

VIVIANE APARECIDA CARLI COSTA

**DINÂMICA DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO* DA FIBRA EM
DETERGENTE NEUTRO DE FORRAGENS TROPICAIS EM
FUNÇÃO DE SUPLEMENTAÇÃO PROTÉICA E/OU
ENERGÉTICA**

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
2006

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C837d
2006

Costa, Viviane Aparecida Carli, 1981-

Dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragens tropicais em função de suplementação protéica e/ou energética / Viviane Aparecida Carli Costa. – Viçosa : UFV, 2006.
ix, 52f. : il. ; 29cm.

Orientador: Edenio Detmann.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Bovino de corte - Nutrição. 2. Suplementos dietéticos. 3. Fibras na nutrição animal. 4. Proteínas na nutrição animal. 5. Carboidratos na nutrição animal. 6. Pastagens. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 636.2085

VIVIANE APARECIDA CARLI COSTA

**DINÂMICA DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO* DA FIBRA EM
DETERGENTE NEUTRO DE FORRAGENS TROPICAIS EM
FUNÇÃO DE SUPLEMENTAÇÃO PROTÉICA E/OU
ENERGÉTICA**

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: 2 de outubro de 2006.

Prof. Sebastião de C. Valadares Filho
(Co-orientador)

Prof. Mário Fonseca Paulino
(Co-orientador)

Prof. Hilário Cuquetto Mantovani

Dr^a. Lara Toledo Henriques

Prof. Edenio Detmann
(Orientador)

A Deus, que com sua sabedoria nos criou e se faz presente em todos instantes em minha vida.

A meus pais José Geraldo e Regina, que participaram comigo nesta preciosa caminhada, incentivando a prosseguir independente da natureza dos obstáculos.

A minha irmã Renata, por todo amor e companheirismo.

A minha querida avó Aída, pelo apoio e dedicação.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização deste curso.

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

Ao Professor Edenio Detmann, pela orientação, pela amizade, por me ensinar a adquirir, armazenar e ousar com as informações e com o conhecimento.

Aos Professores Sebastião de Campos Valadares Filho e Mário Fonseca Paulino pela co-orientação proporcionada.

Ao professor Hilário Cuquetto Mantovani e à Dr^a. Lara Toledo Henriques, pelas sugestões as quais acrescentaram na elaboração deste trabalho.

Aos demais professores do departamento de Zootecnia, pelos ensinamentos e convivência.

À grande amiga Lara, pelo incentivo, carinho e apoio nos momentos difíceis.

Aos técnicos do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, em especial ao funcionário Faustino Monteiro.

Ao colega Eduardo K. de Moraes, pelas amostras cedidas.

Aos colegas e amigos: Ana Livia, Rafael, Samuel, Acreano, André Casali, Zezé, Marcelo, Márcia Dias, Roberta, Fernanda, Shirley e Camila, pelo apoio e amizade.

Ao Eduardo Sales, que, mesmo à distância, alimentou e compartilhou de meus ideais, compreendendo a minha tensão e falta de tempo com carinho e companheirismo.

BIOGRAFIA

Viviane Aparecida Carli Costa, filha de José Geraldo Ferreira da Costa e Regina Márcia Carli Costa, nasceu em Mirai, Minas Gerais, no dia 18 de setembro de 1981.

Em fevereiro de 2005, concluiu o curso de Graduação em Zootecnia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Em fevereiro de 2005, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, desenvolvendo estudos na área de Nutrição de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 2 de outubro de 2006.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO-----	vi
ABSTRACT-----	viii
INTRODUÇÃO GERAL-----	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	7
CAPÍTULO 1 - Dinâmica de Degradação <i>In Vitro</i> da Fibra em Detergente Neutro de Forragem Tropical de Baixa Qualidade em Função de Suplementação com Protéina e/ou Carboidratos	
1. Introdução-----	9
2. Material e Métodos-----	11
3. Resultados e Discussão-----	17
4. Conclusões-----	26
5. Literatura Citada-----	26
CAPÍTULO 2 - Dinâmica de Degradação <i>In Vitro</i> da Fibra em Detergente Neutro de Forragem Tropical de Alta Qualidade em Função de Suplementação com Fontes Protéica e/ou Energética	
1. Introdução-----	30
2. Material e Métodos-----	32
3. Resultados e Discussão-----	38
4. Conclusões-----	48
5. Literatura Citada-----	48
CONCLUSÕES GERAIS-----	52

RESUMO

COSTA, Viviane Aparecida Carli, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Outubro de 2006. **Dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragens tropicais em função de suplementação protéica e/ou energética.** Orientador: Edenio Detmann. Co-orientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Mário Fonseca Paulino.

A presente tese foi elaborada com base em dois experimentos *in vitro* com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação protéica e/ou energética sobre a degradação ruminal dos carboidratos fibrosos de forragens tropicais. No Experimento 1, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação protéica e/ou energética sobre a utilização dos carboidratos fibrosos de forragem de baixa qualidade. O experimento simulou a suplementação de bovinos em terminação sob pastejo em *Brachiaria decumbens* de baixa qualidade durante o período seco (70% de forragem e 30% de concentrado, com base na matéria seca). O concentrado referente ao tratamento base foi formulado de forma a apresentar 30% de proteína bruta (PB), utilizando-se amido, como componente energético, e caseína, como componente protéico. Os tratamentos foram construídos a partir da omissão do fornecimento das fontes protéica e/ou energética do suplemento, associando-se, ainda, a substituição total do amido por pectina. Desta forma, seis foram os tratamentos avaliados: 1.Forragem; 2.Forragem + Amido; 3.Forragem + Pectina; 4.Forragem + Caseína; 5.Forragem + Caseína + Amido ; e 6.Forragem + Caseína + Pectina. Os tratamentos foram avaliados em ambiente ruminal simulado por incubação *in vitro* sendo submetidos a diferentes tempos de incubação: 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas. O procedimento de incubação foi repetido quatro vezes, perfazendo-se o total de quatro avaliações por tempo de incubação para cada tratamento. Os resíduos de incubação foram avaliados quanto ao teor de fibra em detergente neutro (FDN), e interpretados por intermédio de modelo não-linear logístico . Observou-se que a taxa de degradação da FDN potencialmente degradável (FDN_{pd}) foi ampliada em cerca de 46% com a suplementação com caseína (0,0261 e 0,0381 h⁻¹), resultando em incrementos da ordem de 14,6% sobre a fração efetivamente degradada. Observou-se efeito de menor amplitude com a inclusão ou alteração da fonte de carboidrato suplementar. A suplementação com amido causou redução na taxa de degradação da FDN_{pd}, ao passo que a suplementação com pectina não afetou este

parâmetro em comparação à ausência de carboidratos. Na presença de caseína, a suplementação com amido elevou o tempo de latência discreta para início do processo de degradação da FDN. No Experimento 2 objetivou-se avaliar o efeito da suplementação protéica e/ou energética sobre a degradação ruminal dos carboidratos fibrosos de forragem de alta qualidade. Os procedimentos de avaliação e a relação forragem:concentrado e o teor de PB no suplemento foram similares ao experimento 1, utilizando-se contudo amostras de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) com 21 dias de rebrotação como forragem basal. Os tratamentos foram construídos a partir da omissão do fornecimento da fonte protéica e/ou energética do suplemento, associando-se ainda a substituição total do amido por pectina e da proteína bruta oriunda da caseína por proteína bruta oriunda da mistura uréia:sulfato de amônio (9:1). Desta forma, nove foram os tratamentos avaliados: 1.Forragem; 2.Forragem + Amido; 3.Forragem + Pectina; 4.Forragem + Caseína; 5.Forragem + Caseína + Amido; e 6.Forragem + Caseína + Pectina; 7.Forragem + Uréia; 8.Forragem + Uréia + Amido; e 9.Forragem + Uréia + Pectina. Observou-se decréscimo na taxa de degradação FDNpd, quando essa foi submetida a suplementação exclusiva com fontes energéticas ou protéicas. Por outro lado, os efeitos deletérios individuais das suplementações protéica ou energética foram ou não eliminados de acordo com a composição final dos suplementos. Os efeitos deletérios individuais sobre a taxa de degradação da FDNpd foram mantidos pela utilização concomitante de caseína e pectina ou amido e uréia . Por outro lado, taxas de degradação similares ao tratamento basal (forragem) foram obtidas com as combinações pectina e uréia ou amido e caseína.

ABSTRACT

COSTA, Viviane Aparecida Carli, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October of 2006.

In vitro degradation dynamics of tropical forages neutral detergent fiber according to protein and/or energy supplementation. Adviser: Edenio Detmann. Co-advisers: Sebastião de Campos Valadares Filho and Mário Fonseca Paulino.

The current thesis was based on two *in vitro* trials aiming at assessing the effect of protein and/or energy supplementation on ruminal degradation of fibrous carbohydrates of tropical forages. At Experiment 1, it was evaluated the effect of protein and/or energy supplementation on the utilization of fibrous carbohydrates from low quality forage by ruminal microorganisms. The experiment simulated the supplementation of finishing cattle grazing low quality *Brachiaria decumbens* pasture during the dry season (70:30 forage to concentrate ratio, as dry matter basis). The concentrate used was formulated to contain 30% of crude protein, using starch as the energetic source and casein as the proteic source. The treatments were established by omission of the proteic and/or energetic source of the supplement, associated with the total substitution of starch by pectin. In that way, six treatments were evaluated: 1. Forage; 2. Forage plus Starch; 3. Forage plus Pectin; 4. Forage plus Casein, 5. Forage plus Casein plus Starch and 6. Forage plus Casein plus Pectin. The treatments were evaluated under ruminal environment, simulated by *in vitro* incubation, where the experimental diets were submitted to different incubation periods: 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 and 96 hours. The incubation procedure was repeated four times in a way that four evaluations within each incubation time were done for each treatment. The incubation residues were evaluated according to its content of neutral detergent fiber (NDF) and interpreted using a non-linear logistic model. It was observed that the degradation rate of the potentially degradable NDF (pdNDF) increased almost 46% with casein supplementation (0.0261 and 0.0381 h⁻¹), resulting in an increment of 14.6% in the effective degraded fraction. A minor effect was observed with the inclusion or substitution of the supplemental carbohydrate source. The starch supplementation resulted in reduction on the degradation rate of pdNDF, whereas pectin supplementation did not affect this parameter, when compared to the treatment without carbohydrate supplementation. In the presence of casein, the starch supplementation raised the discrete lag time of NDF

degradation. At Experiment 2, it was evaluated the effect of protein and/or energy supplementation on ruminal degradation of fibrous carbohydrates from high quality forage. The evaluation procedures and the forage to concentrate ratio were similar to those used at Experiment 1. Instead of *Brachiaria decumbens*, samples of elephant-grass (*pennisetum purpureum*, 21 days of regrowth) were used as basal forage. The treatments were established by omission of the proteic and/or energetic source of the supplement, associated with total substitution of starch by pectin and of crude protein from casein by crude protein from the mixture urea:ammonium sulfate (9:1). The nine treatments were: 1. Forage; 2. Forage plus Starch; 3. Forage plus Pectin; 4. Forage plus Casein; 5. Forage plus Casein plus Starch; 6. Forage plus Casein plus Pectin; 7. Forage plus Urea; 8. Forage plus Urea plus Starch and 9. Forage plus Urea plus Pectin. When submitted to exclusive supplementation of protein or energy, it was detected a reduction in the pdNDF degradation rate. On the other hand, the negative effects of the individual supplementation with protein or energy were or not eliminated according to the final composition of the supplement. The negative effects of the individual supplementation on the pdNDF degradation rate were maintained when casein and pectin or starch and urea were used concomitantly. Conversely, similar degradation rates to that of the basal forage were obtained with the combinations pectin and urea, and starch and casein.

INTRODUÇÃO GERAL

A produção de bovinos no Brasil se baseia na utilização de pasto, cujos recursos nutricionais são responsáveis pelo suprimento de grande parte das exigências de manutenção e produção dos animais.

As regiões de clima tropical são caracterizadas pela distribuição desuniforme das chuvas, resultando em acentuada defasagem na oferta de forragem nas pastagens durante os períodos de precipitação escassa (período seco). Desta forma, os fatores climáticos são responsáveis pela baixa disponibilidade qualitativa e quantitativa de forragem no período seco, com conseqüente diminuição no desempenho dos animais manejados em pastagens.

Por outro lado, a elevada taxa de crescimento das plantas forrageiras de clima tropical durante o período chuvoso acelera o processo de maturação induzindo altos níveis de constituintes da parede celular. Assim, os animais em pastejo têm disponibilidade de forragem de bom valor nutritivo por curto espaço de tempo, pois o pasto, com o avanço da idade da planta e com a chegada da estação seca, decresce rapidamente em digestibilidade e, particularmente, em conteúdo total de nitrogênio, o que leva à perda excessiva de peso, constituindo o principal fator limitante para a produção animal (Leng, 1984).

Segundo Paulino et al. (2001), as pastagens tropicais, especialmente na época da seca, raramente constituem dieta balanceada no senso que seus constituintes orgânicos e inorgânicos estejam presentes em concentrações e proporções que melhor satisfaçam às necessidades dos animais. Em condições de restrição alimentar, os animais são submetidos a carências nutricionais múltiplas, sendo que a proteína (ou compostos nitrogenados) assume papel prioritário.

A forragem de baixa qualidade apresenta altos teores de fibra e teores de proteína bruta (PB) geralmente inferiores a 7%, valor considerado como limitante para adequada atividade dos microrganismos do rúmen (Minson, 1990), acarretando baixa degradabilidade da forragem, com o não-aproveitamento de energia potencialmente extraível dos carboidratos fibrosos da parede celular vegetal (Lazzarini et al., 2006), resultando em diminuição no consumo de matéria seca e baixo desempenho animal (Sniffen et al., 1993).

Tal quadro assume papel preponderante nos trópicos, pois, entre os diferentes componentes dos alimentos, a fração fibrosa apresenta importância fundamental em sistemas de produção tropicais, pois fornece quantidade significativa de energia a baixo custo, devendo ocupar posição central na avaliação de disponibilidade de energia (Detmann et al., 2004a).

A atividade microbiana ruminal, notadamente sobre os compostos fibrosos, é dependente do nível de nitrogênio presente no meio. Desta forma, o uso de suplementos pode auxiliar na implementação de níveis adequados para melhor otimização do ambiente ruminal (Hafley et al., 1993).

A prática da suplementação na época da seca tem por principais objetivos o aumento do teor protéico da dieta e fornecimento de proteína degradável no rúmen (PDR), servindo como fonte de compostos nitrogenados aos microrganismos ruminais, satisfazendo as exigências dos animais por intermédio do aumento do consumo e digestibilidade da forragem basal (pasto seco), e não pelo atendimento direto das exigências dos animais via suplemento.

O fornecimento adicional de nitrogênio para animais consumindo forragens de baixa qualidade favorece o crescimento das bactérias fibrolíticas, aumenta a taxa de digestão e a síntese de proteína microbiana e, desse modo, permite incrementar o consumo voluntário de forragem e melhorar o balanço energético a partir de carboidratos fibrosos da forragem. Como consequência, incrementa-se o aproveitamento dos substratos energéticos do próprio suplemento, resultando em maior aporte de nutrientes para o intestino e ácidos graxos voláteis para o metabolismo energético (Detmann et al., 2004b).

De acordo com Russell et al. (1992), se fornecida uma fonte de PDR ou uma fonte de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP) que atenda às necessidades das bactérias fibrolíticas nas situações onde há limitação de nitrogênio, a atividade dessa população aumenta significativamente, pois essa requer como principal fonte de nitrogênio o íon amônio ($N-NH_4^+$), liberado a partir da degradação ruminal da PDR e do NNP.

Os suplementos protéicos podem proporcionar aumento no consumo de forragem, devido ao fornecimento de $N-NH_3$ para os microrganismos ruminais. Esse aumento no consumo de forragem, em consequência da suplementação, proporciona acréscimo no consumo de energia pelo animal. O incremento no desempenho animal em função da suplementação protéica pode não ser devido apenas ao maior consumo de forragem, mas também a mudanças na digestibilidade ou na eficiência de utilização dos nutrientes.

Nesse contexto, o aumento do consumo de matéria seca poderá ser acarretado pela ampliação na velocidade de degradação dos carboidratos fibrosos potencialmente digestíveis (Waldo et al., 1972; Lazzarini et al., 2006). O aumento da taxa de degradação da FDN implica em redução do tempo necessário para que a partícula fibrosa alcance a faixa de gravidade específica que a habilite a ser retirada do ambiente ruminal, o que é determinado pela ampliação na concentração relativa da fração indigestível na partícula (Allen, 1996). Desta forma, amplia-se a taxa de *turnover* ruminal relativa à fração que efetivamente demanda espaço residente (FDN) (Mertens, 1994), tendo como consequência direta o aumento no consumo e degradação da FDN oriunda do pasto; fonte energética de maior viabilidade econômica.

Contudo, constitui desafio a predição da eficiência deste impacto sobre o desempenho animal, uma vez que, a despeito do embasamento teórico aqui apresentado, poucas informações estão disponíveis na literatura nacional a respeito da influência real da suplementação com compostos nitrogenados sobre a dinâmica ruminal dos componentes fibrosos de forragens tropicais de baixa qualidade. Uma estratégia de suplementação adequada seria aquela destinada a maximizar o consumo e a degradação da forragem disponível.

Por outro lado, depressões no consumo de forragem podem ocorrer sob baixas relações volumoso:concentrado da dieta, as quais podem ser facilmente verificadas em animais em terminação mantidos em pastagem, quando o consumo de suplementos mantém-se em patamares próximos a 0,8-1,0% do peso vivo (Paulino, 1999). Nessas circunstâncias, a redução no consumo de forragem pode ter consequências imediatas sobre o rendimento produtivo do sistema, uma vez que compromete-se a utilização dos componentes fibrosos da forragem como precursores para a síntese de produto animal.

Reduções no consumo de forragem devido a elevados níveis de carboidratos não-fibrosos na dieta, inclusive via suplementos, parecem estar associados a comprometimentos na utilização da fibra pelos microrganismos ruminais (Mould et al., 1983), o que compromete efetivamente o *turnover* das partículas residentes no rúmen.

Reduções na degradação ruminal da fibra, em função da adição de carboidratos não-fibrosos (CNF) prontamente degradáveis à dieta são, em geral, atribuídas a dois efeitos distintos, denominados efeito pH e efeito concentrado ou efeito carboidrato (Mould et al., 1983; Arroquy et al., 2005). No primeiro caso, reduções significativas no pH ruminal são responsáveis pela inibição parcial da degradação fibrosa, por comprometerem a condição

ideal de meio para o crescimento de microrganismos fibrolíticos (Mould et al., 1983; Hoover, 1986; e Van Soest, 1994).

Por outro lado, ao efeito concentrado ou efeito carboidrato são atribuídas como causas as competições por nutrientes essenciais entre microrganismos fibrolíticos e aqueles que degradam CNF (Mould et al., 1983), as quais se pronunciam em meios deficientes em compostos nitrogenados (El-Shazly et al., 1961).

Estudos conduzidos em condições de pastagens tropicais permitem evidenciar que elevados níveis de suplementação, como os descritos anteriormente, não são capazes de comprometer o pH ruminal em níveis aquém daqueles demandados para atividade fibrolítica eficiente (Detmann et al., 2005; Moraes, 2006). Este quadro parece ser reflexo da alta efetividade física de fibras longas (Mertens, 1997), características de forragens sob pastejo, as quais atuam de forma intensa na estimulação do tamponamento ruminal via atividade mastigatória e liberação de saliva.

Desta forma, o efeito carboidrato parece predominar na influência de altos níveis de suplementação sobre a utilização de substratos fibrosos por animais em pastejo.

No entanto, recentemente, tem-se estabelecido que o efeito carboidrato possa se comportar de forma diferenciada em função da origem química dos carboidratos presentes no suplemento (Arroquy et al., 2005). Desta forma, faz-se premente a investigação dos efeitos de carboidratos não-fibrosos suplementares de diferentes formas químicas sobre a dinâmica ruminal dos carboidratos fibrosos da forragem, o que permitiria delinear, com maior exatidão, estratégias de suplementação para a otimização no uso dos substratos energéticos basais de menor custo.

Segundo Oba & Allen (1999), a avaliação da digestibilidade da FDN obtida por procedimento *in vitro* ou *in situ* produziria melhores estimativas em comparação ao *in vivo*, pelo fato do sistema *in vivo* proporcionar efeitos de confundimento em função de diferenças no consumo e no tempo de retenção da digesta no ambiente ruminal. Assim, estudos *in vitro* poderiam auxiliar na quantificação correta dos efeitos da suplementação nitrogenada sobre a utilização dos carboidratos fibrosos no rúmen.

Por outro lado, durante o período de chuvas, embora as pastagens tropicais não sejam consideradas deficientes em proteína bruta, os ganhos de peso obtidos estão aquém do observado sob condições similares em regiões temperadas. Esta discrepância pode ser, em parte, atribuída à alta degradabilidade da proteína bruta do pasto, o que provoca perda excessiva de compostos nitrogenados no ambiente ruminal na forma de amônia, gerando

déficit protéico em relação às exigências para ganhos elevados (Poppi & McLennan, 1995).

Segundo Detmann et al. (2005), embora durante o período de chuvas as principais deficiências nutricionais do pasto estejam relacionadas à proteína, a melhoria da qualidade da forragem implica alteração do enfoque nutricional das deficiências, passando de dietéticas durante o período de seca, para metabólicas durante o período de chuvas. Segundo estes autores, as principais limitações para o crescimento microbiano residem sobre o fato de a forragem disponível ao pastejo permitir baixa assimilação do nitrogênio disponível no rúmen em proteína microbiana, em função da alta degradabilidade dos compostos nitrogenados ou baixa velocidade de degradação dos carboidratos fibrosos da forragem.

Neste contexto, ampliações no desempenho animal seriam conseguidas por intermédio de fornecimento de fontes protéicas não-degradáveis no rúmen, que ampliariam diretamente o suprimento de proteína metabolizável ao animal (Poppi & McLennan, 1995), ou por intermédio de fontes energéticas de rápida disponibilidade no rúmen, as quais ampliariam a assimilação do nitrogênio oriundo dos compostos nitrogenados de alta degradabilidade da forragem (Poppi & McLennan, 1995; Detmann et al., 2005).

Por outro lado, Detmann et al. (2005) relevaram que, em função dos elevados níveis de compostos nitrogenados não-protéicos em gramíneas tropicais sob pastejo durante o período favorável a seu crescimento, respostas positivas poderiam ser obtidas com a suplementação com fontes protéicas degradáveis de natureza orgânica, as quais favoreceriam interações positivas entre espécies microbianas no ambiente ruminal.

Assim, dentro do contexto acima apresentado, seriam obtidas respostas positivas sobre o crescimento microbiano ruminal e, conseqüentemente, sobre a utilização dos carboidratos fibrosos da forragem basal, consumo de forragem e desempenho animal, durante o período de chuvas, a partir da suplementação energética ou com proteína verdadeira degradável no rúmen.

Neste contexto, em termos teóricos, a suplementação com fontes de nitrogênio não-protéico não conduziriam a melhorias na utilização dos substratos fibrosos no ambiente ruminal, podendo em alguns casos, gerar comprometimento sobre o desempenho animal.

Durante o período de chuvas, em função da baixa assimilação do nitrogênio em proteína microbiana e da alta digestibilidade dos componentes da forragem, excessos de compostos cetogênicos podem ser verificados no metabolismo animal (Leng, 1990; Detmann et al., 2005). Desta forma, sem adequado suprimento de proteína metabolizável,

o excesso de compostos energéticos precisa ser eliminados, ampliando a produção de calor corporal (Poppi & McLennan, 1995). Este quadro pode, em muitos casos, implicar redução no consumo pelos animais, mecanismo natural para adequação da taxa de liberação de calor corporal a níveis mais próximos ao conforto.

Sob condições de alta degradabilidade da proteína basal, a suplementação com fontes não-protéicas incrementaria a síntese hepática de uréia. Assim, a energia necessária para a formação de uréia a partir do excesso de proteína decresce a razão energia líquida/energia metabolizável, sendo direcionada à formação de calor corporal (NRC,1988), ampliando-se o quadro descrito anteriormente. Poppi & McLennan (1995) afirmaram que a dissipação de calor aparece como a maior limitação à produção nos trópicos, em condições de pastagens. O estresse calórico implica em restrição de consumo e, portanto, de ganho, a uma taxa na qual o calor corporal possa ser dissipado confortavelmente, sendo normalmente agravado pela baixa relação proteína:energia nos substratos absorvidos, desviando o excesso acetogênico para a produção de calor e elevando a temperatura corporal, a qual inibe o consumo (Leng, 1990).

Contudo, resultados recentes conduzidos em condições tropicais têm permitido evidenciar incrementos na produção animal a partir da suplementação com fontes de compostos nitrogenados não-protéicos (Paulino et al., 2005; Porto, 2005), o que contraria os pressupostos teóricos apresentados anteriormente.

Segundo Paulino et al. (2002), a elevada porção de compostos nitrogenados insolúveis em detergente neutro verificada em gramíneas tropicais, sendo considerada de lenta e incompleta degradação (Sniffen et al., 1992), pode implicar carência de compostos nitrogenados aos microrganismos ruminais para máxima produção de proteína microbiana e, conseqüentemente, para expressão do máximo potencial genético em ganho de peso dos animais. Tal pressuposto, segundo estes autores, poderia justificar as respostas positivas com a suplementação com uréia durante os períodos de amplo crescimento forrageiro.

No entanto, relações casuísticas efetivas não foram encontradas na literatura consultada, relevando-se a necessidade de estudos que procurem ampliar o entendimento entre a suplementação com diferentes fontes protéicas e a utilização dos carboidratos fibrosos de forragem de boa qualidade, como aquela observada durante o período de crescimento forrageiro favorável em gramíneas tropicais.

Desta forma, de acordo com os pressupostos aqui apresentados, definiu-se como objetivo nesta dissertação avaliar os efeitos da suplementação protéica e/ou energética

sobre a dinâmica de degradação ruminal *in vitro* dos carboidratos fibrosos de forragens tropicais de baixa e alta qualidade.

Referências Bibliográficas

- ALLEN, M.S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3063-3075, 1996.
- ARROQUY, J.I.; COCHRAN R. C.; NAGARAJA, T. G. et al. Effect of types of non-fiber carbohydrates on *in vitro* forage fiber digestion of low-quality grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.120, p.93-106, 2005.
- DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S. et al. Validação de equações preditivas da fração indigestível da fibra em detergente neutro em gramíneas tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.1866-1875, 2004a.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Níveis de proteína bruta em suplementos múltiplos para terminação de novilhos mestiços em pastejo durante a época seca: desempenho produtivo e características de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.169-180, 2004b.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante período de transição seca/águas: digestibilidade aparente e parâmetros do metabolismo ruminal e dos compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1380-1391, 2005.
- EL-SHAZLY, K; DEHORITY, B.A.; JOHNSON, R.R. Effect of starch on the digestion of cellulose *in vitro* and *in vivo* by rumen microorganisms. **Journal of Animal Science**, v.20, p.268-273, 1961.
- HAFLEY, J.L.; ANDERSON, B.E.; KLOPFENSTEIN, T.J. Supplementation of growing cattle grazing warm-season grass with proteins of various ruminal degradability. **Journal of Animal Science**, v.71, p.522-529, 1993.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Animal Science**, v.63, p.40-44, 1986.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B. et al. Dinâmica de degradação ruminal *in situ* da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade suplementados com níveis crescentes de compostos nitrogenados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (CD-ROM).
- LENG, R.A. Supplementation of tropical and subtropical pastures for ruminant production. In: GILCHRIST, F.M.C.; MACKIE, R. I. (Eds.) **Herbivore nutrition in the subtropics and tropics**. Craighall: The Science Press LTD., 1984, p.129-144.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of poor-quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Review**, v.3, p.277-303, 1990.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY J.R., G.C. (ED.) **Forage quality, evaluation and utilization**. Wisconsin: American Society of Agronomy, 1994. p.450-493.
- MERTENS, D.R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.1463-1481, 1997.
- MINSON, D.J. **Forage in ruminant nutrition**. San Diego: Academic Press, 1990. 483p.

- MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R.; MANN, O. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science and Technology**, v.10, p. 15-30, 1983.
- MORAES, E.H.B.K. **Desempenho e exigências de energia, proteína e minerais de bovinos de corte em pastejo, submetidos a diferentes estratégias de suplementação**. Viçosa: UFV, 2006, 120p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2006.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL- NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6 ed. Washington, DC: Academic Press, 1988. 158p.
- OBA, M.; ALLEN, M.S. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.589-596, 1999.
- PAULINO, M.F. Estratégias de suplementação para bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 1, 1999, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 1999. p.137-156.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T. Suplementos múltiplos para recria e engorda de bovinos em pastagens. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2, 2001, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 2001. p.187-233.
- PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; MORAES, E.H.B.K. et al. Bovinocultura de ciclo curto em pastagens. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE. 3, 2002 Viçosa. **Anais...** Viçosa:SIMCORTE, 2002. p.153-196.
- PAULINO, M.F.; MORAES, E.H.B.K.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Fontes de energia em suplementos múltiplos de auto-regulação de consumo na recria de novilhos mestiços em pastagem de *Brachiaria decumbens* durante o período das águas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.3, p.957-962, 2005.
- PORTO, M.O. **Suplementos múltiplos para recria e terminação de bovinos em pastejo durante o período das águas**. Viçosa: UFV, 2005, 99p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- POPPI, D.P.; McLENNAN, S.R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, p.278-290, 1995.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- SNIFFEN, C.J.; BEVERLY, R.W.; MOONEY, C.S. et al. Nutrient requirements versus supply in the dairy cow: strategies to account for variability. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 3160-3178, 1993.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- WALDO, D.R.; SMITH, L.W.; COX, E.L. Model of cellulose disappearance from the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.55, p.125-129, 1972.

CAPÍTULO 1

Dinâmica de Degradação *In Vitro* da Fibra em Detergente Neutro de Forragem Tropical de Baixa Qualidade em Função de Suplementação com Proteína e/ou Carboidratos

1.Introdução

Segundo Paulino et al. (2001), as forragens tropicais sob pastejo, especialmente na época da seca, raramente constituem dieta balanceada no senso de que seus constituintes orgânicos e inorgânicos estejam presentes em concentrações e proporções que melhor satisfaçam às necessidades dos animais. Em condições de restrição nutricional, os animais são submetidos a carências múltiplas, sendo que a proteína (ou compostos nitrogenados) assume papel prioritário.

A forragem disponível em pastagens tropicais durante o período da seca apresenta teores de fibra elevados e teores de proteína bruta (PB) geralmente inferiores a 7%, valor considerado como limitante para a adequada atividade dos microrganismos do rúmen (Minson, 1990), acarretando baixa digestibilidade da forragem, com o não-aproveitamento de energia potencialmente extraível dos carboidratos fibrosos da parede celular vegetal (Lazzarini et al., 2006), e reduções no consumo voluntário e desempenho animal (Sniffen et al., 1993).

Tal quadro assume papel preponderante nos trópicos, pois entre os diferentes componentes dos alimentos, a fração fibrosa apresenta importância fundamental em sistemas de produção tropicais, pois fornece quantidade significativa de energia a baixo custo (Detmann et al., 2004a). Desta forma, baixa eficiência de aproveitamento da energia oriunda da fibra pode incorrer em redução nas eficiências produtiva e econômica dos sistemas de produção.

O fornecimento adicional de compostos nitrogenados para animais consumindo forragens de baixa qualidade pode, por sua vez, permitir incremento no consumo voluntário da forragem e melhor balanço energético a partir de carboidratos fibrosos da forragem, uma vez que estes favorecem o crescimento das bactérias fibrolíticas (Russell et

al., 1992), aumentam a taxa de degradação ruminal e a síntese de proteína microbiana, resultando assim em maior aporte de nutrientes para o intestino e ácidos graxos voláteis para o metabolismo energético (Detmann et al., 2004b) .

Neste contexto, o aumento do consumo voluntário poderá ser acarretado pela ampliação na velocidade de degradação dos carboidratos fibrosos potencialmente degradáveis (Waldo et al., 1972; Lazzarini et al., 2006). O aumento da taxa de degradação da fibra em detergente neutro (FDN) implica em redução no tempo necessário para que a partícula fibrosa alcance a faixa de gravidade específica que a habilite a ser retirada do ambiente ruminal, o que é determinado pelo aumento na concentração relativa da fração indigestível da partícula (Allen, 1996). Desta forma, amplia-se o *turnover* ruminal da fração que efetivamente demanda espaço residente (Mertens, 1994), tendo como consequência direta o aumento no consumo e degradação da FDN oriunda do pasto, fonte energética de maior viabilidade econômica.

Contudo, constitui desafio a predição da eficiência deste impacto sobre o desempenho animal, uma vez que, a despeito do embasamento teórico acima descrito, poucas informações estão disponíveis na literatura nacional a respeito da influência real da suplementação com compostos nitrogenados sobre a dinâmica ruminal dos componentes fibrosos de forragens tropicais de baixa qualidade.

Por outro lado, depressões no consumo de forragem podem ocorrer sob baixas relações volumoso:concentrado da dieta (Minson, 1990), as quais podem ser facilmente verificadas em animais em terminação mantidos em pastagem quando o consumo de suplementos mantém-se em patamares próximos a 0,8-1,0% do peso vivo (Paulino, 1999). Nestas circunstâncias, a redução no consumo de forragem pode ter consequência imediata sobre o rendimento produtivo do sistema, uma vez que se compromete a utilização dos componentes fibrosos da forragem como precursores para a síntese de produto animal.

Reduções no consumo de forragem podem ocorrer quando são fornecidos níveis elevados de carboidratos não-fibrosos (CNF) na dieta via suplementos, pois estes podem comprometer a utilização da fibra pelos microrganismos ruminais (Mould et al., 1983), o que prejudica o *turnover* das partículas presentes no rúmen.

A redução na degradação ruminal da fibra pode ser atribuída a dois efeitos distintos, denominados efeito pH e efeito concentrado ou efeito carboidrato (Mould et al., 1983; Arroquy et al., 2005). No primeiro caso, reduções significativas no pH ruminal são responsáveis pela inibição parcial da degradação fibrosa, por comprometerem a condição ideal do meio para o crescimento dos microrganismos fibrolíticos (Mould et al., 1983;

Hoover, 1986; e Van Soest, 1994). Por outro lado, o efeito carboidrato é atribuído à competição por substratos entre microrganismos fibrolíticos e aqueles que degradam CNF, a qual se pronuncia em meios deficientes em compostos nitrogenados (El-Shazly et al., 1961).

Estudos conduzidos em condições tropicais permitem evidenciar que elevados níveis de suplementação, como os descritos anteriormente, não são capazes de comprometer o comportamento do pH ruminal em níveis aquém daqueles demandados para atividade fibrolítica eficiente (Detmann et al., 2005; Moraes, 2006). Este quadro parece ser reflexo da alta efetividade física de fibras longas (Mertens, 1997), características de forragens sob pastejo, as quais atuam de forma intensa na estimulação do tamponamento ruminal via atividade mastigatória e liberação de saliva. Desta forma, o efeito carboidrato parece predominar na influência de altos níveis de suplementação sobre a utilização de substratos fibrosos por animais em pastejo.

No entanto, recentemente, tem-se estabelecido que o efeito carboidrato pode se manifestar de forma diferenciada em função da origem química dos carboidratos presentes nos suplementos (Arroquy et al., 2005). Desta forma, faz-se premente a investigação dos efeitos de CNF suplementares de diferentes origens químicas sobre a dinâmica ruminal dos carboidratos fibrosos da forragem, o que permitiria delinear com maior exatidão estratégias de suplementação para otimização do uso dos substratos energéticos basais de menor custo.

Assim, objetivou-se avaliar a dinâmica de degradação *in vitro* da FDN de forragem tropical de baixa qualidade em função de suplementação com proteína e/ou diferentes fontes de carboidratos.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

A forragem utilizada nos procedimentos de avaliação *in vitro* foi proveniente de amostras de *Brachiaria decumbens* Stapf., coletadas por intermédio de cortes rente ao solo em piquetes sob pastejo contínuo, em Viçosa-MG, entre os meses de julho e agosto de 2003 (período seco) (Moraes, 2006).

As amostras, após secas sob ventilação forçada (60°C/72 h), foram processadas em moinho de faca (1 mm) e homogeneizadas em uma única amostra composta.

Posteriormente, procedeu-se à quantificação dos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina por solubilização da celulose por ácido sulfúrico (72% p/p), segundo métodos descritos em Silva & Queiroz (2002). As avaliações quanto aos teores FDN foram conduzidas segundo recomendações de Mertens (2002). Os teores de FDN e FDA foram também expressos nas formas corrigidas para cinzas e compostos nitrogenados, sendo os procedimentos de correção conduzidos segundo métodos descritos por Mertens (2002) e Licitra et al. (1996), respectivamente. A composição química da forragem basal é apresentada na Tabela 1.

O tratamento considerado como referência à implementação dos demais foi construído de forma a simular situação de suplementação para bovinos em terminação sob pastejo durante o período seco (70% de forragem e 30% de concentrado, com base na matéria seca), em aproximação a valores observados em experimentos similares *in vivo* (Kabeya et al., 2002; Detmann et al., 2004b).

O concentrado referente ao tratamento referência foi formulado de forma a apresentar 30% de PB, utilizando-se amido, como componente energético, e caseína, como componente protéico. Todos os componentes utilizados nos procedimentos de incubação foram avaliados de forma similar aos métodos utilizados para as amostras de forragem (Tabela 1).

Os demais tratamentos foram construídos a partir da omissão do fornecimento das fonte protéica e/ou energética do suplemento, associando-se, ainda, a substituição total do amido por pectina. Desta forma, seis foram os tratamentos avaliados: 1.Forragem; 2.Forragem + Amido; 3.Forragem + Pectina; 4.Forragem + Caseína; 5.Forragem + Caseína + Amido (tratamento referência); e 6.Forragem + Caseína + Pectina.

A escolha dos componentes utilizados na constituição dos suplementos se deu com base em dois critérios: 1.pureza da fonte protéica ou energética; e 2.ausência de FDN, o que permitiu avaliar de forma exclusiva a degradação da fração fibrosa insolúvel da forragem. As seguintes fontes foram utilizadas: caseína oriunda do leite bovino (pó purificado; Sigma C-5890); pectina cítrica (Sigma P-9135); e amido solúvel (PA, ACS, F. Maia S/A).

Alíquotas de forragem (245 mg de MS) foram acondicionadas em frascos de vidro tipo “penicilina” com 50 mL de volume total. Em seguida, acondicionou-se a fonte protéica e/ou energética segundo a estrutura dos tratamentos anteriormente descritos, perfazendo o total de 350 mg de MS por frasco para os tratamentos que envolveram,

simultaneamente, tanto a suplementação protéica, como a suplementação energética (Tabela 2).

Tabela 1 - Composição química da forragem e dos componentes dos suplementos

Item ¹	Forragem	Componente		
		Amido	Pectina	Caseína
MS ²	749,2	880,5	854,4	901,3
MO ³	931,4	989,1	967,4	978,7
PB ³	38,3	0,0	36,8	878,9
EE ³	6,4	1,2	3,7	5,6
CT ³	886,7	987,9	926,9	94,2
FDN ³	845,2	-	-	-
FDNcp ³	781,0	-	-	-
PIDN ⁴	476,7	-	-	-
CNF ³	105,7	987,9	926,9	94,2
FDA ³	476,0	-	-	-
FDAcp ³	421,2	-	-	-
PIDA ⁴	326,9	-	-	-
Lignina ³	61,0	-	-	-

¹/MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; CT = carboidratos totais; FDN = fibra em detergente neutro; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína. PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro; CNF = carboidratos não-fibrosos; FDA = fibra em detergente ácido; FDAcp = fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína; PIDA = proteína insolúvel em detergente neutro. ²/ g/kg de matéria natural. ³/ g/kg de MS. ⁴/ g/kg de PB.

Posteriormente, foram adicionados 28 mL de solução tampão de McDougall (McDougall, 1949), com pH previamente ajustado para 6,8 por intermédio de aspersão com CO₂. Os frascos foram mantidos em sala climatizada (39°C) para prévia hidratação das amostras.

Durante o processo de hidratação, foi coletado líquido ruminal proveniente de um bovino doador, fistulado no rúmen, mantido nas proximidades da sala de incubação. O animal doador foi alimentado exclusivamente com cana-de-açúcar, sem correção com uréia, sendo submetido a jejum de alimentos por 12 horas anteriormente à coleta. A alimentação base do animal doador, em conjunto com o período de jejum, visou a obtenção de inóculo ruminal com baixo teor de nitrogênio amoniacal, buscando-se simular as condições ruminais de animais mantidos em pastos tropicais durante o período seco, sem suplementação. O animal teve disponibilidade irrestrita no tocante a água e mistura mineral completa (6% de fósforo).

O líquido foi coletado na região de interface líquido:sólido do ambiente ruminal, filtrado por uma camada tripla de gaze, acondicionado em recipiente térmico e imediatamente transportado à sala de incubação.

Foram adicionados 7 mL de inóculo ruminal por frasco, procedendo-se imediatamente à saturação do ambiente de incubação com CO₂ e à vedação dos frascos. A relação final, para os tratamentos com a adição de suplementos protéico e energético foi de 100 mg de MS/10 mL de solução final e 1 mL de inóculo ruminal/4 mL de solução tampão (Tilley & Terry, 1963). Os frascos foram mantidos a 39°C, sob agitação orbital (40 rpm). Procedeu-se à retirada dos gases oriundos da fermentação a cada três horas com o auxílio de agulhas.

Tabela 2 - Descrição dos componentes adicionados ao sistema *in vitro* de acordo com os diferentes tratamentos

Componente ²	Tratamentos ¹					
	F	FA	FP	FC	FCA	FCP
Fragem (mg)	245	245	245	245	245	245
Amido (mg)	-	65	-	-	65	-
Pectina (mg)	-	-	65	-	-	65
Caseína (mg)	-	-	-	40	40	40
Inóculo Ruminal (mL) ³	7	7	7	7	7	7
Tampão de McDougall (mL)	28	28	28	28	28	28

¹/F = forragem; FA = forragem mais amido; FP = forragem mais pectina; FC = forragem mais caseína; FCA = forragem mais caseína e amido; e FCP = forragem mais caseína e pectina. ²/ Com base na matéria seca. ³/ O inóculo ruminal apresentou teor médio de 6,17 mg de nitrogênio amoniacal/dL.

Foram avaliados os tempos de 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas de incubação. O procedimento de incubação foi repetido quatro vezes, perfazendo-se o total de quatro avaliações por tempo de incubação para cada tratamento.

Ao final de cada tempo de incubação, os frascos foram retirados da sala climatizada e submetidos à mensuração do pH com potenciômetro digital, sendo o conteúdo filtrado sob vácuo em cadinhos filtrantes (porosidade grossa). Os cadinhos foram então acondicionados em frascos de polietileno (120 mL), aos quais adicionou-se 50 mL de detergente neutro (Mertens, 2002). Após serem vedados, os frascos foram autoclavados (105°C/1 hora), de forma a extraírem-se todos os componentes solúveis em detergente neutro (método de micro-FDN; Pell & Schofield, 1993). Após este tratamento, procedeu-se novamente à filtração sob vácuo e lavagem seqüencial do resíduo com água quente e acetona. A FDN residual foi obtida após secagem do material em estufa não-ventilada (105°C/16 horas).

Os resíduos de FDN nos diferentes tempos, para cada tratamento, foram submetidos, por intermédio do algoritmo de Gauss-Newton, ao ajustamento do modelo logístico não-linear descrito por Van Milgen et al. (1991):

$$Rt = U \times \frac{[c \times \exp(-p \times t) - p \times \exp(-c \times t)]}{(c - p)} + I \quad (1);$$

em que: R_t = resíduo não-degradado de FDN no tempo “t” (%); U = fração potencialmente degradável da FDN (%); I = fração indegradável da FDN (%); c = taxa fracional de degradação da fração potencialmente degradável da FDN (h^{-1}); p = taxa fracional de latência (h^{-1}); e t = tempo (h).

A função descrita em (1) é simétrica em relação às taxas fracionais c e p , sendo comumente assumido que os menores valores estão associados ao parâmetro c (Vieira et al., 1997). Contudo, para os casos em que c e p tendem à mesma estimativa, indeterminação matemática será observada. Assim, para os casos em que isto foi observado, o modelo foi re-parametrizado, segundo a regra de L’Hôpital (Van Milgen et al., 1991):

$$Rt = U \times (1 + \lambda \times t) \times \exp(-\lambda \times t) + I \quad (2);$$

em que: λ = taxa fracional conjunta de latência e degradação (h^{-1}); sendo os demais termos definidos anteriormente.

Em virtude de o parâmetro λ representar conjuntamente as taxas de latência e degradação, impossibilita-se a comparação biológica direta com o parâmetro c (Equação 1). Desta forma, estimou-se a taxa fracional de degradação a partir de λ utilizando-se as propriedades da distribuição gama-2 (Ellis et al., 1994):

$$c' = 0,59635\lambda \quad (3);$$

em que: c' = taxa fracional de degradação da FDN potencialmente degradável (h^{-1}) para os casos em que o modelo re-parametrizado for utilizado (Equação 2).

As estimativas de latência discreta foram obtidas segundo derivações de Vieira et al. (1997):

$$L = \frac{R(0) - R(t_i)}{R'(t_i)} + t_i \quad (4);$$

em que: L = latência discreta (h); $R(0)$ = resíduo de FDN não degradado em $t = 0$ (%); $R(t_i)$ = resíduo não-degradado de FDN obtido no ponto de inflexão da curva de degradação (%); $R'(t_i)$ = derivada da curva ajustada de degradação para o ponto de inflexão (máxima taxa de degradação do substrato) (h^{-1}); t_i = tempo equivalente ao ponto de inflexão da curva de degradação (h).

Os valores de t_i foram obtidos segundo as descrições de Van Milgen et al. (1991) e Vieira et al. (1997), segundo as equações abaixo, aplicadas, respectivamente aos modelos descritos em (1) e (2):

$$t_i = \frac{\ln(c) - \ln(p)}{(c - p)} \quad (5);$$

$$t_i = \frac{1}{\lambda} \quad (6).$$

As frações efetivamente degradadas da FDN foram obtidas em adaptação às sugestões de Ørskov & McDonald (1979), segundo a equação:

$$FED = \lim_{t \rightarrow \infty} \int_0^t f \left(-\frac{dRt}{dt} \right) dt \quad (7);$$

em que: FED = fração efetivamente degradada da FDN (%); f = função relativa ao deslocamento de sólidos no ambiente ruminal.

Para definição da função descrita em (7), assumiu-se deslocamento ruminal de sólidos de ordem gama-1 (Ellis et al., 1994), segundo a equação:

$$f = \exp(-k \times t) \quad (8);$$

em que: k = taxa fracional de deslocamento de sólidos no ambiente ruminal (h^{-1}), à qual designou-se, hipoteticamente, os valores 0,020, 0,035 e 0,050.

Desta forma, estimou-se a fração efetivamente degradada, no contexto das equações (1) e (2), respectivamente, por:

$$FED = U \times \frac{c \times p}{(c + k) \times (p + k)} \quad (9);$$

$$FED = U \times \frac{\lambda^2}{(\lambda + k)^2} \quad (10).$$

O efeito de repleção ruminal da fração potencialmente degradável da FDN foi obtido em adaptação às proposições de Waldo et al. (1972), respectivamente, para o uso das Equações (1) e (2):

$$RR = \lim_{t \rightarrow \infty} \int_0^t \left\{ Up \times \frac{[c \times \exp(-p \times t) - p \times \exp(-c \times t)]}{(c - p)} \times f \right\} dt = Up \times \frac{c + p + k}{(c + k) \times (p + k)} \quad (11);$$

$$RR = \lim_{t \rightarrow \infty} \int_0^t \left\{ Up \times (1 + \lambda \times t) \times \exp(-\lambda \times t) \times f \right\} dt = Up \times \frac{2\lambda + k}{(\lambda + k)^2} \quad (12);$$

em que: RR = efeito de repleção ruminal da fração potencialmente degradável da FDN (h); e Up = fração potencialmente degradável da FDN padronizada, sendo $Up = U / (U + I)$.

A taxa específica de crescimento microbiano sobre a fração potencialmente degradável da FDN foi estimada segundo proposições de Beuvink & Kogut (1993), segundo a equação:

$$Sgr = \frac{R'(t_i)}{U} \quad (13);$$

em que: Sgr = taxa específica de crescimento microbiano (h^{-1}).

A partir das estimativas de Sgr, obtiveram-se as eficiências de crescimento microbiano, segundo proposições de Pirt (1965):

$$\frac{1}{Y} = \frac{m}{Sgr} + \frac{1}{Ym} \quad (14);$$

em que: Y = eficiência microbiana ($g \text{ células} \cdot g^{-1} \text{ carboidrato degradado}$); m = exigência de manutenção das bactérias ($g \text{ carboidrato} \cdot g^{-1} \text{ célula} \cdot h^{-1}$); e Ym = eficiência teórica máxima dos microrganismos sobre o substrato ($g \text{ células} \cdot g^{-1} \text{ carboidratos}$).

Adotou-se como referência ao parâmetro Ym o valor de $0,4 g \text{ célula} \cdot g^{-1} \text{ carboidrato degradado}$ e para m o valor de $0,05 g^{-1} \text{ célula} \cdot h^{-1}$, conforme especificações de Russell et al. (1992).

Os modelos ajustados para os perfis de degradação em função dos diferentes tratamentos foram comparados de forma descritiva. Por sua vez, os valores de pH obtidos para o diferentes tempos de incubação foram avaliados segundo delineamento em blocos completos casualizados, considerando-se cada partida de incubação como bloco, em esquema fatorial $2 \times 3 \times 10$ (ausência ou presença de suplementação com compostos nitrogenados; três fontes de carboidratos; e dez tempos de incubação). Todos os procedimentos estatísticos, tanto lineares, como não-lineares, foram conduzidos por intermédio do programa SAS (*Statistical Analysis System*), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

3.Resultados e Discussão

As estimativas dos parâmetros da cinética de degradação ruminal e a estimativa média do perfil de degradação da FDN da forragem são apresentadas na Tabela 3 e Figura 1, respectivamente. Verificou-se diferença sobre a conformação dos perfis de degradação com ou sem a adição de caseína. Na ausência de caseína, verificou-se perfeita discriminação entre os parâmetros c e p (Equação 1). Por outro lado, na presença de

caseína verificou-se tendência de similaridade entre estes, demandando a reparametrização do modelo (Van Milgen et al., 1991) com a adoção de taxa conjunta de latência e degradação (λ ; Equação 2).

Embora comparações biológicas não possam ser aplicadas diretamente entre os parâmetros c e λ , este último, ao ser convertido via propriedades da distribuição gama (Ellis et al., 1994) à forma c' , permitiu evidenciar incremento médio da ordem de 46,0% sobre a taxa de degradação ruminal da FDN potencialmente degradável (FDNpd) com a suplementação com compostos nitrogenados (Tabela 3).

Tabela 3 - Estimativas da taxa fracional de degradação da FDNpd ($c - h^{-1}$), da taxa fracional de latência ($p - h^{-1}$), da taxa fracional comum para latência e degradação ($\lambda - h^{-1}$), taxa fracional de degradação da FDNpd obtida a partir da conversão do parâmetro λ ($c' - h^{-1}$) e do tempo de latência discreta ($L - h$) para os parâmetros da cinética de degradação ruminal da fibra em detergente neutro, desvios-padrão assintóticos (DPA) e número de observações (n) para os perfis de degradação ajustados para os diferentes tratamentos

Parâmetro	Tratamentos ¹					
	F	FA	FP	FC	FCA	FCP
c	0,0279±0,014	0,0215±0,006	0,0288±0,009	-	-	-
p	0,1578±0,175	0,1736±0,101	0,2923±0,329	-	-	-
λ	-	-	-	0,0682±0,006	0,0554±0,003	0,0679±0,052
c' ²	-	-	-	0,0407	0,0330	0,0405
L	3,52	3,51	2,21	4,13	5,09	4,15
DPA	5,44	2,67	4,88	4,17	2,90	4,18
n ³	39	33	38	39	40	39

¹F = forragem; FA = forragem mais amido; FP = forragem mais pectina; FC = forragem mais caseína; FCA = forragem mais caseína e amido; e FCP = forragem mais caseína e pectina. ²/ Estimado segundo propriedades da distribuição Gama-2: $c' = 0,59635\lambda$. ³/ Os números diferentes de repetições para cada tratamento são devidos à eliminação de *outliers* (valores absurdos) verificados nos perfis de degradação.

O incremento obtido sobre a taxa de degradação da FDNpd com a introdução de compostos nitrogenados suplementares, pode ser melhor visualizado por intermédio da Figura 1. Ressalta-se que as estimativas demonstradas no gráfico, bem como o processo de estimação das demais variáveis aqui apresentadas foram baseadas sobre os valores médios gerais das frações U (49,8±2,1%) e I (50,1±1,9%), sob o pressuposto de estas serem características únicas e exclusivas do substrato (forragem) (Ørskov, 2000).

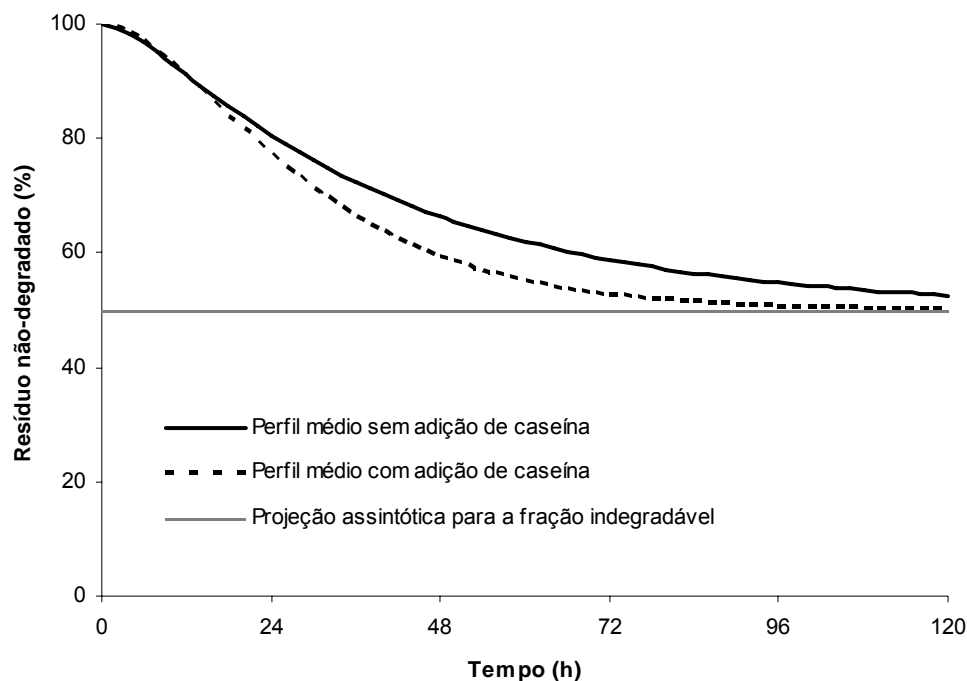


Figura 1 - Estimativa média do perfil de degradação da fibra em detergente neutro em função da adição de caseína.

Ao contrário do impacto direto verificado com a adição de compostos nitrogenados, a suplementação com carboidratos produziu efeitos de menor magnitude sobre a taxa de degradação da FDNpd (Tabela 3).

A pectina conferiu taxas de degradação análogas à ausência de carboidratos, tanto na ausência, como na presença de caseína (Tabela 3). Efeitos deste composto foram, contudo, verificados sobre o tempo de latência, resultando, na ausência de caseína, em redução de 37,2% e, na presença de caseína, em valores similares aos observados sem a presença de carboidratos, respectivamente (Tabela 3).

Por outro lado, a influência do amido mostrou-se negativa sobre a degradação da FDNpd tanto na ausência, como na presença de caseína (Tabela 3). Na ausência de caseína, a suplementação com amido reduziu em 22,9% a taxa de degradação da FDNpd, embora nenhum impacto tenha sido verificado sobre o tempo de latência. De outra forma, na presença de caseína, o amido reduziu em 18,9% a taxa de degradação da FDNpd e, concomitantemente, elevou em 23,0% o tempo de latência.

O modelo adotado para descrição do perfil de degradação da FDN (Equação 1) pressupõe que o processo de degradação ruminal seja composto por dois sub-compartimentos: o primeiro, onde ocorreriam os eventos preparatórios à degradação (hidratação, fixação microbiana, etc) (Van Soest, 1994), que alimentaria dinamicamente, à

taxa p, o sub-compartimento no qual ocorreria efetivamente a degradação, segundo a taxa c (Van Milgen et al., 1991).

A similaridade entre as estimativas dos parâmetros c e p verificadas para os casos em que se procedeu à suplementação com compostos nitrogenados constitui indicativo indireto de maior velocidade de ação microbiana sobre o substrato, uma vez que os eventos preparatórios tendem a ocorrer de forma quase simultânea à degradação, tornando os sub-compartimentos menos distinguíveis, sendo sua dinâmica expressa por uma taxa conjunta (λ) (Equação 2).

De fato, a inclusão de compostos nitrogenados incrementou, em média, em 22,4% e 10,5% a taxa de crescimento específica e a eficiência de crescimento dos microrganismos sobre a FDNpd da forragem (Tabela 4).

Tabela 4 - Máxima taxa de degradação ($\mu - h^{-1}$), taxa específica de crescimento de microrganismos ($Sgr - h^{-1}$) e eficiência de crescimento microbiano sobre a fibra em detergente neutro potencialmente degradável da forragem (EFM – g MS microbiana/kg de carboidrato degradado no rúmen) em função dos diferentes tratamentos

Tratamento ¹	μ	Sgr	EFM
F	0,9578	0,0192	195,9
FA	0,7971	0,0160	177,8
FP	1,1135	0,0224	211,3
Média s/ caseína	0,9561	0,0192	195,0
FC	1,2497	0,0250	222,2
FCA	1,0151	0,0204	202,0
FCP	1,2442	0,0250	222,2
Média c/ caseína	1,1697	0,0235	215,5
Incremento médio c/ caseína (%)	22,3	22,4	10,5

¹F = forragem; FA = forragem mais amido; FP = forragem mais pectina; FC = forragem mais caseína; FCA = forragem mais caseína e amido; e FCP = forragem mais caseína e pectina.

O incremento na taxa de degradação da FDNpd por intermédio da adição de compostos nitrogenados, em contraste às variações de menor magnitude observadas com a adição ou alteração da fonte de carboidrato, indica a natureza prioritária da proteína na suplementação de animais mantidos em pastagens durante a estação seca, situação na qual a extração de energia a partir dos carboidratos fibrosos, torna-se limitante por deficiência de compostos nitrogenados para a construção do maquinário metabólico dos microrganismos ruminais (Satter & Slyter, 1974; Leng, 1990; e Paulino et al., 2006).

De forma similar ao obtido neste trabalho, Lazzarini et al. (2006), avaliando a dinâmica de degradação ruminal da FDN em bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade e suplementados com níveis crescentes de compostos nitrogenados, obtiveram incremento de, aproximadamente, 8,4% sobre a taxa de degradação da FDNpd a cada ponto percentual de PB adicionado sobre a forragem basal.

Segundo Satter & Slyter (1974), a produção de proteína microbiana e o rendimento microbiano sobre o substrato energético são linearmente incrementados com a elevação dos níveis de PB da dieta até limites em torno de 130 a 140 g/kg. A produção de proteína microbiana está diretamente relacionada à velocidade de utilização dos substratos energéticos, e esta velocidade está intimamente associada à taxa de degradação da FDNpd em dietas baseadas em forragem de baixa qualidade, relação que suporta o incremento dos valores deste último parâmetro com a suplementação com compostos nitrogenados.

Segundo Van Soest (1994), as exigências de compostos nitrogenados dos microrganismos ruminais deixam de ser atendidas em níveis dietéticos basais de PB inferiores a 70 g/kg, comprometendo a utilização dos substratos energéticos potencialmente disponíveis. Níveis protéicos inferiores a este foram observados na forragem basal utilizada neste estudo (Tabela 1) e são comumente verificados na forragem disponível ao pastejo em condições tropicais durante o período seco (Paulino et al., 2002).

Por outro lado, Paulino et al., (2006) descreveram que limitações severas no tocante à disponibilidade de compostos nitrogenados podem comprometer não somente a velocidade de utilização, mas impor limitações de acessibilidade (ou extensão de degradação) à FDNpd.

Nesse contexto, as estimativas da fração efetivamente degradada são apresentadas na Tabela 5. Por se tratar de parâmetro diretamente derivado da taxa de degradação da FDNpd (Tabela 3), o comportamento verificado mostrou-se similar ao dessa variável, com incrementos da ordem de 17,1% sobre a fração efetivamente degradada da FDNpd em função da introdução de compostos nitrogenados suplementares, indicando acréscimo na acessibilidade aos substratos energéticos da forragem basal.

Segundo Lazzarini et al. (2006), o nível mínimo de 70 g/kg de PB na dieta basal é demandado para que os microrganismos tenham condições de utilização dos substratos energéticos fibrosos potencialmente digestíveis em forragens tropicais de baixa qualidade. Tal afirmativa suporta o incremento na fração de FDNpd efetivamente degradada obtida neste trabalho, uma vez que o mínimo de compostos nitrogenados não foi suprido pela forragem basal (Tabela 1).

Em termos teóricos, embora a FDNpd possa ser plenamente contabilizada como recurso energético para produção animal, deve-se relevar que esta constitui conceito assintótico (Mertens, 1993), ou seja, somente pode ser considerado válido se avaliado sob escala de tempo infinita. Em termos práticos, os eventos de degradação ruminal ocorrem em escalas de tempo finitas, o que impossibilita a exploração total dos substratos energéticos da FDNpd, permitindo a extração de apenas parte destes, a qual constitui a fração efetivamente degradada da FDN (Paulino et al., 2006). Ressalta-se que incrementos na fração efetivamente degradada da FDNpd evidenciam incrementos na fração energética total da dieta oriunda dos carboidratos fibrosos da forragem, podendo implicar diretamente em redução dos custos de produção animal.

Tabela 5 - Estimativas da fração efetivamente degradada da fibra em detergente neutro potencialmente degradável (% da FDNpd) em função dos diferentes tratamentos

Tratamento ¹	Taxa de Passagem Ruminal (h ⁻¹) ²		
	0,020	0,035	0,050
F	51,70	36,30	27,20
FA	46,46	31,66	23,35
FP	55,23	40,31	31,22
Média s/ caseína	51,13	36,09	27,26
FC	59,79	43,67	33,29
FCA	53,99	37,56	27,62
FCP	59,67	43,55	33,17
Média c/ caseína	57,81	41,59	31,36
Incremento médio c/ caseína (%)	14,3	17,1	17,8

¹/F = forragem; FA = forragem mais amido; FP = forragem mais pectina; FC = forragem mais caseína; FCA = forragem mais caseína e amido; e FCP = forragem mais caseína e pectina. ²/ Assumindo-se cinética de deslocamento ruminal de sólidos com ordem gama-1.

As estimativas do efeito de repleção ruminal da FDNpd são apresentadas na Tabela 6. Verificou-se decréscimo médio de 9,8% sobre as estimativas com a introdução de compostos nitrogenados suplementares.

O efeito de repleção ruminal representa de forma integrada a dinâmica do desaparecimento da FDN no ambiente ruminal, estando inversamente relacionado à capacidade de consumo de fibra (Waldo et al., 1972; Paulino et al., 2006). Desta forma, os benefícios obtidos com a suplementação com compostos nitrogenados integrar-se-iam sobre a FDNpd, implicando tanto em ampliação de sua degradação pelos microrganismos ruminais (Tabela 5), como em incremento na capacidade animal em ingeri-la (Tabela 6) (Paulino et al., 2006).

Tabela 6 - Efeito de repleção ruminal da ruminal (h) da fibra em detergente neutro potencialmente degradável em função dos diferentes tratamentos

Tratamento ¹	Taxa de Passagem Ruminal (h ⁻¹) ²		
	0,020	0,035	0,050
F	12,0	9,1	7,3
FA	13,3	9,7	7,6
FP	11,2	8,5	6,9
Média s/ caseína	12,2	9,1	7,3
FC	10,0	8,0	6,7
FCA	11,5	8,9	7,2
FCP	10,1	8,0	6,7
Média c/ caseína	10,5	8,3	6,8
Decréscimo Médio c/ Caseína (%)	13,9	9,8	6,8

¹/F = forragem; FA = forragem mais amido; FP = forragem mais pectina; FC = forragem mais caseína; FCA = forragem mais caseína e amido; e FCP = forragem mais caseína e pectina. ²/ Assumindo-se cinética de deslocamento ruminal de sólidos com ordem gama-1.

Esse comportamento mostrou-se similar ao obtido por Sampaio et al. (2006), que verificaram relação linear positiva entre a suplementação com compostos nitrogenados e o consumo de FDN efetivamente digerida em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade. Estímulos sobre o consumo de forragem em função de suplementação protéica foram também relatados por Hannah et al. (1991), Köster et al. (1996) e Mathis et al. (2001).

A probabilidade de retirada de uma partícula fibrosa do ambiente ruminal se amplia à medida que a FDN_{pd} é degradada, permitindo ampliar a concentração dos componentes de maior densidade, representados pela porção indegradável da FDN (FDN_i) (Allen, 1996). Desta forma, incrementos sobre a taxa de degradação da FDN_{pd} implicam em reduções na repleção ruminal (Equações 11 e 12). Contudo, os processos de trânsito e degradação mostram-se interligados, sendo que incrementos na taxa de degradação, além de reduzirem diretamente o efeito de repleção ruminal da FDN_{pd}, propiciam incrementos sobre a taxa de passagem ruminal (Paulino et al., 2006). Isto indica que os efeitos sobre a repleção ruminal seriam muito mais proeminentes *in vivo* do que aqueles observados *in vitro* (Tabela 6), uma vez que não se considera o trânsito ruminal.

Em função de seu efeito secundário sobre o processo de degradação ruminal da fibra, em relação aos efeitos propiciados pelos compostos nitrogenados (Tabela 3), os carboidratos devem ser avaliados de forma secundária, visando-se identificar relações sinérgicas ou antagônicas.

Como verificado neste experimento, a suplementação com carboidratos não introduziu benefícios sobre a utilização dos recursos basais, acarretando, em alguns casos, efeitos deletérios sobre a utilização da FDNpd (Tabelas 3, 5 e 6).

A queda na degradação ruminal da fibra frente à suplementação com carboidratos não-fibrosos (CNF), pode ser atribuída a dois efeitos distintos, denominados efeito pH e efeito concentrado ou efeito carboidrato (Mould et al., 1983; Arroquy et al., 2005). No primeiro caso, reduções significativas no pH ruminal são responsáveis pela inibição parcial da degradação fibrosa, por comprometerem a condição ideal de meio para crescimento microbiano (Mould et al., 1983; Hoover, 1986; e Van Soest, 1994).

A investigação do pH do meio de incubação não permitiu evidenciar efeitos significativos da suplementação com compostos nitrogenados ($P>0,05$) ou efeitos de interação de qualquer natureza ($P>0,05$). Por outro lado, verificaram-se efeitos significativos sobre esta variável no tocante à suplementação com carboidratos e ao tempo de incubação ($P<0,05$) (Figura 2).

Verificou-se efeito quadrático ($P<0,05$) em função do tempo de incubação, com ponto crítico localizado em 45,3 horas. Os valores mínimos de pH foram de: 7,00 na ausência de carboidratos, 6,87 com suplementação amilácea, e 6,85 com suplementação com pectina (Figura 2). Ressalta-se que as fontes de carboidratos não diferiram entre si quanto ao pH ruminal ($P>0,05$), propiciando, no entanto, valores inferiores aos observados na ausência de carboidratos ($P<0,05$).

Contudo, nenhuma fonte de carboidratos propiciou valores de pH considerados danosos à atividade microbiana sobre os carboidratos fibrosos da forragem (Mould et al., 1983; Hoover, 1986), indicando, com grande possibilidade, ausência de influência do efeito pH sobre a degradação da FDNpd na presença de carboidratos suplementares. Este comportamento se mostrou similar a resultados de estudos *in vivo*, nos quais níveis elevados de suplementos não são capazes de causar distúrbios severos no ambiente ruminal quanto ao pH (Detmann et al., 2005; Moraes, 2006). Desta forma, o efeito carboidrato parece predominar na influência de altos níveis de suplementação sobre a utilização de substratos fibrosos por animais em pastejo.

De forma geral, como discutido anteriormente, efeitos deletérios sobre a utilização da FDNpd foram observados com a suplementação com amido (Tabela 3), comportamento que concorda com relatos de outros autores (El-Shazly et al., 1961. Mertens & Loften, 1980; Piwonka & Firkins, 1993; Haddad & Grant, 2000; e Arroquy et al., 2005).

O efeito carboidrato verificado com a adição de amido parece envolver a competição por nutrientes essenciais entre grupos microbianos, resultando em maior proliferação dos microrganismos que degradam amido (El-Shazly et al., 1961; Coelho da Silva & Leão, 1979; e Mould et al., 1983). Esta competição conduziria à preferência inicial pela utilização do amido como substrato energético no ambiente ruminal (El-Shazly et al., 1961), com a transformação gradativa da fibra em substrato energético predominante à medida que se reduz a disponibilidade de amido (El-Shazly et al., 1961; Mertens & Loften, 1980; e Arroquy et al., 2005), envolvendo desta forma, mecanismos de regulação catabólica (Russell & Baldwin, 1978).

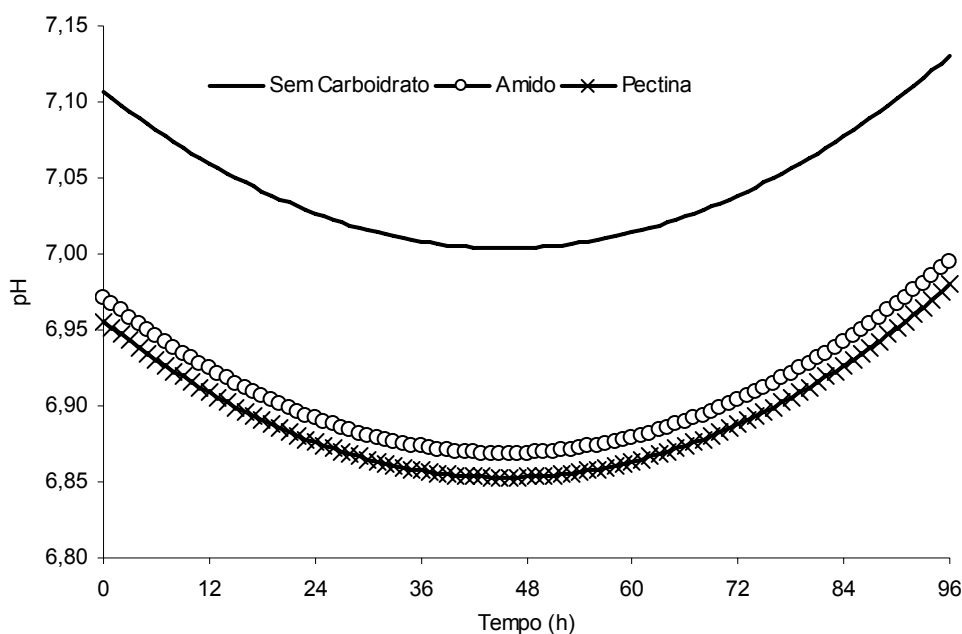


Figura 2 - Estimativas para o comportamento do pH do meio de incubação em função do tempo e das fontes de carboidratos no suplemento ($\hat{Y} = 7,1066 - 0,1351D_1 - 0,1507D_2 - 0,00452T + 0,00004966T^2$; $R^2 = 0,6943$; em que: $D_1 = 1$, para amido, e $D_1=0$, caso contrário; e $D_2 = 1$, para pectina, e $D_2=0$, caso contrário).

Por outro lado, alguns autores têm reportado a inibição da atividade de enzimas fibrolíticas em função da presença de amido no meio (Hiltner & Dehority, 1983, citados por Arroquy et al., 2005; Piwonka & Firkins, 1993), fato que parece estar associado a liberação de compostos inibidores pelos microrganismos que degradam o amido (El-Shazly et al., 1961), os quais parecem ser de natureza protéica (bacteriocinas) (Piwonka & Firkins, 1993; Kalmokoff et al., 1996).

A união destes argumentos implica em retardo no processo de degradação da FDNpd, como verificado neste trabalho (Tabela 3).

Embora alguns autores pressuponham que outras formas de CNF hajam similarmente ao amido (Arroquy et al., 2005), os resultados aqui obtidos indicam que a suplementação com pectina não incorre em efeitos deletérios à ação microbiana sobre a FDNpd (Tabela 3).

A pectina, embora sendo CNF, constitui polissacarídeo não-amiláceo (fibra solúvel), assumindo papel estrutural na célula vegetal. Desta forma, apresenta padrão de fermentação microbiana predominantemente acético, similar à celulose e hemicelulose (Van Soest, 1994), o que parece constituir a principal causa da ausência de efeitos deletérios sobre a utilização da FDNpd.

A redução na latência discreta verificada com a suplementação com pectina na ausência de caseína (Tabela 3) parece estar relacionada ao seu pequeno conteúdo em compostos nitrogenados (Tabela 1), não sendo, em essência, efeito direto de sua presença no meio.

4. Conclusões

A suplementação de forragem de baixa qualidade com compostos nitrogenados apresenta natureza prioritária, pois incrementa a utilização dos carboidratos fibrosos pelos microrganismos ruminais. A suplementação com carboidratos apresenta aspectos secundários sobre a utilização da fibra da forragem, sendo verificados efeitos inibitórios *in vitro* sobre a utilização da fibra basal quando as fontes de carboidratos são baseadas em compostos amiláceos, sendo estes efeitos pouco representativos quando utilizada a pectina.

5. Literatura Citada

- ALLEN, M.S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3063-3075, 1996.
- ARROQUY, J.I.; COCHRAN, R.C.; NAGARAJA, T.G. et al. Effect of types of non-fiber carbohydrates on *in vitro* forage fiber digestion of low-quality grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.120, p.93-106, 2005.
- BEUVINK, J.M.W.; KOGUT, J. Modeling gas production kinetics of grass silages incubated in ruminal fluid. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1041-1046, 1993.
- COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livrocetes, 1979. 380p.

- DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S. et al. Validação de equações preditivas da fração indigestível da fibra em detergente neutro em gramíneas tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.1866-1875, 2004a.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Níveis de proteína bruta em suplementos múltiplos para terminação de novilhos mestiço em pastejo durante a época seca: desempenho produtivo e características de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.169-180, 2004b.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante período de transição seca/águas: digestibilidade aparente e parâmetros do metabolismo ruminal e dos compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1380-1391, 2005.
- ELLIS, W.C., MATIS, J.H., HILL, T.M. et al. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages. In: FAHEY JR., G.C. (Ed.) **Forage quality, evaluation, and utilization**. Wisconsin: American Society of Agronomy, 1994. p.682-756.
- EL-SHAZLY, K; DEHORITY, B.A.; JOHSON, R.R. Effect of starch on the digestion of cellulose *in vitro* and *in vivo* by rumen microorganisms. **Journal of Animal Science**, v.20, p.268-273, 1961.
- HADDAD, S.G.; GRANT, R.J. Influence of nonfiber carbohydrate concentration on forage fiber digestion *in vitro*. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, p.107-115, 2000.
- HANNAH, S.M.; COCHRAN, R.C.; VANZANT, E.S. et al. In Influence of protein supplementation on site and extent of digestion, forage intake, and nutrient flow characteristics in steers consuming dormant Bluestem-Range forage. **Journal of Animal Science**, v.69, p.2624-2633, 1991.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Animal Science**, v.63, p.40-44, 1986.
- KABEYA, K.S.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. et al. Suplementação de novilhos mestiços em pastejo na época de transição água-seca: desempenho produtivo, características físicas de carcaça, consumo e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.213-222, 2002.
- KALMOKOFF, M.L.; BARTLETT, F.; TEATHER, R.M. Are ruminal bacteria armed with bacteriocins? **Journal of Animal Science**, v.79, p.2297-2306, 1996.
- KÖSTER, H.H.; COCHRAN, R.C.; TITGEMEYER, E.C. et al. Effect of increasing degradable intake protein on intake and digestion of low-quality, tall grass-prairie forage by beef cows. **Journal of Animal Science**, v.74, p.2473-2481, 1996.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B. et al. Dinâmica de degradação ruminal *in situ* da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade suplementados com níveis crescentes de compostos nitrogenados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (CD-ROM).
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Review**, v.3, p.277-303, 1990.
- LICITRA, G.; HERNANDES, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminants feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.
- MATHIS, C.P.; COCHRAN, R.C.; HELDT, J.S. et al. Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of medium to low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.78, p.224-232, 2001.

- McDOUGALL, E.I. Studies on ruminal saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemistry Journal**, v.43, p.99-109, 1949.
- MERTENS, D.R. Rate and extent of digestion. In: FORBES, J.M.; FRANCE, J. (Eds.) **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallingford: CAB International, 1993. p.13-52
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY J.R., G.C. (Ed.) **Forage quality, evaluation and utilization**. Wisconsin: American Society of Agronomy, 1994. p.450-493.
- MERTENS, D.R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1463-1481, 1997.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MERTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1437-1446, 1980.
- MINSON, D.J. **Forage in ruminant nutrition**. San Diego: Academic Press, 1990. 483p.
- MORAES, E.H.B.K. **Desempenho e exigências de energia, proteína e minerais de bovinos de corte em pastejo, submetidos a diferentes estratégias de suplementação**. Viçosa: UFV, 2006, 120p. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Universidade Federal de Viçosa, 2006.
- MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R.; MANNING, O. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science and Technology**, v.10, p.15-30, 1983.
- ØRSKOV, E.R. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In: GIVENS, D.I.; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. London: CAB International, 2000. p.175-188.
- ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements of feed in weighted according to rate passage. **Journal of Agricultural Science**, v.92, p.499-503, 1979.
- PAULINO, M.F. Estratégias de suplementação para bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 1, 1999, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 1999. p.137-156.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T. Suplementos múltiplos para recria e engorda de bovinos em pastagens. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2, 2001, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 2001. p.187-233.
- PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; MORAES, E.H.B.K. et al. Suplementação múltipla para bovinocultura de ciclo curto em pastagens. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 3, 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa:UFV, 2002. p.199-242.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação animal em pasto: energética ou protéica? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3, 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa:DZO-UFV, 2006. p.359-392.
- PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1063-1073, 1993.
- PIRT, S.J. The maintenance energy of bacteria in growing cultures. **Proceedings of Royal Society**, Series B, v.163, p.224-231, 1965.
- PIWONKA, E.J.; FIRKINS, J.L. Effect of glucose fermentation on fiber digestion by ruminal microorganisms *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.2196-2206, 1993.

- RUSSELL, J.B.; BALDWIN, R.L. Substrate preferences in rumen bacteria: evidence of catabolite regulatory mechanisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v.36, p.319-329, 1978.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; LAZZARINI, I. et al. Consumo e digestibilidade em bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade recebendo níveis crescentes de compostos nitrogenados suplementares. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (CD-ROM).
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.199-208, 1974.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos**. Métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.
- SNIFFEN, C.J.; BEVERLY, R.W.; MOONEY, C.S. et al. Nutrient requirements versus supply in the dairy cow: strategies to account for variability. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3160-3178, 1993.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of British Grassland Society**, v.18, p.104-111, 1963.
- Van MILGEN, J.; MURPHY, L.L.; BERGER, L.L. A compartmental model to analyze ruminal digestion. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.2515-2529, 1991.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, J.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. The influence of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mineiro variety) growth on the nutrient kinetics in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v.66, p.197-210, 1997.
- WALDO, D.R.; SMITH, L.W.; COX, E.L. Model of cellulose disappearance from the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.55, p.125-129, 1972.

CAPÍTULO 2

Dinâmica de Degradação *In Vitro* da Fibra em Detergente Neutro de Forragem Tropical de Alta Qualidade em Função de Suplementação com Fontes Protéicas e/ou Carboidratos

1.Introdução

No período das chuvas, embora as forragens tropicais sob pastejo possuam adequado teor de proteína bruta (PB), os ganhos de peso obtido estão aquém do observado sob condições similares em regiões temperadas. Esta discrepância pode ser, em parte, atribuída à alta degradabilidade da proteína da forragem, o que provoca perda excessiva de compostos nitrogenados no ambiente ruminal na forma de amônia, gerando déficit protéico em relação às exigências para ganhos elevados (Poppi & McLennan, 1995).

Assim, segundo Detmann et al. (2005), embora durante o período de chuvas as principais deficiências nutricionais do pasto estejam relacionadas à proteína, a melhoria da qualidade da forragem implica em alteração do enfoque nutricional dessas deficiências, passando de dietéticas, durante o período da seca, para metabólicas, durante o período de chuvas. Segundo esses autores, as principais limitações para o crescimento microbiano residem sobre o fato de a forragem disponível ao pastejo permitir baixa assimilação do nitrogênio disponível no rúmen em proteína microbiana, em função da alta degradabilidade dos compostos nitrogenados ou baixa velocidade de degradação dos carboidratos fibrosos da forragem.

Nesse contexto, ampliações no desempenho animal seriam conseguidas por intermédio de fornecimento de fontes protéicas não-degradáveis no rúmen, que ampliariam diretamente o suprimento de proteína metabolizável ao animal (Poppi & McLennan, 1995), ou por intermédio de fontes energéticas de rápida disponibilidade no rúmen, as quais ampliariam a assimilação do nitrogênio oriundo dos compostos nitrogenados de alta degradabilidade da forragem (Poppi & McLennan, 1995; Detmann et al., 2005).

Por outro lado, Detmann et al. (2005) relevaram que, em função dos elevados níveis de compostos nitrogenados não-protéicos em gramíneas tropicais sob pastejo durante o

período favorável a seu crescimento, respostas positivas poderiam ser obtidas com a suplementação com fontes protéicas degradáveis de natureza orgânica, as quais favoreceriam interações positivas entre espécies microbianas no ambiente ruminal.

Dentro do contexto acima apresentado, seriam obtidas respostas positivas sobre o crescimento microbiano no rúmen e, conseqüentemente, sobre a utilização dos carboidratos fibrosos da forragem basal, e sobre o desempenho animal durante o período das chuvas a partir da suplementação energética ou com proteína verdadeira degradável no rúmen.

Assim, seguindo tais argumentos, em termos teóricos, a suplementação com fontes de nitrogênio não-protéico não conduziriam a melhorias na utilização dos substratos fibrosos no ambiente ruminal, podendo, em alguns casos, gerar comprometimento sobre o desempenho animal.

Durante o período das chuvas, em função da baixa assimilação dos compostos nitrogenados em proteína microbiana e da alta degradabilidade da matéria orgânica da forragem, excessos de compostos cetogênicos poderiam ser verificados no metabolismo animal (Leng, 1990). Desta forma, sem o adequado suprimento de proteína metabolizável, o excesso de compostos energéticos precisa ser eliminado, ampliando a produção de calor corporal (Poppi & McLennan, 1995). Este quadro pode, em muitos casos, implicar redução no consumo pelos animais, mecanismo natural para adequação da taxa de liberação de calor corporal a níveis mais próximos ao conforto.

Sob condições de alta degradabilidade da proteína basal, a suplementação com compostos nitrogenados não-protéicos incrementariam a síntese hepática de uréia. Assim, a energia necessária para a formação de uréia a partir do excesso de proteína decresceria a razão energia líquida/energia metabolizável, sendo direcionada à formação de calor corporal (NRC,1988), ampliando-se o quadro descrito anteriormente. Poppi & McLennan (1995) afirmaram que a dissipação de calor aparece como a maior limitação à produção nos trópicos em condições de pastagens. O estresse calórico implica em restrição de consumo e, portanto, de ganho, a uma taxa na qual o calor corporal possa ser dissipado confortavelmente.

Contudo, resultados recentes conduzidos em condições tropicais têm permitido evidenciar incrementos na produção animal a partir da suplementação com fontes de compostos nitrogenados não-protéicos durante o período favorável ao crescimento da forragem (Paulino et al., 2005; Porto, 2005), o que contraria os pressupostos teóricos apresentados anteriormente.

Segundo Paulino et al. (2002), a elevada porção de compostos nitrogenados insolúveis em detergente neutro verificada em gramíneas tropicais, sendo considerada de lenta e incompleta degradação (Sniffen et al., 1992), pode implicar carência de compostos nitrogenados aos microrganismos ruminais para máxima produção de proteína microbiana e, conseqüentemente, para expressão do máximo potencial genético de ganho em peso dos animais. Tal pressuposto, segundo estes autores, poderia justificar as respostas positivas com a suplementação com uréia durante os períodos de amplo crescimento forrageiro.

Contudo, as relações casuísticas efetivas não foram encontradas na literatura consultada, relevando-se a necessidade de estudos que procurem ampliar o entendimento entre a suplementação com diferentes fontes protéicas e a utilização dos carboidratos fibrosos de forragem de boa qualidade, como aquela observada durante o período de crescimento forrageiro favorável em gramíneas tropicais.

Desta forma, faz-se premente a investigação dos efeitos de fontes protéicas e energéticas suplementares de diferentes formas químicas sobre a dinâmica ruminal dos carboidratos fibrosos da forragem, o que permitiria delinear com maior exatidão estratégias de suplementação para a otimização do uso dos substratos energéticos basais, de menor custo.

Assim, objetivou-se avaliar a dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro (FDN) de forragem de alta qualidade em função da suplementação com diferentes fontes de proteína e/ou diferentes fontes de carboidratos.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

A forragem utilizada nos procedimentos de avaliação *in vitro* foi proveniente de amostras de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), com 21 dias de rebrotação. A forragem foi cultivada nas dependências do Laboratório de Animais DZO-UFV, Viçosa-MG, entre os meses de outubro e novembro de 2005 (período das águas). A coleta da forragem foi efetuada por intermédio de corte rente ao solo.

A forragem, após seca sob ventilação forçada (60°C/72 h), foi processada em moinho de faca (1 mm). Posteriormente, procedeu-se à quantificação dos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), PB, extrato etéreo (EE), fibra em detergente ácido

(FDA) e lignina por solubilização da celulose por ácido sulfúrico (72% p/p), segundo métodos descritos em Silva & Queiroz (2002). As avaliações quanto aos teores de FDN foram conduzidas segundo recomendações de Mertens (2002). Os teores de FDN e FDA foram também expressos nas formas corrigidas para cinzas e compostos nitrogenados, sendo os procedimentos de correção conduzidos segundo métodos descritos por Mertens (2002) e Licitra et al. (1996), respectivamente. A composição química da forragem basal é apresentada na Tabela 1.

Procedeu-se, ainda, à quantificação do total de compostos nitrogenados não-protéicos na forragem, segundo o método do ácido tricloroacético (Licitra et al., 1996).

O tratamento considerado como referência à implementação dos demais foi construído de forma a simular situação de suplementação para bovinos em terminação sob pastejo durante o período das águas (70% de forragem e 30% de concentrado, com base na matéria seca), segundo valores observados em experimentos similares *in vivo* (Kabeya et al., 2002; Detmann et al., 2005).

O concentrado referente ao tratamento referência foi formulado de forma a apresentar 30% de PB, utilizando-se amido, como componente energético, e caseína, como componente protéico. Todos os componentes utilizados nos procedimentos de incubação foram avaliados de forma similar aos métodos utilizados para a forragem (Tabela1).

Os demais tratamentos foram construídos a partir da omissão do fornecimento das fonte protéica e/ou energética do suplemento, associando-se, ainda, a substituição total do amido por pectina e da PB oriunda da caseína por PB oriunda da mistura uréia:sulfato de amônio (9:1). Desta forma, 9 foram os tratamentos avaliados: 1.Forragem; 2.Forragem + Amido; 3.Forragem + Pectina; 4.Forragem + Caseína; 5.Forragem + Caseína + Amido (tratamento referência); e 6.Forragem + Caseína + Pectina; 7.Forragem + Uréia; 8.Forragem + Uréia + Amido; e 9.Forragem + Uréia + Pectina.

A escolha dos componentes utilizados na constituição dos suplementos se deu com base na pureza da fonte protéica ou energética e na ausência de FDN, o que permitiu avaliar de forma exclusiva a degradação da fração fibrosa insolúvel da forragem. As seguintes fontes foram utilizadas: caseína oriunda do leite bovino (pó purificado; Sigma C-5890); pectina cítrica (Sigma P-9135); amido solúvel (PA, ACS, F. Maia S/A); uréia PA e sulfato de amônio PA (Vetec Química S/A).

Alíquotas de forragem (245 mg de MS) foram acondicionadas em frascos de vidro tipo “penicilina” com 50 mL de volume total. Em seguida, acondicionou-se a fonte protéica e/ou energética segundo a estrutura dos tratamentos anteriormente descritos,

perfazendo o total de 350 mg de MS por frasco para os tratamentos que envolveram suplementação energética e protéica a partir de caseína (Tabela 2.).

Posteriormente, foram adicionados 28 mL de solução tampão de McDougall (McDougall, 1949), com pH previamente ajustado para 6,8 por intermédio de aspersão com CO₂. Os frascos foram mantidos em sala climatizada (39°C) para prévia hidratação das amostras.

Tabela 1 - Composição química da forragem e dos componentes dos suplementos

Item ¹	Forragem	Componente			
		Amido	Pectina	Caseína	Uréia:SA(9:1)
MS ²	111,9	880,5	854,4	901,3	982,1
MO ³	804,0	989,1	967,4	978,7	997,6
PB ³	193,0	0,0	36,8	878,9	2610,0
PB _{NNP} ⁴	222,6	-	-	-	-
EE ³	24,8	1,2	3,7	5,6	-
CT ³	586,2	987,9	926,9	94,2	-
FDN ³	652,6	-	-	-	-
FDNcp ³	518,3	-	-	-	-
PIDN ⁴	426,5	-	-	-	-
CNF ³	67,9	987,9	926,9	94,2	-
FDA ³	353,6	-	-	-	-
FDAc ³	298,1	-	-	-	-
PIDA ⁴	108,9	-	-	-	-
Lignina ³	43,2	-	-	-	-

¹/MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; PB_{NNP} = PB oriunda de compostos nitrogenados não-protéicos; EE = extrato etéreo; CT = carboidratos totais; FDN = fibra em detergente neutro; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína. PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro; CNF = carboidratos não-fibrosos; FDA = fibra em detergente ácido; FDAcp = fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína; PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido. ²/ g/kg de matéria natural. ³/ g/kg de MS. ⁴/ g/kg de PB.

Durante o processo de hidratação, foi coletado líquido ruminal proveniente de um bovino doador, fistulado no rúmen, mantido nas proximidades da sala de incubação. O animal doador foi alimentado com capim-elefante fornecido *ad libitum* e suplementado com 1 kg/dia de farelo de soja, não sendo submetido a jejum de alimentos anteriormente à coleta. A alimentação base do animal doador, em conjunto à ausência do período de jejum, visou a obtenção de inóculo ruminal com características similares a animais mantidos em pastos tropicais durante o período das águas, sem suplementação. O animal teve disponibilidade irrestrita de água e mistura mineral completa (6% de fósforo).

O líquido foi coletado na região de interface líquido:sólido do ambiente ruminal, filtrado por uma camada tripla de gaze, acondicionado em recipiente térmico e imediatamente transportado à sala de incubação.

Tabela 2 - Descrição dos componentes adicionados ao sistema *in vitro* de acordo com os diferentes tratamentos

Componente ²	Tratamentos ¹								
	F	FA	FP	FC	FCA	FCP	FU	FUA	FUP
Forragem (mg)	245	245	245	245	245	245	245	245	245
Amido (mg)	-	65	-	-	65	-	-	65	-
Pectina (mg)	-	-	65	-	-	65	-	-	65
Caseína (mg)	-	-	-	40	40	40	-	-	-
Uréia:SA (9:1)	-	-	-	-	-	-	12	12	12
Inóculo Ruminal (mL) ³	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Tampão de McDougall (mL)	28	28	28	28	28	28	28	28	28

¹/F = forragem; FA = forragem mais amido; FP = forragem mais pectina; FC = forragem mais caseína; FCA = forragem mais caseína e amido; FCP = forragem mais caseína e pectina; FU = forragem mais uréia; FUA = forragem mais uréia e amido; e FUP = forragem mais uréia e pectina. ²/ Com base na matéria seca. ³/ O inóculo ruminal apresentou teor médio de 8,56 mg de nitrogênio amoniacal/dL.

Foram adicionados 7 mL de inóculo ruminal por frasco, procedendo-se imediatamente à saturação do ambiente de incubação com CO₂ e à vedação dos frascos. A relação final, para os tratamentos com a adição de suplementos protéico (caseína) e energético, foi de 100 mg de MS/10 mL de solução final e 1 mL de inóculo ruminal/4 mL de solução tampão (Tilley & Terry, 1963). Os frascos foram mantidos a 39°C, sob agitação orbital (40 rpm). Procedeu-se à retirada dos gases oriundos da fermentação a cada três horas com o auxílio de agulhas.

Foram avaliados os tempos de 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas de incubação. O procedimento de incubação foi repetido cinco vezes, perfazendo-se o total de cinco avaliações por tempo de incubação para cada tratamento.

Ao final de cada tempo de incubação, os frascos foram retirados da sala climatizada e submetidos à mensuração do pH com potenciômetro digital, sendo o conteúdo filtrado sob vácuo em cadinhos filtrantes (porosidade grossa). Os cadinhos foram então acondicionados em frascos de polietileno (120 mL), aos quais adicionou-se 50 mL de detergente neutro (Mertens, 2002). Após serem vedados, os frascos foram autoclavados (105°C/1 hora), de forma a se extraírem todos os componentes solúveis em detergente neutro (método de micro-FDN; Pell & Schofield, 1993). Após este tratamento, procedeu-se novamente à filtração sob vácuo e lavagem seqüencial do resíduo com água quente e

acetona. A FDN residual foi obtida após secagem do material em estufa não-ventilada (105°C/16 horas).

Os resíduos de FDN nos diferentes tempos, para cada tratamento, foram submetidos, por intermédio do algoritmo de Gauss-Newton, ao ajustamento do modelo logístico não-linear descrito por Van Milgen et al. (1991):

$$Rt = U \times \frac{[c \times \exp(-p \times t) - p \times \exp(-c \times t)]}{(c - p)} + I \quad (1);$$

em que: Rt = resíduo não-degradado de FDN no tempo “ t ” (%); U = fração potencialmente degradável da FDN (%); I = fração indegradável da FDN (%); c = taxa fracional de degradação da fração potencialmente degradável da FDN (FDNpd) (h^{-1}); p = taxa fracional de latência (h^{-1}); e t = tempo (h).

A função descrita em (1) é simétrica em relação às taxas fracionais c e p , sendo comumente assumido que os menores valores estão associados ao parâmetro c (Vieira et al., 1997). Contudo, para os casos em que c e p tendem à mesma estimativa, indeterminação matemática será observada. Assim, para os casos em que isto foi observado, o modelo foi re-parametrizado segundo a regra de L’Hôspital (Van Milgen et al., 1991):

$$Rt = U \times (1 + \lambda \times t) \times \exp(-\lambda \times t) + I \quad (2);$$

em que: λ = taxa fracional conjunta de latência e degradação (h^{-1}); sendo os demais termos definidos anteriormente.

Antecipa-se que para todos os tratamentos avaliados fez-se necessária a re-parametrização da Equação (1), sendo, desta forma, empregada apenas a Equação (2) na descrição dos perfis de degradação.

Em virtude de o parâmetro λ representar conjuntamente as taxas de latência e degradação, estimou-se a taxa fracional de degradação a partir de λ utilizando-se as propriedades da distribuição gama-2 (Ellis et al., 1994):

$$c' = 0,59635\lambda \quad (3);$$

em que: c' = taxa fracional de degradação da FDNpd (h^{-1}) para os casos em que o modelo re-parametrizado for utilizado (Equação 2).

As estimativas de latência discreta foram obtidas segundo derivações de Vieira et al. (1997):

$$L = \frac{R(0) - R(t_i)}{R'(t_i)} + t_i \quad (4);$$

em que: L = latência discreta (h); $R(0)$ = resíduo de FDN não-degradado em $t = 0$ (%); $R(t_i)$ = resíduo não-degradado de FDN obtido no ponto de inflexão da curva de degradação (%); $R'(t_i)$ = derivada da curva ajustada de degradação para o ponto de inflexão (máxima taxa de degradação do substrato) (h^{-1}); t_i = tempo equivalente ao ponto de inflexão da curva de degradação (h).

Os valores de t_i foram obtidos segundo as descrições de Van Milgen et al. (1991):

$$t_i = \frac{1}{\lambda} \quad (5).$$

As frações efetivamente degradadas da FDN foram obtidas em adaptação às sugestões de Ørskov & McDonald (1979), segundo a equação:

$$FED = \lim_{t \rightarrow \infty} \int_0^t f \left(-\frac{dRt}{dt} \right) dt \quad (6);$$

em que: FED = fração efetivamente degradada da FDN (%); e f = função relativa ao deslocamento de sólidos no ambiente ruminal.

Para definição da função descrita em (6), assumiu-se deslocamento ruminal de sólidos de ordem gama-1 (Ellis et al., 1994), segundo a equação:

$$f = \exp(-k \times t) \quad (7);$$

em que: k = taxa fracional de deslocamento de sólidos no ambiente ruminal (h^{-1}), à qual designou-se, hipoteticamente, os valores 0,020, 0,035 e 0,050.

Desta forma, estimou-se a fração efetivamente degradada por:

$$FED = U \times \frac{\lambda^2}{(\lambda + k)^2} \quad (8).$$

O efeito de repleção ruminal da FDNpd foi obtido em adaptação às proposições de Waldo et al. (1972):

$$RR = \lim_{t \rightarrow \infty} \int_0^t \{Up \times (1 + \lambda \times t) \times \exp(-\lambda \times t) \times f\} dt = Up \times \frac{2\lambda + k}{(\lambda + k)^2} \quad (9);$$

em que: RR = efeito de repleção ruminal da FDNpd (h); e Up = fração potencialmente degradável da FDN padronizada, sendo $Up = U / (U + I)$.

A taxa específica de crescimento microbiano sobre a fração potencialmente degradável da FDN foi estimada segundo proposições de Beuvink & Kogut (1993):

$$Sgr = \frac{R'(t_i)}{U} \quad (10);$$

em que: Sgr = taxa específica de crescimento microbiano (h^{-1}).

A partir das estimativas de Sgr, obteve-se as eficiências de crescimento microbiano, segundo proposições de Pirt (1965):

$$\frac{1}{Y} = \frac{m}{Sgr} + \frac{1}{Ym} \quad (11);$$

em que: Y = eficiência microbiana (g células · g⁻¹ carboidrato degradado); m = exigência de manutenção das bactérias (g carboidrato · g⁻¹ célula · h⁻¹); e Ym = eficiência teórica máxima dos microrganismos sobre o substrato (g células · g⁻¹ carboidratos).

Adotou-se como referência ao parâmetro Ym o valor de 0,4 g célula · g⁻¹ carboidrato degradado e para m o valor de 0,05 g⁻¹ célula · h⁻¹, conforme especificações de Russell et al. (1992).

Ressalta-se que as estimativas para os parâmetros FED, RR e Sgr foram obtidas com base nos valores médios gerais das frações U (86,99±4,26%) e I (11,30±4,15%), sob o pressuposto de estas serem características únicas e exclusivas do substrato (forragem) (Ørskov, 2000).

Os modelos ajustados para os perfis de degradação em função dos diferentes tratamentos foram comparados de forma descritiva. Por sua vez, os valores de pH obtidos para o diferentes tempos de incubação foram avaliados segundo delineamento em blocos completos casualizados, considerando-se cada partida de incubação como bloco, em esquema fatorial 3 x 3 x 10 (três fontes de compostos nitrogenados; três fontes de carboidratos; e dez tempos de incubação). Todos os procedimentos estatísticos, tanto lineares, como não-lineares, foram conduzidos por intermédio do programa SAS (*Statistical Analysis System*), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

3.Resultados e Discussão

As estimativas dos parâmetros da degradação ruminal da FDN da forragem são apresentados na Tabela 3. O modelo adotado para descrição do perfil de degradação da FDN (Equação 1) pressupõe que o processo de degradação ruminal seja composto por dois sub-compartimentos: o primeiro, onde ocorreriam os eventos preparatórios à degradação (hidratação, fixação microbiana, etc) (Van Soest, 1994), que alimentaria dinamicamente, à taxa p, o segundo sub-compartimento, no qual ocorreria efetivamente a degradação, segundo a taxa c (Van Milgen et al., 1991).

Tabela 3 - Estimativas da taxa fracional comum para latência e degradação (λ), taxa fracional de degradação da FDNpd obtida a partir da conversão do parâmetro λ (c'), valor relativo da taxa de degradação (VRTD) e tempo de latência discreta (L) para a degradação ruminal da fibra em detergente neutro potencialmente degradável (FDNpd), desvios-padrão assintóticos (DPA) e número de observações (n) para os perfis de degradação ajustados em função da suplementação protéica e/ou com carboidratos

Parâmetro	Fonte de Carboidrato		
	Sem Carboidrato	Amido	Pectina
	Sem Proteína		
λ (h^{-1})	0,1640±0,0084	0,1478±0,0080	0,1503±0,0126
c' (h^{-1}) ¹	0,0978	0,0881	0,0896
VRTD (%) ²	100,0	90,1	91,6
L (h^{-1})	1,72	1,91	1,87
DPA	5,76	6,66	8,86
n ³	44	48	43
	Caseína		
λ (h^{-1})	0,1327±0,0085	0,1622±0,0150	0,1487±0,0105
c' (h^{-1}) ¹	0,0791	0,0967	0,0886
VRTD (%) ²	80,9	98,9	90,6
L	2,12	1,74	1,90
DPA	6,74	9,19	8,30
n ³	42	40	46
	Uréia:SA (9:1)		
λ (h^{-1})	0,1465±0,0130	0,1466±0,0130	0,1690±0,0161
c' (h^{-1}) ¹	0,0874	0,0874	0,1007
VRTD (%) ²	89,4	89,4	103,0
L	1,92	1,92	1,67
DPA	10,10	8,00	9,42
n ³	44	40	39

^{1/} Estimado segundo propriedades da distribuição Gama-2: $c' = 0,59635\lambda$. ^{2/} Estimado em relação ao tratamento basal (sem suplementação). ^{3/} Os números diferentes de repetições para cada tratamento são devidos à eliminação de *outliers* (valores absurdos) verificados nos perfis de degradação.

A similaridade entre as estimativas dos parâmetros c e p verificadas para todos os tratamentos constitui indicativo indireto da boa qualidade do substrato basal (Tabela 1), uma vez que os eventos preparatórios tenderam a ocorrer de forma quase simultânea à degradação, tornando os compartimentos menos distinguíveis, sendo sua dinâmica expressa por uma taxa conjunta (λ) (Equação 2). A elevada qualidade da FDN do substrato basal pode ainda ser corroborada pelas estimativas de taxa de degradação da FDNpd (Tabela 3), as quais se mostraram superiores àquelas observadas em forragens tropicais de baixa qualidade com ou sem suplementação (Costa et al., s.d.).

A suplementação exclusiva com carboidratos produziu efeito inibitório sobre a taxa de degradação da FDNpd em comparação ao tratamento basal (forragem), sendo verificadas reduções de 9,9% para a suplementação com amido e 8,4% para a suplementação com pectina. Este comportamento refletiu negativamente no crescimento microbiano sobre a FDNpd (Tabela 4).

Tabela 4 - Máxima taxa de degradação ($\mu - h^{-1}$), taxa de crescimento específico de microrganismos (Sgr - h^{-1}) e eficiência de crescimento microbiano sobre a FDNpd da forragem (EFM - g MS microbiana/kg de carboidrato degradado no rúmen) em função da suplementação protéica e/ou com carboidratos

Fonte Protéica	Fonte de Carboidrato		
	Sem Carboidrato	Amido	Pectina
	μ		
Sem Proteína	5,2483	4,7299	4,8099
Caseína	4,2466	5,1907	4,7587
Uréia:SA (9:1)	4,6883	4,6915	5,4083
	Sgr		
Sem Proteína	0,0603	0,0544	0,0553
Caseína	0,0488	0,0597	0,0547
Uréia:SA (9:1)	0,0539	0,0539	0,0617
	EFM		
Sem Proteína	300,4	292,5	293,8
Caseína	283,7	299,6	292,9
Uréia:SA (9:1)	291,7	291,7	302,1

Antecipa-se que, independentemente do tratamento avaliado, as variações no tocante ao tempo de latência foram consideradas de pequena magnitude (Tabela 3), não sendo, portanto, abordados na discussão.

Quando ocorre queda na degradação ruminal da fibra frente à suplementação com carboidratos não-fibrosos (CNF), essa pode ser atribuída a dois efeitos distintos, denominados efeito pH e efeito concentrado ou efeito carboidrato (Mould et al., 1983; Arroquy et al., 2005). No primeiro caso, reduções significativas no pH ruminal são responsáveis pela inibição parcial da degradação fibrosa por comprometerem a condição ideal de meio para crescimento dos microrganismos fibrolíticos (Mould et al., 1983; Hoover, 1986; e Van Soest, 1994).

A investigação do pH do meio não permitiu identificar efeitos de interação entre quaisquer fatores estudados ($P > 0,05$), sendo, contudo, verificados efeitos independentes

para a suplementação com compostos nitrogenados, para a suplementação com carboidratos e para o tempo de incubação ($P < 0,05$).

A adição de carboidratos implicou queda no pH médio ($P < 0,05$) (Tabela 5). Contudo, nenhuma das formas de suplementação com carboidratos propiciou valores médios de pH considerados danosos à atividade microbiana sobre os carboidratos fibrosos da forragem (Mould et al., 1983; Hoover, 1986). Desta forma, este comportamento indica que o efeito carboidrato parece ter predominado sobre a utilização da FDN_{pd} pelos microrganismos.

Tabela 5 - Médias para o pH do meio em função das fontes protéicas os e dos carboidratos suplementares

Fonte de Carboidrato	pH ¹
Sem Carboidrato	7,00a
Amido	6,95b
Pectina	6,95b
Fonte de Proteína	
Sem Proteína	6,95b
Caseína	6,95b
Uréia:SA	7,00a

^{1/} Médias na coluna, dentro de fontes protéicas ou de carboidratos, seguidas por letras diferentes, são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

De forma complementar, observou-se que a adição de uréia ao meio propiciou elevação do pH ($P < 0,05$), ao passo que os valores médios de pH demonstram comportamento quadrático em função do tempo, com ponto de mínimo em 34,9 horas (6,94) (Figura 1).

Os efeitos deletérios sobre a utilização da FDN_{pd} em função da suplementação com compostos amiláceos (Tabela 3) foram observados por diversos autores (El-Shazly et al., 1961; Mertens & Loften, 1980; Piwonka & Firkins, 1993; Haddad & Grant, 2000; e Arroquy et al., 2005) e recentemente relatados em condições de forragem tropical de baixa qualidade (Costa et al., s.d.).

O efeito carboidrato verificado com a adição de amido parece envolver a competição por nutrientes essenciais entre grupos de espécies microbianas, resultando em maior proliferação dos microrganismos que degradam amido (El-Shazly et al., 1961; Coelho da Silva & Leão, 1979; e Mould et al., 1983). Esta competição conduziria à preferência inicial pela utilização do amido como substrato energético no ambiente ruminal como um todo (El-Shazly et al., 1961), com a transformação gradativa dos carboidratos

fibrosos em substratos energético predominantes à medida que se reduz a disponibilidade de amido (El-Shazly et al., 1961; Mertens & Loften, 1980; e Arroquy et al., 2005), podendo envolver, concomitantemente, mecanismos de regulação catabólica (Russell & Baldwin, 1978).

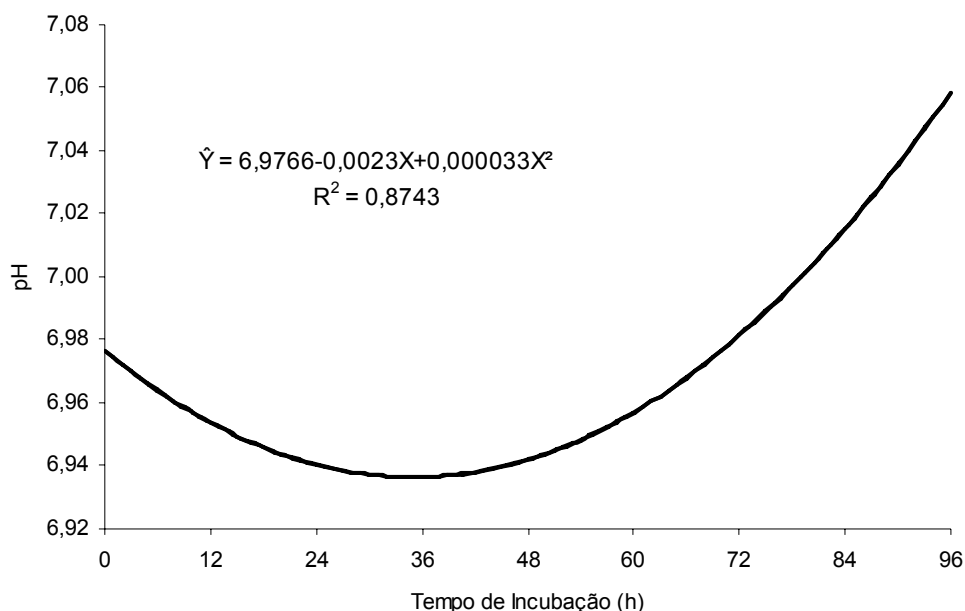


Figura 1 - Estimativa para a relação entre o pH do meio e o tempo de incubação.

Por outro lado, alguns autores tem reportado a inibição da atividade de enzimas fibrolíticas em função da presença de amido no meio (Hiltner & Dehority, 1983, citados por Arroquy et al., 2005; Piwonka & Firkins, 1993), fato que parece estar associado a liberação de compostos inibidores pelos microrganismos que degradam o amido (El-Shazly et al., 1961), os quais parecem ser de natureza protéica (bacteriocinas) (Piwonka & Firkins, 1993; Kalmokoff et al., 1996).

A união destes argumentos implica em retardo no processo de degradação da FDNpd na presença de amido como suplemento exclusivo, como verificado neste trabalho (Tabela 3).

Arroquy et al. (2005) afirmaram que outras formas de CNF agiriam similarmente ao amido sobre a degradação fibrosa ruminal, o que corrobora os resultados aqui obtidos com a suplementação exclusiva com pectina (Tabela 3). Contudo, Costa et al. (s.d.) verificaram, ao avaliarem forragem tropical de baixa qualidade, que a suplementação com pectina não comprometeu a degradação da FDNpd, ao passo que efeitos deletérios foram verificados com a suplementação com amido. Segundo esses autores, a pectina, embora

sendo CNF, constitui polissacarídeo não-amiláceo (fibra solúvel), apresentando padrão de fermentação microbiana predominantemente acético, similar, embora mais rápido, aos padrões de fermentação da celulose e hemicelulose (Van Soest, 1994), o que incorreria ausência de efeitos deletérios sobre a utilização da FDNpd.

Este comportamento, aparentemente contraditório, talvez possa ser suportado nas características de síntese de compostos microbianos. Os microrganismos responsáveis pela degradação de compostos fibrosos, tanto solúveis (ex: pectina), como insolúveis (ex: hemicelulose), crescem utilizando amônia como substrato base para síntese de compostos nitrogenados (Russell et al., 1992). Desta forma, a adição de pectina ao meio poderia incorrer em competição por amônia, acarretando redução na taxa de crescimento microbiano, justificando os resultados aqui obtidos (Tabelas 3 e 4), uma vez que apenas 222,6 g/kg de PB, ou cerca de 43,0 g/kg de MS, na forragem basal são formados por compostos nitrogenados não-protéicos (Tabela 1), potenciais fornecedores de amônia ao meio. Assim, como o processo de degradação da pectina ocorre de forma mais rápida do que os compostos fibrosos insolúveis (Russell et al., 1992; Van Soest, 1994), haveria maior captura de amônia para a degradação da pectina, retardando o processo de degradação da FDNpd. Ressalta-se que 426,5 g/kg de PB, ou 82,3 g/kg de MS, dos compostos nitrogenados estão na forma de PIDN, cujo processo de degradação ocorre de forma lenta (Sniffen et al., 1992).

Possivelmente, este mesmo comportamento ocorra em condições de forragem de baixa qualidade. Contudo, em função da deficiência severa de compostos nitrogenados (Costa et al., s.d.), os efeitos da competição talvez não sejam quantitativamente relevantes ao processo global de ação microbiana, justificando-se a divergência entre os resultados aqui obtidos (Tabelas 3 e 4) e aqueles obtidos por Costa et al. (s.d.).

O comportamento observado para ambas as fontes de carboidratos no tocante ao crescimento microbiano (Tabela 4) contradiz a afirmativa de Detmann et al. (2005) de que a adição de fontes de carboidratos prontamente fermentáveis sob condições de forragem de alta qualidade otimizariam a assimilação de nitrogênio microbiano no meio. Por outro lado, o comportamento observado neste trabalho corrobora a ausência de benefícios sobre o desempenho animal com a suplementação exclusiva com fontes energéticas durante o período de chuvas (Moraes, 2003).

Por outro lado, a suplementação exclusivamente protéica, à semelhança da suplementação com carboidratos, gerou efeitos deletérios sobre a utilização da FDNpd (Tabela 3). Verificou-se redução de 19,1% e 10,6% sobre a taxa de degradação da FDNpd

com a suplementação exclusiva com caseína e uréia, respectivamente, em comparação ao tratamento basal (forragem).

Efeitos inibitórios da proteína sobre a degradação ruminal de carboidratos têm sido relatados. Cone & Van Gelder (1999) verificaram redução na taxa de produção de gases por unidade de matéria orgânica *in vitro* à medida que caseína foi adicionada ao meio. Em estudo similar *in vitro*, Oliveira et al. (2005) observaram redução proporcional à adição de caseína ao meio sobre a taxa de produção de gases a partir de celulose.

Contudo, embora a inibição da degradação da fibra em função do incremento de compostos nitrogenados no meio seja factual e empírica (Cone & Van Gelder, 1999; Oliveira et al., 2005), tais relatos não permitiram estabelecer, mesmo com o suporte das demais literaturas consultadas neste trabalho, relações casuísticas concretas. Segundo Paulino et al. (2006), interações microbianas, competições ou alterações na prioridade de utilização de substratos parecem ser os possíveis efeitos causados pela suplementação exclusivamente protéica sobre a utilização da FDNpd em condições de forragem de alta qualidade.

Por outro lado, os efeitos deletérios individuais das suplementações protéica ou energética podem ou não ser eliminados de acordo com a composição final dos suplementos (Tabelas 3 e 4). Os efeitos deletérios individuais sobre a taxa de degradação da FDNpd foram mantidos pela utilização concomitante de caseína e pectina (-9,4%) e amido e uréia (-10,6%). Por outro lado, taxas de degradação similares ao tratamento basal (forragem) foram obtidas com as combinações pectina/uréia e amido/caseína (Tabela 3).

Os microrganismos responsáveis pela degradação da fibra solúvel (pectina), como ressaltado anteriormente, crescem utilizando amônia como fonte de compostos nitrogenados, comportamento similar ao dos microrganismos responsáveis pela degradação da FDNpd da forragem (Russell et al., 1992). Desta forma, aparentemente, na presença de fontes verdadeiras de proteína, o suprimento de amônia poderia se tornar limitado no ambiente ruminal, levando a incrementos na utilização de mecanismos ativos de captura de amônia, reduzindo a energia disponível para o crescimento, e ampliação na competição pelos substratos nitrogenados entre os microrganismos responsáveis pela degradação dos carboidratos dos suplementos e forragem, reduzindo, desta forma, a taxa de degradação da FDNpd (Tabela 3). O suprimento de fontes nitrogenadas não-protéicas via suplementos reduziria o quadro de competição, evitando efeitos deletérios sobre a utilização da FDNpd da forragem.

De outra forma, os microrganismos responsáveis pela degradação de carboidratos amiláceos crescem suprindo dois terços de suas demandas nitrogenadas a partir de aminoácidos ou peptídeos e um terço a partir de amônia (Russell et al., 1992). Desta forma, aparentemente, suplementos formulados a partir de fontes amiláceas de energia e proteína verdadeira não implicam em distúrbios sobre o equilíbrio microbiano ruminal (Tabelas 3 e 4). Por outro lado, a substituição da proteína verdadeira suplementar por compostos nitrogenados não-proteicos induziu quadro de comprometimento na utilização da FDNpd da forragem (Tabela 3).

Nessas circunstâncias, embora o nitrogênio não-protéico não restrinja o suprimento de amônia para o crescimento microbiano sobre a FDNpd da forragem, deve-se ressaltar que o processo de degradação da FDN e do crescimento das bactérias que o realizam devem ser entendidos também a partir de interações entre espécies, das quais provêm-se compostos essenciais como vitaminas do complexo B e ácidos graxos de cadeia ramificada, que funcionam como precursores de aminoácidos essenciais, ácidos graxos estruturais e alguns aldeídos (Bryant, 1973).

Desta forma, sob a perspectiva do não fornecimento adequado de proteína verdadeira aos microrganismos responsáveis pela degradação do amido, dreno extenso dos aminoácidos presentes na forragem pode ser gerado, de forma a comprometer o fornecimento de compostos secundários, mas essenciais, ao metabolismo dos microrganismos responsáveis pela degradação da FDNpd da forragem (ex: ácidos graxos de cadeia ramificada).

Assim, em termos práticos, a utilização de compostos protéicos verdadeiros (ex: farelo de soja) somente seria recomendada em suplementos com a utilização concomitante de fontes energéticas amiláceas (ex: milho grão), ao passo que compostos nitrogenados não-protéicos (ex: uréia) propiciariam melhores resultados se utilizados em conjunto com fontes energéticas com base em compostos fibrosos (ex: farelo de trigo, polpa cítrica).

Segundo Paulino et al. (2006) o conceito de otimização na utilização dos recursos basais (forragem) deve ser visto de forma diferenciada durante os períodos seco e chuvoso. Para o primeiro caso, a otimização envolve aspectos voltados à melhoria na utilização da FDNpd da forragem disponível ao pastejo o que é conseguido atribuindo-se características prioritárias à suplementação com compostos nitrogenados. Por outro lado, durante o período chuvoso, com forragem de melhor qualidade, a otimização na utilização dos recursos basais envolve não estímulos, mas sim a prevenção de efeitos deletérios sobre a

utilização da FDNpd, o que é conseguido pela correta formulação dos suplementos ofertados aos animais.

Esta afirmativa suporta o comportamento de utilização da FDNpd da forragem basal verificado neste estudo, conforme expresso na Tabela 6. O não comprometimento da utilização da FDNpd somente foi obtido com as combinações amido/caseína e pectina/uréia, o que garante maior participação na fração energética total da dieta oriunda dos carboidratos fibrosos da forragem basal, reduzindo os custos de produção animal.

Tabela 6 - Estimativa da fração efetivamente degradada da fibra em detergente neutro potencialmente degradável(% da FDNpd) em função da suplementação protéica e/ou com carboidratos

Fonte Protéica	Fonte de Carboidrato ¹		
	Sem Carboidrato	Amido	Pectina
		0,020 h ⁻¹	
Sem Proteína	79,34	77,57	77,89
Caseína	75,52	79,25	77,70
Uréia:SA (9:1)	77,41	77,42	79,95
		0,035 h ⁻¹	
Sem Proteína	67,92	65,38	65,79
Caseína	62,62	67,65	65,52
Uréia:SA (9:1)	65,15	65,17	68,63
		0,050 h ⁻¹	
Sem Proteína	58,73	55,83	56,31
Caseína	52,75	58,43	56,01
Uréia:SA (9:1)	55,58	55,60	59,54

^{1/} Assumindo-se cinética de deslocamento ruminal de sólidos com ordem gama-1.

De forma similar, somente as combinações acima descritas propiciaram efeito de repleção ruminal similar ao verificado-se com a ausência de suplementação, verificando, de outra forma, ampliação deste efeito (Tabela 7).

O efeito de repleção ruminal da FDNpd expressa de forma integrada a dinâmica do desaparecimento da FDN no ambiente ruminal, estando inversamente relacionado à capacidade de consumo de fibra (Waldo et al., 1972; Paulino et al., 2006). Desta forma, os efeitos deletérios obtidos com a suplementação incorreta integrar-se-iam sobre a FDNpd, implicando, além da redução de sua fração efetivamente degradada (Tabela 6), em decréscimo na capacidade animal em ingeri-la (Tabela 7).

De forma geral, os resultados aqui obtidos (Tabela 3), em conjunto com a afirmativa de Paulino et al. (2006) de que o conceito de otimização sob condições de forragem de alta qualidade envolve não estímulos, mas sim a prevenção de efeitos

deletérios sobre a utilização da FDNpd, parecem suportar, ao menos em parte, alguns resultados de produção obtidos em condições brasileiras.

Tabela 7 - Efeito de repleção ruminal (h) da fibra em detergente neutro potencialmente digestível em função da suplementação protéica e/ou com carboidratos

Fonte Protéica	Fonte de Carboidrato ¹		
	Sem Carboidrato	Amido	Pectina
		0,020 h ⁻¹	
Sem Proteína	9,10	9,92	9,78
Caseína	10,83	9,18	9,87
Uréia:SA (9:1)	9,99	9,99	8,87
		0,035 h ⁻¹	
Sem Proteína	8,11	8,76	8,65
Caseína	9,45	8,18	8,72
Uréia:SA (9:1)	8,81	8,81	7,93
		0,050 h ⁻¹	
Sem Proteína	7,31	7,82	7,73
Caseína	8,36	7,36	7,79
Uréia:SA (9:1)	7,86	7,86	7,16

^{1/} Assumindo-se cinética de deslocamento ruminal de sólidos com ordem gama-1.

Figueiredo (2005), ao suplementar novilhas em pastagens de capim-braquiária durante o período das águas verificaram incrementos no ganho médio diário com suplemento formulado à base de farelo de trigo e uréia, sendo que os demais suplementos, formulados exclusivamente à base de farelos protéicos, propiciaram desempenho similar à não-suplementação.

Este comportamento corrobora o fato de a suplementação exclusivamente protéica não gerar benefícios sobre a utilização da forragem basal, ao passo que a formulação de suplementos baseados em energia a partir de componentes fibrosos e uréia não-comprometer a utilização do substrato basal (Tabela 3).

De outra forma, Moraes (2003) verificou que a inclusão de soja em grão em suplemento baseado exclusivamente em milho grão incrementou linearmente o ganho médio de bovinos manejados em pastagem tropical durante o período de transição seca-águas. Desta forma, a suplementação energética exclusiva propiciou desempenho inferior ao verificado com a combinação entre milho (amido) e soja grão (proteína verdadeira), corroborando os resultados observados neste trabalho (Tabela 3).

De forma similar, Zervoudakis et al. (2002) verificaram incremento no desempenho de novilhas manejadas em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu durante o período das águas ao fornecerem suplemento baseados em milho grão e farelo de soja.

De outra forma, Paulino et al. (2005), ao suplementarem bovinos em terminação em pastagem de capim-braquiária durante o período das águas verificaram que a combinação milho desintegrado com palha e sabugo (MDPS, concentrado energético com alto teor de fibra) e uréia incrementou o ganho de peso em 220g/animal/dia, ao passo que desempenhos de menor magnitude foram obtidos com a combinação de fontes amiláceas (milho grão e sorgo grão) e uréia.

4. Conclusões

A suplementação sob condições de forragem de alta qualidade de forma exclusiva com compostos nitrogenados ou carboidratos pode proporcionar efeitos deletérios na degradação *in vitro* dos carboidratos fibrosos da forragem. Esses efeitos podem ser prevenidos ou evitados com a correta formulação do suplemento a ser ofertado aos animais, combinando-se fontes de proteína verdadeira e carboidratos amiláceos ou fontes de nitrogênio não-protéico e carboidratos fibrosos.

5. Literatura Citada

- ARROQUY, J.I.; COCHRAN, R.C.; NAGARAJA, T.G. et al. Effect of types of non-fiber carbohydrate on *in vitro* forage fiber digestion of low-quality grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.120, p.93-106, 2005.
- BEUVINK, J.M.W.; KOGUT, J. Modeling gas production kinetics of grass silages incubated in ruminal fluid. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1041-1046, 1993.
- BRYANT, M.P. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. **Federation Proceedings**, v.32, p.1809-1813, 1973.
- COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979. 380p.
- CONE, J.W.; Van GELDER, A.H. Influence of protein fermentation on gas production profiles. **Animal Feed Science and Technology**, v.76, p.251-264, 1999.
- COSTA, V.A.C.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função de suplementação com proteína e/ou carboidratos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, s.d. (submetido).
- DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante período de transição seca/águas: digestibilidade aparente e parâmetros do metabolismo ruminal e dos compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1380-1391, 2005.

- ELLIS, W.C., MATIS, J.H., HILL, T.M. et al. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages. In: FAHEY JR., G.C. (Ed.) **Forage quality, evaluation, and utilization**. Wisconsin: American Society of Agronomy, 1994. p.682-756.
- EL-SHAZLY, K.; DEHORITY, B.A.; JOHNSON, R.R. Effect of starch on the digestion of cellulose *in vitro* and *in vivo* by rumen microorganisms. **Journal of Animal Science**, v.20, p.268-273, 1961.
- FIGUEIREDO, D.M. **Fontes de proteína em suplementos múltiplos para novilhas de corte em pastejo durante os períodos das águas e transição águas-secas**. Viçosa:UFV, 2005. 68p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- HADDAD, S.G.; GRANT, R.J. Influence of nonfiber carbohydrate concentration on forage fiber digestion *in vitro*. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, p.107-115, 2000.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Animal Science**, v.63, p.40-44, 1986.
- KABEYA, K.S.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. et al. Suplementação de novilhos mestiços em pastejo na época de transição água-seca: desempenho produtivo, características físicas de carcaça, consumo e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.213-222, 2002.
- KALMOKOFF, M.L.; BARTLETT, F.; TEATHER, R.M. Are ruminal bacteria armed with bacteriocins? **Journal of Animal Science**, v.79, p.2297-2306, 1996.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B. et al. Dinâmica de degradação ruminal *in situ* da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade suplementados com níveis crescentes de compostos nitrogenados. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 43, 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (CD-ROM).
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of poor-quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Review**, v.3, p.277-303, 1990.
- LICITRA, G.; HERNANDES, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminants feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p. 347-358, 1996.
- McDOUGALL, E.I. Studies on ruminal saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemistry Journal**, v.43, p.99-109, 1949.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MERTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1437-1446, 1980.
- MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R.; MANNING, O. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science and Technology**, v.10, p.15-30, 1983.
- MORAES, E.H.B.K. **Suplementos múltiplos para recria e terminação de novilhos mestiços em pastejo durante os períodos de seca e transição seca/águas**. Viçosa: UFV, 2003. 70p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL- NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6 ed. Washington, DC: Academic Press, 1988. 158p.

- OLIVEIRA, A.L.F.; CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Efeito da fermentação de proteínas na cinética de produção de gases *in vitro*. In: ZOOTEC'2005, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: ABZ, 2005 (CD-ROM).
- ØRSKOV, E.R. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In : GIVENS, D.I. ; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. London: CAB International, 2000. p.175-188.
- ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements of feed in weighted according to rate passage. **Journal of Agricultural Science**, v.92, p.499-503, 1979.
- PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; MORAES, E.H.B.K. et al. Bovinocultura de ciclo curto em pastagens. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE., .3, 2002 Viçosa. **Anais...** Viçosa:UFV. 2002 p.153-196.
- PAULINO, M.F.; MORAES, E.H.B.K.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Fontes de energia em suplementos múltiplos de alto-regulação de consumo na recria de novilhos mestiços em pastagem de *Brachiaria decumbens* durante período das águas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.3, p.957-962, 2005.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação animal em pasto: energética ou protéica? In :SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3, 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa:DZO-UFV, 2006. p.359-352.
- PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1063-1073, 1993.
- PIRT, S.J. The maintenance energy of bacteria in growing cultures. **Proceedings of Royal Society**, Series B, v.163, p.224-231, 1965.
- PIWONKA, E.J.; FIRKINS, J.L. Effect of glucose fermentation on fiber digestion by ruminal microorganisms *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.2196-2206, 1993.
- POPPI, D.P.; McLENNAN, S.R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, p.278-290, 1995.
- PORTO, M.O. **Suplementos múltiplos para recria e terminação terminação de bovinos em pastejo durante o período das águas**. Viçosa: UFV, 2005, 99p. Viçosa: UFV, 2005, 99p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- RUSSELL, J.B.; BALDWIN, R.L. Substrate preferences in rumen bacteria: evidence of catabolite regulatory mechanisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v.36, p.319-329, 1978.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX D.G. et al. . A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos**. Métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.
- SNIFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of British Grassland. Society.**, v.18, p.104-111, 1963.
- Van MILGEN, J.; MURPHY, L.L.; BERGER, L.L. A compartmental model to analyze ruminal digestion. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.2515-2529, 1991.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

- VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, J.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. The influence of elephant grass (*Pennisetum purpurem* Schum. Mineiro variety) growth on the nutrient kinetics in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v.66, p.197-210, 1997.
- WALDO, D.R.; SMITH, L.W.; COX, E.L. Model of cellulose disappearance from the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.55, p. 125-129, 1972.
- ZERVOUDAKIS, J.T.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. et al. Desempenho de novilhas mestiças e parâmetros ruminiais em novilhos, suplementados, durante o período das águas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1050-1058, 2002.

CONCLUSÕES GERAIS

A partir dos resultados obtidos nesta Dissertação, destacam-se como principais conclusões e implicações:

1. A suplementação de forragem de baixa qualidade com compostos nitrogenados apresenta natureza prioritária, pois incrementa a utilização dos carboidratos fibrosos pelos microrganismos ruminais;
2. Nessas circunstâncias, a suplementação com carboidratos apresenta aspectos secundários sobre a utilização da fibra da forragem, sendo verificados efeitos inibitórios sobre a utilização da fibra basal quando as fontes de carboidratos são baseadas em compostos amiláceos, sendo estes efeitos pouco representativos quando utilizada a pectina;
3. A suplementação sob condições de forragem de alta qualidade de forma exclusiva com compostos nitrogenados ou carboidratos pode propiciar efeitos deletérios na degradação dos carboidratos fibrosos da forragem; e
4. Esses efeitos podem ser prevenidos ou evitados com a correta formulação do suplemento a ser ofertado aos animais, combinando-se fontes de proteína verdadeira e carboidratos amiláceos ou fontes de nitrogênio não-protéico e carboidratos fibrosos .