

LUANA MARTA DE ALMEIDA RUFINO

SUPLEMENTAÇÃO NITROGENADA RUMINAL E/OU ABOMASAL
EM BOVINOS ALIMENTADOS COM FORRAGEM TROPICAL

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011

LUANA MARTA DE ALMEIDA RUFINO

SUPLEMENTAÇÃO NITROGENADA RUMINAL E/OU ABOMASAL
EM BOVINOS ALIMENTADOS COM FORRAGEM TROPICAL

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*

APROVADA: 26 de julho de 2011.

Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho
(Coorientador)

Prof. Mário Fonseca Paulino
(Coorientador)

Prof. Augusto César de Queiroz

Prof^a. Rilene Ferreira Diniz Valadares

Prof. Edenio Detmann
(Orientador)

A Deus, pela presença constante em minha vida e à Nossa Senhora de Fátima pela ajuda em mais uma etapa.

Ao meu pai, Vanderlei, meu grande exemplo de trabalho e honestidade.

À minha mãe, Elza, pelo carinho e pelo incentivo.

Às minhas queridas irmãs, Leidy e Sâmara, por serem minhas grandes amigas.

Ao meu namorado João Paulo, pelo amor e compreensão em todos os momentos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, e ao Departamento de Zootecnia, por tornar possível a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG- PPM) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro para realização deste trabalho.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT-Ciência Animal), pelo apoio na realização deste trabalho.

Ao meu orientador, Professor Edenio Detmann, pela atenção, dedicação, pelos ensinamentos e principalmente pela excelente orientação. Serei sempre grata!

A toda minha família pelo carinho e amor.

Aos meus coorientadores, Professor Mário Fonseca Paulino e Professor Sebastião de Campos Valadares Filho, pelo apoio, ensinamentos e sugestões.

Ao Professor Augusto César de Queiroz e a Professora Rilene Ferreira Diniz Valadares por aceitarem colaborar com este trabalho.

A Professora Maria Ignez Leão, pela colaboração na cirurgia dos animais.

Aos demais professores do Departamento de Zootecnia, pelos ensinamentos e pela agradável convivência.

A Daiany Íris Gomes, pela grande ajuda neste trabalho, pela compreensão e pela amizade em todos os momentos.

Ao Érick Darlisson Batista, e aos estagiários Wiliam Lima Santiago dos Reis e Alexandre Ribeiro Lopes, pela ajuda e colaboração essenciais principalmente durante a fase de campo do experimento.

Aos funcionários do Laboratório de Animais, principalmente Pum e Joélcio que foram muito importantes na condução desse experimento.

Aos amigos Rafael e Elias, pela ajuda durante as fases de coletas e também, Marjorrie e Laura, durante as análises laboratoriais.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, Monteiro, Mário, Wellington, Fernando, Plínio, Valdir e Vera, pela colaboração nas análises laboratoriais.

Aos colegas da Pós: Natália, Márcia, Janderson, Wender, Cláudia, LÍlian, Andressa, Denise, Ériton, Lívia, Nelcino, Lorena, Carmem, Sabrina e Vítor, pela amizade e carinho.

Aos amigos da Toca do Tatu: Timão, Rodolfo, Pedro, Felipe e Matuca, pela amizade e pelos momentos de descontração.

Aos meus amigos da graduação: Carlos, Hugo, Rafael, Marcelina, Greice e Gercino, pelo incentivo e pela torcida.

A Celeste, Fernanda e Edson ,pela atenção e dedicação.

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho. Obrigada!

BIOGRAFIA

Luana Marta de Almeida Rufino, filha de Vanderlei Rufino dos Santos e Elza Soares de Almeida Rufino, nasceu no dia 11 de janeiro de 1987, em Taiobeiras, Minas Gerais.

Em dezembro de 2004, concluiu o curso Técnico em Agropecuária pela Escola Agrotécnica Federal de Salinas-MG.

Em março de 2005, ingressou na Universidade Federal de Minas Gerais, concluindo o curso de graduação em Zootecnia em janeiro de 2010.

Em março de 2010 iniciou o curso de mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 26 de julho de 2011.

ÍNDICE

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	x
Introdução.....	1
Material e Métodos.....	5
Resultados.....	16
Discussão.....	25
Conclusões.....	40
Referências Bibliográficas.....	41

RESUMO

RUFINO, Luana Marta de Almeida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2011. **Suplementação nitrogenada ruminal e/ou abomasal em bovinos alimentados com forragem tropical.** Orientador: Edenio Detmann. Coorientadores: Mário Fonseca Paulino e Sebastião de Campos Valadares Filho.

Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da suplementação com compostos nitrogenados no rúmen e/ou no abomaso sobre o consumo, a digestibilidade, a dinâmica ruminal dos compostos fibrosos e os parâmetros do metabolismo dos compostos nitrogenados em bovinos alimentados com forragem tropical. O experimento foi conduzido entre os meses de junho de 2010 e fevereiro de 2011, sendo utilizados 4 novilhos Nelore, não castrados, com peso corporal médio (PC) de 227 ± 11 kg, fistulados no rúmen e no abomaso. Foram avaliados os seguintes tratamentos: controle (somente forragem basal); suplementação nitrogenada ruminal (fornecimento diário de 230 g de proteína suplementar no rúmen); suplementação nitrogenada abomasal (fornecimento diário de 230 g de proteína suplementar no abomaso) e suplementação nitrogenada ruminal e abomasal (fornecimento diário de 230 g de proteína suplementar, sendo 115 g no rúmen e 115 g no abomaso). A alimentação volumosa basal foi constituída por feno de tifton 85 (*Cynodon spp*), com nível de proteína bruta (PB) médio de 78,4 g/kg com base na matéria seca (MS). O experimento foi implementado e analisado, segundo delineamento em quadrado latino 4 x 4 balanceado para efeitos residuais, com quatro tratamentos, quatro animais e quatro períodos experimentais com 29 dias cada. Os períodos experimentais constaram de três fases ou subperíodos. No primeiro, avaliou-se a resposta animal em termos de consumo sem suplementação. No segundo subperíodo foi avaliada a intensidade de resposta animal em termos de evolução do consumo em resposta à suplementação. Na terceira fase de cada período, pressupondo-se que os animais estivessem apresentando respostas estáveis à suplementação, procedeu-se às avaliações relativas aos coeficientes de digestibilidade, à

dinâmica ruminal dos compostos fibrosos e ao metabolismo dos compostos nitrogenados. Não foram observados efeitos ($P>0,10$) de tratamentos sobre os consumos voluntários de MS e de fibra em detergente neutro (FDN) durante os dois primeiros subperíodos experimentais. Na avaliação do consumo durante a fase pressuposta com resposta estável à suplementação, não foram verificadas diferenças ($P>0,10$) entre tratamentos sobre o consumo de forragem e de FDN. Contudo, o consumo de PB foi incrementado com o fornecimento de suplemento ($P<0,10$), não diferindo entre os locais de suplementação. O coeficiente de digestibilidade total da PB foi ampliado ($P<0,10$) pela suplementação em relação ao controle, não havendo diferenças ($P>0,10$) entre os locais de suplementação. O coeficiente de digestibilidade ruminal da PB foi superior ($P<0,10$) com a suplementação ruminal em comparação ao controle e à suplementação ruminal/abomasal, os quais, por sua vez, propiciaram maiores estimativas ($P<0,10$) em comparação à suplementação exclusivamente abomasal. Ressalta-se que o coeficiente de digestibilidade ruminal da PB foi positivo para a suplementação ruminal e negativo para os demais tratamentos. Todos os tratamentos diferiram entre si ($P<0,10$) quanto ao coeficiente de digestibilidade intestinal da PB, sendo, em ordem decrescente: suplementação abomasal, suplementação ruminal/abomasal, suplementação ruminal e controle. Houve efeito de tratamentos ($P<0,10$) sobre a massa de PB digerida no intestino (PDI), sendo que maior PDI foi verificada para a suplementação abomasal em comparação com a suplementação ruminal/abomasal e o tratamento controle, o tratamento envolvendo suplementação ruminal situou-se em posição intermediária entre esses. O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos e a eficiência de síntese microbiana não diferiram entre os tratamentos ($P>0,10$). Não houve efeito ($P>0,10$) dos tratamentos sobre as taxas de degradação e passagem ruminal da FDN. Maiores concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR; $P<0,10$) foram verificadas para a suplementação ruminal em comparação

ao controle e à suplementação abomasal, que não difeririam entre si ($P>0,10$). A suplementação ruminal/abomasal propiciou concentração de NAR intermediária no perfil de comparações múltiplas. A concentração de nitrogênio uréico no soro (NUS) foi superior ($P<0,10$) com a suplementação ruminal em comparação à suplementação ruminal/abomasal, a qual, por sua vez, foi superior em relação ao controle ($P<0,10$). A concentração média de NUS obtida com a suplementação abomasal posicionou-se de forma intermediária aos demais esquemas de suplementação, não diferindo de ambos ($P>0,10$). O balanço aparente de compostos nitrogenados (BN) foi incrementado ($P<0,10$) com o fornecimento de suplementação nitrogenada em relação ao tratamento controle, independente do local de fornecimento do suplemento. Não foram verificadas diferenças ($P>0,10$) entre tratamentos quanto à eficiência de utilização do nitrogênio. No entanto, a suplementação elevou, em média, em 350% a eficiência de utilização do nitrogênio absorvido. O tratamento controle apresentou maior ($P<0,10$) excreção urinária de 3-metil histidina em relação aos tratamentos com suplementação, os quais não diferiram entre si ($P>0,10$). A suplementação de bovinos alimentados com forragem tropical com compostos nitrogenados no rúmen e/ou no pós-rúmen eleva de forma similar a retenção e a eficiência de utilização dos compostos nitrogenados. Contudo, os mecanismos metabólicos envolvidos na melhoria da eficiência são diferentes, sendo baseados na ampliação do *pool* de nitrogênio amoniacal no rúmen para a suplementação ruminal e na ampliação da massa de proteína digerida no intestino delgado para a suplementação pós-ruminal.

ABSTRACT

RUFINO, Luana Marta de Almeida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2011.
Ruminal and/or abomasal nitrogenous supplementation in cattle fed tropical forage. Adviser: Edenio Detmann. Co-Advisers: Mário Fonseca Paulino and Sebastião de Campos Valadares Filho.

The objective of this work was to evaluate the effects of supplementation with nitrogenous compounds in the rumen and, or in the abomasum on intake, digestibility, rumen dynamics of fibrous compounds and on the parameters of nitrogenous compounds metabolism in cattle fed tropical forage. The experiment was carried out from June 2010 to February 2011. Four Nellore young bulls, averaging 227 ± 11 kg body weight (BW) and fitted with rumen and abomasums cannulae, were used. The following treatments were evaluated: control (only forage), ruminal nitrogenous compounds supplementation (daily supply of 230 g of crude protein in the rumen), abomasal nitrogenous compounds supplementation (daily supply of 230 g of crude protein in the abomasum), and ruminal and abomasal nitrogenous compounds supplementation (daily supply of 230 g of protein, being 115 g in the rumen and 115 g in the abomasum). The basal diet consisted of Tifton 85 (*Cynodon* spp) hay, which presented average crude protein (CP) content of 78.4 g/kg of dry matter (DM). The experiment was implemented and analyzed according to a 4 x 4 Latin square design, balanced for residual effects, with four treatments, four animals and four experimental periods lasting 29 days each. The experimental periods consisted of three phases or sub-periods. At first one, it was evaluated the animal response in terms of intake without supplementation. In the second sub-period it was assessed the intensity of animal response in terms of changes in intake according to supplementation. In the third sub-period, it was supposed that animals were under a steady state with regard intake, digestibility and metabolism according to the treatments. From this assumption, it was evaluated the digestibility, the rumen dynamics of fibrous compounds, and the

characteristic of the rumen and metabolism of nitrogenous compounds. There was no effect of the treatments ($P>0.10$) on voluntary intake of DM and neutral detergent fiber (NDF) during the first two experimental sub-periods. During the third sub-period, there was no effects of treatments ($P>0.10$) on forage or NDF intake. The CP intake was increased by supplementation ($P<0.10$) despite of supplementation site. The total digestibility coefficient of CP was increased ($P<0.10$) when supplement was supplied compared to control treatment, but no differences ($P>0.10$) among supplementation sites were detected. The ruminal digestibility of CP was higher ($P<0.10$) with ruminal supplementation compared to the control and ruminal/abomasal supplementation. These latter treatments propitiated higher estimates ($P<0.10$) of rumen digestibility of CP compared to abomasal supplementation. It must be emphasize that the ruminal digestibility coefficient of CP was positive for ruminal supplementation and negative for the other treatments. All treatments differed ($P<0.10$) with regard the intestinal digestibility of CP; being in decreasing order: abomasal supplementation, ruminal/abomasal supplementation, ruminal supplementation and control. There was effect of treatments ($P<0.10$) on the mass of CP digested in the intestine (IDP). The higher IDP was observed for abomasal supplementation compared with ruminal/abomasal supplementation and treatment control; the ruminal supplementation taken an intermediate position in the multiple comparison profile. The intestinal flow of microbial nitrogenous compounds and microbial efficiency did not differ among treatments ($P>0.10$). There was no effect ($P>0.10$) of treatments on the ruminal degradation and passage of NDF. Higher concentrations of rumen ammonia nitrogen (RAN; $P<0.10$) were observed for ruminal supplementation compared to the control and abomasal supplementation, which did not differ ($P>0.10$) each other. Ruminal/abomasal supplementation caused intermediate RAN concentrations. The concentration of serum urea nitrogen (SUN) was higher ($P<0.10$) for ruminal

supplementation compared to ruminal/abomasal supplementation, which in turn was higher than the control ($P < 0.10$). The average concentration of SUN obtained with abomasal supplementation was intermediary to the other supplementation forms and did not differ from both ($P > 0.10$). The apparent nitrogenous compounds balance (NB) was increased ($P < 0.10$) with the supply of supplement when compared to control treatment, regardless of the supplementation site. There were no differences ($P > 0.10$) among treatments with regard to efficiency of nitrogen utilization. However, supplementation increased on average by 350% the efficiency of use of absorbed nitrogen. The control treatment had higher ($P < 0.10$) urinary excretion of 3-methyl histidine compared to treatments involving supplementation, which did not differ ($P > 0.10$) each other. The supplementation of cattle fed tropical forage with nitrogenous compounds in the rumen and, or post-rumen causes similar increases in the retention and the efficiency of utilization of nitrogenous compounds. However, the metabolic mechanisms involved in the efficiency improvement seem to be different. These mechanisms are probably based on the increment of the ruminal pool of ammonia with the ruminal supplementation and in the increase of the mass of protein digested in the small intestine for the post-ruminal supplementation.

Introdução

A produção brasileira de bovinos de corte é baseada principalmente na utilização de gramíneas tropicais sob pastejo, as quais podem suprir grande parte das exigências de manutenção e produção de ruminantes nos trópicos. Adicionalmente, as forragens tropicais apresentam elevado conteúdo de fibra em detergente neutro (FDN), a qual corresponde, com grande frequência, a mais de 60% da matéria seca (MS) total da dieta de animais em pastejo. Esta representa a fonte energética de menor custo para produção bovina nos trópicos (Detmann et al., 2008).

A forma ou intensidade com que a FDN é utilizada no trato digestório do animal ruminante é influenciada diretamente pelos demais componentes dietéticos. Desta forma, a maior parte da variabilidade sobre a capacidade do alimento de fornecer energia para manutenção ou produção animal reside sobre como a FDN interage com os sistemas enzimáticos microbianos, responsáveis por sua degradação e utilização (Detmann et al., 2008; 2009).

Assim, a elevada representatividade da FDN como fonte energética nos trópicos, associada à variabilidade natural e às interferências ou interações oriundas de outros componentes dietéticos, torna-se preponderante na avaliação de estratégias de suplementação que visem à melhoria da utilização da forragem por bovinos em pastejo.

As regiões de clima tropical são caracterizadas pela distribuição desuniforme das chuvas, resultando em acentuada defasagem na oferta quantitativa e qualitativa de forragem nas pastagens durante os períodos de precipitação escassa (período seco).

Durante este período, as forragens tropicais sob pastejo são caracterizadas pela queda relevante na qualidade nutricional, a qual é ressaltada pelo aumento na lignificação e queda na digestibilidade da fibra insolúvel (Paulino et al., 2008; Detmann et al., 2010a) e pelo baixo teor de proteína bruta (PB), o qual se situa em patamares inferiores aos considerados limítrofes para que os microrganismos ruminais apresentem plena capacidade de degradação dos carboidratos fibrosos (70 a 80 g de PB/kg de MS; Lazzarini et al., 2009a; Sampaio et al., 2009; Figueiras et al., 2010).

A carência de compostos nitrogenados, em tais situações, implica não somente em deficiência protéica para o animal, mas em deficiência de precursores nitrogenados para síntese dos sistemas enzimáticos microbianos responsáveis pela extração de energia oriunda da fibra da forragem de baixa qualidade (Detmann et al., 2009; 2010a).

A suplementação com compostos nitrogenados amplia a taxa de degradação dos compostos fibrosos insolúveis, implicando redução no efeito de repleção ruminal destes (Lazzarini et al., 2009a; Sampaio et al., 2009), garantindo, conseqüentemente, ampliação no consumo voluntário total e no consumo de energia extraída da forragem (Lazzarini et al., 2009b; Figueiras et al., 2010; Sampaio et al., 2010).

Relações funcionais entre a suplementação protéica e a utilização de forragens tropicais de baixa qualidade têm sido recentemente estabelecidas em condições brasileiras. A maximização do consumo de forragem é estabelecida com massa de PB suplementar que permita elevar o nível de PB da dieta a valores próximos a 90-100 g/kg de MS (Lazzarini et al., 2009b; Figueiras et al., 2010; Sampaio et al., 2010). Por outro lado, Detmann et al. (2009) estabeleceram que 8 mg de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) por dL de fluido ruminal são necessários para que haja maximização da extração de energia a partir da FDN de forragens tropicais de baixa qualidade.

A partir de tais recomendações, estabelece-se que o suprimento de proteína degradável no rúmen (PDR) constituiria o elemento de maior importância na definição de suplementos para bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade. Em estudos conduzidos em condições tropicais, baixas concentrações de NAR, potencialmente produzido a partir da PDR, foram associadas a estimativas negativas de balanço de compostos nitrogenados no rúmen, o que estaria associado à ampliação na mobilização de proteína corporal para manutenção do crescimento microbiano ruminal (Sampaio et al., 2010; Costa et al., 2011a; Lazzarini, 2011).

As estimativas negativas de balanço de compostos nitrogenados no rúmen corroboram a importância do nitrogênio disponibilizado no rúmen através da reciclagem de uréia, que é formada a partir do nitrogênio absorvido ou do nitrogênio mobilizado de fontes endógenas. O nitrogênio reciclado tem potencial para contribuir significativamente para o suprimento de nitrogênio no rúmen (Wickersham et al., 2004), fator que tem definido o estudo de estratégias de suplementação infrequente para bovinos manejados em pastos tropicais (Krehbiel et al., 1998; Moraes et al., 2010; Paula et al., 2011).

Sob estas circunstâncias, uma vez suprido o primeiro limitante (PDR), o incremento no suprimento de fontes protéicas não degradáveis no rúmen (PNDR) poderia auxiliar na ampliação do suprimento de proteína metabolizável ao animal (Poppi & McLennan, 1995) e elevar a disponibilidade de compostos para reciclagem ao ambiente ruminal, reduzindo a mobilização de proteína endógena para esta finalidade (Costa et al., 2011a; Lazzarini, 2011). Contudo, a suplementação com PNDR seria menos eficiente em termos de manutenção do nível de NAR em comparação ao suprimento direto de PDR (Bandyk et al., 2001).

Recentes estudos conduzidos em condições tropicais têm permitido evidenciar que a suplementação protéica para animais em pastejo poderia afetar diretamente a eficiência

de utilização da proteína metabolizável em proteína líquida (Costa et al., 2011a; Lazzarini, 2011). Adicionalmente, a melhor adequação no suprimento de proteína metabolizável tem sido associada à elevação no consumo voluntário em animais alimentados com forragens tropicais de baixa qualidade (Detmann et al., 2009).

Assim, diante do exposto, o entendimento comparativo dos impactos da ampliação no suprimento de compostos nitrogenados ao animal por intermédio de suplementação com proteína no rúmen ou no pós-rúmen poderia fornecer informações essenciais sobre formas de suplementação que otimizassem a economia de nitrogênio no sistema biológico representado pelo animal ruminante e, em última instância, gerar informações sobre o equilíbrio entre fornecimento, retenção corporal e perdas de nitrogênio em programas de suplementação durante o período da seca.

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da suplementação com compostos nitrogenados no rúmen e/ou no abomaso sobre o consumo, a digestibilidade, a dinâmica ruminal dos compostos fibrosos e sobre os parâmetros do metabolismo dos compostos nitrogenados em bovinos alimentados com forragem tropical.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, entre junho de 2010 e fevereiro de 2011.

Foram utilizados quatro novilhos Nelore, não castrados, com peso corporal (PC) médio inicial de 227 ± 11 kg, fistulados no rúmen e no abomaso. Os animais foram mantidos em baias individuais cobertas, com piso de concreto, dispostas com comedouro e com acesso irrestrito a água e mistura mineral.

A alimentação volumosa basal foi constituída por feno de tifton 85 (*Cynodon* sp.), com teor médio de PB de 78,4 g/kg de MS, o qual foi fornecido diariamente *ad libitum*, às 6h00 e 18h00, permitindo-se sobras de aproximadamente 100 g/kg de forragem fornecida.

Foram avaliados os seguintes tratamentos: controle (somente forragem basal); suplementação nitrogenada ruminal, com fornecimento diário de 230 g de PB suplementar no rúmen; suplementação nitrogenada abomasal, com fornecimento diário de 230 g de PB suplementar no abomaso; e suplementação nitrogenada ruminal e abomasal, com fornecimento diário de 230 g de PB suplementar, sendo 115 g no rúmen e 115 g no abomaso.

A massa de PB suplementar (230 g PB/dia) correspondeu a aproximadamente 35% das exigências dietéticas de PB, 55% das exigências de proteína degradável no rúmen ou 100% das exigências de proteína não degradável no rúmen, considerando-se um novilho

zebuíno, não castrado, com 250 kg de PC e ganho esperado de 0,5 kg/dia (Marcondes et al., 2010).

Como fonte de compostos nitrogenados suplementares foi utilizada a caseína (caseína pura; *Labsynth*). A escolha desse composto se deu com base na ausência de quantidades significativas de componentes energéticos não protéicos, os quais poderiam influenciar na avaliação isolada do efeito da suplementação nitrogenada. Além disto, a caseína é considerada fonte de compostos nitrogenados degradáveis no rúmen e digeríveis no intestino delgado. Assim evitou-se confundimento que poderia advir do uso de diferentes fontes de compostos nitrogenados nos diferentes locais de suplementação.

O experimento foi constituído de quatro períodos experimentais com 29 dias de duração. Entre períodos foi utilizado intervalo de três dias para auxiliar na redução dos efeitos residuais de tratamentos. Os animais foram adaptados às condições experimentais e à forragem basal por quatorze dias.

Os períodos experimentais constaram de três fases ou subperíodos. No primeiro, avaliou-se o comportamento dos animais em termos de consumo sem suplementação. No segundo subperíodo foi avaliada a intensidade de resposta animal em termos de evolução do consumo em resposta à suplementação. Na terceira fase de cada período, pressupondo-se que os animais estivessem apresentando respostas estáveis à suplementação, procedeu-se às avaliações relativas aos coeficientes de digestibilidade, à dinâmica ruminal dos compostos fibrosos e ao metabolismo dos compostos nitrogenados.

Do primeiro ao quinto dias de cada período (primeiro subperíodo), os animais, em todos os tratamentos, foram alimentados exclusivamente com forragem.

A suplementação, característica de cada tratamento, foi iniciada no sexto dia de cada período experimental. O suplemento total foi fracionado em duas porções de mesmo

peso e fornecido aos animais simultaneamente ao fornecimento da forragem (6h00 e 18h00).

No caso de suplementação ruminal, o suplemento foi acondicionado em sacos de papel e introduzido diretamente no rúmen dos animais. Para o caso de suplementação abomasal, a caseína foi diluída em solução salina (NaCl; 9 g/L). As tampas das cânulas abomasais foram adaptadas com tubos de polietileno de cerca de 15 cm, providos de válvulas externas. O suplemento foi infundido no abomaso por intermédio dessas válvulas.

Durante o período de alimentação exclusivo com forragem (1º ao 5º dia) e durante o período de mensuração da intensidade de resposta da suplementação sobre o consumo (6º ao 19º dia), a quantidade de alimento ofertado foi monitorada diariamente. As sobras foram computadas diariamente entre o 2º e o 6º dias e entre o 7º e o 20º dias para os subperíodos supracitados. As amostras de cada animal para cada dia de coleta, depois de pesadas, foram processadas em moinho de facas (1 mm) e analisadas quanto aos teores de MS (AOAC, 1990) e de FDN, segundo Mertens (2002), utilizando-se α -amilase termoestável e omitindo-se o uso de sulfito de sódio. As análises de FDN foram conduzidas em analisador de fibras (Ankom®²²⁰) utilizando sacos filtrantes F57 (Ankom®). As correções da FDN quanto aos teores de proteína e cinzas contaminantes foram conduzidas conforme descrições de Licitra et al. (1996) e Mertens (2002), respectivamente.

As avaliações considerando-se respostas estáveis à suplementação foram conduzidas do 20º ao 29º dia de cada período experimental. Neste sentido, computou-se o consumo voluntário do 20º ao 23º dias e as sobras obtidas do 21º ao 24º dias. As amostras de forragem e sobras deste período foram compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período experimental, sendo posteriormente processadas em moinho de facas (1 e 2 mm).

A excreção fecal foi avaliada por intermédio de coletas pontuais de fezes, realizadas do 21º ao 24º dias de cada período experimental, seguindo-se a distribuição: 21º dia – 6h00 e 14h00; 22º dia – 8h00 e 16h00; 23º dia – 10h00 e 18h00; e 24º dia – 12h00 e 20h00. Simultaneamente às coletas fecais foram obtidas amostras de digesta abomasal. As amostras foram secas sob ventilação forçada (60°C) e processadas em moinho de facas (1 e 2 mm).

No 25º dia de cada período experimental foi realizada coleta total de urina. Foram acoplados funis coletores nos animais, os quais direcionaram a urina a reservatórios de polietileno que foram mantidos em caixas de isopor com gelo. As coletas foram iniciadas às 6h00 e tiveram a duração de 24 horas. Ao final do período de coleta, o total de urina foi mensurado e duas alíquotas de 50 mL foram obtidas. A primeira foi conduzida ao Laboratório de Nutrição Animal do DZO para avaliação dos teores de nitrogênio total (método de Kjeldahl; AOAC, 1990), uréia (método enzimático colorimétrico com fator clareante de lípidos; Human® 10505) e creatinina (método do picrato alcalino; Human® 006). A segunda alíquota de urina foi congelada a -80°C, e enviada para laboratório comercial (Laboratórios Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG) para quantificação dos teores de 3-metil-histidina por intermédio de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC).

Durante o 26º dia foram tomadas amostras sanguíneas dos animais às 6h00, 12h00, 18h00 e 24h00, diretamente da veia jugular utilizando tubos com vácuo e gel acelerador de coagulação (BD Vacutainer®, SST II Advance) e tubos com vácuo e inibidor de coagulação (BD Vacutainer® K2). As amostras colhidas com gel separador foram imediatamente centrifugadas ($2700 \times g$; 20 minutos) para separação do soro, que foi analisado individualmente quanto à sua concentração de uréia (método enzimático colorimétrico com fator clareante de lípidos; Human® 10505) e creatinina (método do

picrato alcalino; Human® 006). A concentração média diária de nitrogênio uréico no soro (NUS) e de creatinina foi obtida pela média aritmética das concentrações nos diferentes tempos de coleta. As amostras obtidas com inibidor de coagulação foram mantidas sob refrigeração (4°C). Ao final do período de coleta foram produzidas amostras compostas por animal, as quais foram enviadas para laboratório comercial (Laboratórios Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG) para serem analisadas quanto à concentração de aminoácidos livres por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC; cromatografia quantitativa de aminoácidos).

Ainda durante o 26º dia de cada período experimental foram tomadas amostras de conteúdo ruminal às 6h00, 12h00, 18h00 e 24h00 para o isolamento de microrganismos segundo técnica descrita por Cecava et al. (1990). Simultaneamente ao isolamento microbiano foram retiradas alíquotas de líquido ruminal para avaliação do pH e da concentração de NAR e ácidos graxos voláteis (AGV; acetato, propionato e butirato). As amostras foram coletadas manualmente na interface líquido:sólido do ambiente ruminal, filtradas por camada tripla de gaze e submetidas à avaliação do pH por intermédio de potenciômetro digital. Em seguida, foi separada uma alíquota de 40 mL, a qual foi fixada com 1 mL de H₂SO₄ (1:1) e congelada (-20°C) para posterior análise da concentração de NAR. Uma segunda alíquota de 20 mL foi fixada com 5 mL de solução de ácido meta-fosfórico (250 g/L) e mantida a -20°C para avaliação posterior da concentração de AGV.

No 27º e 29º dias procedeu-se ao esvaziamento ruminal para quantificação da massa residente de fibra no rúmen e das taxas de passagem e degradação do material fibroso. O conteúdo ruminal foi retirado às 10h00 (4 horas após a alimentação matinal) e às 6h00 (antes da alimentação matinal), para os dias supracitados, respectivamente. O material coletado foi acondicionado em recipiente de polietileno e pesado. Após homogeneização, alíquota de aproximadamente 50 g/kg do material foi retirada, sendo o

material restante retornado ao rúmen dos animais. As amostras foram submetidas à secagem sob ventilação forçada (60°C) e processadas em moinho de facas (1 e 2 mm).

Posteriormente, as amostras de feno, sobras, fezes, digesta abomasal e conteúdo ruminal (amostras oriundas do esvaziamento) foram compostas, com base no peso seco ao ar, por animal e período experimental.

As alíquotas processadas em peneiras de porosidade 1 mm, foram avaliadas quanto aos teores de MS, matéria orgânica (MO), PB e extrato etéreo (EE) segundo métodos descritos por AOAC (1990). Os teores de lignina (H₂SO₄; 720 g/kg) foram estimados conforme descrições de Van Soest & Robertson (1985). Os teores de FDN foram obtidos segundo recomendações de Mertens (2002), utilizando-se α -amilase termo-estável e omitindo-se o uso de sulfito de sódio. As correções da FDN quanto aos teores de proteína e cinzas contaminantes foram conduzidas conforme descrições de Licitra et al. (1996) e Mertens (2002), respectivamente. A caseína foi analisada quanto aos teores de MS, MO, PB e EE como descrito anteriormente (Tabela 1).

Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF; g/kg MS) foram obtidos segundo Detmann & Valadares Filho (2010):

$$CNF = MO - (PB + EE + FDN_{cp}) \quad (1);$$

em que: FDN_{cp} = teor de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (g/kg MS). Os demais termos foram previamente definidos (g/kg MS).

As amostras de feno, sobras, fezes, digesta abomasal e de conteúdo ruminal (amostra oriundas do esvaziamento), processadas em peneira de 2 mm, foram avaliadas quanto ao teor de FDN indigestível (FDNi), utilizando-se sacos F57 (Ankom®) em procedimento de incubação *in situ* por 288 horas, segundo recomendações de Valente et al. (2011).

Tabela 1 - Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não fibrosos (CNF), lignina e FDN indigestível (FDNi) no feno e na caseína

Item	Feno ³	Caseína
MS ¹	907,2±8,2	892,1
MO ²	933,3±0,6	972,6
PB ²	78,4±0,3	899,4
EE ²	10,9±0,5	1,7
FDN ²	767,4±6,0	-
FDNcp ²	730,3±7,8	-
CNF ²	113,6±8,3	71,5
Lignina ²	58,2±0,7	-
FDNi ²	390,6±5,2	-

¹g/kg de matéria natural. ² g/kg de matéria seca. ³ Média ± erro padrão.

A excreção fecal e o fluxo abomasal de MS foram estimados pela razão entre concentração e consumo diário de FDNi, segundo a equação:.

$$F = \frac{CFDNi}{[FDNi]} \quad (2);$$

em que: F = fluxo diário de digesta abomasal ou de fezes (g/dia); CFDNi = consumo diário de FDNi (g/dia); e [FDNi] = concentração abomasal ou fecal de FDNi (g/g de MS).

Ressalta-se que a massa de suplemento infundida no abomaso não foi considerada para o cálculo dos coeficientes de digestibilidade ruminal, mas somente para se calcular os coeficientes de digestibilidade intestinal.

As taxas relativas à dinâmica ruminal da FDN e da FDNi foram estimadas por intermédio das equações:

$$MRf = MRm \times [FDNR] \quad (3);$$

$$MRi = MRm \times [FDNiR] \quad (4);$$

$$ki = \frac{CFDN}{MRf} \div 24 \quad (5);$$

$$kpi = \frac{CFDNI}{MRi} \div 24 \quad (6);$$

$$kp = \frac{FaFDN}{MRf} \div 24 \quad (7);$$

$$kd = ki - kp \quad (8);$$

em que: MRf = massa ruminal de FDN (g); MRm = massa ruminal de MS (g); [FDNR] = concentração ruminal de FDN (g/g de MS); MRi = massa ruminal de FDNi (g); [FDNiR] = concentração ruminal de FDNi (g/g de MS); ki = taxa de ingestão de FDN (/h); CFDN = consumo de FDN (g/dia); kpi = taxa de passagem ruminal da FDNi (/h); CFDNi = consumo de FDNi (g/dia); kp = taxa de passagem ruminal da FDN (/h); FaFDN = fluxo abomasal de FDN (g/dia); e kd = taxa de degradação da FDN (/h).

A concentração de NAR foi quantificada pela técnica colorimétrica proposta por Chaney & Marbach (1962). As concentrações obtidas nos diferentes tempos de amostragem foram combinadas por animal e período, produzindo-se, ao final, valor único, representativo da média diária de concentração de NAR. Combinação similar foi conduzida sobre os valores de pH ruminal.

As amostras de líquido ruminal relativas à avaliação da concentração de AGV, depois de descongeladas, foram compostas proporcionalmente (volumes iguais para cada coleta) por animal e período e avaliadas por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC; cromatógrafo Shimadzu, modelo SPD-10A VP), utilizando-se coluna de fase reversa (fase móvel de ácido orto-fosfórico em água, 10 mL/L) e detector ultra-violeta em comprimento de onda de 210 nm.

As amostras de conteúdo ruminal foram também avaliadas quanto aos teores de carbono (método da oxidação do dicromato de potássio em titulação com sulfato ferroso amoniacal; Yeomans & Bremner, 1988).

As amostras de microrganismos ruminais foram avaliadas quanto aos teores de PB (AOAC, 1990) e bases púricas (Ushida et al., 1985). A produção ruminal de compostos nitrogenados microbianos foi quantificada por intermédio do produto entre concentração na digesta abomasal e fluxo diário de MS abomasal. As bases púricas foram utilizadas como indicador para avaliação da concentração microbiana na digesta abomasal, tomando-se como base a relação $N_{RNA}:N_{total}$ nos microrganismos ruminais.

A carga de nitrogênio uréico filtrada pelos rins e a excreção fracional de nitrogênio uréico foram estimadas adaptando-se as proposições de Reece (2006) por intermédio das equações:

$$CNUF = \frac{EUC}{CSC} \times NUS \quad (9);$$

$$EFNU = \frac{EUNU}{CNUF} \quad (10);$$

em que: CNUF = carga de nitrogênio uréico filtrada pelos rins (g/dia); EUC = excreção urinária de creatinina (g/dia); CSC = concentração sérica de creatinina (g/dL); NUS = concentração de nitrogênio uréico no soro (g/dL); EFNU = excreção fracional de nitrogênio uréico (g/g); EUNU = excreção urinária de nitrogênio uréico (g/dia).

As estimativas do balanço aparente de compostos nitrogenados foram obtidas pela subtração das excreções fecais e urinárias do consumo de nitrogênio, sendo todas as estimativas obtidas durante a fase de avaliação de consumo estável.

O experimento foi implementado e analisado segundo delineamento em quadrado latino 4 x 4 balanceado para efeitos residuais (Cochran & Cox, 1957), com quatro tratamentos, quatro animais e quatro períodos experimentais.

As variáveis mensuradas durante a fase de resposta estável à suplementação foram avaliadas pelo modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + A_j + P_k + \varepsilon_{ijk} \quad (11);$$

em que: Y_{ijk} = variável resposta mensurada no animal j, durante o período k, submetido ao esquema de suplementação i; μ = constante geral; S_i = efeito do esquema de suplementação i (efeito fixo); A_j = efeito do animal j (efeito aleatório); P_k = efeito do período experimental k (efeito aleatório); e ε_{ijk} = erro aleatório não-observável, pressuposto de distribuição normal.

Os consumos de MS e FDN mensurados diariamente durante o período de avaliação da intensidade de resposta à suplementação foram interpretados em esquema de medidas repetidas no tempo por intermédio de método de modelos mistos, segundo o modelo (Kaps & Lamberson, 2004):

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + A_j + P_k + D_l + (S \times D)_{il} + \varepsilon_{ijkl} \quad (12);$$

em que: Y_{ijkl} = consumo de MS ou FDN mensurado no animal j, durante o período k, submetido ao esquema de suplementação i, no dia de avaliação l; μ = constante geral; S_i = efeito do esquema de suplementação i (efeito fixo); A_j = efeito do animal j (efeito aleatório); P_k = efeito do período experimental k (efeito aleatório); D_l = efeito do dia de avaliação l (efeito fixo); $(S \times D)_{il}$ = interação do esquema de suplementação i e o dia de avaliação l (efeito fixo); e ε_{ijkl} = erro aleatório não-observável, pressuposto de distribuição normal.

Para a análise das variáveis segundo o modelo (12) foi realizada previamente a escolha da melhor estrutura de matriz de (co)variâncias. Optou-se por matrizes com estrutura de Toeplitz, seguindo avaliação de acordo com o critério de Akaike (Kaps & Lamberson, 2004).

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio do PROC MIXED implementado no programa SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.1) adotando-se 0,10 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I. O cômputo dos graus de

liberdade foi realizado segundo o critério de Kenward-Roger. Quando necessário, as médias de tratamentos foram comparadas por intermédio do teste DMS de Fisher.

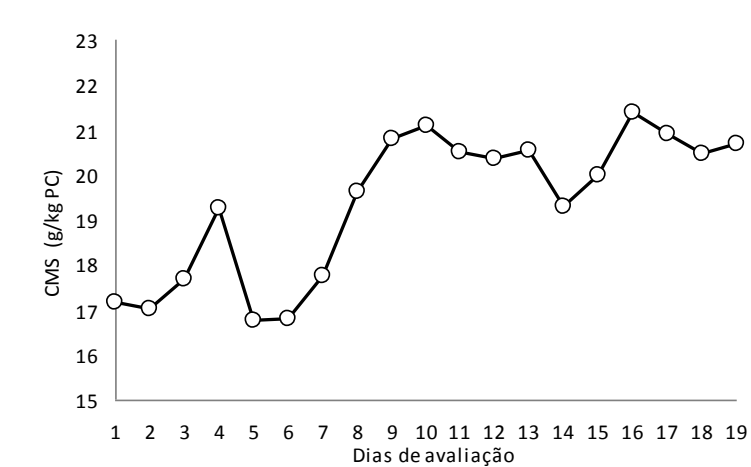
Durante as análises ocorreram perdas de informações relativas à avaliação de bases purícas (uma unidade experimental) e à concentração sanguínea de creatinina (uma unidade experimental).

Resultados

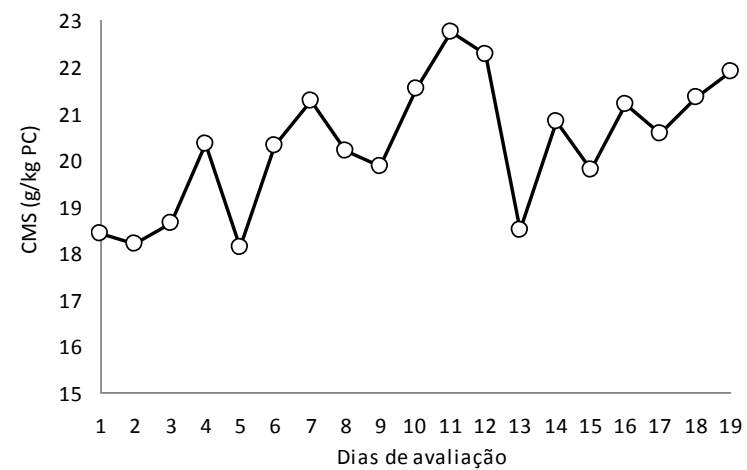
Não foram observados efeitos ($P>0,10$) de tratamentos, dia de avaliação ou sua interação sobre os consumos voluntários de MS e FDN durante os dois primeiros subperíodos experimentais (Figura 1). Os consumos médios de MS e FDN desta fase, foram 19,4 e 14,4; 20,3 e 15,1; 20,1 e 15,0; 19,4 e 14,4 g/kg de PC, para o controle, suplementação ruminal, suplementação abomasal e suplementação ruminal/abomasal, respectivamente.

Na avaliação do consumo durante a fase pressuposta com resposta estável à suplementação, não se verificou diferenças entre tratamentos ($P>0,10$) com relação aos consumos de MS, MS de forragem, MO, EE, FDN, CNF, FDNi e FDN digerida (FDND). Os consumos médios diários de MS e FDN foram de 21,1 e 14,7 g/kg de peso corporal (Tabela 2).

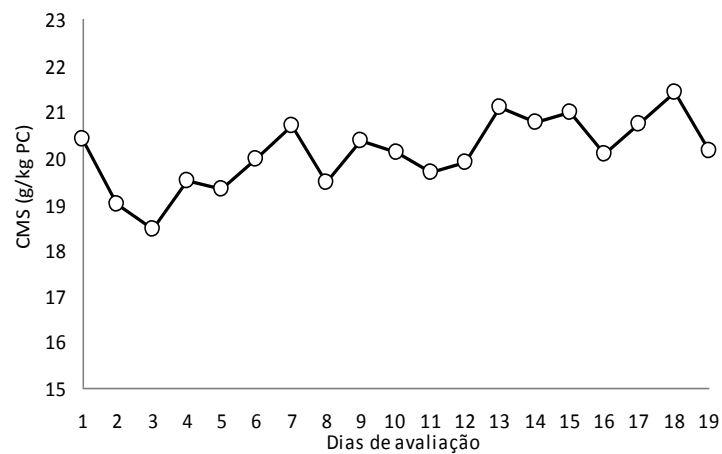
O consumo de PB foi incrementado com o fornecimento de suplemento ($P<0,10$), não diferindo entre os locais de suplementação. Os valores médios para o consumo de PB foram de 0,403 e 0,624 kg/dia para o tratamento controle e para os tratamentos envolvendo suplementação, respectivamente (Tabela 2). A suplementação exclusivamente ruminal incrementou ($P<0,10$) os consumos de MO digerida (MOD) e de nutrientes digestíveis totais (NDT) em comparação ao controle a à suplementação exclusivamente abomasal. Para estas variáveis, posição intermediária foi verificada para a suplementação ruminal/abomasal (Tabela 2).



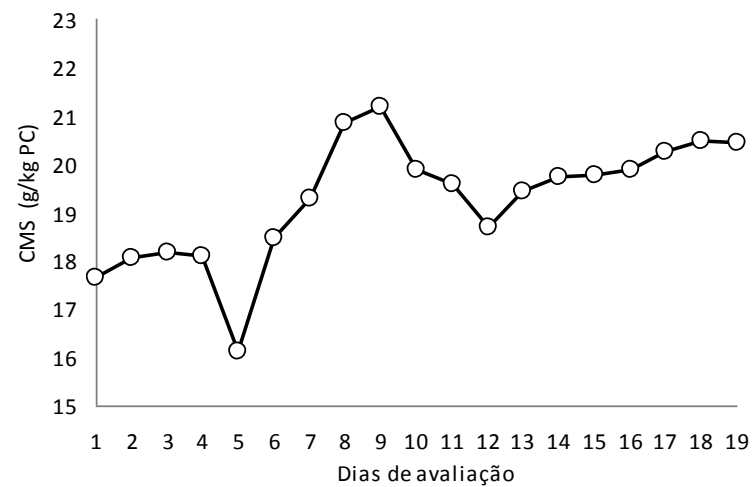
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 1- Consumo voluntário de matéria seca (CMS) em resposta à suplementação nitrogenada (a, controle; b, suplementação ruminal; c, suplementação abomasal; e d, suplementação ruminal/abomasal; a suplementação se iniciou no dia 6).

Comportamento similar ao encontrado para o consumo de PB foi observado para o coeficiente de digestibilidade total da PB (Tabela 3), o qual foi ampliado ($P < 0,10$) pela suplementação em relação ao controle, não havendo diferenças ($P > 0,10$) entre os locais de suplementação. Neste caso, a suplementação elevou as estimativas deste parâmetro de 0,475 g/g para, em média, 0,653 g/g. Não foram encontradas diferenças entre tratamentos ($P > 0,10$) para os coeficientes de digestibilidade total dos demais componentes avaliados (Tabela 2). Adicionalmente, apesar das diferenças obtidas ($P < 0,10$) entre tratamentos em relação ao consumo de NDT (Tabela 2), essas diferenças não foram observadas ($P > 0,10$) para os teores dietéticos de NDT (Tabela 3).

Tabela 2 - Consumo voluntário de matéria seca (MS), MS de forragem (MSF), matéria orgânica (MO) proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não fibrosos (CNF), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), MO digerida (MOD), FDNcp digerida (FDNcpD) e de nutrientes digestíveis totais (NDT) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos ^{1 2}				EPM	Valor-P
	C	R	A	R+A		
	kg/dia					
MS	5,049	5,602	5,133	5,121	0,478	0,229
MSF	5,049	5,350	4,881	4,870	0,479	0,307
MO	4,722	5,246	4,812	4,799	0,450	0,226
PB	0,403b	0,648a	0,611a	0,613a	0,040	<0,001
EE	0,054	0,061	0,055	0,053	0,007	0,178
FDNcp	3,653	3,869	3,538	3,538	0,325	0,348
CNF	0,613	0,668	0,607	0,596	0,140	0,190
FDNi	1,927	2,054	1,871	1,835	0,189	0,222
MOD	2,218b	2,596a	2,314b	2,400ab	0,224	0,060
FDNcpD	1,935	2,014	1,838	1,866	0,167	0,362
NDT	2,322b	2,702a	2,417b	2,496ab	0,229	0,064
	g/kg peso corporal					
MS	20,4	22,4	20,8	20,7	1,2	0,263
MO	19,1	21,0	19,5	19,4	1,1	0,260
FDNcp	14,8	15,5	14,3	14,3	0,8	0,337
FDNi	7,8	8,2	7,6	7,4	0,5	0,273

¹ C = controle; R = suplementação ruminal; A = suplementação abomasal. ² Médias na linha seguidas por letras diferentes são diferentes pelo teste DMS de Fisher ($P < 0,10$).

Não foram verificadas diferenças entre tratamentos ($P>0,10$) quanto aos coeficientes de digestibilidade ruminal da MS, MO e CNF (Tabela 3). O coeficiente de digestibilidade ruminal da PB foi superior ($P<0,10$) com a suplementação ruminal em comparação ao controle e à suplementação ruminal/abomasal, os quais, por sua vez, propiciaram maiores estimativas ($P<0,10$) em comparação à suplementação abomasal. Ressalta-se que o coeficiente de digestibilidade ruminal da PB foi positivo para a suplementação ruminal e negativo para os demais tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3 - Coeficientes de digestibilidade (g/g) total, ruminal e intestinal da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não fibrosos (CNF) e conteúdo dietético de nutrientes digestíveis totais (NDT, g/kg MS) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos ^{1 2}				EPM	Valor-P
	C	R	A	R+A		
Total						
MS	0,432	0,458	0,453	0,467	0,018	0,193
MO	0,468	0,495	0,485	0,502	0,017	0,142
PB	0,475b	0,656a	0,639a	0,664a	0,023	<0,001
EE	0,466	0,429	0,523	0,407	0,121	0,298
FDNcp	0,531	0,519	0,523	0,532	0,019	0,898
CNF	0,044	0,250	0,113	0,201	0,188	0,223
NDT	459,4	482,3	474,6	489,5	16,5	0,172
Ruminal ³						
MS	0,206	0,240	0,191	0,208	0,034	0,235
MO	0,300	0,324	0,277	0,284	0,031	0,265
PB	-0,221b	0,123a	-0,987c	-0,284b	0,139	<0,001
EE	-0,262a	-0,541b	-0,138a	-0,265a	0,327	0,069
FDNcp	0,502c	0,512bc	0,549a	0,528ab	0,024	0,041
CNF	-0,908	-0,696	-0,782	-0,887	0,483	0,470
Intestinal ³						
MS	0,283b	0,286b	0,330a	0,329a	0,022	0,034
MO	0,239b	0,253b	0,299a	0,310a	0,023	0,007
PB	0,561d	0,607c	0,772a	0,718b	0,026	<0,001
EE	0,559	0,594	0,587	0,521	0,053	0,475
FDNcp	0,059	0,005	-0,066	0,007	0,037	0,115
CNF	0,471	0,516	0,455	0,556	0,057	0,248

¹ C = controle; R = suplementação ruminal; A = suplementação abomasal. ² Médias na linha seguidas por letras diferentes são diferentes pelo teste DMS de Fisher ($P<0,10$). ³ Calculado como fração do que chegou ao local de digestão.

O coeficiente de digestibilidade ruminal do EE foi inferior com a suplementação exclusivamente ruminal ($P < 0,10$) em comparação aos demais tratamentos, os quais não diferiram entre si ($P > 0,10$; Tabela 3). Por outro lado, a suplementação abomasal e a suplementação ruminal/abomasal propiciaram maior coeficiente de digestibilidade ruminal da FDN ($P < 0,10$) em relação ao controle, verificando-se posição intermediária no perfil de comparação múltiplas para a suplementação ruminal (Tabela 3).

Não foram verificadas diferenças entre tratamentos ($P > 0,10$) para os coeficientes de digestibilidade intestinal do EE, CNF e FDN. Destaca-se que os coeficientes de digestibilidade intestinal da FDN foram iguais a zero ($P > 0,10$). A suplementação abomasal e a suplementação ruminal/abomasal propiciaram maiores coeficientes de digestibilidade intestinal ($P < 0,10$) da MS e MO em comparação ao controle e à suplementação ruminal. Adicionalmente, todos os tratamentos diferiram entre si ($P < 0,10$) quanto ao coeficiente de digestibilidade intestinal da PB, sendo, em ordem decrescente: suplementação abomasal, suplementação ruminal/abomasal, suplementação ruminal e controle (Tabela 3).

Não houve efeito ($P > 0,10$) dos tratamentos sobre a massa ruminal de FDN e de FDNi, cujos valores médios foram de 10,5 e 8,5 g/kg de PC (Tabela 4). Adicionalmente, não foram observadas diferenças entre tratamentos ($P > 0,10$) para as taxas de ingestão e digestão da FDN, e para as taxas de passagem da FDN e FDNi (Tabela 4).

O pH ruminal não variou entre os diferentes tratamentos ($P > 0,10$), observando-se valor médio de 6,78 (Tabela 5). Por outro lado, maiores concentrações de NAR ($P < 0,10$) foram verificadas para a suplementação ruminal em comparação ao controle e à suplementação abomasal, que não difeririam entre si ($P > 0,10$). A suplementação ruminal/abomasal propiciou concentração de NAR intermediária no perfil de comparações múltiplas (Tabela 5).

Tabela 4 – Massa ruminal de fibra em detergente neutro (MRFDN) e de fibra em detergente neutro indigestível (MRFDNi), taxas de ingestão (ki), de passagem (kp) e de degradação da FDN (kd) e taxa de passagem da FDNi (kpi) em função dos diferentes tratamentos

Tratamentos ¹						
Item	C	R	A	R+A	EPM	Valor-P
		g/kg peso corporal				
MRFDNcp	10,7	10,0	11,8	9,6	1,3	0,337
MRFDNi	8,4	8,0	9,2	8,3	1,0	0,821
		/h				
ki	0,060	0,071	0,052	0,063	0,008	0,238
kp	0,029	0,034	0,023	0,030	0,003	0,149
kd	0,030	0,037	0,029	0,034	0,005	0,338
kpi	0,039	0,049	0,034	0,037	0,005	0,339

¹ C = controle; R = suplementação ruminal; A = suplementação abomasal.

Não foram observadas diferenças entre tratamentos ($P>0,10$) para concentração total de ácidos graxos voláteis, cujo valor médio foi de 5,597 mmol/dL (Tabela 5). Em adição, os tratamentos foram similares ($P>0,10$) quanto à proporção molar de acetato, propionato e butirato e quanto à relação acetato:propionato (Tabela 5). Não houve diferenças ($P>0,10$) entre tratamentos para a relação carbono:nitrogênio no rúmen, verificando-se valor médio de 14,27 (Tabela 5).

Tabela 5 - Concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR – mg/dL), pH ruminal, concentração ruminal de ácidos graxos voláteis (AGV – mmol/dL), proporção molar de acetato, propionato e butirato (mmol/100mmol), relação acetato:propionato (A:P) e relação carbono:nitrogênio no rúmen (C:N - g/g) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos ^{1 2}				EPM	Valor-P
	C	R	A	R+A		
NAR	4,15b	13,66a	5,56b	8,22ab	1,91	0,078
pH	6,83	6,75	6,79	6,72	0,12	0,914
AGV	5,321	5,396	5,731	5,940	0,279	0,256
Acetato	73,71	73,40	75,25	74,06	0,87	0,489
Propionato	18,76	19,08	17,74	19,32	0,79	0,559
Butirato	7,53	7,53	7,01	6,69	0,32	0,230
A:P	3,96	3,86	4,29	3,84	0,22	0,501
C:N	14,62	13,57	14,55	14,35	1,71	0,931

¹ C = controle; R = suplementação ruminal; A = suplementação abomasal. ² Médias na linha seguidas por letras diferentes são diferentes pelo teste DMS de Fisher ($P<0,10$).

A concentração de nitrogênio uréico no soro (NUS) foi superior ($P<0,10$) com a suplementação ruminal em comparação à suplementação ruminal/abomasal, a qual, por sua vez, foi superior em relação ao controle ($P<0,10$). A concentração média de NUS obtida com a suplementação abomasal posicionou-se de forma intermediária às demais formas de suplementação, não diferindo de ambas ($P>0,10$; Tabela 6).

Não foram encontradas diferenças ($P>0,10$) entre tratamentos para a concentração sanguínea absoluta ($\mu\text{mol/dL}$) e relativa ($\mu\text{mol/mg}$ de creatinina) de aminoácidos (Tabela 6).

O consumo de nitrogênio e a excreção urinária de nitrogênio foram incrementados ($P<0,10$) com o fornecimento de nitrogênio suplementar, independente do local de suplementação. Contudo, a excreção fecal de nitrogênio não variou ($P>0,10$) entre tratamentos. Como reflexo do observado para o consumo de nitrogênio, o balanço aparente de nitrogênio (BN) foi incrementado ($P<0,10$) com o fornecimento de suplementação nitrogenada em relação ao tratamento controle, independentemente do local de fornecimento do suplemento (Tabela 6)

A maior estimativa de balanço aparente de nitrogênio no rúmen (BNR) foi verificada ($P<0,10$) com a suplementação ruminal, seguida pela suplementação ruminal/abomasal e pela suplementação exclusiva no abomaso e controle, sendo que estes dois últimos tratamentos não diferiram entre si ($P<0,10$). Ressalta-se que somente a suplementação ruminal propiciou valores positivos de BNR (Tabela 6).

Não foram verificadas diferenças ($P>0,10$) entre tratamentos quanto à eficiência de utilização do nitrogênio. No entanto, a suplementação elevou, em média, em 335 e 350% a eficiência de utilização em relação ao nitrogênio total ingerido e absorvido, respectivamente, em relação ao controle (Tabela 6).

Tabela 6 - Concentração de nitrogênio uréico no soro (NUS, mg/dL), concentração sanguínea absoluta (AA, μ mol/dL) e relativa de aminoácidos (AAR, μ mol/mg de creatinina), consumo de nitrogênio (CN, g/dia), excreção fecal de nitrogênio (EFN, g/dia), excreção urinária de nitrogênio (EUN, g/dia), balanço aparente de compostos nitrogenados (BN, g/dia), balanço aparente de nitrogênio no rúmen (BNR, g/dia), eficiência de utilização do nitrogênio (EFUN), proteína bruta digerida no intestino (PDI, g/dia), relação entre PDI e consumo de NDT (PDI:NDT, g/kg), excreção urinária de 3-metil-histidina (EUTM, mg/g de creatinina), excreção urinária de nitrogênio uréico (EUNU, g/dia), carga de nitrogênio uréico filtrada pelos rins (CNUF, g/dia), excreção fracional de nitrogênio uréico (EFNU, g/g), fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos absoluto (NMIC, g/dia) e relativo ao consumo de nitrogênio (NMICR – g/g) e ao fluxo abomasal de nitrogênio (NMICRAB, g/g) e eficiência de síntese microbiana (EFM – g PB microbiana/kg de NDT) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos ^{1 2}				EPM	Valor-P
	C	R	A	R+A		
NUS	7,29c	17,16a	13,46ab	13,39b	1,30	0,029
AA	123,8	134,8	143,1	130,2	11,4	0,230
AAR	113,3	122,5	128,5	118,6	12,0	0,485
CN	64,5b	103,8a	97,8a	98,0a	6,4	<0,001
EFN	34,0	36,0	35,5	33,4	4,0	0,611
EUN	26,3b	48,5a	40,4a	46,3a	4,2	0,010
BN	4,1b	19,3a	22,0a	18,3a	6,6	0,062
BNR	-14,4c	12,2a	-23,2c	-2,0b	7,5	0,005
EFUN						
3	0,04	0,18	0,22	0,18	0,05	0,165
4	0,07	0,27	0,35	0,27	0,04	0,402
PDI	280,4c	347,0bc	534,5a	415,7b	44,9	0,003
PDI:NDT	120,2c	128,7c	222,3a	173,0b	21,3	0,010
EUTM	50,84a	20,64b	29,61b	31,01b	13,12	0,077
EUNU	13,4b	28,9a	25,9a	30,1a	2,9	0,002
CNUF	42,9±6,5b	60,9±5,6a	43,9±5,6b	55,0±5,6a	---	0,062
EFNU	0,35±0,09	0,48±0,08	0,63±0,08	0,55±0,08	---	0,121
NMIC	53,1±13,0	61,2±11,1	61,9±13,0	58,8±11,1	---	0,932
NMICR	0,74±0,10	0,59±0,09	0,61±0,10	0,59±0,09	---	0,596
NMICRAB	0,65±0,10	0,68±0,08	0,50±0,10	0,57±0,08	---	0,526
EFM	132,8±23,8	143,0±19,9	150,3±23,8	141,8±19,9	---	0,955

¹ C = controle; R = suplementação ruminal; A = suplementação abomasal. ² Médias na linha seguidas por letras diferentes, são diferentes pelo teste DMS de Fisher (P<0,10). ³ g/g N ingerido. ⁴ g/g N absorvido.

Houve efeito de tratamentos ($P<0,10$) sobre a massa de proteína bruta digerida no intestino (PDI) e sobre a relação entre PDI e o consumo de NDT (PDI:NDT – g/kg). Maiores quantidades de PDI foram verificadas para a suplementação abomasal em comparação com a suplementação ruminal/abomasal e o tratamento controle, o tratamento envolvendo suplementação ruminal situou-se em posição intermediária entre esses (Tabela 6). A relação PDI:NDT foi incrementada ($P<0,10$) pela suplementação abomasal, seguida pela suplementação ruminal/abomasal e pela suplementação exclusiva no rúmen e pelo tratamento controle, sendo que estes dois últimos tratamentos não diferiram entre si ($P<0,10$; Tabela 6).

O tratamento controle apresentou maior ($P<0,10$) excreção urinária de 3-metil histidina (EUTM) em relação aos tratamentos com suplementação, os quais não diferiram entre si ($P>0,10$; Tabela 6). A excreção urinária de nitrogênio uréico foi maior ($P<0,10$) nos tratamentos envolvendo suplementação em relação ao tratamento controle. Em adição, observou-se efeito dos tratamentos sobre a carga de nitrogênio uréico filtrada nos rins (CNUF) ($P<0,10$). A suplementação ruminal e a suplementação ruminal/abomasal incrementaram a CNUF ($P<0,10$) em relação aos demais tratamentos. Contudo, não houve efeito de tratamentos ($P>0,10$) sobre a excreção fracional de nitrogênio uréico (EFNU). No entanto, a suplementação propiciou EFNU aproximadamente 60% superior em relação ao controle (Tabela 6).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (NMIC) não diferiu entre os tratamentos ($P>0,10$; Tabela 6), observando-se valores médios de 58,7 g/dia. O NIMC correspondeu de 0,59 a 0,74 g/g N ingerido e de 0,50 a 0,68 g/g de N no abomaso. Em adição, não foram verificadas diferenças entre tratamentos ($P>0,10$) sobre a eficiência de síntese microbiana no rúmen (EFM), sendo encontrado valor médio de 142,0 g de proteína microbiana/kg de NDT (Tabela 6).

Discussão

De forma geral, o fornecimento adicional de nitrogênio para animais consumindo forragens de baixa qualidade favoreceria o crescimento de bactérias fibrolíticas, ampliaria a degradação ruminal da fibra, o consumo voluntário e a extração energética a partir dos carboidratos fibrosos da forragem (Detmann et al., 2009). Em particular, a suplementação com compostos nitrogenados no abomaso de animais alimentados com forragens de baixa qualidade seria capaz de estimular o consumo, embora com menor intensidade em relação à suplementação ruminal, por intermédio da reciclagem de nitrogênio ao ambiente ruminal (Bandyk et al., 2001; Wickersham et al., 2004). Contudo, efeitos sobre a evolução no consumo de MS e FDN em resposta a suplementação e sobre o consumo médio diário de forragem basal em resposta aos diferentes esquemas de suplementação nitrogenada não foram verificados neste trabalho (Figura 1; Tabela 2).

Os resultados obtidos neste trabalho divergem daqueles relatados por diversos autores, os quais obtiveram incremento no consumo voluntário de forragem de baixa qualidade em bovinos suplementados com compostos nitrogenados no rúmen (Marini & Van Amburgh, 2003; Lazzarini et al., 2009b; Figueiras et al., 2010; Sampaio et al., 2010) ou no abomaso (Bandyk et al., 2001; Wickersham et al., 2004; 2009).

A falta de alterações em resposta à suplementação nitrogenada sobre o consumo voluntário de forragem e de FDN pode estar associada ao nível de PB da forragem basal (Tabela 1). Os autores previamente citados trabalharam com forragens com níveis de PB normalmente inferiores a 60 g/kg de MS. O nível médio de PB na dieta do tratamento

controle, calculado a partir da razão entre o consumo de PB e o consumo de MS, foi de 79,8 g/kg de MS. Efeitos positivos do nitrogênio sobre o consumo voluntário de forragem não são evidentes quando o nível de PB da dieta é superior a 70-80 g/kg de MS (Van Soest, 1994; Lazzarini, 2011), limites considerados críticos para a atividade fibrolítica no rúmen (Lazzarini et al., 2009a).

O comportamento verificado neste estudo corrobora os resultados obtidos por Lazzarini (2011), que não verificou efeito da suplementação com compostos nitrogenados em bovinos pastejando forragem tropical com 82,4 g de PB/kg MS durante o período da seca.

O estímulo sobre a ingestão de forragens de baixa qualidade causado pela suplementação com compostos nitrogenados está normalmente associado à redução de entraves físicos ao consumo (Detmann et al., 2009; 2010a). Neste contexto, o nitrogênio suplementar ampliaria a taxa de degradação da FDN, acarretando, concomitantemente, elevação na taxa de retirada dos resíduos fibrosos não degradados e indegradáveis do rúmen, ampliando a capacidade de consumo de forragem (Detmann et al., 2009).

No entanto, nenhum efeito da suplementação foi verificado sobre a dinâmica ruminal da FDN (Tabela 4), o que seria também justificável em função do nível de PB da forragem basal, que se situou acima do mínimo necessário para suportar a atividade fibrolítica no rúmen (Lazzarini et al., 2009a), como ressaltado anteriormente. Quando existe limitação na retirada de resíduos fibrosos do rúmen, os animais podem elevar o volume ruminal de forma a comportar maior massa residente de fibra (Schetinni et al., 1999). Com tal alteração, mantendo-se fixas as taxas fracionais de passagem e degradação, o animal poderia ampliar a massa de fibra degradada. Contudo, nenhum efeito foi verificado sobre a massa de fibra do rúmen (Tabela 4).

Embora a suplementação tenha elevado os coeficientes de digestibilidade ruminal da FDN, os efeitos observados foram de pequena magnitude, o que culminou com a não observação de diferenças entre tratamentos no tocante ao coeficiente de digestibilidade total e ao consumo da FDN ou sobre a concentração de AGV (Tabelas 2, 3 e 5). Os estímulos observados com a suplementação parecem advir de melhorias na disponibilidade de NAR (Tabela 5). O menor estímulo sobre o coeficiente de digestibilidade ruminal obtido com a suplementação ruminal pode ser explicado pela ocorrência do efeito “proteína”, o qual corresponde ao aumento na competição por substratos essenciais entre espécies fibrolíticas e não fibrolíticas observado quando os suplementos são compostos por proteína verdadeira (Carvalho et al., 2011). Em forragens de baixa qualidade este efeito ocorre conjuntamente ao estímulo sobre a atividade fibrolítica causado pelo nitrogênio (Detmann et al., 2011). Assim, a similaridade entre os coeficientes de digestibilidade ruminal da FDN observados no controle e com a suplementação ruminal seria causada pelo contra balanceamento entre o estímulo do nitrogênio e o desestímulo do efeito “proteína”. Isto suportaria também a posição intermediária obtida com a suplementação ruminal/abomasal (Tabela 3).

Em termos de digestão total somente foram verificadas diferenças entre tratamentos com relação ao coeficiente de digestibilidade total da PB, sendo este superior em animais suplementados em comparação aos não suplementados (Tabela 3). Isto se deve ao fato de a suplementação elevar o consumo de PB (Tabela 2), pois para componentes não fibrosos, como a PB oriunda da caseína, o coeficiente de digestibilidade aparente é proporcional ao consumo (Van Soest, 1994). Isto também foi verificado para o coeficiente de digestibilidade intestinal da PB, o qual foi elevado, principalmente, quando caseína foi infundida no abomaso (Tabela 3). A avaliação da massa aparentemente digerida de PB no intestino por intermédio do teste de entidade nutricional (Detmann et al., 2010b) permitiu

evidenciar coeficiente de digestibilidade intestinal verdadeiro da PB de 0,93 g/g [Figura 2; $IC(\beta_1)_{0,90}: (0,838 \leq \beta_1 \leq 1,024)$], estimativa similar àquelas apontadas por outros autores (Van Soest, 1994; Detmann et al., 2010b). Esta estimativa, associada ao fato de não ter havido diferenças entre tratamentos quanto à excreção fecal de nitrogênio (Tabela 6), sugere que a proteína suplementar apresentou elevada digestão no intestino.

As diferenças entre tratamentos relativas aos coeficientes de digestibilidade intestinal da MS e MO refletem o comportamento observado para a digestibilidade da PB, uma vez que não houve diferenças quanto aos coeficientes de digestibilidade intestinal da FDN, dos CNF e do EE (Tabela 3).

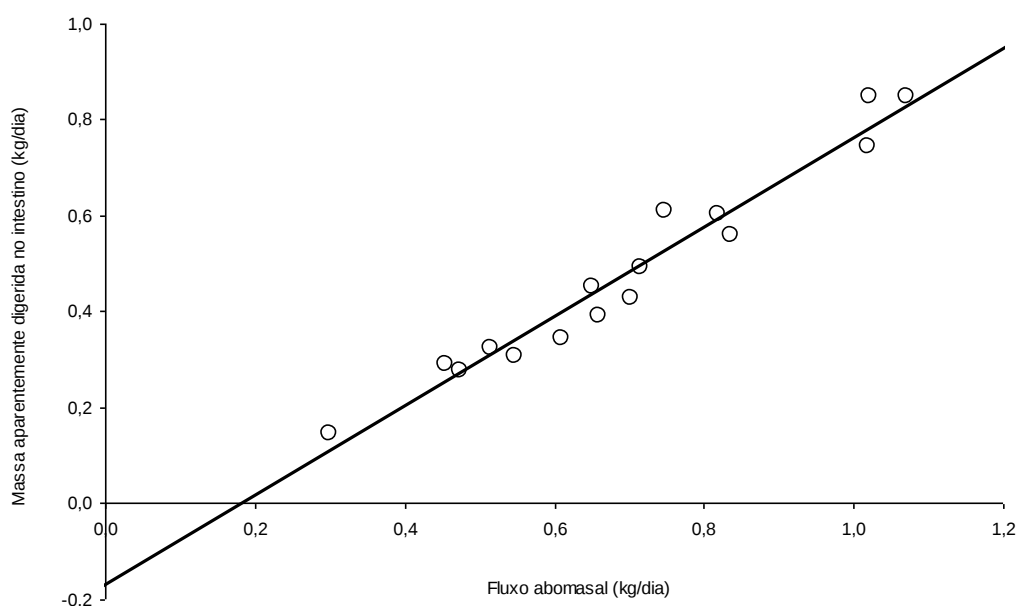


Figura 2 - Relação entre o fluxo abomasal de proteína bruta e a massa de proteína bruta aparentemente digerida no intestino ($\hat{Y} = -0,169 + 0,931 \times X$; $s_{XY} = 0,045$; $n = 16$).

O consumo de MOD foi incrementado pela suplementação no rúmen. Contudo, não foram verificadas diferenças entre tratamentos quanto ao consumo de FDND (Tabela 2). Logo, o maior consumo de MOD deve ser atribuído somente a efeitos oriundos na porção

não fibrosa da dieta. Pressupõe-se que a caseína apresente degradação ruminal efetiva superior a 0,80 g/g (Broderick et al., 2004), ao passo que seu coeficiente de digestibilidade intestinal seria de 0,93 g/g (Figura 2). Assim, o fornecimento de caseína no rúmen propiciaria maior utilização desta em comparação ao fornecimento no trato gastrintestinal posterior, o que suportaria o maior consumo de MOD em animais com suplementação ruminal (Tabela 2). O comportamento do consumo de MOD refletiu sobre o consumo de NDT (Tabela 2), sem, contudo, afetar o conteúdo dietético de NDT (Tabela 3).

Considerando-se que os efeitos sobre consumo e digestão foram nutricionalmente pouco relevantes, os efeitos mais proeminentes da suplementação com compostos nitrogenados foram observados sobre o metabolismo e a eficiência de utilização dos compostos nitrogenados, como verificado por outros autores em condições tropicais (Costa et al., 2011a; 2011b; Lazzarini, 2011).

O principal efeito da suplementação com compostos nitrogenados está associado à elevação do BN (Tabela 6). Isto indica maior retenção de compostos nitrogenados no organismo animal, o que, em condições de produção, refletiria em aumento no ganho de peso (Lazzarini, 2011). Contudo, embora sendo providas quantidades similares de nitrogênio suplementar (Tabela 2), as vias pelas quais estes acarretaram maior deposição de proteína corporal parecem ser diferentes, uma vez que os compostos nitrogenados suplementares seriam utilizados diferenciadamente em função do local de suplementação (rúmen ou intestino).

Com a suplementação ruminal, devido à alta degradabilidade da caseína no rúmen, pouco desta escaparia para ser diretamente digerida no intestino. Considerando-se coeficientes de degradação ruminal de 0,80 g/g (Broderick et al., 2004) e de digestibilidade intestinal de 0,93 g/g (Figura 2), a massa de proteína suplementar (230 g PB/dia) propiciaria apenas 42,8 g de PDI, o que explicaria o pequeno aumento nesta variável

verificada com a suplementação ruminal (Tabela 6). Considerando-se a eficiência de uso do nitrogênio absorvido (0,272 g/g; Tabela 6), ter-se-ia incremento no BN de aproximadamente 1,8 g de nitrogênio por dia, o que equivale a, aproximadamente, 11% do incremento de BN em relação ao controle. Logo, os efeitos do provimento de caseína no rúmen não podem ser explicados pelo provável escape desta para o intestino delgado.

De todos os efeitos causados pela suplementação ruminal, talvez o mais proeminente seja a ampliação da concentração de NAR (Tabela 5). A concentração de NAR verificada nos animais não suplementados (4,15 mg/dL) encontra-se abaixo do relatado por Detmann et al. (2010a) para que haja equilíbrio entre influxo e efluxo de compostos nitrogenados no rúmen em animais alimentados com forragens tropicais (aproximadamente 8,4 mg NAR/dL), o que culminou em BNR negativo (Tabelas 3 e 6).

O suprimento de NAR é provido pela degradação da proteína dietética e pelos eventos de reciclagem de nitrogênio na forma de uréia via saliva e epitélio ruminal (Van Soest, 1994). Considerando-se a baixa concentração de NAR no tratamento controle (Tabela 5), a reciclagem de nitrogênio nesta situação assumiria papel de mecanismo para manutenção do crescimento dos microrganismos ruminais. Em outras palavras, quando a massa de nitrogênio dietético disponível no rúmen é baixa, se espera participação significativa da reciclagem como ferramenta para a sustentação do crescimento microbiano. Assim, no tratamento controle verificou-se maior fluxo de compostos nitrogenados ao abomaso em comparação ao consumo total de compostos nitrogenados, evidenciando a relevância do nitrogênio reciclado para manutenção das condições ruminais (Figura 3).

O nitrogênio direcionado para manutenção do *pool* ruminal de nitrogênio amoniacal é retirado da corrente sanguínea a partir da uréia circulante. Esta transferência é de certa forma facilitada, uma vez que a uréia transferida para o rúmen é rapidamente degradada a

amônia pelos microrganismos ureolíticos presentes no epitélio ruminal (NRC, 1985). Isto faz com que a concentração de uréia no rúmen seja extremamente baixa em relação à concentração sanguínea, garantindo gradiente favorável para sua transferência (Van Soest, 1994). No entanto, a intensidade de transferência de uréia não deve ser vista simplesmente como efeito do ambiente de crescimento microbiano, mas como processo de interação entre o microrganismo e o hospedeiro com regulação específica (Waterlow, 2006).

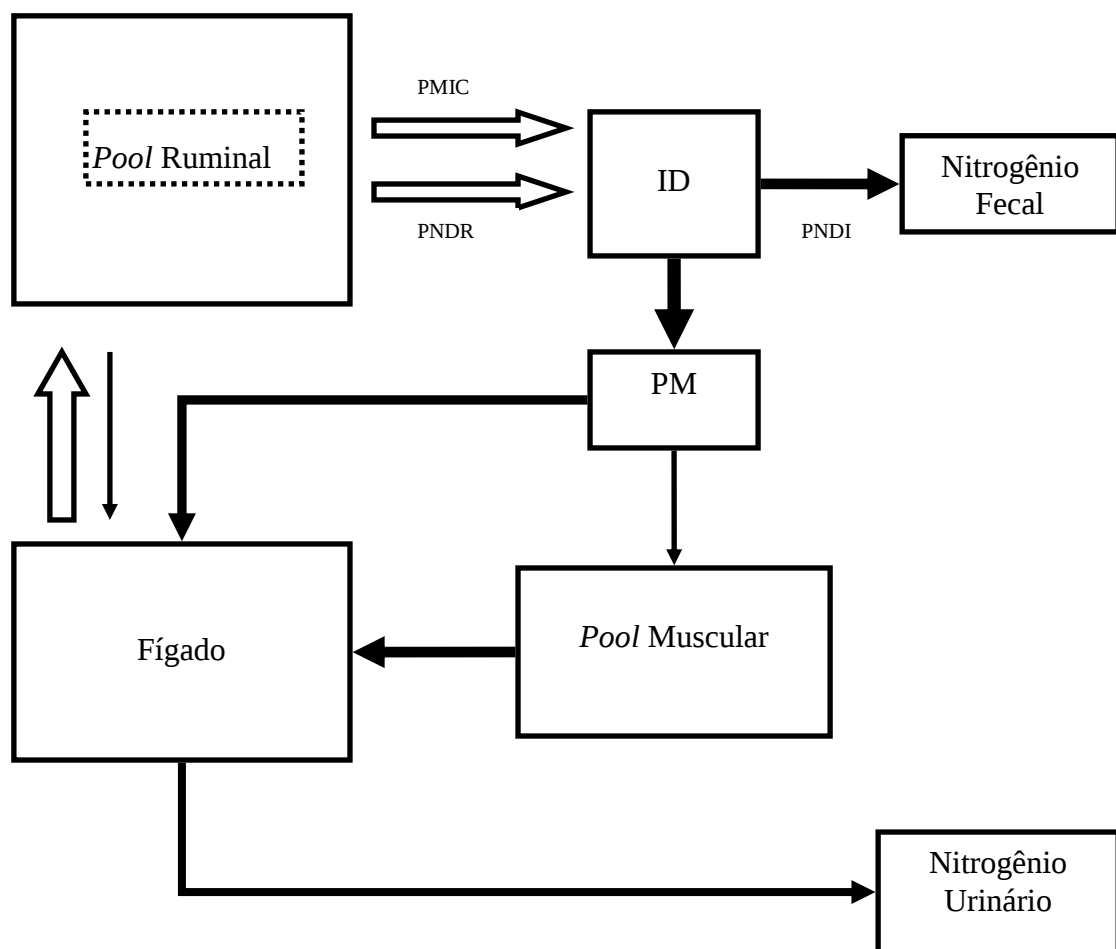


Figura 3 - Fluxograma simplificado das rotas teóricas dos compostos nitrogenados em animais alimentados com forragem de baixa qualidade sem suplementação (PMIC = proteína microbiana; PNDR = proteína não degradada no rúmen; ID = intestino delgado; PM = proteína metabolizável; PNDI = proteína não digerida no intestino. O retângulo tracejado no rúmen indica a dimensão do pool ruminal de nitrogênio amoniacal).

Entre os vários mecanismos envolvidos na regulação da transferência de uréia para o rúmen, a concentração de NAR possui papel de destaque por atuar como regulador da atividade ureolítica microbiana e apresentar possível papel da síntese de facilitadores de transporte de uréia no epitélio ruminal (NRC, 1985; Huntington & Arquibeuque, 2000; Marini & Van Amburgh, 2003; Marini et al., 2004). Assim, a intensificação ou redução do processo de transferência de uréia para o rúmen é indireta e negativamente controlada pela concentração de NAR (Detmann et al., 2010a).

A síntese hepática de uréia envolve a assimilação de dois átomos de nitrogênio: um a partir da amônia mitocondrial e outro a partir do aspartato citoplasmático (Lindsay & Reynolds, 2005). Contudo, sob condições de alta demanda para síntese de uréia, o suprimento mitocondrial de amônia pode não ser suficiente, resultando na ampliação do uso de aminoácidos para síntese de uréia (Parker et al., 1995). Assim, a alta demanda de nitrogênio pelo rúmen sob baixa concentração de NAR poderia implicar maior utilização de aminoácidos para síntese de uréia.

Os aminoácidos utilizados para síntese de uréia são retirados do *pool* sanguíneo de aminoácidos livres (Waterlow, 2006). Por sua vez, o *pool* de aminoácidos circulantes é mantido homeostaticamente (Van Soest, 1994), o que justifica a similaridade entre tratamentos quanto à concentração sanguínea de aminoácidos (Tabela 6).

Assim, com a maior captura hepática de aminoácidos, a manutenção homeostática do *pool* de aminoácidos seria realizada por intermédio de dois diferentes mecanismos. Em primeiro lugar, os aminoácidos absorvidos no intestino delgado (proteína metabolizável), deixariam de ser utilizados para síntese de tecidos (Detmann et al., 2010a), reduzindo a eficiência da conversão da proteína metabolizável em proteína líquida (ganho de peso) (Lazzarini, 2011). Isto parece se aplicar na presente situação, pois, embora sem efeito significativo ($P>0,10$), a eficiência de uso do nitrogênio absorvido pelos animais não

suplementados correspondeu a aproximadamente 24% daquela observada com a suplementação ruminal (Tabela 6).

Em segundo lugar, para manutenção do *pool*, aminoácidos poderiam ser retirados dos tecidos, reduzindo a retenção de nitrogênio corpóreo (Detmann et al., 2010a; Costa et al., 2011a). Este argumento também se aplica às condições do presente estudo, pois a excreção urinária de 3-metil-histidina foi ampliada na ausência de suplementação (Tabela 6).

A 3-metil-histidina é um aminoácido formado a partir da metilação da histidina após esta ser incluída na cadeia polipeptídica que irá originar as proteínas musculares (actina e miosina). Quando ocorre a degradação de proteína muscular, a 3-metil-histidina liberada não pode ser reutilizada para síntese protéica, sendo excretada na urina (Waterlow, 2006). Portanto, a excreção urinária de 3-metil-histidina constitui indicador do *turnover* protéico muscular e, indiretamente, da degradação de proteína muscular (Harris & Milne, 1979), a qual poderá ser utilizada para o atendimento de outras funções fisiológicas ou metabólicas, como o fornecimento de uréia para o rúmen. Considerando-se que a excreção de creatinina é constante por unidade de massa muscular (Costa-e-Silva, 2011), a razão entre as excreções urinárias de 3-metil-histidina e creatinina indica a mobilização relativa de proteína por unidade de massa muscular. Com base nestes argumentos, infere-se que o tratamento controle ocasionou mobilização de proteína muscular aproximadamente 146% superior em comparação à suplementação ruminal (Tabela 6). Resultados similares foram obtidos por Pitta et al. (2009), os quais, ao fornecerem suplemento protéico a ovelhas alimentadas com forragem de baixa qualidade, verificaram redução na concentração plasmática de 3-metil-histidina.

Ressalta-se que a excreção urinária de 3-metil-histidina apresentou forte correlação negativa com as concentrações de NUS ($r = -0,892$; $P < 0,01$) e de NAR ($r = -0,693$;

$P < 0,09$), indicando que a mobilização de proteína muscular se associa negativamente com a disponibilidade de nitrogênio.

Adicionalmente, animais alimentados com forragens de baixa qualidade deficientes em PB tendem a reduzir a excreção urinária de nitrogênio e ampliar a fração do nitrogênio retido no organismo e reciclado ao ambiente ruminal (Hennessy & Nolan, 1988). De fato, apesar da ausência de diferenças significativas ($P > 0,10$), a excreção fracional de uréia no tratamento controle foi de aproximadamente 71% daquela observada com a suplementação ruminal (Tabela 6). Isto indica que menor percentual da uréia circulante foi eliminada na urina, mostrando que maior proporção foi redirecionada para a reutilização em locais de possível demanda no organismo, como a manutenção ruminal.

Com a suplementação ruminal ocorre aumento na disponibilidade de NAR (Tabela 5), tornando positivo o BNR (Tabelas 2 e 6) e reduzindo a demanda de nitrogênio no rúmen a partir da reciclagem de uréia (Figuras 3 e 4; Tabela 7). Tais eventos parecem ampliar a eficiência de uso do nitrogênio absorvido (Tabela 6), uma vez que a proteína metabolizável deixaria de ser utilizada para eventos de reciclagem e seria efetivamente utilizada para síntese de tecidos corporais (Detmann et al., 2010a; Costa et al., 2011a). Adicionalmente, a maior disponibilidade de nitrogênio causada pela suplementação, fato evidenciado pelas maiores concentrações de NAR (Tabela 5) e NUS (Tabela 6), levaram à menor mobilização de proteína muscular (Tabela 6). A soma destes eventos culminou na ampliação do BN (Tabelas 6 e 7; Figuras 3 e 4). Comportamento similar foi verificado por Costa et al. (2011a) ao fornecerem compostos nitrogenados de alta degradabilidade ruminal a bovinos manejados em pasto tropical (99 g PB/kg MS).

Por outro lado, a ação direta da suplementação abomasal parece estar baseada no aumento de disponibilidade de aminoácidos absorvidos no intestino delgado, o que é representado pela maior massa de PDI em relação ao controle (Tabela 6). Estes

aminoácidos constituem a proteína metabolizável, a qual pode ser diretamente incorporada nos tecidos (Figura 5) ampliando o BN (Tabela 6). Ressalta-se que a eficiência de uso do nitrogênio absorvido e o BN foram similares com a suplementação ruminal ou abomasal (Tabela 6).

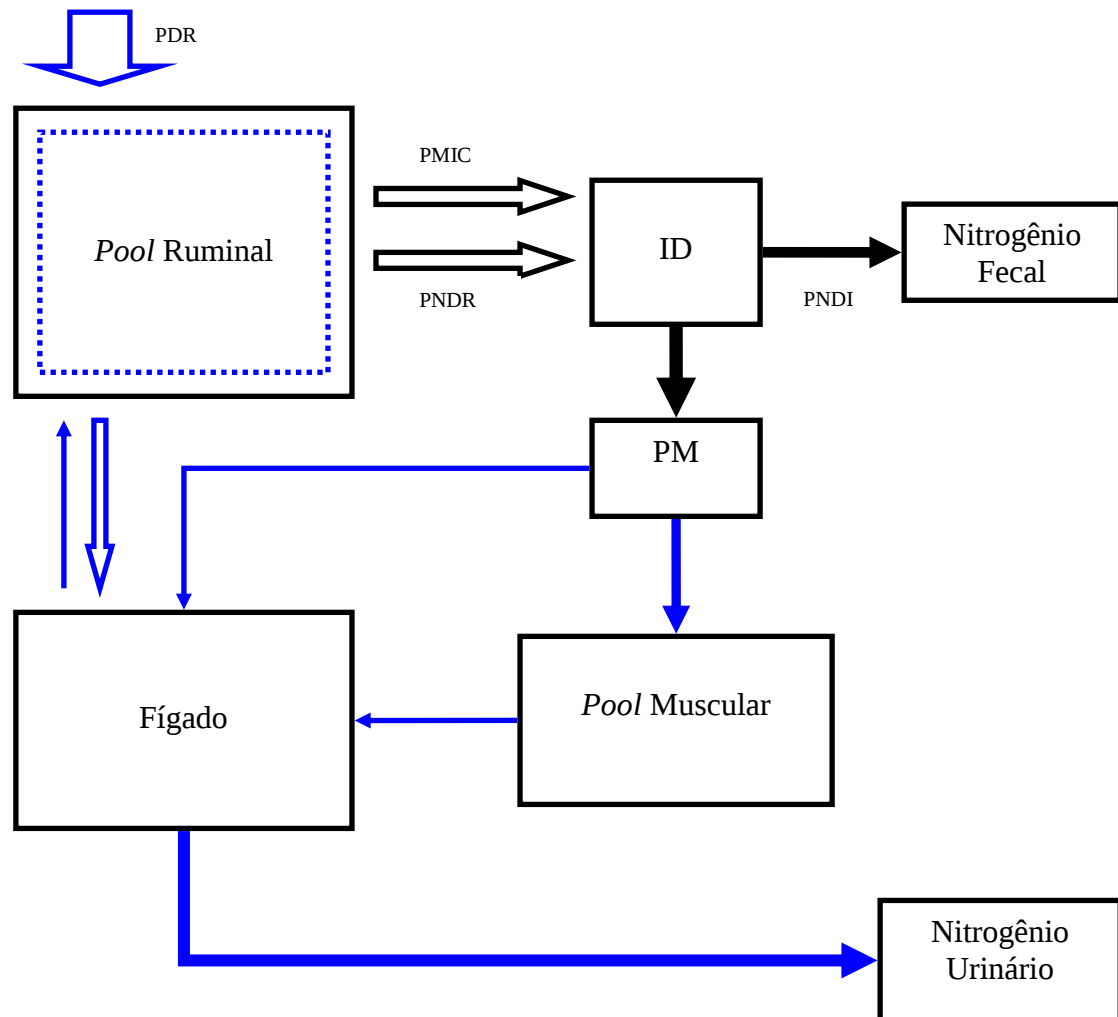


Figura 4 - Fluxograma simplificado das rotas teóricas dos compostos nitrogenados em animais alimentados com forragem de baixa qualidade e suplementados com compostos nitrogenados degradáveis no rúmen (PDR = proteína degradada no rúmen; PMIC = proteína microbiana; PNDR = proteína não degradada no rúmen; ID = intestino delgado; PM = proteína metabolizável; PNDI = proteína não digerida no intestino. O retângulo tracejado no rúmen indica a dimensão do pool ruminal de nitrogênio amoniacal. Os destaques em azul indicam a modificação em relação ao controle, Figura 3).

A maior massa de aminoácidos disponíveis no intestino delgado permite o suprimento direto das demandas para síntese de tecidos e o atendimento das necessidades de reciclagem de nitrogênio para o rúmen, sem que maiores mobilizações de tecido muscular necessitem ser realizadas (Figura 5). Isto pode ser verificado indiretamente pela redução na excreção de 3-metil-histina observada com a suplementação abomasal (Tabela 6).

Tabela 7 - Resumo das alterações das características do metabolismo dos compostos nitrogenados em comparação ao controle (sem suplementação) em função dos diferentes locais de suplementação

Característica	Local de Suplementação ¹		
	Rúmen	Abomaso	Rúmen/Abomaso
Consumo de nitrogênio	↑	↑	↑
Excreção urinária de nitrogênio	↑	↑	↑
Excreção fecal de nitrogênio	-	-	-
Balanco de nitrogênio corporal	↑	↑	↑
Pool de nitrogênio amoniacal ruminal	↑↑↑	↑ ²	↑↑
Balanco de nitrogênio ruminal	↑↑	↓ ²	↑
Pool sanguíneo de nitrogênio uréico	↑↑	↑	↑
Fluxo abomasal de nitrogênio microbiano	-	-	-
Proteína digerida no intestino	↑ ²	↑↑↑	↑↑
Mobilização de proteína muscular ³	↓	↓	↓
Salvamento de uréia ⁴	↓ ²	↓ ²	↓ ²
Eficiência de uso do nitrogênio absorvido	↑ ²	↑ ²	↑ ²

¹ As comparações por intermédio dos símbolos foram definidas para o comportamento de cada variável independentemente. Portanto, somente são válidas as comparações em cada linha. ² Classificação estabelecida com base no comportamento numérico das variáveis, mas sem a verificação de significância estatística ($P > 0,10$). ³ Baseado na excreção urinária de 3-metil-histidina. ⁴ Interpretado a partir do complemento da excreção fracional de nitrogênio uréico.

Segundo Bandyk et al. (2001) e Wichersham et al. (2004; 2009), a suplementação com fontes protéicas não degradáveis no rúmen pode ampliar o suprimento de NAR por intermédio da reciclagem de nitrogênio, contudo de forma menos eficiente em comparação à suplementação com fontes protéicas degradáveis no rúmen. O aumento na reciclagem nesta situação seria favorecido pela elevação causada pela maior disponibilidade de nitrogênio no intestino sobre a concentração de NUS, fato verificado neste trabalho (Tabela 6).

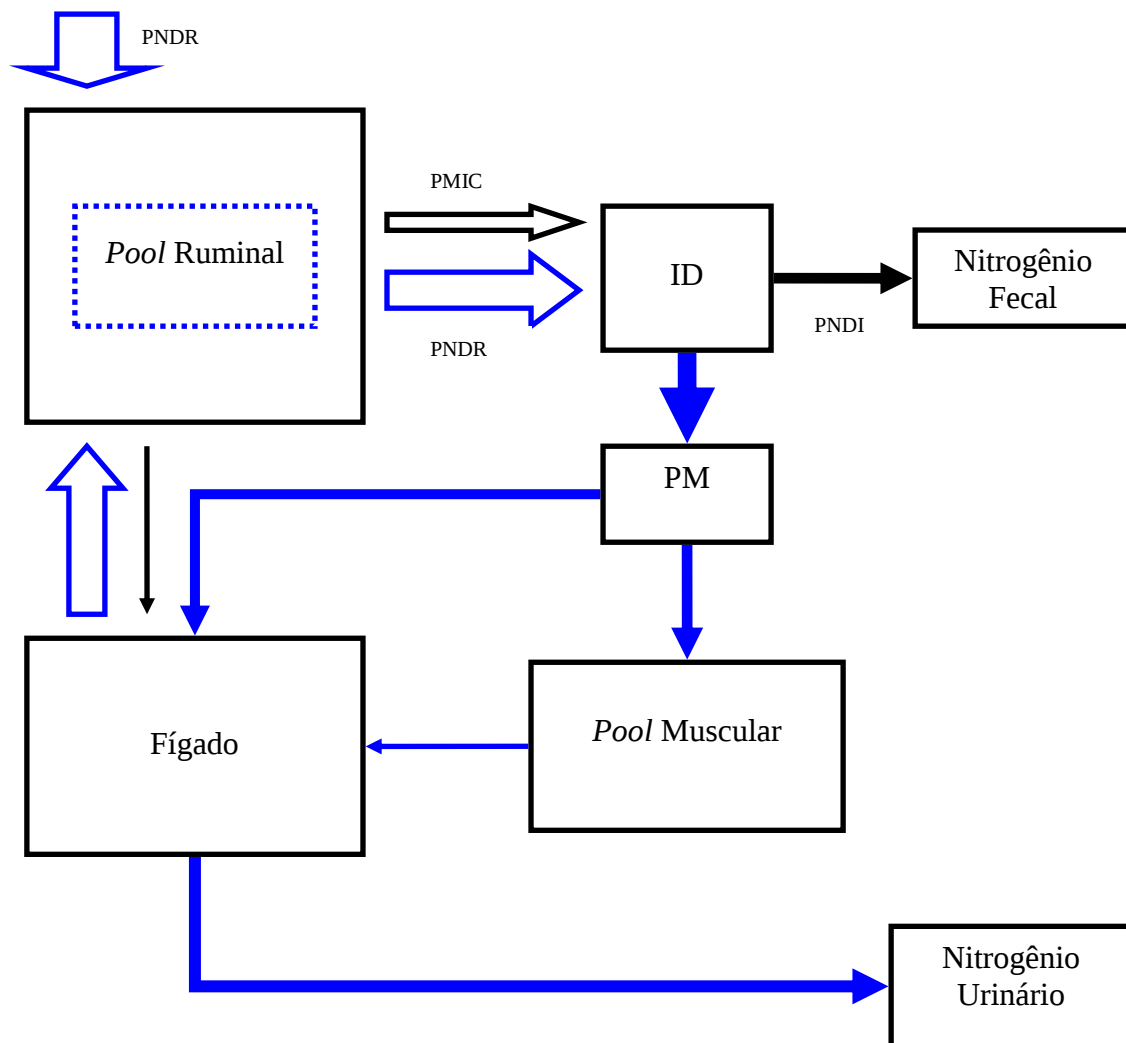


Figura 5 - Fluxograma simplificado das rotas teóricas dos compostos nitrogenados em animais alimentados com forragem de baixa suplementados com compostos nitrogenados não degradáveis no rúmen, mas digeríveis no intestino (PMIC = proteína microbiana; PNDR = proteína não degradada no rúmen; ID = intestino delgado; PM = proteína metabolizável; PNDI = proteína não digerida no intestino. O retângulo tracejado no rúmen indica a dimensão do pool ruminal de nitrogênio amoniacal. Os destaques em azul indicam a modificação em relação ao controle, Figura 3).

A maior concentração de NUS ampliaria o diferencial de concentração entre sangue e rúmen e incrementaria a transferência de uréia (Wickersahm et al., 2009). Isto seria capaz de elevar o *pool* ruminal de nitrogênio amoniacal (Wichersham et al., 2004; 2009). Wickersham et al. (2009) verificaram que a proporção de compostos nitrogenados microbianos produzidos a partir do nitrogênio reciclado passou de 0,31 para 0,58 g/g

quando bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade receberam suplementação com compostos nitrogenados no intestino.

Em comparação ao tratamento controle, a concentração de NAR com a suplementação abomasal foi ampliada em somente 1,41 mg/dL, sendo esta ampliação não significativa ($P>0,10$), o que aparentemente contraria os pressupostos descritos anteriormente. Contudo, verificou-se que a suplementação abomasal reduziu o coeficiente de digestibilidade ruminal da PB (Tabela 3) e, como consequência, o BNR (Tabela 6). Considerando-se que o consumo de nitrogênio foi similar entre tratamentos com suplementação (Tabela 2), a única causa provável para a redução do BNR com a suplementação abomasal reside sobre a ampliação da massa de nitrogênio reciclada. Desta forma, infere-se que a suplementação abomasal foi capaz de ampliar o *pool* de nitrogênio disponível no rúmen, embora de forma menos eficiente em comparação à suplementação ruminal (Figuras 3, 4 e 5; Tabela 7).

De forma geral, os efeitos da suplementação ruminal/abomasal assumiram posição intermediária entre a suplementação ruminal e a suplementação pós-ruminal (Tabela 7). Neste contexto, entende-se que as posições intermediárias nas concentrações de NAR (Tabela 5) e na massa de PDI (Tabela 6) conferiram aos animais ambos os efeitos previamente discutidos sobre a retenção de nitrogênio corporal, propiciando balanço e eficiência de uso do nitrogênio similares às suplementações exclusivas no rúmen ou abomaso (Tabela 6).

Diante dos pressupostos apresentados neste trabalho, a suplementação nitrogenada no rúmen ou no pós-rúmen, apresentariam efeitos similares, porém a partir de mecanismos metabólicos diferentes (Figuras 3, 4 e 5), o que, em termos teóricos, facultaria a escolha de fontes nitrogenadas suplementares que fossem degradáveis no rúmen (neste caso fontes de

PDR) ou não degradáveis no rúmen mas digeríveis no intestino delgado (neste caso fontes de PNDR).

Havendo tal possibilidade, fatores adicionais devem ser relevados para a escolha mais adequada no sistema de produção. Os custos envolvidos na utilização de fontes de PDR são quase sempre inferiores aos de PNDR. Considerando-se que o principal mecanismo para ampliação da retenção de nitrogênio corporal com a utilização de PDR seria o aumento do *pool* ruminal de nitrogênio amoniacal (Figura 4), o uso de fontes nitrogenadas não protéicas como a uréia propiciaria custo de suplementação inferior ao uso de PNDR. Por outro lado, as respostas como uso de PNDR em termos de utilização direta da PM para os processos de síntese no animal demandam perfil de aminoácidos na fonte protéica compatível com o perfil demandado no processo anabólico (NRC, 2001). Assim, mesmo que a fonte de PNDR apresente baixo custo, as respostas serão dependentes de seu perfil de aminoácidos digestíveis no intestino delgado.

Assim, a suplementação com fontes de PNDR somente seria viável ou lógica depois de explorados os efeitos benéficos da PDR, garantindo desempenho adicional em relação àquele propiciado pela melhoria no aporte de proteína metabolizável (Bandyk et al., 2001; Wickersham et al., 2009).

Conclusões

A suplementação de bovinos alimentados com forragem tropical com compostos nitrogenados no rúmen e/ou no pós-rúmen eleva de forma similar a retenção e a eficiência de utilização dos compostos nitrogenados. Contudo, os mecanismos metabólicos envolvidos na melhoria da eficiência são diferentes, sendo baseados na ampliação do *pool* de nitrogênio amoniacal no rúmen para a suplementação ruminal e na ampliação da massa de proteína digerida no intestino delgado para a suplementação pós-ruminal.

Referências Bibliográficas

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – AOAC. Official methods of analysis 15 ed. Arlington: AOAC International, 1990. Paginação descontinua.
- BANDYK, C.A.; COCHRAN, R.C.; WICKERSHAM, T.A.; TITGEMEYER, E.C.; FARMER, C.G.; HIGGINS, J.J. Effect of ruminal vs postruminal administration of degradable protein on utilization of low-quality forage by beef steers. **Journal of Animal Science**, v.79, p.225-231, 2001.
- BRODERICK, G.A.; UDÉN, P.; MURPHY, M.L.; LAPINS, A. Sources of variation in rates of in vitro ruminal protein degradation. **Journal of Animal Science**, v.87, p.1345-1359, 2004.
- CARVALHO, I.P.C.; DETMANN, E.; MANTOVANI, H.C.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; COSTA, V.A.C.; GOMES, D.I. Growth and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from rumen fluid according to energy or nitrogen source. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1260-1265, 2011.
- CECAVA, J.M.; MERCHEN, N.R.; GAY, L.C.; BERGER, L.L. 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.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p.130-132, 1962.
- COCHRAN, W.G.; COX, G.M. **Experimental designs**. 2 ed. New York: John Wiley & Sons, 1957. 611p.
- COSTA, V.A.C.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T.; CARVALHO, I.P.C. Digestibilidade e balanço nitrogenado em bovinos em pastejo no período das águas suplementados com nitrogênio não-protéico e/ou proteína verdadeira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2011a (no prelo).
- COSTA, V.A.C.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T.; CARVALHO, I.P.C.; VALENTE, T.N.P. Consumo e dinâmica ruminal da fibra em detergente neutro em bovinos em pastejo no período das águas suplementados com nitrogênio não-protéico e/ou proteína verdadeira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2011b (no prelo).
- COSTA-E-SILVA, L.F. **Exigências nutricionais, validação de equações para a estimação da composição do corpo vazio e uso de creatinina para estimar a proporção de tecido muscular em bovinos Nelore**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 126p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.980-984, 2010.

- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Avaliação nutricional de alimentos ou de dietas? Uma abordagem conceitual. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 6, 2008, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2008. p.21-52.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MANTOVANI, H.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SAMPAIO, C.B.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; DETMANN, K.S.C. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livestock Science**, v.126, p.136-146, 2009.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Otimização do uso dos recursos forrageiros basais. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, 2010, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2010a. p.191-240.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. Predição do valor energético de dietas para bovinos a partir da composição química dos alimentos. In: VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L.; PAULINO, P.V.R. (Eds.) **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR-CORTE**. 2 ed. Viçosa: DZO-UFV, 2010b. p.47-64.
- DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C.; ZORZI, K.; MANTOVANI, H.C.; BAYÃO, G.F.V.; GOMES, M.P.C. Degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função da suplementação com proteína verdadeira e/ou nitrogênio não-protéico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1272-1279, 2011.
- FIGUEIRAS, J.F.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALENTE, T.N.P.; VALADARES FILHO, S.C.; LAZZARINI, I. Intake and digestibility in cattle under grazing supplemented with nitrogenous compounds during dry season. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1303-1312, 2010.
- HARRIS, C.I.; MILNE, G. Urinary excretion of 3-methyl histidine in cattle as a measure of muscle protein degradation. **Proceedings of Nutrition Society**, v.38, p.11A, 1979.
- HENNESSY, D.W.; NOLAN, J.V. Nitrogen kinetics in cattle fed a mature subtropical grass hay with and without protein meal supplementation. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.39, p.1135-1150, 1988.
- HUNTINGTON, G.B.; ARCHIBEQUE, S.L. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.77, p.1x-11x, 2000.
- KAPS, A.M.; LAMBERSON, W.R. **Biostatistics for animal science**. London: CABI Publishing, 2004. 445p.
- KREHBIEL, C.R.; FERRELL, C.L.; FREETLY, H.C. Effects of frequency of supplementation on dry matter intake and net portal and hepatic flux of nutrients in mature ewes that consume low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2464-2473, 1998.
- LAZZARINI, I. **Desempenho nutricional de bovinos em pastejo durante os períodos de seca e águas suplementados com compostos nitrogenados e/ou amido**. 2011. 62f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA, F.A. Dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.635-647, 2009a.

- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA, F.A. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.10, p.2021-2030, 2009b.
- LICITRA, G.; HERNANDES, T.M.; Van SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.
- LINDSAY, D.B.; REYNOLDS, C.K. Metabolism of the portal-drained viscera and liver. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J.M.; FRANCE, J. (Eds.) **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. 2 ed. Wallingford: CABI Publishing, 2005. p.373-398.
- MARCONDES, M.I.; GIONBELLI, M.P.; VALADARES FILHO, S.C.; CHIZZOTTI, M.L.; PAULINO, M.F. Exigências nutricionais de proteína para bovinos de corte. In: VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L.; PAULINO, P.V.R. (Eds.) **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR-CORTE**. 2 ed. Viçosa: DZO-UFV, 2010. p.113-133.
- MARINI, J.C.; Van AMBURGH, M.E. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, v.81, p.545-552, 2003.
- MARINI, J.C.; KLEIN, J.D.; SANDS, J.M.; Van AMBURGH, M.E. Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporters abundance in lambs. **Journal of Animal Science**, v.82, p.1157-1164, 2004.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MORAES, E.H.B.K.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, K.A.K.; DETMANN, E.; SOUZA, M.S. Avaliação nutricional de estratégias de suplementação para bovinos de corte durante a estação seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.608-616, 2010.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Ruminant nitrogen usage**. Washington, DC: Academic Press, 1985. 138p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington, DC: Academic Press, 2001. 381p.
- PARKER, D.S.; LOMAX, M.A.; SEAL, C.J.; WILTON, J.C. Metabolic implications of ammonia production in the ruminant. **Proceedings of Nutrition Society**, v.54, p.549-563, 1995.
- PAULA, N.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; CARVALHO, D.M.G.; PAULINO, M.F.; OLIVEIRA, A.A.; KOSCHECK, J.F.W. Suplementação infrequente e fontes protéicas para recria de bovinos em pastejo no período seco: parâmetros nutricionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.882-891, 2011.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALENTE, E.E.L.; BARROS, L.V. Nutrição de bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 4, 2008, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2008. p.131-169.
- PITTA, D.M.; BARRY, T.N.; LOPEZ-VILLALOBOS, N.; ATTWOOD, G.T. Effect of willow supplementation upon plasma amino acid concentration in ewes grazing

- drought pastures of low nutritive value. **Animal Feed Science and Technology**, v.148, p.183-191, 2009.
- POPPI, D.P.; McLENNAN, S.R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, p.278-290, 1995.
- REECE, W.O. Função renal nos mamíferos. In: REECE, W.O. (Ed.) **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.67-96.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; LAZZARINI, I.; SOUZA, M.A.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.560-569, 2009.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; PAULINO, P.V.R.; QUEIROZ, A.C. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds **Tropical Animal Health and Production**, v.42, p.1471-1479, 2010.
- SCHETTINI, M.A., PRIGGE, E.C., NESTOR, E.L. Influence of mass and volume of ruminal contents on voluntary intake and digesta passage of a forage diet in steers. **Journal of Animal Science**, v.77, p.1896-1904, 1999.
- USHIDA, K.; LASSALAS, B.; JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry. Influence of treatment and preservation. **Reproduction and Nutrition Development**, v.25, p.1037-1046, 1985.
- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C.; VALDARES FILHO, S.C.; GOMES, D.I.; FIGUEIRAS, J.F. Evaluation of ruminal degradation profiles of forages using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2565-2573, 2011.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Cornell University, Ithaca, 1985. 202p.
- WATERLOW, J.C. **Protein Turnover**. 2.ed. Wallingford: CABI Publishing, 2006. 313p.
- WICKERSHAM, T.A.; COCHRAN, R.C.; TITGEMEYER, E.C.; FARMER, C.G.; KLEVESAH, E.A.; ARROQUY, J.I.; JOHNSON, D.E.; GNAD, D.P. Effect of postruminal protein supply on the response to ruminal protein supplementation in beef steers fed a low-quality grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.115, p.19-36, 2004.
- WICKERSHAM, T.A.; TITGEMEYER, E.C.; COCHRAN, R.C.; WICKERSHAM, E.E. Effect of undegradable intake protein supplementation on urea kinetics and microbial use of recycled urea in steers consuming low-quality forage. **British Journal of Nutrition**, v.101, p.225-232, 2009.
- YEOMANS, J.C.; BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.19, p.1467-1476, 1988.