítica, justificando a utilização de álcalis no tratamento da cana-de-açúcar, que promove solubilização de parte da lignina pelo aumento de pH (Van Soest, 1994). O uso do óxido de cálcio, ou cal virgem, para tratamento hidrolítico de forragens tem por princípio a formação de hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 , um agente alcalino com moderado poder de hidrólise da fibra (Berger et al., 1994).

Além do consumo adequado de alimento, há necessidade do conhecimento da composição química dos alimentos, bem como a sua digestibilidade, que proporciona a obtenção do valor energético das dietas e a utilização dos nutrientes pelos animais, o que é obtido por meio de estudos de digestão. Recentemente, vários autores, têm avaliado indicadores internos e externos, em busca de estimativas mais confiáveis de

produção fecal, fluxo duodenal e digestibilidades total e parcial (Berchielli et al., 2005; Dias, 2005; Oliveira Jr. et al., 2004).

O óxido crômico, apesar de apresentar alguns problemas, como recuperação às vezes incompleta, variação na recuperação fecal entre animais e concentração nas fezes variável no decorrer do dia, é o indicador externo mais comumente empregado em estudos de digestão por ser de baixo custo, ser rapidamente incorporado à dieta e analisado com relativa facilidade (Titgemeyer, 1997). Porém, Titgemeyer et al. (2001) ressaltaram que o cromo não é aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) como aditivo alimentar. Assim, o dióxido de titânio (TiO_2) surge como alternativa ao cromo como indicador em estudos de digestão, podendo ser adicionado legalmente ao alimento em quantidades que não excedam a 1,0% do produto final (AAFCO, 1996). O dióxido de titânio tem se mostrado efetivo como indicador externo em não-ruminantes, entretanto, existem ainda poucos estudos com animais ruminantes (Kincheloe, 2004).

O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de cal (0; 0,5 e 1,0% na MN da cana-de-açúcar) e dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal (0 e 3 dias) sobre as digestibilidades totais e parciais, os parâmetros ruminais, o balanço de compostos nitrogenados, bem como, comparar o dióxido de titânio e o óxido crômico como indicadores para estimar a fluxo de matéria seca fecal e abomasal.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Animais e de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG. Foram utilizadas seis fêmeas Nelores, com idade

aproximada de 18 meses e pesos médios de 250 ± 19 kg, fistuladas no rúmen e no abomaso e alojadas em baias individuais (4 m²), com piso de concreto, providas de comedouros e bebedouros individuais.

Os animais foram distribuídos em um quadrado latino 6 x 6 incompleto, balanceado para efeito residual. O experimento foi conduzido em quatro períodos, cada um com duração de 12 dias, sendo sete para adaptação às dietas e cinco para coletas. Os tratamentos foram constituídos de 80% de volumoso (cana-de-açúcar) e 20% de concentrados na base da matéria seca (MS). Imediatamente antes do fornecimento, foi adicionado 1% da mistura uréia/sulfato de amônio (SA) na base da matéria natural (MN) para todos os volumosos. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 3 x 2, sendo três níveis de inclusão de cal (0; 0,5 ou 1%) na base da MN e dois tempos de armazenamento da cana (0 e 3 dias). As dietas foram balanceadas de acordo com Valadares Filho et al. (2006), para conter aproximadamente 11,5% de PB. A proporção dos ingredientes na mistura de concentrados e a composição das dietas experimentais podem ser observadas na Tabela 1.

Nos quatro períodos experimentais, a alimentação foi oferecida *ad libitum* duas vezes ao dia, sempre às 8:00 e 16:00 h, na forma de ração completa, permitindo-se sobras de, no máximo, 5 a 10% da matéria natural oferecida. O consumo diário foi mensurado pela diferença entre o fornecido e as sobras, sendo que, no período de coleta, amostras do alimento fornecido e das sobras foram coletadas durante todos os 5 dias e no final foi feita uma amostra composta representativa por animal em cada período, sendo esta, armazenada em saco plástico e congelada a – 20°C, para posteriormente ser analisada. O peso dos animais foi mensurado ao início e ao final de cada período experimental.

Tabela 1- Proporção dos ingredientes na mistura de concentrados e composição bromatológica das dietas experimentais

Item	Tempos de armazenamento (dias)					
	0			3		
	0 % cal	0,5 % cal	1,0 % cal	0 % cal	0,5% cal	1,0 % cal
Composição das Dietas						
MS	40,57	41,54	42,66	39,56	42,53	43,59
MO ¹	95,82	95,94	93,86	96,38	95,88	93,68
PB ¹	11,66	11,38	10,96	12,06	11,88	11,30
EE ¹	2,06	2,04	2,08	2,20	2,24	2,25
FDNcp ¹	40,48	39,07	38,44	43,66	42,02	40,28
CNF ¹	41,62	43,45	42,93	38,08	39,75	40,22
Ca ¹	0,36	1,34	2,36	0,36	1,34	2,36

¹ Proporção na matéria seca da dieta.

Proporção dos ingredientes do concentrado (%MN): fúba de milho = 76,67; farelo de soja = 20,00; mistura mineral = 3,33.

M. Mineral: Ca = 240,00 g; P = 174,00g; Zn = 5.270,00 mg; Mn = 2.000,00 mg; F = 1.740,00 mg; Cu = 1.250,00 mg; Co = 100,00 mg; I = 90,00 mg e Se = 15,00 mg. Quantidade por kg de mistura mineral.

A produção de matéria seca fecal e os fluxos de MS, nos compartimentos do trato gastrointestinal, foram estimados com a utilização do óxido crômico e do dióxido de titânio, como indicadores externos, administrados em dose única diária de 10 g cada, via fistula ruminal, do 2º ao 12º dia de cada período experimental, sempre às 12:00 h (Ítavo et al., 2002).

As coletas de fezes e digesta de abomaso foram feitas uma vez ao dia, simultaneamente, em intervalos de 22:00 horas, iniciando-se às 16:00 horas do 8º dia e terminando às 8:00 horas do 12º dia de cada período experimental (Cecava et al., 1990). As amostras foram armazenadas a -15°C e, posteriormente, submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 65°C, por 72 horas, sendo processadas em moinhos de facas com peneira de 1 mm (Silva & Queiroz, 2002). Amostras composta de fezes e digesta de abomaso foram feitas por animal em cada período experimental com base na matéria seca ao ar.

Para avaliação do pH e da concentração de N-NH₃ ruminal, foram realizadas, no 12º dia de cada período experimental, coletas de líquido ruminal imediatamente antes do fornecimento da dieta e 2, 4 e 6 horas após o fornecimento da mesma (8:00, 10:00, 12:00 e 14:00 h, respectivamente). As amostras foram tomadas na região de interface líquido/ sólido do ambiente ruminal e filtradas em camada tripla de gaze, sendo o pH mensurado imediatamente após a amostragem. Uma alíquota de 50 mL foi adicionada de 1 mL de ácido sulfúrico (1:1) e acondicionada em frasco de plástico, identificada e congelada a -15°C para posterior quantificação da concentração de N-NH₃. Os teores de N amoniacal no líquido ruminal, foram avaliados pelo sistema micro-Kjeldahl, sem digestão ácida da amostra, utilizando-se como base para destilação o hidróxido de potássio (2N), após centrifugação da amostra a 1.000 x g, por 15 minutos.

As análises de MS, MO, PB, EE, FDN foram realizadas conforme procedimentos descritos por Silva & Queiroz (2002). As determinações de FDN (Van Soest & Robertson, 1985) foram realizadas utilizando-se o extrator ANKON200 (Ankom Technology Corp., Fairport, NY, USA).

As amostras de fezes e de digesta abomasal foram submetidas à análise de teor de cromo em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme método descrito por Willians et al. (1962) e as de dióxido de titânio conforme método descrito por Myers et al.(2004). Os teores de NDT foram determinados conforme a equação proposta pelo NRC (2001): $NDT = PBd + 2,25EEd + FDNd + CNFd$, em que “d” corresponde a fração digestível do nutriente.

O experimento foi analisado segundo delineamento em quadrado latino 6x6 incompleto, em esquema fatorial 3 x 2, sendo três níveis de inclusão de cal e dois tempos de armazenamento da cana-de-açúcar. O efeito de indicador foi estimado pela subdivisão das parcelas experimentais. As avaliações das variáveis pH e concentração

ruminal de amônia foram feitas segundo o esquema de medidas repetidas no tempo (Kaps & Lamberson, 2004). Os resultados foram avaliados por intermédio do procedimento PROC MIXED SAS (SAS, 1999), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I, sendo as comparações entre médias realizadas através de contrastes ortogonais.

Resultados e Discussão

O efeito da inclusão de cal e do tempo de armazenamento da cana sobre os consumos pode ser observado na Tabela 2. Não foi observado efeito ($P>0,05$) da interação entre inclusão de cal e tempo de armazenamento da cana-de-açúcar e do tempo de armazenamento da cana-de-açúcar ($P>0,05$) sobre os consumos de MS, MO, PB, EE, FDNcp e CNF. Corroborando com as observações de Pontes (2007), que não observou efeito dos tempos de armazenamento da cana-de-açúcar (0 e 24 horas), nem da interação entre tempos de armazenamento da cana-de-açúcar e níveis de inclusão de cal sobre o consumo de nutrientes por ovinos. Porém, Alvarez et al. (1977) reportaram redução de 10% no consumo voluntário de cana-de-açúcar, quando houve fermentação por 24 horas e concluíram que isto poderia ser prevenido tratando a cana-de-açúcar com hidróxido de sódio.

Dessa forma, a conservação deste material para fornecimento aos animais por 72 horas após o corte, não influenciaria negativamente o consumo de nutrientes, como observado nesse experimento, mas permitiria melhor logística e, conseqüentemente, redução dos custos de produção. A vantagem da utilização de cal para hidrólise da cana-de-açúcar é a possibilidade de armazenamento da mesma já picada (Santos et al., 2005). Uma vez que ocorrem perdas de matéria seca tanto na cana-de-açúcar *in natura* quanto

na hidrolisada, sendo esta perda menor na cana hidrolisada com 1,0 e 1,5% de cal, quando armazenada por até dez dias já picada.

Tabela 2 - Efeito da inclusão de cal e do tempo de armazenamento da cana-de-açúcar sobre os consumos de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para PB e cinzas (FDNcp) e carboidratos não fibrosos (CNF) em novilhas Nelore

Item	Dias (D)		P	Cal (C)			P	DVP	DxC	Contrastes (P)	
	0	3		0	0,5	1,0				L	Q
MS ¹	3,12	3,12	0,99	2,78	3,25	3,34	0,04	0,38	0,20	0,02	0,30
MS ²	1,25	1,24	0,93	1,12	1,30	1,32	0,05	0,15	0,12	0,02	0,24
MO ¹	2,97	2,98	0,96	2,65	3,13	3,15	0,04	0,35	0,20	0,02	0,18
PB ¹	0,37	0,37	0,92	0,34	0,40	0,37	0,18	0,06	0,33	0,28	0,12
EE ¹	0,08	0,08	0,20	0,08	0,08	0,09	0,14	0,01	0,32	0,06	0,72
FDNcp ¹	1,07	1,09	0,90	0,96	1,13	1,16	0,15	0,19	0,21	0,07	0,42
CNF ¹	1,45	1,45	0,99	1,24	1,54	1,56	0,03	0,22	0,43	0,02	0,16

Equações de regressão		r ²	DVP
MS	$\hat{Y}_{MS} \text{ (kg/ dia)} = 2,7367 + 0,7738 * C$	27,74	0,5326
MS	$\hat{Y}_{MS} \text{ (% PV)} = 1,1217 + 0,2525 * C$	23,76	0,1929
MO	$\hat{Y}_{MO} \text{ (kg/ dia)} = 2,6322 + 0,6906 * C$	25,53	0,5029
CNF	$\hat{Y}_{CNF} \text{ (kg/ dia)} = 1,2862 + 0,3221 * C$	24,87	0,2387

DVP = Desvio padrão

1 Consumos expressos em kg/ dia.

2 Consumos expressos em porcentagem do peso vivo.

Os níveis de inclusão de cal aumentaram linearmente ($P < 0,05$) os consumos de MS, MO e CNF, porém não influenciaram ($P > 0,05$) os consumos de PB, EE e FDNcp (Tabela 2). Uma possível explicação para o efeito dos níveis de cal sobre o consumo de MS, seria a relação positiva observada entre os níveis de cal e o teor MS das dietas. No entanto, também foi observado aumento linear ($P < 0,05$) para o consumo de MO em relação ao nível de inclusão de cal, sugerindo que o mesmo tem um efeito direto sobre

os consumos de MS, MO e CNF, já que o último não mostrou um padrão de variação homogêneo em relação ao nível de cal (Tabela 1).

Contudo, os consumos de MS observados no atual experimento foram baixos, com média de 1,25% PV e 3,12 kg quando comparados aos obtidos por Pina et al. (2008a) trabalhando com dietas similares em nivilhas Nelore (desempenho), observaram redução nos consumos de alguns nutrientes com a inclusão de cal, sendo observado um consumo médio de MS de 6,07 kg por dia.

Losada et al. (1977), estudando o efeito da inclusão de quatro níveis de NaOH (0, 2, 4 e 6%) na matéria seca da cana, encontraram tendência de aumento linear no consumo de acordo com o nível de NaOH (6,82; 7,66; 7,80 e 8,12 kg de MS por dia, para os níveis de 0 a 6%, respectivamente). Ezequiel et al. (2005), avaliando o efeito do tratamento alcalino da cana-de-açúcar com hidróxido de sódio (1,5 a 5,0% de NaOH) sobre a digestibilidade total e o consumo de MS das dietas experimentais utilizando bovinos mestiços (Zebu x Holandês) alimentados com cana-de-açúcar *in natura* hidrolisada, hidrolisada fenada e hidrolisada ensilada como fontes volumosas, observaram efeito significativo do tratamento alcalino com hidróxido de sódio sobre o consumo de MS.

O efeito da inclusão de cal e do tempo de armazenamento da cana-de-açúcar e dos indicadores (Ti ou Cr) sobre os coeficientes de digestibilidade aparente total e ruminal dos nutrientes, bem como sobre a excreção de MS fecal (MSF) e o fluxo de MS abomasal (MSA) podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3 - Efeito da inclusão de cal, do tempo de armazenamento da cana-de-açúcar e dos indicadores externos (TiO₂ ou CR₂O₃) sobre as digestibilidades aparentes total e parcial da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para PB e cinzas (FDNcp) e carboidratos não fibrosos (CNF), sobre o NDT e sobre os fluxos de MS fecal (MSF) e abomasal (MSA) em novilhas Nelore

Item	Dia (D)		P	Indicadores (I)		P	Cal (C)			P	DVP	Interações			
	0	3		Ti	Cr		0	0,5	1,0			DxC	DxI	CxI	DxCxI
Digestibilidade Aparente Total															
MS	62,15	55,28	0,02	58,19	59,24	0,24	59,12	57,58	59,45	0,82	3,01	0,62	0,13	0,20	0,71
MO	65,42	59,03	0,02	61,75	62,70	0,25	62,07	61,39	63,22	0,85	2,76	0,73	0,13	0,19	0,69
PB	64,93	60,92	0,12	62,42	63,43	0,20	63,51	61,18	64,08	0,59	2,61	0,20	0,18	0,21	0,67
EE	77,95	77,14	0,57	77,18	77,92	0,12	78,74	76,65	77,26	0,47	1,57	0,09	0,13	0,25	0,51
FDNcp	37,28	27,90	0,03	31,69	33,48	0,22	34,59	29,70	33,48	0,61	4,88	0,88	0,12	0,20	0,69
CNF	85,86	80,97	0,05	83,23	83,61	0,31	81,47	84,38	84,42	0,48	1,28	0,63	0,10	0,27	0,64
NDT	64,68	59,27	0,07	61,52	62,44	0,25	62,38	61,40	62,15	0,95	2,68	0,83	0,13	0,20	0,68
NDT ¹	2,02	1,84	0,23	1,92	1,94	0,39	1,65	2,02	2,12	0,04	0,09	0,43	0,16	0,20	0,66
MSF ¹	1,18	1,39	0,07	1,30	1,28	0,39	1,14	1,39	1,34	0,16	0,10	0,51	0,16	0,21	0,72
Digestibilidade Aparente Ruminal ²															
MS	45,48	47,27	0,68	45,11	47,65	0,40	41,92	46,19	51,02	0,18	10,30	0,51	0,62	0,94	0,43
MO	54,69	59,26	0,15	55,96	57,98	0,44	53,60	57,43	59,89	0,25	8,79	0,25	0,55	0,94	0,46
PB ³	-16,7	-8,85	0,29	-14,4	-11,2	0,37	-20,6	-9,08	-8,77	0,34	10,62	0,47	0,80	0,87	0,55
EE ³	29,36	34,73	0,51	30,98	33,11	0,24	31,77	25,07	39,28	0,37	6,01	0,70	0,47	0,93	0,56
FDNcp	59,53	59,29	0,98	59,09	59,72	0,93	48,78	54,95	74,49	0,26	21,92	0,53	0,08	0,75	0,72
CNF	70,45	75,50	0,22	72,59	73,36	0,51	73,77	72,86	72,31	0,95	4,01	0,44	0,47	0,98	0,66
MSA ¹	2,25	2,25	0,99	2,28	2,22	0,28	2,04	2,39	2,31	0,12	0,19	0,16	0,72	0,82	0,60

DVP = Desvio padrão.

1 valores expressos em kg/ dia.

2 digestibilidade calculada em função do total digestível.

3 digestibilidade calculada em função do total que chega no compartimento.

O armazenamento da cana por três dias reduziu ($P<0,05$) a digestibilidade aparente total da MS, MO e FDNcp, mas não afetou ($P>0,05$) a digestibilidade aparente total dos demais nutrientes e nem a digestibilidade aparente ruminal dos nutrientes. Os fluxos de MS fecal e abomasal não foram afetados pelos níveis de inclusão de cal, pelos tempos de armazenamento da cana e nem pelos indicadores. Nenhum efeito de interação significativo ($P>0,05$) foi observado para as variáveis analisadas (Tabela 3).

Segundo Van Soest (1994), a baixa digestibilidade da FDN da cana-de-açúcar está relacionada à alta concentração de lignina e a sua ligação com os carboidratos estruturais (hemicelulose e celulose) que impede a ação dos microrganismos ruminais sobre estes carboidratos. No entanto, essas ligações do tipo éster, nas gramíneas, são particularmente susceptíveis à ação hidrolítica, justificando a utilização de álcalis no tratamento da cana-de-açúcar, promovendo solubilização de parte da lignina pelo aumento de pH. Dessa forma, Oliveira et al. (2002) sugeriram que agentes alcalinizantes como o hidróxido de sódio (NaOH); hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2); amônia anidra (NH_3) e mais recentemente o óxido de cálcio (cal) podem ser utilizados para melhorar os coeficientes de digestibilidade de resíduos agroindustriais, palhas e cana-de-açúcar *in natura*.

Contudo, neste experimento, não foi observado nenhum efeito dos níveis de inclusão de cal ou dos tempos de armazenamento da cana sobre a digestibilidade aparente total e ruminal. Segundo Schmidt et al. (2006), o objetivo principal da hidrólise da cana não é de permitir que o animal aproveite melhor a fibra da cana, e sim fazer o animal consumir mais cana e conseqüentemente mais energia (açúcar). O que está em concordância, com as observações deste experimento, onde o nível de inclusão de cal aumentou linearmente ($P<0,05$) o consumo de NDT (kg/ dia).

Apesar do tempo de armazenamento da cana-de-açúcar não afetar o consumo de nutrientes (Tabela 2), esse influenciou negativamente ($P<0,05$) a digestibilidade aparente total da MS, MO e FDNcp, o que pode refletir em perda de qualidade em função do tempo de armazenamento independentemente ($P>0,05$) do nível de inclusão de cal (Tabela 3), que não alterou ($P>0,05$) a digestibilidade aparente total ou ruminal de nenhum dos nutrientes avaliados.

Os indicadores utilizados para estimar os fluxos de matéria seca fecal e abomasal, dióxido de titânio (TiO_2) e óxido crômico (Cr_2O_3), produziram estimativas similares ($P>0,05$) para as digestibilidades da MS, MO, PB, EE, FDNcp e CNF, e conseqüentemente, estimativas equivalentes para o total de nutrientes digestíveis (NDT % ou kg/ dia). Essa ausência de efeito dos indicadores, sugere que ambos são similares para avaliar os locais de digestão dos nutrientes, e que a escolha do melhor indicador deve incluir seu preço e facilidade de análise.

Pina et al. (2008b), trabalhando com novilhas Nelore alimentadas com diferentes níveis de concentrado (20 e 40% na MS da dieta) e diferentes níveis de PNDR (25 e 40% PB), não encontraram diferença significativa ($P>0,05$) entre o dióxido de titânio e do óxido crômico, para estimar os fluxos de matéria seca abomasal, ileal e fecal, corroborando com as observações desse experimento.

O efeito da inclusão de cal e do tempo de armazenamento da cana-de-açúcar e dos tempos de coleta (0, 2, 4 e 6 horas) sobre o pH e N-NH_3 ruminal, bem como, a interação entre os tratamentos podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 - Efeito da inclusão de cal e do tempo de armazenamento da cana-de-açúcar e dos tempos de coleta (0, 2, 4 e 6 horas) sobre o pH e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) em novilhas Nelore

Item	Dias (D)		P	Cal (C)			P	Interações (P)				
	0	3		0	0,5	1,0		T	DxC	DxT	CxT	DxCxT
pH	6,36	6,61	0,01	6,39	6,48	6,57	0,01	0,001	0,02	0,22	0,01	0,83
N-NH ₃	12,0	13,3	0,43	13,4	11,7	12,7	0,71	0,001	0,30	0,33	0,12	0,24

Item	Tempo (horas)				Cal			Contrastes (P)		
	0	2	4	6	0	0,5	1,0	L T/ C	Q T/ C	C T/ C
N-NH ₃	8,19	21,5	12,1	8,70	13,4	11,7	12,7	0,03/ -	0,001/ -	0,001/ -
pH C/ D 0	-	-	-	-	6,32	6,27	6,48	-/ 0,02	-/ 0,04	-
pH C/ D 3	-	-	-	-	6,47	6,68	6,67	-/ 0,01	-/ 0,06	-
pH C/ T 0	-	-	-	-	6,79	6,81	6,79	-/ 0,95	-/ 0,80	-
pH C/ T 2	-	-	-	-	6,35	6,40	6,59	-/ 0,002	-/ 0,28	-
pH C/ T 4	-	-	-	-	6,24	6,37	6,45	-/ 0,003	-/ 0,71	-
pH C/ T 6	-	-	-	-	6,18	6,34	6,47	-/ 0,001	-/ 0,86	-
pH T/ C 0	6,79	6,35	6,24	6,18	-	-	-	0,001/ -	0,001/ -	0,13/ -
pH T/ C 0,5	6,81	6,40	6,37	6,34	-	-	-	0,001/ -	0,001/ -	0,06/ -
pH T/ C 1,0	6,79	6,59	6,45	6,47	-	-	-	0,001/ -	0,01/ -	0,63/ -

L= linear; Q= quadratic; C= cubico e T= tempo.

A concentração de N-NH₃ foi influenciada ($P < 0,001$) pelo tempo de coleta das amostras, observando-se significância para os contrastes linear (L), quadrático (Q) e cúbico. Porém, nenhum efeito da inclusão de cal ($P = 0,71$), do tempo de armazenamento ($P = 0,43$) ou da interação entre os tratamentos ($P > 0,05$) foram observados.

O comportamento das concentrações de N-NH₃ em função do tempo de coleta pode ser observado na Figura 1, sendo que o modelo que melhor se ajustou aos dados foi o cúbico (Tabela 4).

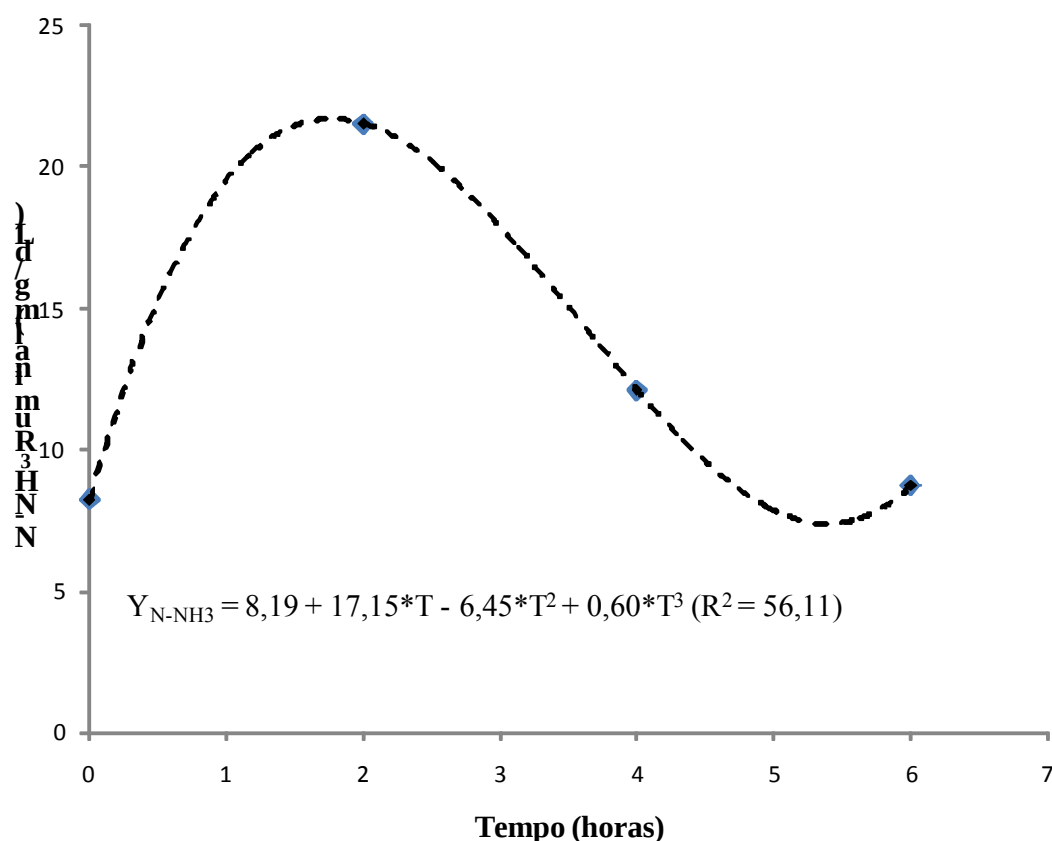


Figura 1 – Concentrações de N-NH₃ ruminal em função dos tempos de coleta das amostras.

As concentrações de N-NH₃ variaram de 8,19 a 21,51 mg/dL nos intervalos de 0 e 6 horas após a alimentação. Estes valores situam-se (no intervalo de duas horas pós-alimentação) na faixa proposta por Mehrez et al. (1977), que afirmaram que a máxima atividade fermentativa ruminal é obtida quando o N amoniacal alcança valores entre 19 e 23 mg N-NH₃/dL de líquido ruminal, enquanto nos demais tempos esses situaram-se acima do mínimo proposto por Satter & Slyter (1974), que estabeleceram que 5 mg N-NH₃/dL de fluido ruminal seria suficiente para promover taxas máximas de crescimento microbiano *in vitro*.

Os valores de pH ruminal foram influenciados ($P < 0,001$) pelos tempos de coleta das amostras, pela inclusão de cal ($P < 0,01$), pelo tempo de armazenamento da cana,

sendo também observadas interações significativas (Tabela 4) entre a inclusão de cal e o tempo de armazenamento da cana-de-açúcar ($P<0,05$) e entre os tempos de coleta das amostras e o nível de inclusão de cal ($P<0,05$). Comportamentos lineares ($P<0,05$) e quadráticos ($P<0,05$) foram observados para o pH devido ao efeito do nível de inclusão de cal dentro do dia zero. Contudo, o comportamento observado para o pH devido ao efeito do nível de inclusão de cal dentro do terceiro dia foi linear ($P<0,05$).

O comportamento do valor de pH devido ao efeito do nível de inclusão de cal dentro do tempo zero não foi linear ($P = 0,95$) e nem quadrático ($P = 0,80$). Contudo, o comportamento de pH devido ao efeito do nível de inclusão de cal dentro dos tempos 2, 4 e 6 horas foram lineares crescentes ($P<0,01$), confirmando o efeito alcalinizante da cal no ambiente ruminal. O valor de pH devido ao efeito do tempo de amostragem dentro dos níveis de inclusão de cal (0; 0,5 e 1,0) foi quadrático ($P<0,001$).

Uma generalização é que o pH abaixo de 6 inibe a degradação da celulose. Sob condições normais, os microrganismos celulolíticos crescem bem em pH igual a 6,7, sendo que desvios substanciais para elevar ou diminuir esse valor são inibitórios. Uma variação de pH em que a atividade poderia manter-se próxima do normal seria de 0,5 unidades. Valores de pH inferiores a 6,2 inibem a taxa de degradação e aumentam o *lag time* para a degradação da parede celular (Van Soest, 1994). Observa-se que os valores de pH ruminal obtidos nesse experimento situaram-se na faixa de 6,18 a 6,81, próximos dos valores sugeridos por Van Soest (1994) e por Hoover (1986), que cita que a digestão ruminal da fibra sofre redução em valores de pH abaixo de 6, sendo a faixa de 6,2 a 7,0 ideal para a digestão da mesma.

Conclusão

A inclusão de cal em até 1% da matéria natural da cana-de-açúcar, promoveu aumento linear no consumo de MS pelos animais, contudo não melhorou a digestibilidade da mesma. O armazenamento da cana por até três dias com ou sem a inclusão de cal, não afetou o consumo de nutrientes, porém proporcionou uma redução na qualidade do material. Os indicadores, dióxido de titânio e óxido crômico, apresentaram estimativas semelhantes para os coeficientes de digestibilidade aparente total e ruminal dos nutrientes.

Literatura Citada

- AAFCO. Official Publication. Association of American Feed Control Officials, Atlanta, GA. 1996.
- BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S. G.; CARRILHO, E.N.V.M. et al. Comparação de marcadores para estimativas de produção fecal e de fluxo de digesta em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.3, p.987-996, 2005.
- BERGER, L.L.; FAHEY, G.C; BOURQUIN, L.D. et al. Modification of forage after harvest. In: fahey, d.c. (ed.) *Forage quality, evaluation, and utilization*. 1.ed. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society, Soil Science Society, 1994. P.922-966.
- CECAVA, M. J., N. R. MERCHEN, L. L. BERGER. et al. Effect of energy level and feeding frequency on site of digestion and postruminal nutrient flows in steers. *J. Dairy sci.* v. 73, p.2470–2479. 1990.
- CHEN, X.B., and GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen: Rowett Research Institute. 21p. 1992
- CHIZZOTTI, M. L. Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas leiteiras. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 142p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- DIAS, M. Técnicas para estimativa de parâmetros de digestibilidade e produção microbiana em bovinos. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 105p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- EZEQUIEL, J. M. B.; QUEIROZ, M. A. Á.; GALATI, R. L.; et al. Processamento da Cana-de-Açúcar: Efeito sobre a Digestibilidade, o Consumo e a Taxa de Passagem¹. *Revista Brasileira de Zootecnia*; v.34, n.5, p.1704-1710, 2005
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal of Dairy Science*, v.69, n.10, p.2755-2766, 1986.
- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Comparação de marcadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo de digesta em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1833-1839, 2002.

- KAPS, A.; LAMBERSON, W. Biostatistics for animal science. CABI publishing. Cambridge. MA. USA. 2004. 445p.
- KINCHELOE, J.J. Variation in supplement intake by grazing beef cows. M.S. Montana State University, 2004.
- LOSADA, H.; ARANDA, E.; ALDERETE, R. et al. The voluntary intake by cattle of chopped sugar cane treated with sodium hydroxide. Tropical Animal Production. v. 4, n. 1, p. 49-52, 1977.
- MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. British Journal of Nutrition, v.38, n.3, p.437-443, 1977.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. Journal of Animal Science, v.82, p.179-183, 2004.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7 ed. Whashington, D.C. National Academic Press, 2001. 381 p.
- OLIVEIRA, M.D.S.; QUEIROZ, M.A.A.; CALDEIRÃO, E.; et al. Efeito da hidrólise com NaOH sobre a digestibilidade “in vitro” da matéria seca da cana-de-açúcar (*saccharum officinarum* L.). Ars Veterinária, v18, n.2, p. 167-173, 2002.
- OLIVEIRA JR., R.C.; PIRES, A.V.; FERNANDES, J.J.R. Substituição total do farelo de soja por uréia ou amiréia, em dietas com alto teor de concentrado, sobre a amônia ruminal, os parâmetros sanguíneos e o metabolismo do nitrogênio em bovinos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia, v.33, n.3, p.738-748, 2004.
- PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. et al. Níveis de inclusão e tempos de exposição do óxido de cálcio à cana-de-açúcar sobre parâmetros digestivos e o desempenho de novilhas Nelore. Revista Brasileira de Zootecnia (submetido). 2008a.
- PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; TEDESCHI, L.O. et al. Influence of different levels of concentrate and ruminally undegraded protein on the digestive parameters in beef heifers. Journal of Animal Science (submitted). 2008b.
- PONTES, R.A.M. Desempenho de ovinos alimentados com cana-de-açúcar in natura ou ensilada com óxido de cálcio. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 75p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2007.

- SANTOS, M.C.; NUSSIO, L.G.; SOUSA, D.P. et al. Estabilidade aeróbia e perda de matéria seca de cana-de-açúcar in natura tratada com níveis crescentes de óxido de cálcio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., Goiânia, 2005. Anais... Goiânia: SBZ, CD ROM, 2005.
- SCHMIDT, P., MARI, L., J.; NUSSIO, L., G. Cana-de-açúcar tratada com cal virgem: fatos & mitos. In: Milkpoint, 2006. [Http://www.milkpoint.com.br](http://www.milkpoint.com.br), 2006.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. SAS/STAT user's guide (Release 8.0), Cary: 1999.
- SATTER, L. D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. The British Journal of Nutrition, v.32, n.2, p.199-209, 1974.
- TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. Journal of Animal Science, v.75, n.8, p.2235-2247, 1997.
- TITGEMEYER; E.C.; ARMENDARIZ, C. K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. Journal of Animal Science. v. 79, p.1059-1063, 2001.
- VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos BR-CORTE. VIÇOSA : UFV, DZO, 2006. 142 p.
- VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2. ed. London: Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. Analysis of forages and fibrous foods. Ithaca: Cornell University, 1985. 202p.
- WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J.; IISMA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. Journal of Agricultural Science, v.59, n.3, p.381-385, 1962.

Níveis de Inclusão e Tempos de Exposição da Cana-de-Açúcar ao Óxido de Cálcio sobre a Síntese Ruminal de Proteína Microbiana em Novilhas Nelore

Resumo: Dois experimentos foram conduzidos com objetivo de avaliar o efeito dos níveis de inclusão (0; 0,5 ou 1% na base da matéria natural da cana-de-açúcar) e tempos (TE) de exposição (0 ou 3 dias) da cana-de-açúcar ao óxido de cálcio (cal) sobre a síntese e eficiência de síntese proteína microbiana ruminal (PBMic). A produção microbiana foi estimada utilizando a excreção urinária de derivados de purinas (DPU) obtida a partir de amostras *spot* de urina ou o fluxo abomasal de bases purinas determinado com o dióxido de titânio (BPTi) ou o óxido crômico (BPCr) como indicadores do fluxo de MS abomasal. No primeiro experimento, 6 fêmeas Nelores, com pesos médios de 250 ± 19 kg fistuladas no rúmen e no abomaso, foram alocadas em um quadrado latino 6 x 6 incompleto, balanceado para efeito residual, contituído por 6 tratamentos e 4 períodos experimentais de 12 dias. No segundo experimento, foram utilizadas 30 fêmeas Nelores, com pesos médios de 315 ± 37 kg, alojadas em 6 baias coletivas (aproximadamente 50 m²) contendo cinco animais por baia. O experimento foi conduzido em três períodos de 28 dias após um período de adaptação de 14 dias. Os tratamentos foram arrançados em um esquema fatorial 3 x 2 e as comparações entre médias foram realizadas através de contrastes ortogonais. As coletas de digesta abomasal foram efetuadas com intervalo de 22 horas durante cinco dias, enquanto as amostras *spot* de urina foram obtidas 4 horas após a alimentação. A quantidade de PBMic sintetizada no rúmen não foi influenciada ($P>0,05$) pelos tempos de exposição ou pela inclusão de cal à cana-de-açúcar em ambos os experimentos. Os indicadores microbianos (DPU, BPTi e BPCr) produziram estimativas similares ($P>0,05$) de síntese e eficiência de síntese de PBMic. Dessa forma, pode-se concluir que todos os indicadores foram adequados para estimar a síntese e a eficiência de síntese de NMic ou PBMic, e que a utilização de amostras *spot* de urina para estimar a excreção urinária de DP, mostrou-se tão eficiente quanto os métodos baseados no fluxo abomasal de bases purínicas para determinar a síntese e a eficiência de síntese microbiana ruminal.

Palavras-chave: cromo, proteína microbiana, purinas e titânio

Levels and Time of Exposure of Sugarcane to Calcium Oxide on the Ruminal Microbial Protein Synthesis at Nellore heifers

Abstract: Two experiments were performed to evaluate the effect of calcium oxide inclusion level (0, 0.5 and 1.0% fresh matter of sugarcane) and the exposing time (0 or 3 days) under sugarcane based diets on the microbial protein (MCP) synthesis and efficiency of synthesis. The urinary purine derivatives excretion (UPD) obtained through urinary spot sampling or abomasum purine bases determined using titanium dioxide (PBTi) or chromic oxide (PBCr) as a marker to estimate the abomasum DM flux, were used to determine the MCP synthesis and efficiency of synthesis. In the first, 6 Nellore heifers with mean body weight of 250 ± 19 kg, ruminally and abomasally cannulated, were allocated in one uncompleted Latin Square design fitted to carry-over effects, constituted by 6 treatments and 4 periods. In the second, 30 Nellore heifers with mean body weight of 315 ± 37 kg were fed in 6 pens (50 m² approximately). The experiment was carried out in three periods of 28 days, after 12 days of adaptation. The treatments were allocated in a 3 x 2 factorial arrangement and the means comparisons were performed by orthogonal contrasts. The abomasum sampling were performed in intervals of 22 hours during 5 consecutive days, rather than urinary spot samples were take 4 hours after feeding. The amount of MCP ruminally synthesized was not affect ($P>0.05$) by the calcium oxide exposing time (0 or 3 days) or inclusion level (0, 0.5 and 1.0% fresh matter of sugarcane) in both experiments. The microbial markers yielded similar ($P>0.05$) estimates of synthesis or efficiency of synthesis of MCP. Therefore, we concluded that all markers were adequate to estimate the MCP synthesis and efficiency of synthesis. And the urinary purine derivatives excretion obtained through the urinary spot samples are as efficient as the methods based on the purine bases in the abomasum to determine the ruminal microbial synthesis and efficiency of synthesis.

Key words: chromium, microbial protein, purine and titanium

Introdução

Apesar de sua especialização digestiva, os animais ruminantes podem ser limitados nutricionalmente pelos componentes da dieta (Ortiz-Rubio et al., 2007). A fermentação espontânea da cana-de-açúcar, a qual ocorre logo após a sua trituração, pode conduzir a conversão de metade dos açúcares solúveis em ácidos orgânicos (Gonzalez and MacLeod, 1976).

Embora esses produtos finais possam ser metabolizados pelos animais, eles possuem pouco valor nutritivo para os microrganismos ruminais, assim, o processo de fermentação da cana-de-açúcar pode reduzir a síntese de proteína microbiana ruminal, afetando o desempenho dos animais (Alvarez et al., 1997). Dessa forma, esquemas de alimentação que alteram a produção de proteína microbiana, afetam a quantidade e a qualidade da proteína que chega ao intestino delgado, por isso, a habilidade para monitorar a síntese microbiana é importante (Moscardini et al., 1998).

O fluxo de nitrogênio (N) microbiano para o duodeno pode ser estimado a partir da excreção urinária de derivados de purina (principalmente alantoína e ácido úrico), sendo que a quantidade de ácido nucléico microbiano e conseqüentemente a síntese microbiana ruminal são aproximadamente correlacionadas com a excreção urinária de derivados de purina (Moscardini et al., 1998). A utilidade dos derivados de purina urinários como um meio de detecção de alterações na síntese microbiana ruminal, pelo menos com a mesma eficiência do método baseado na medição do fluxo duodenal pela técnica de dois indicadores foi demonstrado por González-Ronquillo et al., (2004).

A utilização de amostra *spot* de urina para quantificação do volume urinário, baseado na excreção de creatinina, têm produzido aproximadamente a mesma estimativa da excreção urinária de derivados de purina e conseqüentemente a mesma

produção de PB microbiana, quando comparada à coleta total de urina (Valadares et al., 1999).

Conduziu-se esse trabalho com o objetivo de avaliar o efeito dos níveis de inclusão e dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal sobre a síntese e eficiência de síntese de proteína microbiana, calculada a partir da excreção urinária de derivados de purina obtida com amostras spot de urina ou estimada a partir do fluxo abomasal de bases purinas determinado, utilizando-se o dióxido de titânio (BPTi) ou o óxido crômico (BPCr) para estimar o fluxo de MS abomasal.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Animais e de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG. No primeiro experimento, foram utilizadas seis fêmeas Nelores, com idade aproximada de 18 meses e pesos médios de 250 ± 19 kg, e no segundo, foram utilizadas 30 fêmeas Nelores, com idade aproximada de 24 meses e pesos médios de 315 ± 37 kg.

Experimento 1

Os animais foram fistulados no rúmen e no abomaso e alojados em baias individuais (4 m^2), com piso de concreto, providas de comedouros e de bebedouros individuais, sendo distribuídos em um quadrado latino 6×6 incompleto, balanceado para efeito residual. O experimento foi conduzido em quatro períodos, cada um com duração de 12 dias, sendo sete para adaptação às dietas e cinco para coletas. Os tratamentos foram constituídos de 80% de volumoso (cana-de-açúcar adicionada de 1% da mistura de uréia/sulfato de amônia na hora da alimentação) e 20% de concentrados na base da matéria natural (MN), arranjos em esquema fatorial 3×2 , sendo três níveis

de inclusão de cal (0; 0,5 ou 1% na base da MN) e 2 tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal (0 ou 3 dias).

As dietas foram balanceadas de acordo com Valadares Filho et al. (2006a), para conter aproximadamente 11,5 % de PB. A proporção dos ingredientes na mistura de concentrados e a composição das dietas experimentais podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1- Proporção dos ingredientes na mistura de concentrados e composição bromatológica das dietas experimentais

Item	Tempo de Armazenamento (dias)					
	0			3		
	0 % Cal	0,5 % Cal	1,0 % Cal	0 % Cal	0,5 % Cal	1,0 % Cal
Composição da Dieta						
MS (%)	40,57	41,54	42,66	39,56	42,53	43,59
MO ¹	95,82	95,94	93,86	96,38	95,88	93,68
PB ¹	11,66	11,38	10,96	12,06	11,88	11,30
EE ¹	2,06	2,04	2,08	2,20	2,24	2,25
FDN _{cp} ¹	40,48	39,07	38,44	43,66	42,02	40,28
CNF ¹	41,62	43,45	42,93	38,08	39,75	40,22
Ca ¹	0,36	1,34	2,36	0,36	1,34	2,36

¹ Porcentagem da matéria seca.

Proporção dos ingredientes do concentrado (%MN): fúba de milho = 76,67; farelo de soja = 20,00; mistura mineral = 3,33.

M. Mineral: Ca = 240,00 g; P = 174,00g; Zn = 5.270,00 mg; Mn = 2.000,00 mg; F = 1.740,00 mg; Cu = 1.250,00 mg; Co = 100,00 mg; I = 90,00 mg e Se = 15,00 mg. Quantidade por kg de mistura mineral.

Nos quatro períodos experimentais, a alimentação foi oferecida *ad libitum* duas vezes ao dia, sempre às 8:00 e 16:00 h, na forma de ração completa, permitindo-se sobras de, no máximo, 5 a 10% da matéria natural oferecida. O consumo diário foi mensurado pela diferença entre o fornecido e as sobras, sendo que, no período de coletas, amostras do alimento fornecido e das sobras foram obtidas durante todos os 5 dias e no final foi feita uma amostra composta representativa por animal em cada

período, sendo esta, armazenada a -20°C , para posteriormente ser analisada. O peso dos animais foi mensurado ao início e ao final de cada período experimental.

Os fluxos de MS, nos compartimentos do trato gastrointestinal, foram estimados com a utilização do óxido crômico e do dióxido de titânio como indicadores externos, administrados em dose única diária de 10g cada, via fistula ruminal, do 2º ao 12º dia de cada período experimental, sempre às 12:00 h (Ítavo et al., 2002a).

As coletas de digesta de abomaso foram feitas uma vez ao dia, em intervalos de 22 horas, iniciando-se às 16:00 horas do 8º dia e terminando às 8:00 horas do 12º dia de cada período experimental. As amostras foram armazenadas em saco de plástico a -15°C e, posteriormente, submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C , por 72 horas, sendo processadas em moinho de facas com peneira de 1 mm. Uma amostra composta da digesta de abomaso foi obtida por animal em cada período experimental. As amostras de digestas abomasal foram submetidas à análise de teor de cromo em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme método descrito por Willians et al. (1962) e de titânio, por colorimetria conforme método descrito por Myers et al.(2004).

No 10º dia do período experimental foi coletada, quatro horas após o fornecimento do alimento, uma amostra *spot* de urina de cada animal, sendo que, alíquotas de 10 ml de urina foram diluídas em 40 ml de ácido sulfúrico 0,036 N e congeladas a -20°C , para posteriormente serem avaliadas quanto aos derivados de purinas (ácido úrico e alantoína) e creatinina (Valadares et al., 1997).

No 12º dia de cada período experimental, também foi realizada a coleta de líquido ruminal, com o objetivo de isolar microrganismos ruminais, 6:00 horas após o fornecimento da dieta (Cecava et al., 1990). A quantificação da biomassa microbiana nas amostras do rúmen e digesta de abomaso foram feitas, utilizando-se as bases purinas

como indicadores (Ushida et al., 1985). A eficiência de síntese microbiana foi expressa em g de N microbiano por kg de matéria orgânica aparente (MODR), de matéria orgânica verdadeira (MOVDR) e de carboidratos degradados no rúmen (CHODR) e em g de PB microbiana por kg de NDT consumido.

A alantoína foi determinada na amostra *spot* de urina diluída utilizando-se o método colorimétrico de Fujihara et al. (1987), descrito por Chen & Gomes (1992). A creatinina e o ácido úrico foram determinados na amostra *spot* de urina diluída, utilizando-se kits comerciais (Labtest Diagnóstica S.A.). O volume urinário médio diário foi obtido, dividindo-se a excreção total de creatinina (concentração de creatinina em mg/kg de PV multiplicada pelo peso corporal) pela concentração de creatinina na amostra *spot* de urina, sendo o valor de 27,11 mg/kg de PV de creatinina, utilizado como referência (Barbosa et al., 2006). A excreção total de derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina.

As purinas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (Y, mmol/dia), por intermédio da equação $Y = 0,85X + 0,170PV^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação das purinas absorvidas como derivados de purina e $0,170 PV^{0,75}$ é a contribuição endógena para a excreção de purinas (Osuji et al., 1996). A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Y, gN/dia) foi calculada em função das purinas absorvidas (X, mmol/dia), utilizando-se a equação de Chen & Gomes, (1992): $Y = 70X / (0,83 \times 0,116 \times 1000)$, em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mmol); 0,116 a relação N-purina / N-total nas bactérias (Valadares et al., 1999); e 0,83 a digestibilidade das purinas microbianas.

O experimento foi analisado segundo delineamento em quadrado latino 6 x 6 incompleto, em esquema fatorial 3 x 2, sendo três níveis de inclusão de cal e dois tempos de exposição. O efeito de método para a avaliação da produção microbiana foi

avaliado por subdivisão de parcelas experimentais. Os resultados foram avaliados por intermédio do procedimento PROC MIXED SAS (SAS, 1999), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I, sendo as comparações entre médias realizadas através de contrastes ortogonais e pelo teste “t”.

Experimento 2

Os animais foram alojados em baias coletivas (aproximadamente 50 m²) contendo 5 animais por grupo de alimentação, com piso de concreto e providas de comedouros e de bebedouros coletivos. O experimento foi conduzido em três períodos de 28 dias após um período de adaptação de 14 dias, nos quais os animais foram pesados para ajuste da quantidade de concentrado fornecida ao grupo, sendo o mesmo procedimento realizado no início e final de cada período experimental. As dietas utilizadas e os procedimentos de alimentação dos animais foram idênticos aos descritos para o *experimento 1*.

Aproximadamente na metade do segundo período experimental, às 12:00 horas foram coletadas amostras *spot* de urina de todos os animais. Os procedimentos de coleta, armazenamento e análise das amostras de urina para a estimativa de síntese ruminal de proteína microbiana, são idênticos aos descritos para o *experimento 1*.

O experimento foi analisado segundo delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2, sendo três níveis de inclusão de óxido de cálcio e dois tempos de exposição. Os resultados foram avaliados por intermédio do procedimento PROC MIXED SAS (SAS, 1999), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I, sendo as comparações entre médias realizadas através de contrastes ortogonais e pelo teste de “t” (Kaps & Lamberson, 2004).

Resultados e Discussão

As médias diárias para as estimativas do volume urinário (V), da excreção urinária de alantoína (ALA) e ácido úrico (Ac.U) e do total de derivados de purinas (PT), além da síntese de proteína bruta microbiana (PBMic) e da composição dos microrganismos ruminais em termos do seu teor de compostos nitrogenados (NTMic) e a relação entre nitrogênio no RNA microbiano e o nitrogênio total (NRNA/NT) nos microrganismos, podem ser observadas na Tabela 2. Não foram observadas interações ($P>0,05$) entre os níveis de cal ou tempos de exposição para os dois experimentos em nenhuma das variáveis analisadas.

Não foram observados efeitos ($P>0,05$) dos níveis de inclusão de cal nem dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal sobre as estimativas de volume urinário e excreções urinárias diárias de alantoína, ácido úrico e purinas totais no experimento 1. Contudo, o nível de inclusão de cal influenciou ($P<0,05$) o volume urinário e a excreção urinária de ácido úrico no experimento 2 (Tabela 2). O efeito linear decrescente ($P = 0,02$) do nível de inclusão de cal sobre o volume urinário (experimento 2), pode estar relacionado com a redução no consumo de MO (6,0; 5,88 e 5,21 kg/dia) observada por Pina et al. (2008a), com a inclusão de cal. O volume urinário médio observado nos dois experimentos foi de 2,93 e 8,39 litros por dia. Essa variação pode ser explicada pela diferença de peso dos animais, que refletiu em diferenças no consumo de MS médio entre os experimentos, sendo obtidos valores de 3,12 e 6,07 kg por dia para os experimentos 1 e 2, respectivamente. Esses volumes urinários encontram-se dentro do intervalo relatado por Barbosa et al. (2006), os quais reportaram variação de 3,74 a 8,18 litros por dia, quando utilizaram animais Nelores de diferentes categorias alimentados com dietas contendo dois níveis de concentrado (25 e 50% MS da dieta).

Os valores de excreção urinária diárias de ALA (mmol/dia) obtidos nesse trabalho, variaram de 45,84 a 53,14 para o experimento 1 e de 72,84 a 97,18 para o experimento 2, os valores de PT (mmol/dia) variaram de 46,02 a 55,63 para o experimento 1 e de 79,49 a 107,6 para o experimento 2 (Tabela 2). Esses valores estão próximos aos encontrados por Barbosa et al. (2006), os quais reportaram variação de 58,73 a 92,33 mmol/dia para ALA e de 62,66 a 102,16 mmol/dia para PT.

Não foram observados efeitos ($P>0,05$) dos níveis de inclusão de cal nem dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal sobre as estimativas da composição dos microrganismos ruminais (NMic), e sobre a relação NRNA/NT microbiano. Contudo, efeitos de fonte e quantidade de proteína dietética, bem como, da relação concentrado:volumoso sobre a composição dos microrganismos ruminais e a relação N-RNA/NT microbiano foram relatados por Clark et al. (1992). Isto justifica a importância da estimação da composição microbiana ruminal em todas as condições experimentais de alimentação, para minimizar o efeito da dieta sobre a composição microbiana ruminal nas estimativas de síntese microbiana ruminal.

Tabela 2 - Efeito da inclusão de cal (0; 0,5 e 1,0% na base da MN da cana-de-açúcar) e dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal (0 ou 3 dias) nas estimativas do volume urinário (V litros), da excreção urinária de alantoína (ALA mmol/dia), ácido úrico (Ac.U mmol/dia) e purinas totais (PT mmol/dia), na síntese de compostos nitrogenados (NMic g/dia) e proteína bruta microbiana (PBMic g/dia), no teor de nitrogênio na MS microbiana (NTMic) e na relação nitrogênio RNA/ nitrogênio total microbiano (N-RNA/NT) em novilhas Nelore

Item	Tempo (D)		<i>P</i>	Cal (C)			<i>P</i>	DVP	D x C (<i>P</i>)	Contraste (<i>P</i>)	
	0	3		0,0	0,5	1,0				L	Q
Experimento 1											
V ¹	2,76	3,09	0,36	2,68	2,86	3,24	0,43	0,85	0,35	-	-
ALA	46,74	50,86	0,43	47,42	45,84	53,14	0,48	12,00	0,90	-	-
Ac.U	1,91	2,12	0,69	2,28	2,02	1,73	0,66	1,20	0,99	-	-
PT	50,08	50,91	0,86	49,85	46,02	55,63	0,24	10,01	0,88	-	-
N-RNA/ NTMic	0,109	0,117	0,45	0,109	0,123	0,108	0,31	0,02	0,94	-	-
NTMic	5,88	6,20	0,20	5,94	5,76	5,88	0,10	0,58	0,27	-	-
Experimento 2											
V	6,63	10,15	<0,001	10,29	7,50	7,39	0,03	2,11	0,69	0,02	0,14
ALA	78,34	83,67	0,56	72,84	97,18	72,99	0,06	22,66	0,39	-	0,02*
Ac.U	9,62	10,26	0,64	12,90	10,42	6,50	0,01	3,36	0,98	<0,01	0,61
PT	87,95	93,93	0,55	85,74	107,6	79,49	0,06	23,92	0,42	-	0,02*

DVP = Desvio padrão.

Clark et al. (1992) observaram uma variação no teor de N (%MS) nos microrganismos de 4,83 a 10,58 com uma média de 7,71%. Os valores encontrados no atual experimento de 5,76 a 6,20%, encontram-se dentro da amplitude de valores observados por Clark et al. (1992). Contudo, a média dos valores observados de 5,93 foi inferior ao valor médio de 7,71% descrito por Clark et al. (1992). Veras et al. (2007), avaliando o efeito de diferentes classes sexuais (fêmeas, machos inteiro ou castrados) e diferentes níveis de PB dietética (7, 10, 13 e 15% MS) sobre os parâmetros digestivos e fisiológicos e a produção de proteína microbiana em animais Nelores, observaram uma variação no teor de N na MS microbiana de 6,50 a 7,80%, com uma média de 7,01%.

O efeito da inclusão de cal e dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal nas estimativas das quantidades degradadas no rúmen da MO, MO verdadeira (MOV) e carboidratos totais (CHO) e nas estimativas de eficiência microbiana expressas em relação a MO, MOV e CHO degradados no rúmen (g de NMic/kg) e aos nutrientes digestíveis totais consumidos (g PBMic/kg NDT) estimadas, utilizando a excreção urinária de derivados de purinas (DPU) ou as bases purinas no abomaso (BP), obtidas com o dióxido de titânio (BPTi) ou o óxido crômico (BPCr) como indicadores do fluxo de matéria seca abomasal em novilhas Nelore podem ser observados na Tabela 3. Nenhuma interação ($P > 0,05$) foi observada entre os tratamentos para as variáveis acima descritas

Não foram observados efeitos ($P > 0,05$) dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal nem dos indicadores (Ti ou Cr) sobre as quantidades de MO, MOV ou CHO degradados no rúmen. O nível de inclusão de cal também não influenciou ($P > 0,05$) a quantidade de MO e CHO degradados no rúmen, porém afetou de forma linear crescente ($P = 0,01$) a quantidade de MOV degradada no rúmen.

Tabela 3 - Efeito da inclusão de cal (0; 0,5 e 1,0% na MN da cana-de-açúcar), dos tempo de exposição da cana-de açúcar à cal (0 ou 3 dias) sobre as quantidades degradadas no rúmen de MO, MO verdadeira (MOV) e carboidratos totais (CHO) e a eficiência microbiana (g de NMic/kg) expressa em relação à MO, MOV e CHO degradados no rúmen e ao NDT consumido (g PBMic/kg NDT) obtidas utilizando a excreção urinária de derivados de purinas (DPU) ou as bases purinas no abomaso (BP) estimadas com o dióxido de titânio (BPTi) ou o óxido crômico (BPCr) em novilhas Nelore

Item	Tempo (D)		P	Indicador (I)			P	Cal (C)			P	DVP	Interações			
	0	3		DPU	BPTi	BPCr		0	0,5	1,0			DxC	DxI	CxI	DxCxI
NMic ¹	33,93	29,41	0,15	34,11	30,56	30,35	0,23	28,29	31,93	34,80	0,21	8,08	0,93	0,06	0,52	0,93
PBMic ¹	212,1	183,8	0,15	213,2	191,0	189,7	0,23	176,8	199,5	217,5	0,21	50,49	0,93	0,06	0,52	0,93
EMNDT ¹	111,9	115,6	0,79	122,2	106,5	112,5	0,20	121,2	109,9	110,2	0,74	28,79	0,64	0,07	0,16	0,49
EMMO ¹	34,99	35,69	0,90	37,12	34,53	34,37	0,62	38,45	33,88	33,70	0,77	10,47	0,98	0,22	0,24	0,52
EMMOV ¹	22,93	24,02	0,68	25,41	22,54	22,48	0,20	25,72	21,98	22,73	0,47	6,13	0,98	0,07	0,23	0,54
EMCHO ¹	32,73	34,35	0,76	35,36	32,80	32,46	0,55	35,88	32,10	32,64	0,81	9,65	0,98	0,19	0,23	0,52
PBMic ²	404,1	433,6	0,57	-	-	-	-	389,2	506,9	360,3	0,06	126,09	0,42	-	-	-
EMNDT ²	121,8	124,1	0,88	-	-	-	-	110,6	136,2	122,1	0,37	36,40	0,23	-	-	-

Quantidades digeridas no rúmen (kg/dia)

	Tempo (D)		P	Indicador (I)		P	Cal (C)			P	DVP	Interações			
	0	3		Ti	Cr		0	0,5	1,0			DxC	DxI	CxI	DxCxI
MODR ¹ (kg)	1,03	1,04	0,93	1,04	1,03	0,92	0,83	1,11	1,16	0,07	0,10	0,98	0,78	0,99	0,41
MOVDR ¹ (kg)	1,50	1,33	0,12	1,42	1,41	0,91	1,18	1,50	1,57	0,02	0,07	0,97	0,61	0,93	0,39
CHODR ¹ (kg)	1,07	1,04	0,77	1,05	1,05	0,92	0,87	1,13	1,16	0,06	0,07	0,99	0,83	0,99	0,41

DVP = Desvio padrão.

¹ Experimento 1; ² experimento 2.

Pina et al. (2008b), trabalhando com novilhas Nelore alimentadas com diferentes níveis de concentrado (20 e 40% MS da dieta) e diferentes níveis de PNDR (25 e 40% PB), não encontram diferença entre o dióxido de titânio e o óxido crômico, quando utilizados para estimar a MO, MOV e os CHO degradados no rúmen, corroborando com as observações do experimento 1. A MOV degradada no rúmen, aumentou linearmente com o nível de inclusão de cal, possivelmente, esse efeito esteja relacionado a uma ampliação, embora não significativa na síntese de massa microbiana, a qual, é refletida no aumento na síntese de PBMic de 176,8 a 217,5 g/ dia, quando o nível de inclusão de cal foi 0 ou 1%, respectivamente.

A quantidade de NMic ou PBMic sintetizada no rúmen, não foi influenciada ($P>0,05$) pelos tempos de exposição ou pela inclusão de cal à cana-de-açúcar. Também não foram observados efeitos dos indicadores (DPU, BPTi e BPCr) sobre as estimativas de síntese de NMic e PBMic para o experimento 1 (Tabela 3).

Segundo Gonzalez & MacLeod (1976), a fermentação espontânea da cana-de-açúcar, que ocorre logo após a sua trituração em pequenos pedaços, pode conduzir a conversão de metade dos açúcares solúveis em ácidos orgânicos. Embora esses produtos finais, possam ser metabolizados pelos animais, eles possuem pouco valor nutritivo para os microrganismos ruminais, assim, o processo de fermentação da cana-de-açúcar pode reduzir a síntese microbiana ruminal (Alvarez et al., 1997). Contudo, não foram observados efeitos dos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal sobre a síntese de NMic ou PBMic, quando as mesmas foram estimadas utilizando a excreção urinária de derivados de purinas (experimento 1 e 2) ou o fluxo abomasal de bases purinas utilizando-se o dióxido de titânio ou o óxido crômico como indicadores(experimento 1).

Pina et al. (2008b), trabalhando com novilhas Nelore alimentadas com diferentes níveis de concentrado (20 e 40% MS da dieta) e diferentes níveis de PNDR (25 e 40% PB) em dietas a base de silagem de milho, reportaram diferença significativa ($P<0,05$) nas estimativas de síntese microbiana, quando as mesmas foram obtidas com a excreção total de DP na urina (293,4 g/dia) e o fluxo abomasal de bases purinas estimados usando dióxido de titânio ou óxido crômico (240,4 e 248,0 g/dia, respectivamente). Porém, os autores justificaram que ambas as técnicas foram adequadas, pois produziram valores dentro das amplitudes de variação reportadas em literatura. Corroborando com González-Ronquillo et al. (2004), os quais demonstraram a utilidade dos derivados de purina urinários como um significativo meio de detecção de alterações na síntese microbiana ruminal, pelo menos com a mesma eficiência do método baseado na medição do fluxo duodenal pela técnica de dois indicadores.

Os valores de síntese de PBMic encontrados nos experimentos 1 e 2, variaram de 176,5 a 217,5 g/dia e de 360,3 a 506,9 g/dia, respectivamente. Os valores encontrados no experimento 1, foram próximos aos valores de 208,2 e 339,9 g de PBMic/ dia reportados por Barbosa et al. (2006). Contudo, os valores encontrados no experimento 2, apresentaram-se superiores aos mesmos. Os valores de excreção total de DP na urina se assemelharem mais aos reportados por Barbosa et al. (2006). A explicação para este fato está no valor de excreção endógena de DP utilizado nessa pesquisa de 170 mmol/ kg $PV^{0,75}$ (Osuji et al., 1996) e aquele utilizado por Barbosa et al. (2006) de 385 mmol/ kg $PV^{0,75}$ (Verbic et al., 1990). Segundo Chen & Ørskov (2003), para animais zebuínos devem ser considerados valores de DP endógenos inferiores (0,170 mmol/kg $PV^{0,75}$) aos 0,385 mmol/kg $PV^{0,75}$ sugeridos por estes autores para animais taurinos. Pode-se inferir que a utilização do valor de excreção endógena determinado em animais taurinos de 0,385 mmol/kg $PV^{0,75}$ pode resultar em subestimação da síntese microbiana ruminal

em animais zebuínos, devido a esses possuírem maior eficiência de utilização dos derivados de purinas endógenos em relação aos taurinos (Chen & Ørskov, 2003).

A eficiência de síntese de PBMic no rúmen expressas em relação às quantidades de MO, MOV e CHO degradados no rúmen ou em relação ao NDT ingerido, não foram influenciadas ($P>0,05$) pelos tempo de exposição ou pela inclusão de cal à cana-de-açúcar, nem pelos indicadores (DPU, BPTi e BPCr) utilizados para estimar a quantidade de matéria microbiana sintetizada durante o experimento 1. No experimento 2, também não foram observados efeitos ($P>0,05$) dos tempo de exposição ou da inclusão de cal à cana-de-açúcar sobre as estimativas de eficiência microbiana, expressas em relação ao NDT ingerido (Tabela 3).

Os valores médios de eficiência microbiana expressos em termos de NDT ingerido foram de 113,8 e 123,0 g de PBMic/ kg de NDT para os experimentos 1 e 2, respectivamente. Esses valores são próximos aos reportados por Veras et al. (2007) de 129,1 g de PBMic/ kg de NDT em dietas contendo aproximadamente 13% de PB na MS e compostas por 75% de silagem de milho e 25% de concentrado na base da MS. Os valores encontrados nesse experimento também encontram-se próximos ao valor de 120,0 g de PBMic/ kg de NDT, sugerido por Valadares Filho et al. (2006b) como referência para as condições tropicais.

Os valores médios de eficiência de síntese de NMic no rúmen, expressos em relação às quantidades de MO, MOV e CHO degradados no rúmen encontrados nesse experimento foram de 35,34; 23,48 e 33,54 g de NMic/ kg, respectivamente. Veras et al. (2007) relataram valores bem semelhantes aos encontrados nessa pesquisa, de 29,21 e 22,56 g de NMic/ kg de MO ou MOV degradada no rúmen, respectivamente. Valores de eficiência microbiana de 45,90 g de NMic/ kg de CHO degradados no rúmen em dietas contendo 20% de concentrado foram relatados Ítavo et al. (2002b), que é superior ao encontrado nesse experimento (33,54 g de NMic/

kg de CHO degradados no rúmen). Valores de eficiência microbiana em termos de NDT ingerido e MO e CHO degradados no rúmen similares aos encontrados no presente experimento foram reportados por Pereira et al. (2007), que relataram valores de 123,9 g de PBMic/ kg de NDT; 32,20 e 36,44 g NMic/ kg de MO e CHO degradados no rúmen, respectivamente, quando forneceram 20% de concentrado na MS de dietas à base de silagem de sorgo.

Conclusão

As estimativas de síntese ou eficiência de síntese de PBMic ou NMic não foram influenciadas pelos níveis de inclusão de cal ou pelos tempos de exposição da cana-de-açúcar à cal. Também, não foram influenciadas pelos indicadores microbianos (DPU, BPTi e BPCr). A utilização de amostras *spot* de urina para estimar a excreção urinária de DP, mostrou-se similar aos métodos baseados no fluxo abomasal de bases purínicas para determinar a síntese e a eficiência de síntese microbiana ruminal.

Literatura Citada

- ALVAREZ, F.J.; WILSON, A.; PRESTON, T.R. Effect of spontaneous fermentation of sugar cane on performance of zebu bulls. *Tropical Animal Production*. v. 4, n. 1, p. 51-54, 1977.
- BARBOSA, A. M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Effect of urinary collection days, concentrate levels and protein sources on creatinine, urea and purine derivatives excretions and microbial protein synthesis in Nellore cattle. *Brazilian Journal of Animal Science*. 35: 870-877. 2006.
- CECAVA, M. J.; MERCHEN, N. R.; GAY, L. C. et al. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. *Journal of Dairy Science* v. 73, p. 2480-2488, 1990.
- CHEN, X.B. and GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburn, Aberdeen: Rowett Research Institute. 21p. 1992.
- CHEN, X.B. and ORSKOV, E.R. Research on urinary excretion of purine derivatives on ruminants: past, present and future. International Feed Research Unit, United Kingdom. p. 1 – 34, 2003.
- CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *Journal of Dairy Science* v. 75, p. 2304-2323, 1992.
- FUJIHARA, T.; ORSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *Journal of Agricultural Science*. v.109, p. 7-12, 1987.
- GONZALES, E. and MACLEOD, N. A. Spontaneous fermentation of sugarcane *Tropical Animal Production*. v. 1, p. 80 - 85, 1976.
- GONZÁLEZ-ROQUILLO, M.; BALCELLS, J.; BELENGUER, A. et al. A Comparison of purine derivatives excretion with conventional methods as indices of microbial yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.87, n.7, p.2211-2221, 2004.

- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Comparação de marcadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo de digesta em bovinos. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.4, p.1833-1839, 2002a.
- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Produção microbiana e parâmetros ruminais de novilhos alimentados com dietas contendo vários níveis de concentrado. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.3, p.1553-1561, 2002b.
- KAPS, A.; LAMBERSON, W. Biostatistics for animal science. CABI publishing. Cambridge. MA. USA. 2004. 445p.
- MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T.C.; LUIMES, P.H. et al. Effects of rumen undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. Journal of Dairy Science. v. 81, n.9, p.2421-2429, 1998.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGHUGU, V. et al. Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. Journal of Animal Science, v.82, p.179-183, 2004.
- OSUJI, P.O.; NSAHLAI, I. V.; KHALILI, H. Effect of fasting on the urinary excretion of nitrogen and purine derivatives by zebu (*Bos Indicus*) and crossbred (*Bos indicus* x *Bos taurus*) cattle. J. Appl. Anim. Res. v. 10, p. 39-47. 1996.
- ORTIZ-RUBIO, M.A.; ORSKOV, E.R.; MILNE, J. et al. Effects of different sources of nitrogen on in situ degradability and feed intake of zebu cattle fed sugarcane tops (*Saccharum officinarum*). Animal Feed Science and Technology, v. 139, p. 143-158, 2007.
- PEREIRA, D. H.; PEREIRA, O. G.; DA SILVA, B. C. Intake and total and partial digestibility of nutrients, ruminal pH and ammonia concentration and microbial efficiency in beef cattle fed with diets containing sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) silage and concentrate in different ratios. Livest. Sci. v. 107, p. 53-61. 2007.
- PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. et al. Níveis de inclusão e tempos de exposição do óxido de cálcio à cana-de-açúcar sobre parâmetros digestivos e o desempenho de novilhas Nelore. Revista Brasileira de Zootecnia (submetido). 2008a.
- PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; TEDESCHI, L.O. et al. Influence of different levels of concentrate and ruminally undegraded protein on the digestive parameters in beef heifers. Journal of Animal Science (submitted). 2008b.

- USHIDA, K.; LASSALAS, B.; JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry. Influence of sample treatment and preservation. *Reproduction, Nutrition and Development*. v.25, n.6, 1037-1046, 1985.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *Journal of Dairy Science*, v. 82, p. 2686-2696, 1999.
- VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos BR-CORTE. VIÇOSA : UFV, DZO, 2006a. 142 p.
- VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S.; CHIZZOTTI, M.L. Degradação Ruminal da Proteína dos Alimentos e Síntese de Proteína Microbiana In: EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE ZEBUÍNNOS E TABELAS DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS BR-CORTE. VIÇOSA : UFV, DZO, 142 p. 13- 44, 2006b.
- VERAS, R. M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; AZEVEDO, J. A. G. et al. Increasing crude protein levels in diets of Nellore cattle: intake and ruminal total tract digestibility, microbial protein synthesis, and ruminal metabolism. *Brazilian Journal of Animal Science*, v. 36, p. 1199-1211. 2007
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. *Journal of Agricultural Science*, v.114, n.3, p.243-248, 1990.

Influence of calcium oxide level and time of exposure to sugarcane on *in vitro* and *in situ* digestive kinetics

Abstract: These experiments were carried out to evaluate the effects of 3 inclusion levels of calcium oxide (0, 5, and 10 g/kg of sugarcane fresh matter) and 4 exposure times (0, 24, 48, and 72 h) of sugarcane to calcium oxide on the chemical composition and digestive kinetic parameters of sugarcane using *in vitro* and *in situ* techniques. The treatments were arranged in a 3 by 4 factorial design. Freshly-cut sugarcane (whole plant) was treated with calcium oxide and separated into twelve piles inside a barn to prevent direct exposure to sunlight, rain, and wind. Every day, before and after animal feeding, the calcium oxide was proportionally hand-mixed with approximately 150 kg of freshly-cut sugarcane to make up the dietary treatments. The inferior (**T_i**) and superior (**T_s**) temperature and pH of the treated sugarcane piles were measured immediately before and after sampling. The ether extract (**EE**) and DM were not affected ($P > 0.05$) by either exposure time or inclusion level. However, CP increased linearly ($P = 0.01$) and OM decreased linearly ($P < 0.0001$) as the exposure time and calcium oxide inclusion level increased. Interactions between inclusion level and exposure time on DM, OM, CP, EE, **T_i**, and **T_s** were not observed. However, significant interactions were detected for non-fiber carbohydrate (**NFC**), neutral detergent fiber (**NDF**), and pH. Quadratic effects of exposure time on the **T_i** [$T_i = 24.5297 (\pm 1.8258) + 1.1874 (\pm 0.1241) \times T - 0.0116 (\pm 0.0017) \times T^2$; $R^2 = 82.3$; RMSE= 5.612] and **T_s** [$T_s = 24.1717 (\pm 1.9307) + 1.2065 (\pm 0.1292) \times T - 0.0119 (\pm 0.0017) \times T^2$; $R^2 = 80.7$; RMSE= 5.942] were observed. The maximum temperature was reached with approximately 51 h of exposure time. Calcium oxide affected the insoluble potentially digestible fraction of sugarcane DM and NDF ($P = 0.001$ and $P = 0.001$, respectively), and the undegradable fraction of sugarcane NDF ($P = 0.001$). Interactions between inclusion level and

exposure time on soluble and undegradable fractions of sugarcane DM ($P = 0.0001$ and $P = 0.01$, respectively) were found. However, no interactions ($P > 0.27$) were found between inclusion level and exposure time on NDF digestive kinetic parameters. The fractional digestion rate (**kd**) of sugarcane DM and NDF was not influenced by treatments ($P > 0.05$). The mean values of kd for sugarcane DM and NDF were 0.0235 and 0.0215 h^{-1} , respectively. The gas production kinetics parameters were not affected ($P > 0.05$) by treatments. In summary, the inclusion of calcium oxide improved the *in situ* potentially digestible fraction of sugarcane DM and NDF; however, it did not influence the fractional digestion rate. No effects were observed on the *in vitro* digestive kinetic parameters.

Key Words: calcium oxide, gas production, sugarcane, digestive kinetics

INTRODUCTION

Sugarcane is an important alternative roughage source for ruminants under tropical feeding conditions. The high level of neutral detergent fiber (NDF) negatively affects the intake by animals because of its slow fermentation rate and high proportion of indigestible dry matter. Therefore, alkali treatment have been proposed as an alternative to increase the digestible proportion of sugarcane NDF, thereby providing a more available lignocellulose structure for rumen micro organisms (Molina et al., 1983).

The artificial fiber bag (dacron bag, nylon bag, rumen bag) technique is a tool that can be used to evaluate the quality of feedstuffs and provide information about the process of degradation that occurs within the rumen. The artificial fiber bag technique has the advantage of giving a rapid estimate of the rate and extent of the degradation of the feedstuff in a functioning rumen without the need for more complicated procedures (Ørskov et al., 1980).

On the other hand, the *in vitro* gas production technique has been widely used for feed evaluation and to study the kinetics of microbial fermentation processes in the rumen. This technique is based on the assumption that gas produced in batch cultures inoculated with mixed microorganisms from the rumen is directly related to the amount of substrate fermented (López et al., 2007).

The objective of these experiments was to use the *in vitro* and *in situ* techniques to evaluate the influence of the calcium oxide inclusion level and the time of sugarcane exposure to calcium oxide on the digestive kinetic parameters and the composition of sugarcane.

MATERIALS AND METHODS

Samples Collection and Analysis

Sugarcane samples originated from material used in a feedlot trial described by Pina et al. (2008) in which the samples were collected in three consecutive weeks from the material used to feed the animals. Twelve treatments from a 4 by 3 factorial design consisted of four lengths of time of sugarcane exposure to calcium oxide (0, 24, 48, and 72 h) prior to feeding and three levels of inclusion (concentration) of calcium oxide (0, 5, and 10 g of calcium oxide per kg of the sugarcane fresh matter). The freshly-cut sugarcane (whole plant) was treated with calcium oxide and separated into twelve piles inside a barn to prevent direct exposure to sunlight, rain, and wind. Every day, before feeding the animals, the calcium oxide was proportionally hand-mixed with approximately 150 kg of freshly-cut sugarcane, which composed the dietary treatments to be fed in due time. The inferior (**T_i**) and superior (**T_s**) temperature and pH of the treated sugarcane piles were measured immediately before and after sampling. Sugarcane samples were dried at 60°C in a forced-air oven and ground to pass through a 2-mm screen using a Willey mill

(Model 3, Arthur H. Thomas, Philadelphia, PA). The ground samples were analyzed for ether extract (EE, by loss in weight of the dry sample upon extraction with diethyl ether in a Soxhlet extraction apparatus for 6 h; AOAC, 1990), protein (N analysis via micro Kjeldahl using 0.2 g of sample; AOAC, 1990), NDF (Van Soest et al. 1991, without sodium sulphite), and ash (complete combustion in a muffle furnace at 600°C for 6 h; AOAC, 1990). Non-fiber carbohydrates (NFC) were calculated as $100 - (\%CP + \%NDF + \%EE + \%ash)$ (Hall, 2000).

In Vitro Procedures

The *in vitro* procedures were performed at the Ruminant Nutrition Laboratory of the Texas A&M University and at the Southern Plains Agricultural Research Centre (SPARC) of the United States Department of Agriculture in College Station, TX. Rumen inocula was consistently collected from the same Holstein non-lactating cow (600 kg BW) that had access to medium quality pasture and fed dry cow ration once a day. The ruminal content was collected at the same time at the USDA/ARS (College Station, TX), and transported in a closed plastic container to the Ruminant Nutrition Laboratory (Texas A&M University, College Station, TX). Immediately upon arrival, the rumen content was filtered through four layers of cheesecloth and then through glass wool. During the filtration, the rumen fluid was continuously mixed with CO₂ to minimize changes in microbial population and to avoid O₂ contamination. At the collection, the pH and mille volts of the ruminal fluid were measured using a portable digital pH meter.

The *in vitro* medium used was the phosphate-bicarbonate buffer and reducing solution of Van Soest and Robertson (1985). Samples of 200 mg of sugarcane were transferred to 125-ml Wheaton flasks that contained a Teflon-covered small stir bar. Samples were wetted with 2 mL of boiled distilled water that had been previously cooled to room temperature. The water was

used to avoid particles dispersion. The medium was continuously ventilated with CO₂. The medium pH was controlled by colour change of resazurin indicator from purple to pink or colourless; the optimum pH utilized was between 6.8 and 6.9. Each flask was filled with 14 mL of medium. Strict anaerobic technique was employed in all transfers (Bryant, 1972).

The bottles were closed with previously unused butyl rubber stoppers and crimp sealed. All bottles were placed in the fermentation chamber and the respective sensor for each bottle was inserted with needles. When the fermentation chamber reached 39 °C, 4 mL of the filtered mixed ruminal bacteria inocula was injected into the bottle. The fermentation chamber was closed, and when the internal temperature reached 39 °C the pressure inside each bottle was zeroed by puncturing the stopper with a needle for approximately 5 seconds. The fermentation chamber was closed, and when the temperature reached 39 °C again pressure recording was initiated. The atmospheric pressure was collected at the beginning and at the end of the fermentation.

The fermentation chamber was similar to that described by Pell and Schofield (1993). It included an incubator (chamber) with a multi-place stirrer, pressure sensors attached to the incubation flasks, an analogue to digital converter card, and a computer with software. The pressure was collected automatically by a software program every 5 minutes. After 48 h of fermentation, 576 measurements, one every 5 minutes, had been taken by the computerized system.

After 48 h from the start of the fermentation process the chamber was turned off and the bottles removed. The pH and the μ volts of each bottle were measured by a portable pH meter. Subsequently, the samples were washed with 40 mL of neutral detergent solution (Van Soest et al., 1991) and cooked in an autoclave for 60 min at 105 °C. The undegradable NDF was

estimated by gravimetric method, in which the insoluble neutral detergent residual was filtered through Whatman 54 filter paper, dried 48 h in an oven and weighed.

A modified dual pool logistic model with single lag value (Schofield et al. 1994) was used to fit the *in vitro* gas kinetic profiles. The first and second pools are equivalent to non-fiber (NFC) and fiber carbohydrates (FC), respectively.

$$V = Vf1 * [1 + \exp(2 + \frac{4\mu m1}{Vf1} (L - t))]^{-1} + Vf2 * [1 + \exp(2 + \frac{4\mu m2}{Vf2} (L - t))]^{-1}$$

Where, $\frac{\mu m1}{Vf1}$ and $\frac{\mu m2}{Vf2}$ = specific fractional rate of digestion of each pool; $Vf1$ and $Vf2$ = maximum gas volumes achieved from 48 h of digestion of each pool; L = lag time; t = time; V = Gas volume at t time; and μ_m = maximum rate of gas production.

In Situ Procedures

The *in situ* experiment was carried out at the Animal Laboratory of the Animal Science Department at the Federal University of Viçosa, Brazil. Humane animal care and handling procedures followed the guidelines of the Federal University of Viçosa. Three ruminally-cannulated Nellore heifers, approximately 24 mo of age with an average BW of 320 ± 20 kg, were used to evaluate the effects of levels and times of exposure calcium oxide on the *in situ* DM and NDF digestion kinetics. The heifers were fed *ad libitum* with corn silage as the exclusive source of roughage. The concentrate (1.5 kg for each animal) was supplied once a day (8:00 in the morning) and refusals were weighed and removed every day before the next feeding. Sugarcane samples (1 g) were added to ANKOM filter bags and incubated in the rumen for 3, 6, 12, 24, 36, 48, 72, 96, and 144 h. When the bags were withdrawn from the rumen, they were soaked in water for 30 min, gently washed by hand, under running water until the washing water was clear. The zero time underwent the same procedure described above without the ruminal

incubation. Bags were dried in a forced air oven at 60°C for 72h and weighed on a digital balance to estimate the DM disappearance. Then, bags were analyzed by the ANKOM²⁰⁰ Fiber Analyzer as described by Ferreira and Mertens (2007) and the NDF disappearance was determined by weighing bags in a digital balance after drying in an oven at 60°C for 48h followed by 105 °C for 8 h.

A generalized compartmental model of digestion that assumed the existence of two compartments (lag and digestion) as described by Van Milgen et al. (1991) was used to estimate the kinetic parameters of sugarcane DM and NDF *in situ* degradation profiles. The kinetic parameters were determined by fitting the following general models:

$$\text{Residue DM} = A + B \times (1 + \lambda \times t) \times e^{-\lambda \times t}$$

$$\text{Residue NDF} = B \times (1 + \lambda \times t) \times e^{-\lambda \times t} + C$$

Where A is the soluble fraction, B is the potential digestible fraction, C is the undegradable fraction, λ is the rate constant that included the rate of digestion of the two compartments and t is the time of incubation. The fractional digestion rate (kd) of the digestion compartment was determined as $\lambda/2$.

Statistical Design and Analysis

The statistical analyses were performed using PROC MIXED of SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). The experiment was analyzed as a complete random block design in a factorial arrangement (Kuehl, 2000). The statistical model was:

$$Y = \mu + \beta + c + t + c \times t + \varepsilon$$

where μ is the overall mean, β is the random effect of block, c is the level of calcium oxide inclusion, t is the time of sugarcane exposure to calcium oxide, $c \times t$ is the interaction between

time of exposure and level of calcium oxide, and ε is the random error. The orthogonal contrast was used to evaluate the linear, quadratic and cubic effect of exposure time and the linear and quadratic effect of the calcium oxide inclusion level, respectively.

The nonlinear models (Van Milgen et al., 1991) were fitted using PROC NLIN of SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

RESULTS AND DISCUSSION

Sugarcane Composition, pH, and Temperature

The effects of the inclusion levels and times of exposure of sugarcane to calcium oxide on the chemical composition, pH, and temperature of sugarcane samples are shown in Table 1. The DM and EE contents were not affected ($P > 0.05$) by either exposure time or inclusion level. However, CP increased linearly ($P = 0.01$) and OM decreased linearly ($P < 0.0001$) as exposure times and calcium oxide inclusion levels increased. Interactions between inclusion level and exposure time on DM, OM, CP, EE, Ti, and Ts were not observed. However, significant interactions were detected for NFC, NDF, and pH (Table 1).

Both temperatures (Ti and Ts) were influenced by the exposure time and calcium oxide inclusion levels ($P < 0.0001$ and $P < 0.0001$; respectively). Quadratic effects of exposure time on the Ti [Ti = 24.5297 (± 1.8258) + 1.1874 (± 0.1241) $\times$ Time – 0.0116 (± 0.0017) $\times$ Time² ($R^2 = 82.3$ and RMSE = 5.612] and Ts [Ts = 24.1717 (± 1.9307) + 1.2065 (± 0.1292) $\times$ T – 0.0119 (± 0.0017) $\times$ Time² ($R^2 = 80.7$ and RMSE = 5.942] were observed. The maximum temperature was reached with approximately 51 h of exposure time. The spontaneous sugarcane fermentation that happens after cutting the sugarcane plant can convert up to half the soluble sugars into organic acids, reducing the quality of the sugarcane (Gonzalez and MacLeod, 1976). This fermentation

process is accompanied by a rise in the temperature of the mass. The inclusion of calcium oxide was hypothesized to reduce the fermentation process during the storage phase of the freshly-cut sugarcane. However, contrary to this hypothesis, it was observed an increase in the temperature. A possible explanation for this rise in the temperature even with calcium oxide, is the fact that this compound could increase the capability of the material to retain water, maintaining the heat produced during the fermentation process. This idea agrees with the report by Freitas et al. (2007) who found a linear decrease of the sugarcane DM with increasing inclusion levels of calcium oxide (2.5, 5, 10, 20, and 40 g/kg of sugarcane fresh matter).

The effects of interaction between exposure times and calcium oxide inclusion levels on the sugarcane composition (NFC and NDF) and pH are listed in Table 2. For the treatment without addition of calcium oxide, as exposure time increased a quadratic effect ($P = 0.002$) on the sugarcane NFC content was observed. On the other hand, a linear decrease ($P = 0.001$ and $P < 0.0001$) on the sugarcane NFC content as exposure time increased was observed when calcium oxide was included at 5 or 10 g/kg. Conversely, an inverse relationship was observed with NDF. The possible reason for this result is that the NFC was determined through a summative equation that included the NDF as a component. So any variation in the NDF content would impact the NFC content.

The sugarcane NDF content was decreased linearly ($P < 0.0001$) and increased linearly ($P = 0.01$) by the calcium oxide inclusion level at the 0 and 48 h exposure times, respectively. However, no effects ($P > 0.05$) were found for calcium oxide inclusion level at the 24 and 72 h exposure times. Decreasing the NDF content while increasing the alkali inclusion has been reported for other roughage sources, mainly cereal straws (Molina et al., 1983). These results were likely due to a solubilisation of hemicellulose because the ADF fraction has not been

significantly affected by alkali treatment, as observed by Wilkinson and Gonzales Santillana, (1978). The decrease in NDF content of rhodes grass hay as calcium oxide inclusion increased was reported by Granzin and Dryden (2003). Freitas et al. (2007) evaluated the effect of calcium oxide inclusion (2.5, 5, 10, 20, and 40 g/kg of sugarcane fresh matter) on the sugarcane nutritional quality, and observed a decrease in the NDF content as the calcium oxide inclusion was increased, with 0 or 9 h of exposure time. These results are in agreement with those found in our trial. On the other hand, the increase in the sugarcane NDF content that resulted from the inclusion of calcium oxide for the 48 h exposure time could be due to a counter effect of increased exposure time on the of sugarcane NDF content.

The sugarcane NFC content was increased linearly ($P = 0.01$) by the calcium oxide inclusion level for the 0 h exposure time. However, the sugarcane NFC content was linearly decreased for the exposure times of 24, 48, and 72 h ($P = 0.03$; $P = 0.001$; and $P = 0.002$, respectively). The increase in the sugarcane NFC content due to the calcium oxide inclusion level for the 0 h exposure time was likely due to the decrease in the NDF content. However, the decrease in the NFC content for the exposure times of 24, 48, and 72 h as calcium oxide inclusion level increased could be due to a linear increasing and decreasing effect of exposure time on the NDF and NFC content within the calcium oxide inclusion levels of 5 and 10 g/kg of sugarcane fresh matter, respectively (Table 2).

The sugarcane pH was cubic affected ($P < 0.05$) as exposure time increased regardless of the calcium oxide inclusion level, reaching a stability after 48 h of fermentation. A linear increase ($P < 0.0001$) in the sugarcane pH was observed for each calcium oxide inclusion level regardless of the exposure time. The increase in pH with alkali treatments and decrease with exposure time are in agreement with the results obtained by Molina et al. (1983). The reduction

of pH as exposure time increased could be due to a partial neutralization of alkali by organic acids formed during the fermentation process. As discussed by Gonzalez and MacLeod (1976) the spontaneous sugarcane fermentation that happened after the plants were cut and ground could result in up to half of the soluble sugars being converted into organic acids.

In Situ Fermentation

Table 3 shows the effects of the inclusion level and the exposure time of sugarcane to calcium oxide on the *in situ* digestive kinetic parameters of sugarcane DM and NDF. The inclusion level of calcium oxide to the sugarcane affected the insoluble potentially digestible fraction of sugarcane DM and NDF ($P = 0.001$ and $P = 0.001$; respectively). Conversely, the undegradable fraction of sugarcane NDF was also influenced ($P = 0.001$) by the inclusion level of calcium oxide. The exposure time did not influence the insoluble potentially digestible fraction of sugarcane DM ($P = 0.06$) and NDF ($P = 0.14$). Interactions between exposure time of sugarcane to calcium oxide and calcium oxide inclusion level were found for the soluble and undegradable fractions of sugarcane DM ($P = 0.0001$ and $P = 0.01$; respectively). However, no interactions ($P > 0.27$) were found for NDF digestive kinetic parameters (Table 3).

The fractional digestion rates of sugarcane DM and NDF were not influenced by the exposure time ($P = 0.67$ and $P = 0.63$; respectively) or by the inclusion level of calcium oxide ($P = 0.56$ and $P = 0.62$; respectively). The mean values of fractional digestion rates of sugarcane DM and NDF were 0.0235 and 0.0215 h^{-1} ; respectively (Table 3). As observed in Table 1, approximately 48% and 46% of sugarcane OM were composed of NDF and NFC, respectively. The sugarcane NFC is almost 100% soluble sugars (sucrose). This idea is in agreement with the mean sugarcane DM soluble fraction of 540.49 g/kg . Consequently, the remaining sugarcane

DM insoluble potentially digestible fraction is composed basically by insoluble potentially digestible NDF. Therefore, the 0.0235 and 0.0215 h⁻¹ for DM and NDF kd, respectively, observed in this trial for sugarcane kd are in agreement with these concepts.

As observed in Table 4, the calcium oxide inclusion level increased linearly ($P = 0.001$) the insoluble potentially digestible NDF, and consequently decreased linearly ($P = 0.001$) the NDF undegradable fraction. Similar to NDF, the calcium oxide inclusion level resulted in a linear increase ($P = 0.001$) in the insoluble potentially digestible sugarcane DM fraction. As discussed above, the main component of the insoluble potentially digestible sugarcane DM is the NDF. Therefore, as expected, the effect of calcium oxide inclusion level on the insoluble potentially digestible sugarcane NDF was reflected in the insoluble potentially digestible sugarcane DM fraction. The NDF fractional digestion rate was found by Henriques et al. (2007) to increase with calcium oxide inclusion level (0, 5, 10, 15, and 20 g/kg of sugarcane fresh matter), ranging from 0.0267 to 0.0295 h⁻¹. These values are greater than the ones found in our trial, which ranged from 0.0205 to 0.0230 h⁻¹. Henriques et al. (2007) also reported a positive effect of calcium oxide on the potentially digestible NDF fractions, with values ranging from 498.34 to 605.16 g/kg.

The increase in the sugarcane potentially digestible NDF fraction could be due to an effect of the alkali treatment on the cell wall constituents. Cellulose swells have been reported by Whistler and Teng (1970) as the result of alkali reducing the strength of the inter-molecular hydrogen bonds that bind cellulose molecules together. In addition, the inter-molecular ester linkages between uronic acid groups of hemicelluloses and cellulose are probably hydrolyzed as well (Feist et al., 1970). This observation is in agreement with the study by Morris and Bacon (1976), who observed that the increase in hemicellulose digestibility was probably due to the

release of phenyl and acetyl groups, especially abundant in gramineae. As suggested by Jackson (1977), the swollen cellulose should be more easily attacked by ruminal bacteria, increasing the NDF or DM potentially digestible fractions.

As reported by Allen and Mertens (1988), fiber represents a significant fraction of the diets of ruminants; thus, an animal's performance is related to its ability to consume and digest the fibrous portion of its diet. The fiber fraction that is resistant to degradation and the rate of degradation and passage of potentially degradable fiber are important factors that can constrain digestion of fiber in the rumen, and can interfere with the DMI through the rumen fill effect. Therefore, treatments that reduce the undegradable fraction of fiber should positively impact animal DMI and performance.

The interaction effects between calcium oxide inclusion level and exposure time of sugarcane to calcium oxide on the soluble and undegradable DM fractions of sugarcane are described in Table 4. The inclusion level of calcium oxide increased the soluble fraction linearly ($P = 0.001$) when 0 h of exposure time was used. A linear decrease ($P = 0.01$) with 24 h of exposure time was observed. Conversely, an inverse relationship was observed for the undegradable fraction, which decreased linearly ($P = 0.001$) at the 0 h of exposure time and increased linearly ($P = 0.04$) at the 24 h of exposure time. No effects of calcium oxide inclusion levels on the soluble or undegradable fractions were observed at the 48 and 72 h of exposure time. The exposure time decreased linearly ($P = 0.001$), and increased ($P = 0.0001$) the soluble and undegradable DM fractions when calcium oxide was included at 10 g/kg, respectively. However, no effects were observed for the zero and 5 g/kg inclusion levels of calcium oxide. The linear increase ($P = 0.001$) in the sugarcane soluble DM fraction observed with the calcium oxide inclusion level at the zero h exposure time could be due to a linear increase ($P = 0.01$) of the

sugarcane NFC content imposed by the calcium oxide inclusion level at the zero exposure time (Table 2).

In Vitro Fermentation

Table 5 shows the effects of inclusion levels of calcium oxide and exposure time of sugarcane to calcium oxide on the *in vitro* kinetic parameters of sugarcane DM. Neither the inclusion level of calcium oxide nor the exposure time affected ($P > 0.05$) the gas production kinetic parameters. Interactions between treatments were not observed ($P > 0.05$).

Fernandes et al. (2003) evaluated the digestive kinetic parameters of several sugarcane varieties through the gas production technique. These authors fit the dual pool logistic model (Schofield et al., 1994) to the data and reported mean fractional digestion rates of 0.1835 and 0.0227 h⁻¹ for NFC and FC, respectively. These values are smaller than the ones found in this study (0.2269 and 0.0519 h⁻¹; respectively). However, Fernandes et al. (2003) found a mean total gas volume production of 26.8 mL/100 mg of DM, which was higher than the 19.1 mL/100 mg of DM found in our study. Digestive kinetic parameters of three different sugarcane varieties were evaluated by Azevedo et al. (2003) by fitting the dual pool logistic model (Schofield et al., 1994). They reported mean fractional digestion rates of 0.2910 and 0.0267 h⁻¹ for NFC and FC, respectively, and also reported a mean total gas volume production of 17.2 mL/100 mg of DM and a mean lag time of 3.43 h, which were lower and higher than 19.1 mL/100 mg of DM and 1.71 h, respectively. This difference could be due to variability between the sugarcane varieties use by Fernandes et al. (2003), Azevedo et al. (2003) and that one used in our trial.

The use of the dual pool logistic model (Schofield et al., 1994) to fit the sugarcane gas production profiles rather than a one pool model is justifiable because sugarcane has at least two

different well-defined sources of carbohydrates (NFC and FC) that have very different fractional digestion rates, as can be observed in Table 5.

CONCLUSION

The inclusion of calcium oxide improved the *in situ* potentially digestible fraction of sugarcane DM and NDF. However, it did not influence the fractional digestion rate, and no effects were observed on the *in vitro* digestive kinetic parameters.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) and the Fundação de Apoio à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG, Brazil) for financial support. Appreciation is extended to the staff of the Animal Science Department of the Federal University of Viçosa for their assistance in conducting this experiment, and to students and staff of the Ruminant Nutrition Laboratory at Texas A&M University.

LITERATURE CITED

- AOAC. Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Offic. Anal. Chem., Arlington, VA. 1990.
- Allen, M.S. and Mertens, D.R., 1988 Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. *J. Nutr.* 118, 261-270.
- Azevêdo, J.A.G., Pereira, J.C., Queiroz, A.C., Carneiro, P.C.S., Lanna, R.P., Barbosa, M.H.P., Fernandes, A.M., Rennó, F.P., 2003. Chemical-bromatological composition, fractionation of carbohydrates and in vitro fiber degradation kinetics of three sugarcane (*saccharum* spp.) varieties. *Br. J. Anim. Sci.* 32, 1443-1453.
- Bryant, M. P., 1972. Commentary on the Hungate technique for culture of anaerobic bacteria. *A. J. Clinic. Nutr.* 25, 1324-1328.
- Feist, W. C., Baker, A. J., Tarkow, H., 1970. Alkali requirements for improving the digestibility of hardwoods by rumen micro-organisms. *J. Anim. Sci.* 30, 832-835.
- Ferreira, G., and Mertens, D. R., 2007. Measuring detergent fiber and insoluble protein in corn silage using crucibles or filter bags. *Anim. Feed Sci. Technol.* 133, 335–340 (Short communication).
- Fernandes, A.M., Queiroz, A.C., Pereira, J.C., Lana, R.P., Barbosa, M.H.P., Fonseca, D.M., Detmann, E., Cabral, L.S., Pereira, E.S., Vittori, A., 2003. Fractionation and In Vitro Degradation Kinetics of Carbohydrates Constituents of Sugarcane with Different Cycles of Production and Three Cut Time. *Br. J. Anim. Sci.* 32, 1778-1785 (Suppl. 1).
- Gonzales, E., and Macleod, N.A., 1976. Spontaneous fermentation of sugarcane. *Trop. Anim. Product.* 1, 80 - 85.
- Granzin, B.C., and Dryden, G. McL., 2003. Effects of alkalis, oxidants and urea on the nutritive value of rhodes grass (*Chloris gayana* cv. Callide). *Anim. Feed Sci. Technol.* 103, 113–122
- Hall, M.B., 2000. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. Florida: University of Florida, p. A-25 (Bulletin, 339).
- Jackson, M.G., 1977. Reviews article the alkali treatment of straws. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2, 105-130.
- Kuehl, R.O., 2000. Design of Experiments: Statistical Principles of Research Design and Analysis (2nd. ed.). Duxbury Press, New York.

- López, S., Dhanoa, M.S., Dijkstra, J., Bannink, A., Kebreab, E., France, J., 2007. Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. *Anim. Feed Sci. Technol.* 135, 139-156.
- Molina, E., Boza, J., Aguilera, J.F., 1983. Nutritive value for ruminants of sugar cane bagasse ensiled after spray treatment with different levels of NaOH. *Anim. Feed Sci. Technol.* 9, 1-17.
- Morris, E.J. and Bacon, J.S.D., 1976. Digestion of acetyl groups and cell wall polysaccharides of grasses in the tureen. *Proc. Nutr. Soc.* 35, 94A.
- Ørskov, E.R., DeB Hovell, F. D., Mould, F., 1980. The use of nylon fiber bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Trop. Anim. Prod.* 5 (3), 195-213.
- Pell, A. N., and Schofield, P., 1993. Computerized Monitoring of Gas Production to Measure Forage Digestion In Vitro. *J. Dairy Sci.* 76, 1063-1073.
- Pina, D.S., Valadares Filho, S.C., Tedeschi, L.O., Detmann, E., Azevêdo, J.A.G., Barbosa, A.M., 2008. Levels and exposing duration of calcium oxide under sugar cane on the digestive parameters and performance of nellore heifers. *Br. J. Anim. Sci.* (submitted).
- Schofield, P., Pitt, R.E., Pell, A.N., 1994. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *J. Anim. Sci.* 72, 2980-2991.
- Van Milgen, J., Murphy, M. R., and Berger, L. L. (1991). A compartmental model to analyse ruminal digestion. *J. Dairy Sci.* 74, 2515-2529.
- Van Soest, P.J., and Robertson, J.B., 1985. *Analysis of Forages and Fibrous Foods*. Cornell University, Ithaca.
- Van Soest, P. J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3590.
- Whistler, R.L. and Teng, J., 1970. Cellulose chemistry. In: K.W. Britt (Editor), *Handbook of Pulp and Paper Technology* (2nd edn.). Van Nostrand Reinhold, New York, pp. 13-23.
- Wilkinson, J.M. and Gonzalez Santillana, R., 1978. Ensiled alkali-treated straw. I. Effect of level and type of alkali on the composition and digestibility in vitro of ensiled barley straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 3, 117-132.

Table 1 - Effect of exposure time (0, 24, 48 and 72 hours) of sugarcane to calcium oxide prior to feeding and inclusion levels (0, 5 and 10 g/ kg of sugarcane FM) of calcium oxide on the chemical composition, pH, and temperature of sugarcane

Item	Exposure time (T)				<i>P</i>	Calcium oxide (C.O.)			<i>P</i>	RMSE	C×T	Orthogonal contrast <i>P</i> -value (C / T)		
	0	24	48	72		0	5	10				Linear	Quadratic	Cubic
DM, g/kg	285.54	287.77	279.02	276.93	0.47	283.60	279.68	283.68	0.80	16.60	0.97	- / -	- / -	- / -
OM, g/kg of DM	962.03	947.19	942.13	938.48	0.09	964.56	943.45	921.88	<0.0001	7.28	0.76	<0.0001 / -	0.93 / -	- / -
CP, g/kg of DM	22.71	20.68	24.22	27.18	0.01	24.46	23.28	23.35	0.67	3.58	0.93	- / 0.01	- / 0.05	- / 0.26
EE, g/kg of DM	15.28	15.07	16.81	16.07	0.06	15.42	15.99	15.99	0.47	1.31	0.51	- / -	- / -	- / -
NFC, g/kg of DM	443.66	438.42	400.76	379.84	<0.0001	432.97	419.64	394.40	0.01	27.05	0.001	- / -	- / -	- / -
NDF, g/kg of DM	463.73	473.04	500.38	515.40	0.0002	491.74	484.55	488.13	0.72	21.97	0.0001	- / -	- / -	- / -
pH	9.63	6.04	4.74	4.81	<0.0001	4.18	6.64	8.09	<0.0001	0.32	<0.0001	- / -	- / -	- / -
Ti, °C	23.89	48.26	52.07	50.42	<0.0001	39.33	44.58	47.07	0.0001	3.60	0.46	0.001/0.001	0.31/0.001	- / 0.01
Ts, °C	24.07	46.60	54.40	49.57	<0.0001	38.05	45.60	47.33	<0.0001	3.31	0.34	0.001/0.001	0.02/0.001	- / 0.67

Table 2 – Evaluation of interaction effects between exposure time (0, 24, 48 and 72 hours) of sugarcane to calcium oxide prior to feeding and calcium oxide inclusion levels (0, 5 and 10 g/ kg of sugarcane FM) on NFC (g/kg of DM), NDF (g/kg of DM), and pH of sugarcane

Item	Exposure Time				Calcium Oxide			Contrast (<i>P</i> -value)		
	0	24	48	72	0	5	10	Linear	Quadratic	Cubic
NFC										
0 g/kg	401.17	463.17	456.60	379.84	-	-	-	0.75	0.002	0.68
5 g/kg	461.80	441.80	381.73	393.23	-	-	-	0.001	0.32	0.12
10 g/kg	468.00	410.30	363.93	335.37	-	-	-	<0.0001	0.36	0.93
0 h	-	-	-	-	401.17	461.80	468.00	0.01	0.17	-
24 h	-	-	-	-	463.17	441.80	410.30	0.03	0.79	-
48 h	-	-	-	-	456.60	381.73	363.93	0.001	0.15	-
72 h	-	-	-	-	379.84	393.23	335.37	0.002	0.31	-
NDF										
0 g/kg	521.33	470.13	468.73	506.77	-	-	-	0.44	0.002	0.86
5 g/kg	448.43	471.63	515.83	502.30	-	-	-	0.002	0.16	0.18
10 g/kg	421.43	477.37	516.57	537.13	-	-	-	<0.0001	0.18	0.97
0 h	-	-	-	-	521.33	448.43	421.43	<0.0001	0.15	-
24 h	-	-	-	-	470.13	471.63	477.37	0.69	0.89	-
48 h	-	-	-	-	468.73	515.83	516.57	0.01	0.15	-
72 h	-	-	-	-	506.77	502.30	537.13	0.10	0.22	-
pH										
0 g/kg	5.75	3.73	3.63	3.62	-	-	-	<0.0001	<0.0001	0.04
5 g/kg	11.26	5.76	4.80	4.75	-	-	-	<0.0001	<0.0001	0.002
10 g/kg	11.88	8.63	5.80	6.06	-	-	-	<0.0001	<0.0001	0.004
0 h	-	-	-	-	5.75	11.26	11.88	<0.0001	<0.0001	-
24 h	-	-	-	-	3.73	5.76	8.63	<0.0001	0.08	-
48 h	-	-	-	-	3.63	4.80	5.80	<0.0001	0.71	-
72 h	-	-	-	-	3.62	4.75	6.06	<0.0001	0.71	-

Table 3 – *In situ* ruminal digestive kinetic parameters of sugarcane treated with different levels of calcium oxide (0, 5 and 10 g/ kg of sugarcane fresh basis) and different times of exposure (0, 24, 48 and 72 hours) to calcium oxide prior to feeding

Item	Exposure Time (T)				P-value	Calcium Oxide (CaO)			P-value	RMSE	CaO x T
	0	24	48	72		0	5	10			
DM											
A, g/kg of DM	557.06	553.26	527.26	524.49	0.001	540.31	545.10	536.14	0.51	18.74	0.0001
B, g/kg of DM	188.34	155.10	172.84	178.43	0.06	156.45	167.04	197.54	0.001	24.29	0.27
kd, 1/h	0.0254	0.0240	0.0233	0.0212	0.67	0.0249	0.0238	0.0217	0.56	0.01	0.83
C, g/kg of DM	254.60	291.64	299.90	297.09	0.001	303.23	287.86	266.32	0.001	22.36	0.01
NDF											
B, g/kg of DM	448.94	400.68	406.97	417.58	0.14	384.22	405.07	466.35	0.001	44.88	0.27
kd, 1/h	0.0230	0.0204	0.0223	0.0205	0.63	0.0225	0.0216	0.0205	0.62	0.01	0.80
C, g/kg of DM	551.06	599.32	593.03	582.42	0.14	615.78	594.94	533.65	0.001	44.88	0.27

A = soluble fraction; B insoluble potentially digestible fraction; kd = fractional rate of digestion; and C = undegradable fraction.

Table 4 – Evaluation of interaction effects between exposure time (0, 24, 48 and 72 h) of sugarcane to calcium oxide prior to feeding and calcium oxide inclusion levels (0, 5 and 10 g/ kg of sugarcane fresh basis) on the *in situ* NDF and DM (A and C, g/kg of DM) fermentation kinetic parameters of sugarcane

Item	Calcium Oxide			Exposure Time (T)				Contrast (<i>P</i> -value)		
	0	5	10	0	24	48	72	L	Q	C
NDF										
B, g/kg of DM	384.22	405.07	466.35	-	-	-	-	0.001	0.22	-
C, g/kg of DM	615.78	594.94	533.65	-	-	-	-	0.001	0.22	-
DM										
B, g/kg of DM	156.45	167.04	197.54	-	-	-	-	0.001	0.26	-
A										
0 h	517.00	555.90	598.30	-	-	-	-	0.001	0.90	-
24 h	573.23	563.81	522.74	-	-	-	-	0.01	0.25	-
48 h	541.75	521.08	518.94	-	-	-	-	0.15	0.49	-
72 h	529.28	539.60	504.59	-	-	-	-	0.12	0.10	-
0 g/kg	-	-	-	517.00	573.23	541.75	529.28	0.91	0.01	0.04
5 g/kg	-	-	-	555.90	563.81	521.08	539.60	0.07	0.63	0.04
10 g/kg	-	-	-	598.30	522.74	518.94	504.59	0.001	0.01	0.10
C										
0 h	306.02	257.52	200.26	-	-	-	-	0.001	0.78	-
24 h	311.02	290.23	273.67	-	-	-	-	0.04	0.89	-
48 h	289.64	312.65	297.42	-	-	-	-	0.67	0.24	-
72 h	306.27	291.04	293.95	-	-	-	-	0.51	0.57	-
0 g/kg	-	-	-	306.02	311.02	289.64	306.27	0.72	0.65	0.28
5 g/kg	-	-	-	257.52	290.23	312.65	291.04	0.06	0.05	0.57
10 g/kg	-	-	-	200.26	273.67	297.42	293.95	0.0001	0.01	0.70

Table 5 – *In vitro* kinetic parameters of sugarcane treated with different levels of calcium oxide (0, 5, and 10 g/ kg of sugarcane fresh basis) and different times of exposure (0, 24, 48 and 72 hours) to calcium oxide prior to feeding

Item	Exposure Time (T)				P-value	Calcium Oxide (CaO)			P-value	RMSE	CaO x T
	0	24	48	72		0	5	10			
$\frac{NFC}{V_f1}$ (mL/ 100g of DM)	10.22	10.57	10.10	10.53	0.93	10.50	10.30	10.27	0.95	1.82	0.69
$\frac{NFC}{V_f1}$ (mL gas/ h ⁻¹)	0.2628	0.2124	0.2427	0.1901	0.60	0.2383	0.1948	0.2471	0.54	0.12	0.14
L (h)	1.65	1.76	1.97	1.45	0.18	1.87	1.53	1.72	0.27	0.49	0.70
$\frac{FC}{V_f2}$ (mL/ 100g of DM)	9.64	8.87	7.68	8.74	0.33	9.17	8.19	8.83	0.55	2.19	0.95
$\frac{FC}{V_f2}$ (mL gas/ h ⁻¹)	0.0496	0.0596	0.0429	0.0557	0.77	0.0688	0.0412	0.0458	0.15	0.036	0.95

$\frac{NFC}{V_f1}$ and $\frac{FC}{V_f2}$ = specific fractional rate of digestion of NFC and FC, respectively.

V_f1 and V_f2 = maximum gas volumes achieved from completed digestion of NFC and FC, respectively.

L = lag time.