

TADEU EDER DA SILVA

ESTUDOS DO IMPACTO DO JEJUM SOBRE AS ESTIMATIVAS DE GANHO DE PESO EM BOVINOS E DESEMPENHO NUTRICIONAL DE BOVINOS ALIMENTADOS COM FORRAGEM TROPICAL DE BAIXA QUALIDADE SUPLEMENTADOS SOB DIFERENTES FREQUÊNCIAS

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

Orientador: Edenio Detmann

Coorientadora: Cláudia Batista Sampaio

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586e
2020
Silva, Tadeu Eder da, 1991-
Estudos do impacto do jejum sobre as estimativas de ganho de peso em bovinos e desempenho nutricional de bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade suplementados sob diferentes frequências / Tadeu Eder da Silva. – Viçosa, MG, 2020.
93 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Edenio Detmann.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Bovinos - Alimentação e rações. 2. Jejum.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Título.

CDD 22 ed. 636.20855

TADEU EDER DA SILVA

ESTUDOS DO IMPACTO DO JEJUM SOBRE AS ESTIMATIVAS DE GANHO DE PESO EM BOVINOS E DESEMPENHO NUTRICIONAL DE BOVINOS ALIMENTADOS COM FORRAGEM TROPICAL DE BAIXA QUALIDADE SUPLEMENTADOS SOB DIFERENTES FREQUÊNCIAS

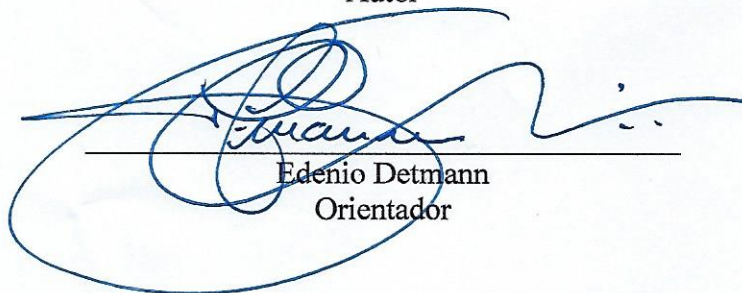
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 26 de março de 2020.

Assentimento:



Tadeu Eder da Silva
Autor



Edenio Detmann
Orientador

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Anginaldo da Silva e Elizete de Fátima Silva e irmão Elderson, alicerces de minha vida, pelo apoio e incentivo sempre incondicionais. Ao restante de minha família, em especial ao meu tio Tadeu, por sempre acreditarem em meus sonhos.

À minha namorada, Aline Naime, por estar presente em cada momento de minha vida e ser uma companheira incrível. Te amo meu amor!

Agradeço aos grandes amigos das famílias Santiago e Mendes, que tanto me apoiaram e que contribuíram para tornar este sonho possível.

Aos amigos Douglas, Marcelo (“Murcego”), Matheus, Maurílio e Vinícius (“Ovin”), pelo companheirismo nos momentos de descontração, mas também nos momentos de dificuldade.

Aos amigos do grupo de pesquisa do Professor Edenio: Amanda, João Lovatti, Larissa, Malber e William. Obrigado pelo companheirismo e apoio. It’s us! It’s box!

À Cris Viol, um agradecimento especial, por me ajudar durante todo o experimento e depois nas análises químicas. Você é uma grande amiga!

Ao Professor Edenio Detmann, nosso grande mentor e amigo. Obrigado pela orientação, paciência, pelos ensinamentos, oportunidade de realizar este trabalho e confiança. Em especial, por mesmo eu estando distante, permitir que eu finalizasse este trabalho. Você tem minha gratidão e admiração eternas.

Aos demais professores do Departamento de Zootecnia, por ajudarem em minha formação profissional e pessoal. Em especial, à Professores Luciana Navajas Rennó por nos ajudar em todas os desafios encontradas na condução dos experimentos.

Aos funcionários e servidores do Departamento de Zootecnia por estarem sempre à disposição para ajudar.

Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização do curso.

Ao CNPq, por prover recursos para a realização deste trabalho e concessão da bolsa de estudos.

À CAPES, pelo provimento de recursos financeiros para realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Tadeu Eder da Silva, filho de Anginaldo da Silva e Elizete de Fátima Silva, nasceu em Carvalhos, MG, em 18 de julho de 1991.

Em 2007 ingressou no curso Técnico em Zootecnia no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, campus Rio Pomba, colando grau em janeiro de 2010.

Em 2010 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, colando grau em janeiro de 2015.

Em 2015 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em julho de 2016.

Em 2016 ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em março de 2020.

RESUMO

SILVA, Tadeu Eder da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2020. **Estudos do impacto do jejum sobre as estimativas de ganho de peso em bovinos e desempenho nutricional de bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade suplementados sob diferentes frequências.** Orientador: Edenio Detmann. Coorientadora: Cláudia Batista Sampaio.

Objetivou-se com este trabalho: 1) avaliar o impacto da realização de jejum anteriormente às pesagens em bovinos sobre as estimativas de ganho médio diário (GMD); e 2) avaliar o desempenho nutricional e metabólico de bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade suplementados sob diferentes frequências. Para o primeiro estudo, foram utilizados dados de cinco experimentos realizados em confinamento e três estudos realizados em pastejo, perfazendo um total de 214 observações. Para inclusão dos experimentos no banco de dados, exigiu-se que estes apresentassem minimamente informações referentes aos tratamentos aplicados, ao peso inicial e final dos animais, ambos com e sem realização de jejum, além do período de avaliação. Realizou-se análises de variâncias dentro de cada experimento, avaliando-se os efeitos de tratamentos sobre o GMD. Após obtenção das estimativas das variâncias residuais, estas foram comparadas por intermédio do teste F. Para verificação da relação de igualdade entre as estimativas de GMD sem jejum e GMD com jejum (GMDj), utilizou-se técnica de regressão linear simples, testando-se os parâmetros intercepto ($\beta_0=0$) e inclinação ($\beta_1=1$). Para os testes F realizados entre as variâncias residuais dentro de cada experimento, em nenhuma ocasião houve rejeição da hipótese nulidade ($P>0,29$). Os coeficientes estimados para o intercepto (β_0) e inclinação (β_1) apresentaram valores iguais a zero ($\beta_0=0,048$; $P>0,05$) e um ($\beta_1=0,927$; $P>0,12$), respectivamente. Conclui-se que a realização de jejum em bovinos sob condições experimentais anteriormente às pesagens não influencia as estimativas de ganho de peso, tampouco interfere em sua variação aleatória experimental. Para o segundo estudo, cinco novilhas Nelore (386 ± 38 kg) fistuladas no rúmen e no abomaso foram utilizadas em delineamento quadrado latino 5×5 . Foram avaliados os tratamentos: controle, suplementação a cada 12 horas, a cada 24 horas, a cada 48 horas e a cada 96 horas. A quantidade de suplemento ofertada foi igual à 0,25% da massa corporal dos animais na base diária. Todas as avaliações foram realizadas considerando-se o ciclo de suplementação de quatro dias. Os tratamentos foram avaliados por meio de contrastes polinomiais ortogonais ($\alpha=0,05$), estudando-se os efeitos de ordem linear, quadrático e cúbico relativos aos intervalos entre suplementações. Contraste adicional foi realizado entre os grupos controle e suplementado. Em geral, observou-se efeito positivo ($P<0,01$) da suplementação sobre o consumo voluntário. Por outro lado, entre

os tratamentos suplementados não se observou efeito da frequência de suplementação ($P \geq 0,07$) sobre o consumo de PB, a relação PB e matéria orgânica digerida e o consumo de MS (g/kg peso corporal). Em contrapartida, para as demais variáveis relacionadas ao consumo, verificou-se efeito linear decrescente ($P < 0,04$) com o aumento dos intervalos de suplementação. Adicionalmente, a suplementação ampliou ($P < 0,02$) as taxas de ingestão da FDN, FDNpd, a taxa de degradação da FDNpd e a taxa de passagem da FDNi. O fornecimento de suplementos elevou ($P < 0,02$) a excreção fecal de N, o balanço de N no corpo e no rúmen, a eficiência de uso do N e a produção de N microbiano no rúmen. A suplementação infrequente não compromete o desempenho nutricional de bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade, desde que intervalos maiores do que dois dias entre suplementações não sejam utilizados.

Palavras-chave: Desempenho animal. Variação residual. Quadrado Latino. Metabolismo. Nitrogênio.

ABSTRACT

SILVA, Tadeu Eder da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2020. **Studies of the impact of fast on estimates of weight gain in cattle and nutritional performance of cattle fed with low quality tropical forage supplemented under different frequencies.** Adviser: Edenio Detmann. Co-Adviser: Cláudia Batista Sampaio.

The objective was: 1) to evaluate the impact of fasting prior to weighing in cattle on daily weight gain estimates (ADG); and 2) to evaluate the nutritional and metabolic performance of cattle fed low quality tropical forage supplemented under different frequencies. For the first study, data from five experiments carried out in feedlots and three experiments carried out in grazing were used, making a total of 214 observations. To include the experiments in the database, it was required that they present minimally information regarding the treatments applied, the initial and final weight of the animals, both with and without fasting, and the length the evaluation period. Analyzes of variances were performed within each experiment, evaluating the effects of the treatments on the ADG. After obtaining the residual variance estimates, they were compared using the F test. To check the equality relationship between the ADG without fasting and ADG with fasting (ADGf) estimates, a simple linear regression technique was used, testing the intercept parameters ($\beta_0=0$) and slope ($\beta_1=1$). For the F tests performed between the residual variances within each experiment, the null hypothesis was never rejected ($P>0.29$). The estimated coefficients for the intercept (β_0) and slope (β_1) presented values equal to zero ($\beta_0=0.048$; $P>0.05$) and one ($\beta_1=0.927$; $P>0.12$), respectively. It is concluded that fasting in cattle under experimental conditions prior to weighing does not influence ADG estimates, nor does it interfere with experimental random variability. For the second study, five Nellore heifers (386 ± 38 kg) fistulated in the rumen and abomasum were used in a 5×5 Latin square design. The treatments were: control, supplementation every 12 hours, every 24 hours, every 48 hours and every 96 hours. The amount of supplement offered was equal to 0.25% of the animal body weight on a daily basis. All measurements were taken considering the four-day supplementation cycle. The treatments were evaluated by orthogonal polynomial contrasts ($\alpha=0.05$), investigating effects of linear, quadratic and cubic order according to the intervals between supplementations. An additional contrast was performed between the control and supplemented treatments. In general, there was a positive effect ($P<0.01$) of supplementation on voluntary intake. On the other hand, among the supplemented treatments there was no effect of the frequency of supplementation ($P\geq 0.07$) on the intake of CP, the relationship between dietary CP and digested organic matter and the DM intake (g/kg

body weight). In contrast, for the other variables related to intake, there was a decreasing linear effect ($P < 0.04$) with the increase in supplementation intervals. In addition, supplementation increased ($P < 0.02$) the rates of ingestion of NDF, pdNDF, the rate of degradation of pdNDF and the rate of passage of NDFi. The supply of supplements increased ($P < 0.02$) the fecal excretion of N, the balance of N in the body and in the rumen, the efficiency of use of N and the production of microbial N in the rumen. Thus, infrequent supplementation does not compromise the nutritional performance of cattle fed low-quality tropical forage, provided that very long intervals between supplements are not used.

Keywords: Animal performance. Latin square. Nitrogen. Metabolism. Residual variation.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO 1	19
RESUMO	20
ABSTRACT	22
INTRODUÇÃO.....	23
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
RESULTADOS	28
DISCUSSÃO.....	29
CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
CAPÍTULO 2	43
RESUMO	44
ABSTRACT	46
INTRODUÇÃO.....	48
MATERIAL E MÉTODOS.....	50
RESULTADOS	58
DISCUSSÃO.....	62
CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

INTRODUÇÃO GERAL

A mensuração do ganho médio diário (GMD) de ruminantes em condições experimentais é um dos principais critérios para avaliação do desempenho animal (Meyer et al., 1960). Em termos operacionais, são necessárias no mínimo, duas pesagens dos animais para obtenção do GMD, sendo uma realizada ao início e outra ao final do período de avaliação. Assim, o GMD pode ser estimado por intermédio da diferença entre o peso corporal final e o peso corporal inicial, dividido pelo período de avaliação.

Contudo, o processo de pesagem dos animais está sujeito a erros, haja vista que o valor obtido no momento da pesagem representa não somente a massa de tecidos do corpo do animal, mas também o conteúdo de digesta presente no trato gastrintestinal (TGI; Whiteman et al., 1954). O conteúdo de digesta no TGI pode ser incrementado com o consumo de alimentos e água ou ser reduzido com a excreção de fezes e urina, podendo apresentar grande variação ao longo do dia. Logo, a variação diária no conteúdo de digesta do TGI é apontada como principal fonte de erros em mensurações de ganho de peso de ruminantes (Lofgreen et al., 1962), o que ocasionaria elevação das estimativas das variâncias residuais e dos erros padrão da média nos experimentos (Meyer et al., 1960).

Nesse sentido, com intuito de reduzir os problemas mencionados anteriormente e obter-se um valor mais acurado do GMD dos animais, padronizações dos procedimentos de pesagem foram propostas por alguns pesquisadores. Whiteman et al. (1954), por exemplo, trabalhando com animais em pastejo, propuseram realização de jejum de sólidos de 10 a 15 horas anteriormente às pesagens. Em contrapartida, Meyer et al. (1960) recomendaram realização de jejum de sólidos e líquidos de, no mínimo 12 horas, podendo o jejum de sólidos ser prolongado até 24 horas. Por outro lado, cabe ressaltar que a realização de jejum anteriormente às pesagens eleva o nível de estresse e reduz a condição de bem-estar dos animais, infligindo o direito e liberdade dos mesmos de estarem livres de fome (Webster, 2001).

Embora estas recomendações tenham perdurado até os dias atuais, poucos estudos têm sido realizados a fim de compreender se existem diferenças entre o GMD obtido submetendo ou não os animais a períodos de jejum, bem como verificar se há redução na variabilidade aleatória dos dados obtidos com a aplicação desta prática. Assim, a utilização de procedimento meta-analítico pode constituir em ferramenta fundamental para verificação dos reais efeitos da realização do jejum sobre os fatores apontados anteriormente.

Por outro lado, a suplementação de bovinos em pastejo constitui importante tecnologia para alcançar níveis de desempenho compatíveis com uma pecuária de corte competitiva. Em se tratando de regiões tropicais, ainda que existam notáveis diferenças nas características quantitativas e qualitativas dos pastos das estações seca e chuvosa (ou mesmo transições), entende-se que a suplementação com compostos nitrogenados deve ser tomada como prioritária durante todo o ano (Sampaio et al., 2010; Detmann et al., 2014a; 2014b).

Adicionalmente, a tomada de decisão sobre a frequência com que os suplementos serão ofertados aos animais depende de outros fatores que transcendem aspectos nutricionais. Verifica-se que a necessidade de suplementação diária pode ser um fator limitante em sistemas de produção de bovinos de corte, principalmente devido à necessidade de mão de obra, estrutura e logística para realização desta atividade, com consequente elevação nos custos operacionais (Paula et al., 2010; Cappellozza et al., 2013).

Neste sentido, diversas pesquisas têm sido propostas na tentativa de reduzir a frequência de fornecimento de suplementos, sem, contudo, comprometer o desempenho dos animais (Bohnert et al., 2002a; 2002b; Paula et al., 2010; Morais et al., 2014). Estas pesquisas possuem como principal suporte teórico a capacidade dos animais ruminantes de conservar nitrogênio (N), via reciclagem deste elemento para o trato gastrintestinal (Van Soest, 1994; Lapierre e Lobley, 2001). Adicionalmente à reciclagem de N, um possível atraso na atividade das enzimas do ciclo da ornitina, com consequente formação de proteínas lábeis (i.e., estoque de curto prazo

de N no fígado), pode permitir que, nos dias em que os animais não recebem suplementação, haja N disponível no rúmen para síntese de enzimas microbianas e manutenção do desempenho dos animais (Reynolds e Kristensen, 2007; Atkinson et al., 2009).

Em relação às pesquisas relacionadas à suplementação infrequente, pode-se dividir as mesmas em dois grupos: o primeiro focado principalmente na compreensão dos efeitos da mudança na frequência de suplementação sobre o desempenho dos animais (i.e., ganho de peso) e o segundo grupo focado no entendimento de aspectos metabólicos e fisiológicos (i.e., experimentos de metabolismo e/ou partição de nutrientes), sendo este último provedor de subsídios que possam explicar de forma mais detalhada os resultados do primeiro (Berchielli et al., 2011). Assim, pode-se entender os dois grupos como complementares.

No entanto, a realização de ambos tipos de experimentos em um mesmo estudo, tendo em vista o grande labor, tempo e recursos financeiros necessários, pode se tornar inviável. Portanto, espera-se que os experimentos de metabolismo sejam conduzidos da forma mais fiel possível aos estudos de desempenho, para que ambos gerem resultados compatíveis. Por outro lado, ainda que ambos tipos de experimentos sejam conduzidos conjuntamente, nem sempre é observada plena congruência entre os resultados dos mesmos, podendo este evento ser denominado paradoxo nutrição × produção (Detmann et al., 2016).

Embora existam razões que possam justificar as diferenças apontadas anteriormente (Detmann et al., 2016), o fato de os animais em experimentos de metabolismo serem suplementados através de cânulas ruminais e de forma forçada, pode, algumas vezes, constituir entrave metodológico. Por não ser de livre escolha dos animais a quantidade de suplemento, bem como a velocidade com a qual este deverá ser consumido em cada refeição, pode-se esperar, como consequência, redução do consumo de forragem nos dias de suplementação (Palma, 2018; Reis et al., 2020; Rufino et al., 2020). Isto pode ser decorrente da hidrólise e fermentação de grandes quantidades de ureia ou proteína degradável no rúmen (PDR), com

consequente excesso de amônia nos fluidos circulantes e no meio intracelular (Vissek, 1984), levando a sensações de mal-estar nos animais (Detmann et al., 2007). De forma similar, quando se infunde grandes quantidades de carboidratos não fibrosos (CNF; e.g., amido) no rúmen, em virtude da alta taxa de degradação destes compostos, pode-se observar queda do pH ruminal. Valores de pH ruminal abaixo de 6,2 podem ser tomados como prejudiciais à digestão da fibra, principalmente devido à redução da atividade das bactérias fibrolíticas (Hoover, 1986). De fato, a intensidade com que os animais poderão sentir os desconfortos em função de excesso de amônia ou redução da digestão da fibra devido ao pH reduzido dependem principalmente da quantidade de suplemento infundida, bem como da composição do mesmo. No entanto, as consequências deste tipo de metodologia podem alterar ou viesar os resultados do experimento.

De forma alternativa, caso a suplementação infrequente seja realizada ofertando-se os suplementos em comedouros, permitindo livre acesso aos animais, pode-se sugerir que as discrepâncias apontadas anteriormente sejam reduzidas. Isto aconteceria em decorrência das menores quantidades de suplemento consumidas por refeição e o aumento no número de refeições realizadas pelos animais nos dias de suplementação. Este comportamento de consumo evitaria picos de amônia ou quedas acentuadas de pH ruminal (Paula et al., 2011), tornando os estudos de metabolismo mais verossímeis quando comparados aos com foco em desempenho.

Assim, objetivou-se com este estudo, por intermédio de procedimento meta-analítico, investigar se existem diferenças nas estimativas de GMD, bem como se há redução da variabilidade aleatória de experimentos com a realização de jejum de sólidos nos animais anteriormente aos procedimentos de pesagens. Além disso, objetivou-se avaliar o desempenho nutricional e metabólico de bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e suplementados sob diferentes frequências.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATKINSON, R.L.; TOONE, C.D.; ROBINSON, T.J.; HARMON, D.L.; LUDDEN, P.A. Effects of ruminal protein degradability and frequency of supplementation on nitrogen retention, apparent digestibility, and nutrient flux across visceral tissues in lambs fed low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.88, p.727-736, 2009.

BERCHIELLI, T.T.; GARCIA, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G.O. Nutrição de ruminantes. 2º Ed., Jaboticabal: Funep, 2011. 616p.

BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J.; DeLCURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: Cow performance and efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1629-1637, 2002a.

BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J.; DeLCURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: II. Ruminal fermentation characteristics. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2978-2988, 2002b.

CAPPELLOZA, B.I.; BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J.; VAZANT, E.S.; HARMON, D.L.; COOKE, R.F. Daily and alternate day supplementation of urea or soybean meal to ruminants consuming low-quality cool-season forage: II. Effects on ruminal fermentation. **Livestock Science**, v.15, p.214-222, 2013.

DETMANN, E.; GIONBELLI, M.P.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; RENNÓ, L.N. Considerações sobre métodos de pesquisa com ruminantes em pastejo. **Nutritime**, v.13, p.4711-4731, 2016.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; HUHTANEN, P. Nutritional aspects applied to grazing cattle in the tropics: a review based on Brazilian results. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, p.2829-2854, 2014a.

DETMANN, E.; PAULINO, M.P.; VALADARES FILHO, S.C.; LANA, R.P. Fatores controladores de consumo em suplementos múltiplos fornecidos ad libitum para bovinos manejados a pasto. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, v.55, p.73-93, 2007.

DETMANN, E.; VALENTE, E.E.L.; BATISTA, E.D.; HUHTANEN, P. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**. 162:141-153, 2014b.

HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2755-2766, 1986.

LAPIERRE, H.; LOBLEY, G.E. Nitrogen recycling in the ruminant: A review. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.223-236, 2001.

LOFGREEN, G.P.; HULL, J.L.; OTAKI, K.K. Estimation of empty body weight of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.21, p.20-24, 1962.

MEYER, J.H.; LOFGREEN, G.P.; GARRET, W.N. A proposed method for removing sources of error in beef cattle feeding experiments. **Journal of Animal Science**, v.19, p.1123-1131, 1960.

MORAIS, J.A.S.; QUEIROZ, M.F.S.; KELI, A.; VEGA, A.; FIORENTINI, G.; CANESIN, R. C.; REIS, R.A.; BERCHIELLI, T.T. Effect of supplementation frequency on intake, behavior and performance in beef steers grazing Marandu grass. **Animal Feed Science and Technology**, v.189, p.63-71, 2014.

PALMA, M.N.N. **Estratégias de suplementação energética para bovinos alimentados com forragem tropical recebendo suplementação proteica infrequente**. 2018. 65f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.

PAULA, N.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; CARVALHO, D.M.G.; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L.K.; MORAES, H.B.K.; OLIVEIRA, A.A. Frequência de suplementação e fontes de proteína para recria de bovinos em pastejo no período seco: desempenho produtivo e econômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.873-882, 2010.

PAULA, N.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; CARVALHO, D.M.G.; PAULINO, M.F.; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L.K.; OLIVEIRA, A.A.; KOSCHECK, J.F.W. Suplementação infrequente e fontes proteicas para recria de bovinos em pastejo no período seco: parâmetros nutricionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.882-891, 2011.

REIS, W.L.S.; PALMA, M.N.N.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. Investigation on daily or every three days supplementation with protein or protein and starch of cattle fed tropical forage. **Animal Feed Science and Technology**, 2020 (submetido).

REYNOLDS, C.K., AND N.B. KRISTENSEN. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: An asynchronous symbiosis. **Journal of Animal Science**. v.86, p.293-305, 2008.

RUFINO, L.M.A.; BATISTA, E.D; RODRIGUES, J.P.P; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F.; COSTA e SILVA, L.F.; DETMANN, E. Effects of the amount and frequency of nitrogen supplementation on intake, digestion, and metabolism in cattle fed low-quality tropical grass. **Animal Feed Science and Technology**, v.260, p. 114367, 2020.

SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; LAZZARINI, I.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; PAULINO, P.V.; QUEIROZ, A.C. Intake and digestibility in cattle fed

low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Tropical Animal Health and Production**, v.42, p.1471-1479, 2010.

Van SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2º Edição, Cornell Univ. Press, Ithaca, NY, 1994, 476p.

VISEK, W.J. Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.481-498, 1984.

WEBSTER, A.J.F. Farm animal welfare: the five freedoms and the free market. **The Veterinary Journal**, v.161, p.229-237, 2001.

WHITEMAN, J.V.; LOGGINS, P.F.; DOYLE, C.; POPE, L.S.; STEPHENS, D.F. Some sources of error in weighing steers off grass. **Journal of Animal Science**, v.13, p.832-842, 1954.

CAPÍTULO 1

O período de jejum é um procedimento necessário para estimar o ganho de peso em bovinos de corte? Uma abordagem meta-analítica

[Is the fasting period a mandatory procedure to estimate the weight gain in beef cattle? A meta-analytical approach]

T. E. Silva¹, E. Detmann¹

¹ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil, 36570-900

RESUMO

Objetivou-se com este estudo, por intermédio de procedimento meta-analítico, investigar se existem diferenças nas estimativas de ganho médio diário (GMD), bem como se há redução da variabilidade aleatória de experimentos com a realização de jejum de sólidos em bovinos anteriormente aos procedimentos de pesagens. O banco de dados utilizado neste trabalho foi construído a partir de oito experimentos conduzidos com animais em crescimento e terminação, sendo cinco experimentos conduzidos em condições de confinamento e três em condições de pastejo, perfazendo um total de 214 observações. Para inclusão dos experimentos no banco de dados, exigiu-se que estes apresentassem, no mínimo, informações referentes aos tratamentos aplicados aos animais, ao peso corporal inicial e final dos mesmos, ambos com e sem realização de jejum, além do período de avaliação do experimento. Realizou-se análises de variâncias dentro de cada experimento, avaliando-se os efeitos de tratamentos sobre o GMD. Após a obtenção das estimativas das variâncias residuais dentro de cada experimento, estas foram comparadas quanto à homogeneidade por intermédio do teste F. Posteriormente, os dados foram analisados utilizando-se os procedimentos MIXED e NLMIXED do SAS 9.4, considerando-se o efeito aleatório de experimentos sobre os parâmetros das regressões. Para verificação da relação de igualdade entre as estimativas de GMD sem jejum e GMD com jejum (GMDj), utilizou-se de técnica de regressão linear simples, testando-se os parâmetros intercepto ($\beta_0=0$) e inclinação ($\beta_1=1$). Além da regressão linear, utilizou-se como medida auxiliar para verificação de exatidão e precisão concomitantemente o coeficiente de correlação e concordância (CCC). Para os testes F realizados entre as variâncias residuais dentro de cada experimento, em nenhuma ocasião houve rejeição da hipótese nulidade ($P>0,29$), indicando não alteração da variabilidade aleatória realizando-se ou não jejum nos animais anteriormente às pesagens. Os coeficientes estimados para os parâmetros intercepto (β_0) e inclinação (β_1) apresentaram valores iguais a zero ($\beta_0=0,048$; $P>0,05$) e um ($\beta_1=0,927$; $P>0,12$), respectivamente. Adicionalmente, o CCC calculado apresentou valor de 0,986. A relação entre a perda absoluta de peso após realização de jejum e peso corporal dos animais apresentou-se constante, obtendo-se valor médio de 10,39 kg. No entanto, estudando-se a relação entre os valores relativos de perda de peso (% do peso corporal) após realização de jejum e o peso corporal (kg), observou-se que esta apresentou comportamento exponencial decrescente ($P<0,05$) na medida em que os animais se tornaram mais pesados. Conclui-se que a realização de jejum de sólidos em bovinos sob condições experimentais anteriormente às pesagens não influencia as estimativas de ganho de peso, tampouco interfere em sua variação aleatória experimental.

Palavras-chave: Desempenho animal. Ganho médio diário. Variação residual.

ABSTRACT

The objective was to investigate by using a meta-analytical procedure whether there are differences in the estimates of average daily gain (ADG), as well as if there is a decrease in the random variability of experiments with the fasting of solids in cattle prior to the weighing procedures. The database used in this work was built from eight experiments conducted with growing and finishing animals. Five experiments were conducted in feedlots and three were conducted in pastures, making a total of 214 observations. To include the experiments in the database, it was required that they present, at least, information regarding the treatments applied to the animals, their initial and final body weight, both with and without fasting, and the length of the evaluation period. Analyses of variances were performed within each experiment, evaluating the effects of the treatments on the ADG. After obtaining the residual variance estimates within each experiment, they were compared with regards the homogeneity using the F test. Then the data were analyzed using the SAS 9.4 MIXED and NLMIXED procedures, considering the effect of experiments on the parameters of the regressions. To check the equality relationship between the ADG without fasting and ADG with fasting (ADGf) estimates, we used a simple linear regression technique, testing the intercept ($\beta_0=0$) and slope ($\beta_1=1$) parameters. In addition to linear regression, it was used as an auxiliary measure to verify accuracy and precision concurrently with the correlation and agreement coefficient (CCC). For the F tests performed between residual variances within each experiment, the null hypothesis ($P>0.29$) was not rejected at any time, indicating no change in random variability by fasting or not fasting animals prior to weighing. The estimated coefficients for the intercept (β_0) and slope (β_1) parameters showed values equal to zero ($\beta_0=0.048$; $P>0.05$) and one ($\beta_1 = 0.927$; $P>0.12$), respectively. Additionally, the calculated CCC presented a value of 0.986. The relationship between absolute weight loss after fasting and body weight of the animals was constant, with an average value of 10.39 kg. However, studying the relationship between the relative values of weight loss (% body weight) after fasting and body weight (kg), it was observed that this presented a decreasing exponential pattern as the body weight of the animals increased. ($P<0.05$). It is concluded that solids fasting in cattle under experimental conditions prior to weighing does not influence ADG estimates, nor does it interfere with experimental random variability.

Keywords: Animal performance. Average daily gain. Residual variance.

INTRODUÇÃO

A mensuração do ganho médio diário (GMD) de ruminantes em condições experimentais é um dos principais critérios para avaliação do desempenho animal (Meyer et al., 1960). Em termos operacionais, são necessárias no mínimo duas pesagens dos animais para obtenção do GMD, sendo uma realizada ao início e outra ao final do período de avaliação. Assim, o GMD pode ser estimado por intermédio da diferença entre o peso corporal final e o peso corporal inicial, dividida pelo período de avaliação.

Contudo, o processo de pesagem dos animais está sujeito a erros, haja vista que o valor obtido no momento da pesagem representa não somente a massa de tecidos do corpo do animal, mas também o conteúdo de digesta presente no trato gastrintestinal (TGI; Whiteman et al., 1954). O conteúdo de digesta no TGI pode ser incrementado com o consumo de alimentos e água ou ser reduzido com a excreção de fezes e urina, podendo apresentar grande variação ao longo do dia. Logo, a variação diária no conteúdo de digesta do TGI é apontada como principal fonte de erros em mensurações de ganho de peso de ruminantes (Lofgreen et al., 1962), o que ocasionaria elevação das estimativas da variância residual e dos erros padrão nos experimentos (Meyer et al., 1960).

Nesse sentido, com intuito de reduzir os problemas mencionados anteriormente e obter-se um valor mais acurado do GMD dos animais, padronizações dos procedimentos de pesagem foram propostas por alguns pesquisadores. Whiteman et al. (1954), por exemplo, trabalhando com animais em pastejo, propuseram realização de jejum de sólidos de 10 a 15 horas anteriormente às pesagens. Em contrapartida, Meyer et al. (1960) recomendaram realização de jejum de sólidos e líquidos de, no mínimo 12 horas, podendo o jejum de sólidos ser prolongado até 24 horas. Por outro lado, cabe ressaltar que a realização de jejum anteriormente às pesagens eleva o nível de estresse e reduz a condição de bem-estar dos animais, infligindo o direito e liberdade dos mesmos de estarem livres de fome (Webster, 2001).

Embora estas recomendações tenham perdurado até os dias atuais, poucos estudos têm sido realizados a fim de compreender se existem diferenças entre o GMD obtido submetendo ou não os animais a períodos de jejum, bem como verificar se há redução na variabilidade aleatória dos dados obtidos com a aplicação desta prática. Assim, a utilização de procedimento meta-analítico pode constituir em ferramenta fundamental para verificação dos reais efeitos da realização do jejum sobre os fatores apontados anteriormente.

Assim, objetivou-se com este estudo, por intermédio de procedimento meta-analítico, investigar se existem diferenças nas estimativas de GMD de bovinos de corte, bem como se há redução da variabilidade aleatória em experimentos com a realização de jejum de sólidos nos animais anteriormente aos procedimentos de pesagens.

MATERIAL E MÉTODOS

Devido a não utilização direta de animais, não houve necessidade de aprovação da Comissão de Ética de Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa para realização deste trabalho. Contudo, salienta-se que todos os trabalhos utilizados para compor o banco de dados foram devidamente aprovados pela comissão da instituição.

Aquisição dos dados e procedimentos experimentais

O banco de dados utilizado neste trabalho foi construído a partir de oito experimentos conduzidos com animais em crescimento e terminação, sendo cinco experimentos conduzidos em condições de confinamento (Prados et al., 2015; Silva et al., 2016; Pacheco, 2018; Zanetti et al., 2020) e três em condições de pastejo (Barros et al., 2011; Barros et al., 2014; Cabral et al., 2014), perfazendo um total de 214 observações. Todos os trabalhos foram realizados no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, e conduzidos segundo delineamento inteiramente casualizado.

Para inclusão dos experimentos no banco de dados, exigiu-se que estes apresentassem, no mínimo, informações referentes aos tratamentos aplicados aos animais, ao peso corporal inicial e final dos mesmos, ambos com e sem realização de jejum, além do período de avaliação do experimento. (Tabela 1).

Realizaram-se nos experimentos dois tipos de pesagens: uma primeira pesagem sem realização de jejum e, no dia posterior, a segunda com os animais em jejum, após restrição na oferta de alimentos por 14 a 16 horas. Apenas no experimento de Barros et al. (2011), além da restrição de alimentos, restringiu-se também a oferta de água.

Cálculos

O ganho médio diário sem realização de jejum (GMD) e o ganho médio diário com realização de jejum (GMDj) em cada experimento foram calculados conforme as equações:

$$GMD = \frac{(PF - PI)}{PE} \quad (1);$$

$$GMDj = \frac{(PFj - PIj)}{PE} \quad (2);$$

em que: GMD, ganho médio diário sem jejum (kg/d); PF, peso final sem jejum (kg); PI, peso inicial sem jejum (kg); PE, período experimental (dias); GMDj, ganho médio diário com jejum (kg/dia); PFj, peso final com jejum; e PIj, peso inicial com jejum (kg).

Adicionalmente, calculou-se a perda de peso absoluta inicial e final dos animais, referente à redução do conteúdo de digesta do TGI em virtude do jejum, conforme as equações:

$$PPi(kg) = PI - PIj \quad (3);$$

$$PPf(kg) = PF - PFj \quad (4);$$

em que: PPI, perda de peso inicial (kg); PPf, e perda de peso final (kg). Os demais termos foram previamente definidos.

Análises Estatísticas

Realizaram-se análises de variâncias dentro de cada experimento, avaliando-se os efeitos de tratamentos aplicados aos mesmos sobre o GMD. Ou seja, dentro de cada experimento, obteve-se duas estimativas das variâncias residuais (σ^2_ε), representadas pelo quadrado médio do resíduo: uma primeira sem realização de jejum e outra com a realização de jejum nos animais. Após a obtenção das estimativas das variâncias residuais dentro de cada experimento, estas foram comparadas quanto à homogeneidade por intermédio do teste F de Fisher-Snedecor.

Posteriormente, os dados foram analisados conforme procedimentos descritos por St-Pierre (2001) para meta-análises, utilizando-se os procedimentos MIXED (modelos lineares mistos) e NLMIXED (modelos não-lineares mistos; Littell et al., 2006) do SAS 9.4, respectivamente, considerando-se o efeito aleatório de experimentos sobre os parâmetros das

regressões. A escolha da mais adequada estrutura de (co)variâncias foi baseada no menor valor do critério de informação de Akaike corrigido.

Para verificação da relação de igualdade entre as estimativas de GMD e GMDj, utilizou-se de técnica de regressão linear simples, testando-se os parâmetros intercepto ($\beta_0 = 0$) e inclinação ($\beta_1 = 1$). Além da regressão linear, utilizou-se como medida auxiliar para verificação de exatidão e precisão concomitantemente o coeficiente de correlação e concordância (CCC), conforme sugerido por Lin (1989).

Realizou-se a avaliação da presença de observações discrepantes sobre as estimativas dos resíduos. Foram considerados *outliers* os dados que apresentaram valores dos resíduos externamente estudentizados superiores a 2 ou inferiores a -2.

Todos os procedimentos estatísticos inferenciais foram realizados utilizando $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

Para os testes F de Fisher-Snedecor realizados entre as variâncias residuais dentro de cada experimento, em nenhuma ocasião houve rejeição da hipótese nulidade ($P \geq 0,29$; Figura 1), indicando a não alteração da variabilidade aleatória sobre o GMD realizando-se ou não jejum nos animais anteriormente às pesagens.

Os coeficientes estimados para os parâmetros intercepto (β_0) e inclinação (β_1) apresentaram valores iguais a zero ($\beta_0=0,048$; $P > 0,05$) e um ($\beta_1=0,927$; $P > 0,12$), respectivamente (Figura 2). Adicionalmente, CCC calculado apresentou valor de 0,986.

A relação entre a perda absoluta de peso após realização de jejum e peso corporal dos animais apresentou-se constante, obtendo-se valor médio de 10,39 kg (Figura 3).

No entanto, estudando-se a relação entre os valores relativos de perda de peso (% PC) após realização de jejum e o PC (kg) prévio ao jejum, observou-se que a perda de peso relativa apresentou comportamento exponencial decrescente ($P < 0,05$; Figura 4), indicando que, proporcionalmente, a perda de peso atribuída ao jejum se reduz na medida que o animal se torna mais pesado.

DISCUSSÃO

A realização de jejum em animais anteriormente às pesagens tem sido justificada por permitir redução no conteúdo de TGI, considerado a maior fonte de erros em mensurações de ganho de peso (Lofgreen et al., 1962). Assim, esta prática poderia constituir alternativa para reduzir as estimativas de variâncias residuais e dos coeficientes de variação nos experimentos (Meyer et al., 1960). No entanto, analisando os resultados dos testes F realizados entre as variâncias residuais dentro dos experimentos, a prática do jejum não se demonstrou efetiva em elevar a precisão experimental. É possível que a redução da variabilidade aleatória experimental apontada nos trabalhos clássicos (com a realização de jejum) possa estar baseada em problemas de ordem metodológica. Como exemplo, pode-se ressaltar o trabalho de Whiteman et al. (1954), em que estes autores, ao estudarem os efeitos de jejum de sólidos e/ou líquidos nos animais, provocaram restrições destes componentes das dietas e depois os ofertaram novamente, com intuito de isolar quais destes fatores são mais intervenientes sobre o enchimento do TGI. Contudo, este tipo de procedimento pode alterar o comportamento de ingestão dos animais, fazendo com que os mesmos, após restrição, consumam água e alimentos em quantidades e proporções bastante diferentes quando comparados às condições normais de manejo, enviesando os resultados.

Por outro lado, a avaliação da realização ou não de jejum anteriormente às pesagens não deve ser restrita somente à precisão experimental. Deve-se também contrastar as estimativas de GMD obtidas de ambas as formas, de modo a verificar se estas diferem entre si. Em termos teóricos, o GMDj pode representar uma medida mais verossímil do ganho de carcaça dos animais, haja vista que o efeito de enchimento do TGI é reduzido (Gionbelli et al., 2016). Ou seja, o contraste entre estas duas estimativas pode oferecer uma ideia de exatidão experimental. Segundo avaliações de Gionbelli et al. (2016), as diferenças entre o GMD e o GMDj são da ordem de 0,56%, podendo estas serem consideradas desprezíveis. Esta

constatação, embora sem análise estatística, vai de encontro aos resultados aqui obtidos, em que se observou igualdade entre o GMD e o GMDj, representados pela relação linear entre as duas medidas. Além da relação de igualdade, o valor encontrado de CCC foi muito próximo a unidade, indicando tanto alta precisão quanto alta exatidão quando comparadas as práticas.

Adicionalmente, pode-se integrar a igualdade das estimativas de GMDj e GMD à relação constante de perda de peso dos animais após jejum com o peso corporal. Uma vez que a perda de peso após jejum é constante, independente do peso corporal dos animais, por consequência, não haverá interferência deste procedimento sobre as estimativas de GMD.

Em contrapartida, a perda de peso relativa ao peso corporal dos animais não se apresenta de forma constante (Figura 4). Observa-se que animais mais leves apresentam maior conteúdo de digesta em termos proporcionais quando comparados à animais mais pesados. Similarmente à obtenção das estimativas de GMD e GMDj, o fato de a perda de peso absoluta ser constante, explica-se que, matematicamente a medida que os animais se tornam mais pesados, a perda de peso relativa à massa destes deve ser menor. Fisiologicamente isso pode ser decorrente do fato de o TGI dos animais apresentar crescimento alométrico em relação ao corpo nos estágios iniciais de vida, evidenciando desenvolvimento completo anteriormente ao desenvolvimento máximo dos tecidos muscular e ósseo (Oliveira et al., 1992). Desta forma, os compartimentos que compõem o TGI (i.e., rúmen-retículo, omaso, abomaso e intestinos) de animais mais leves, sob condições normais de alimentação, possuem maior capacidade relativa de retenção de digesta quando comparados a animais mais pesados (Bailey, 1986). Em conformidade com esta afirmação, Yildirim et al. (2014), abatendo cordeiros em diferentes pesos e avaliando a massa e conteúdo relativos do TGI, notaram redução linear nestas variáveis à medida que os cordeiros foram abatidos mais pesados. Resultado similar foi observado por Costa e Silva et al. (2015), relacionando o conteúdo total de digesta do TGI (g/kg de peso corporal em jejum) e o peso corporal em jejum (kg) em animais Nelore. Neste trabalho, os

autores ajustaram modelo alométrico para representar a queda relativa de conteúdo de digesta do TGI à medida que o peso de corpo em jejum dos animais se elevou. No entanto, à medida que o animal se aproxima ou já se apresenta na maturidade, estas relações tendem a permanecer constantes.

Adicionalmente, é interessante ressaltar que, observando a dispersão dos dados de perda de peso relativa ao peso corporal dos animais, nota-se um gradiente de redução da variabilidade à medida que estes se tornam mais pesados (Figura 4). Da mesma forma, analisando a relação descrita anteriormente no trabalho de Costa e Silva et al. (2015), é possível perceber comportamento similar. A maior variabilidade apontada para animais mais leves e consequente redução desta à medida que estes se tornam mais pesados pode estar relacionada ao fato de, ainda no início dos experimentos, o TGI apresentar possíveis consequências das práticas de manejo realizadas nas fases anteriores de vida dos animais, principalmente no que diz respeito ao manejo nutricional. Por exemplo, caso anteriormente à entrada dos animais nos experimentos, os mesmos tenham passado por algum momento de restrição alimentar, atrofia dos órgãos constituintes do TGI e consequente redução da capacidade destes pode ser esperada (Jorge et al., 1999).

Além da restrição, o fornecimento de dietas com altas proporções de concentrados ou volumosos podem constituir em razão para alterações do conteúdo relativo de digesta presente no TGI. Nesse sentido, Ferreira et al. (2000) e Vêras et al. (2001), estudando efeitos de níveis de concentrado sobre o conteúdo do TGI de bovinos, verificaram, respectivamente, queda linear no conteúdo do TGI à medida que se elevou a proporção de concentrado nas dietas e maior peso de rúmen-retículo para dietas com maior proporção de volumosos. Isso reforça o fato de que o conteúdo de digesta presente no TGI também pode ser função do tipo de dieta ofertada aos animais.

Além dos fatores apontados anteriormente, outro evento que pode, ao menos em parte, explicar a maior variabilidade das estimativas de perda de peso devido ao jejum para animais mais leves pode ser devido à adaptação às condições experimentais, a qual pode incorrer em várias alterações sobre o comportamento animal, incluindo irregularidades no tocante ao padrão de consumo de matéria seca ou água, devido ao estresse enfrentado pelos animais. Em sequência, por ocasião da redução da variação das condições dietéticas as quais os animais são submetidos, aliada à maior adaptação às condições experimentais, o grau de variabilidade da perda de peso em razão do jejum tende a cair gradativamente.

Desta forma, entende-se que a realização de jejum em animais anteriormente às pesagens é uma prática desnecessária, uma vez que não afeta as estimativas de GMD, tampouco altera a precisão experimental. Além disso, permite melhor condição de bem-estar dos animais, haja vista que nenhum tipo de direito dos animais é infligido. Adicionalmente, a omissão de jejum pode se mostrar vantajosa em experimentos nos quais sua prática se mostra próxima da inviabilidade. Como exemplo, a submissão de vacas gestantes em pastejo a jejum para estimação do GMD pré parto não se mostra viável, haja vista o grau de incerteza associado à data do parto em si. Dessa forma, a informação de que a ausência do jejum não compromete as estimativas de GMD atribui maior viabilidade a muitas situações experimentais.

CONCLUSÃO

A realização de jejum de sólidos em bovinos sob condições experimentais anteriormente às pesagens não influencia as estimativas de ganho de peso, tampouco interfere em sua variação aleatória experimental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, L.V.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; LOPES, S.A.; ROCHA, A.A.; VALENTE, E.E.L.; ALMEIDA, D.M. Replacing soybean meal by castor seed meal treated with calcium oxide in multiple supplements for heifers at pasture during the dry/rainy transition season. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.843-851, 2011.

BARROS, L.V.; PAULINO, M.F.; MORAES, E.H.B.K.; DETMANN, E.; ALMEIDA, D.M.; MARTINS, L.S.; SILVA, A.G.; LOPES, S.A.; MARQUEZ, D.E.C.; CARDENAS, J.E.G. Desempenho produtivo e nutricional de novilhas de corte em pastejo suplementadas no período da seca e/ou no período de transição seca-águas. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, p.2655-2672, 2014.

BAILEY, C.B. Growth of digestive organs and their contents in Holstein steers: relation to body weight and diet. **Canadian Journal Animal Science**, v.66, p.653-661, 1986.

CABRAL, C.H.A.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; BARROS, L.V.; VALENTE, E.E.L.; BAUER, M.O.; CABRAL, C.E.A. Levels of supplementation for grazing beef heifers. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v.27, p.806-817, 2014.

COSTA E SILVA, L.F.; VALADARES FILHO, S.C.; ENGLE, T.E.; ROTTA, P.P.; MARCONDES, M.I.; SILVA, F.A.S.; MARTINS, E.C.; TOKUNAGA, A.T. Macrominerals and trace element requirements for beef cattle. **Plos One**, v.10, p.e0144464, 2015.

FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; MUNIZ, E.B.; VÉRAS, A.S.C. Características das carcaças, biometria do trato gastrintestinal, tamanho dos órgãos internos e conteúdo gastrintestinal de bovinos F1 Simental × Nelore alimentados com dietas contendo vários níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1174:1182, 2000.

GIONBELLI, M.P.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E. Adjusting cattle body weight to physiological and feed conditions. In: VALADARES FILHO, S.C.; COSTA E SILVA, L.F.; GIONBELLI, M.P.; ROTTA, P.P.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L.; PRADOS, L.F. (Ed.) **Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados BR-CORTE**. 3 ed. Viçosa: DZO-UFV, 2016. p.1-14.

JORGE, A.M; FONTES, C.A.A.; PAULINO, M.F.; GOMES JR., P. Tamanho relativo dos órgãos internos de zebuínos sob alimentação restrita e *ad libitum*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.374-380, 1999.

LIN, L.I.K. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics**, v.45, p.255-268, 1989.

LITTEL, R.C.; MILLIKEN, G.A.; STROUP, W.W.; WOLFINGER, R.D.; SCHABENBERGER, O. **SAS for mixed models**. 2 ed. Cary, NC: SAS Institute, 2006. 828p.

LOFGREEN, G.P.; HULL, J.L; OTAKI, K.K. Estimation of empty body weight of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.21, p.20-24, 1962.

MEYER, J.H.; LOFGREEN, G.P.; GARRET, W.N. A proposed method for removing sources of error in beef cattle feeding experiments. **Journal of Animal Science**, v.19, p.1123-1131, 1960.

OLIVEIRA, R.F.M.; FONTES, C.A.A.; CARNEIRO, L.H.D.M. Biometria do trato gastrintestinal de bovinos de três grupos genéticos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.21, p.205-210, 1992.

PACHECO, M.V.C. **Efeito da ensilagem do milho e sorgo reidratados sobre o desempenho e características de carcaça de bovinos nelore superprecoces**. 2018. 152f. Dissertação (Dissertação em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.

PRADOS, L.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SANTOS, S.A.; ZANETTI, D.; NUNES, A.N.; COSTA, D.R.; MARIZ, L.D.S.; DETMANN, E.; AMARAL, P.M.; RODRIGUES, F.C.; VALADARES, R.F.D. Reducing calcium and phosphorus in crossbred beef cattle diets: impacts on productive performance during the growing and finishing phase. **Animal Production Science**, v.56, p.1643-1649, 2015.

SILVA, F.A.S.; VALADARES FILHO, DETMANN, E.; SANTOS, S.A.; GODOI, L.A.; SILVA, B.C.; PACHECO, M.V.C.; ALHADAS, H.M.; ROTTA, P.P. Effect of different forage types and concentrate levels on energy conversion, enteric methane production, and animal performance of Holstein × Zebu heifers. **Animal Production Science**, v.10, p.2042-2050, 2016.

St-PIERRE, N.R. Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.741-755, 2001.

VÉRAS, A.S.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; VALADARES, R.F.D.; FERREIRA, M.A.; FONTES, C.M.S. Efeito do nível de concentrado sobre o peso dos órgãos internos e do conteúdo gastrintestinal de bovinos Nelore não-castrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1120-1126, 2001.

WEBSTER, A.J.F. Farm animal welfare: the five freedoms and the free market. **The Veterinary Journal**, v.161, p.229-237, 2001.

WHITEMAN, J.V.; LOGGINS, P.F.; DOYLE, C.; POPE, L.S.; STEPHENS, D.F. Some sources of error in weighing steers off grass. **Journal of Animal Science**, v.13, p.832-842, 1954.

YILDIRIM, A.; AKSOY, Y.; OCAK, N.; ULUTAS, Z. Some gastrointestinal characteristics of Karayaka ram lambs slaughtered at different weights. **The Scientific World Journal**, v.2014, p.1-6, 2014.

ZANETTI, D.; GODOI, L.A.; ESTRADA, M.M.; PACHECO, M.V.C.; PEREIRA, J.M.V.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Influence of a mineral supplement containing calcium, phosphorus and micronutrients on intake, digestibility, performance and mineral status of young Nellore bull in a feedlot. **Animal Production Science**, v.60, p.277-287, 2020.

Tabela 1 – Estatísticas descritivas do banco de dados utilizado para estudar as diferenças entre GMD e perda de peso com ou sem realização de jejum

Item ²	Estatísticas ¹			
	Média	Mínimo	Máximo	Desvio-padrão
PCi, kg	281,9	158,5	468,0	71,53
PCij, kg	270,7	150,5	453,0	69,02
PPij, kg	11,2	1,0	28,0	5,41
PCf, kg	334,8	175,0	568,0	84,81
PCfj, kg	324,7	171,0	560,0	86,12
PPfj, kg	10,1	1,0	24,5	5,67
GMD, kg/d	0,529	-0,238	1,667	0,3784
GMDj, kg/d	0,539	-0,224	1,591	0,3489

¹ n = 214.

² PCi, peso corporal inicial; PCij, peso corporal inicial em jejum; PPij, perda de peso após jejum no início do experimento; PCf, peso corporal final; PCfj, peso corporal final em jejum; PPfj, perda de peso após jejum no final do experimento; GMD, ganho médio diário sem jejum; GMDj, ganho médio diário com jejum.

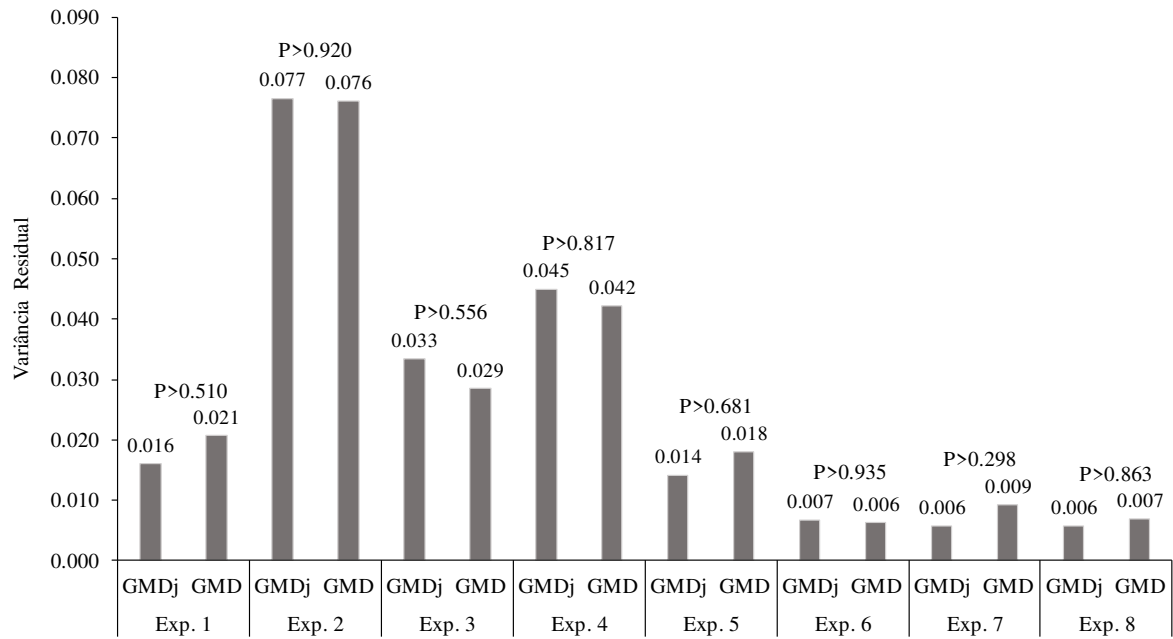


Figura 1 – Variâncias residuais $[(\text{kg}/\text{dia})^2]$ obtidas a partir das ANOVA realizadas utilizando como variável resposta o GMD ou GMDj para cada experimento individualmente. Os valores-P foram calculados a partir do teste F realizado entre a maior e menor variância residual em cada experimento.

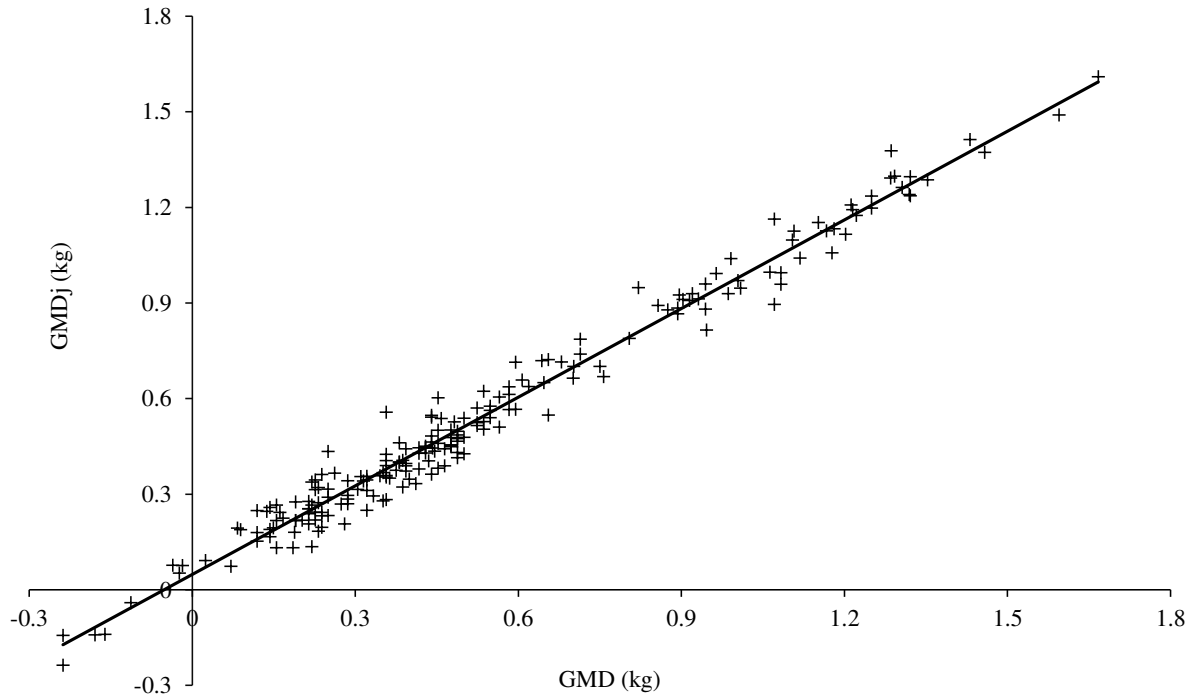


Figura 2 – Relação entre o ganho médio diário com jejum (GMDj) e ganho médio diário sem jejum (GMD) representada pela equação: $[\hat{Y} = 0,048 + 0,927 \times X, r^2 = 0,977, s_{XY} = 0,056, n = 207, \text{valor-P } (\beta_0 = 0): 0,051, \text{valor-P } (\beta_1 = 1): 0,120. \text{ Os dados foram ajustados para a variação aleatória entre experimentos}]$.

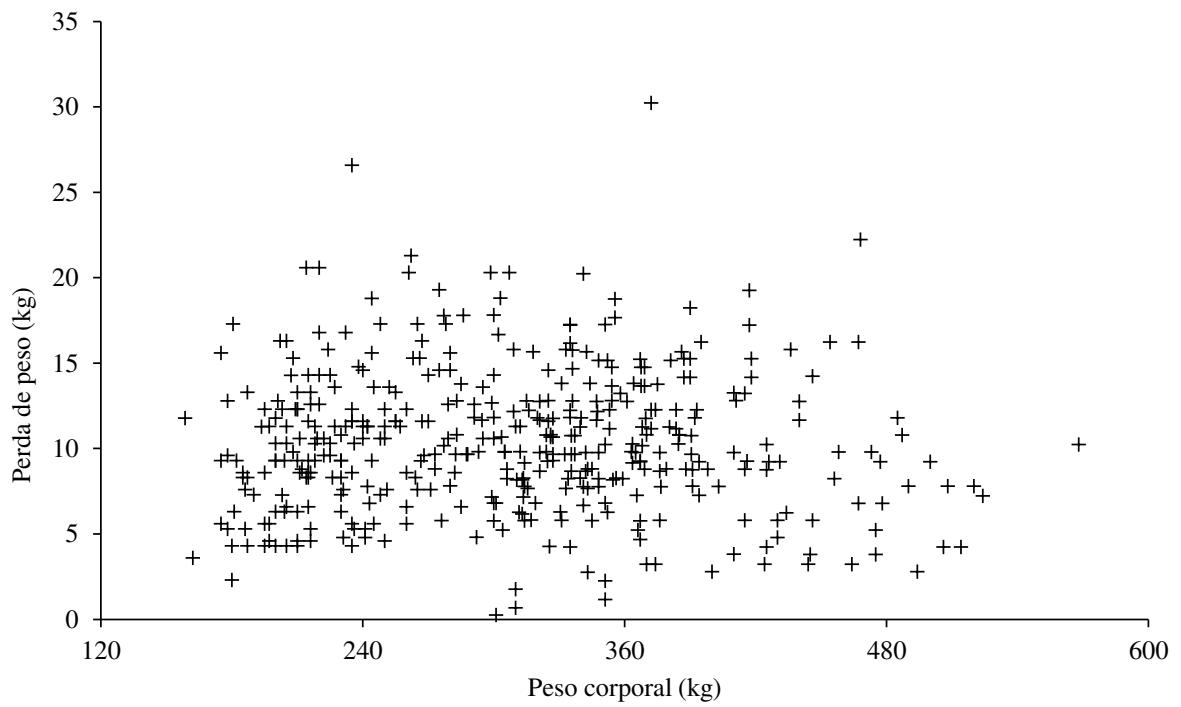


Figura 3 – Valores individuais de perda de peso após jejum em relação ao peso corporal antes do jejum [$\hat{Y} = 10,39$, Desvio-padrão residual = 18,18, $n = 418$. Os dados foram ajustados para variação aleatória entre experimentos].

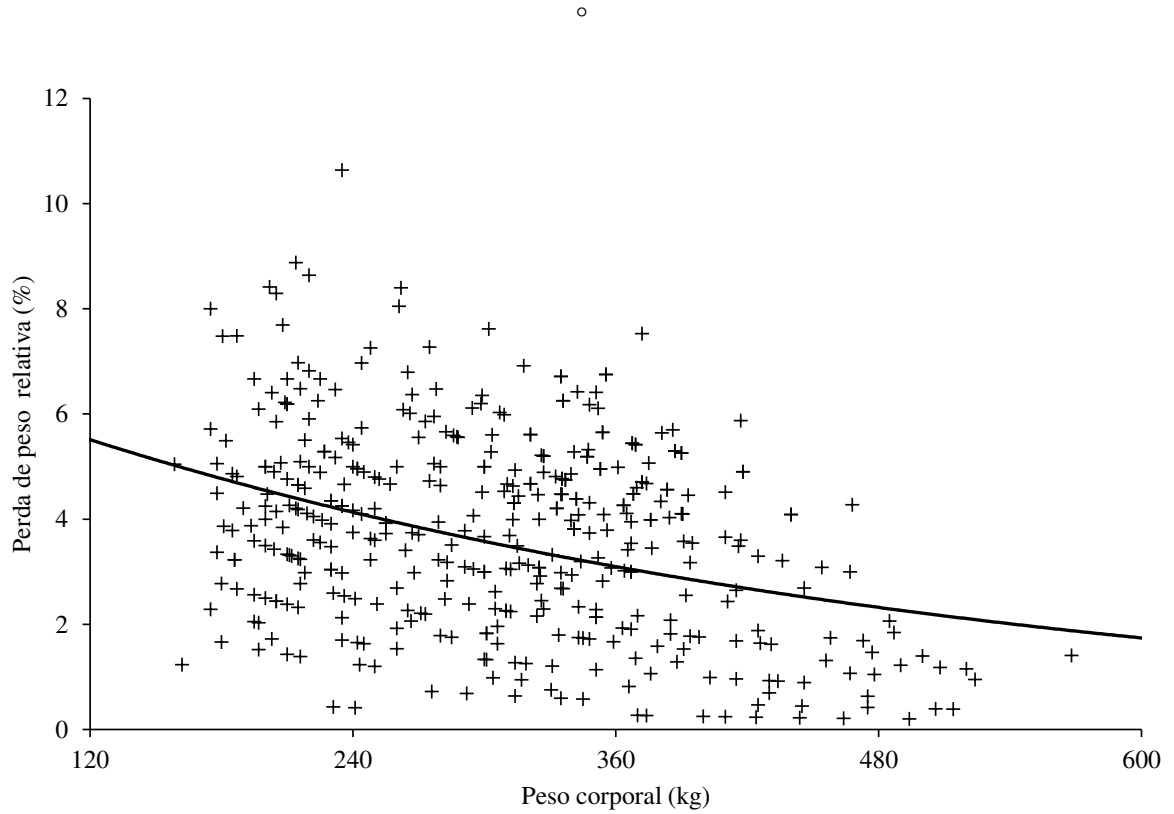


Figura 4. Relação entre perda de peso relativa após jejum e peso corporal antes do jejum [$\hat{Y} = 7,35 \times e^{-0,0024 \times X}$, Desvio-padrão assintótico = 1,48, n = 418].

CAPÍTULO 2

Desempenho nutricional e metabolismo de bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e suplementados sob diferentes frequências

[Nutritional performance and metabolism of cattle fed a low-quality tropical forage and supplemented under different frequencies]

T. E. Silva¹, E. Detmann¹

¹ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil, 36570-900

RESUMO

Objetivou-se avaliar o desempenho nutricional e metabolismo de bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e suplementados sob diferentes frequências. Cinco novilhas Nelore (386 ± 38 kg) fistuladas no rúmen e no abomaso foram utilizadas em delineamento quadrado latino 5×5 . Foram avaliados os tratamentos: controle (forragem e mistura mineral), suplementação a cada 12 horas, a cada 24 horas, a cada 48 horas e a cada 96 horas. A quantidade de suplemento ofertada foi igual à 0,25% da massa corporal dos animais na base diária. Todas as avaliações foram realizadas considerando-se o ciclo de suplementação de quatro dias. Os tratamentos foram avaliados por meio de contrastes polinomiais ortogonais ($\alpha=0,05$), estudando-se os efeitos de ordem linear, quadrático e cúbico relativos aos intervalos entre suplementações. Contraste adicional foi realizado entre os grupos controle e suplementado. Em geral, observou-se efeito positivo ($P<0,01$) da suplementação sobre o consumo voluntário. Por outro lado, entre os tratamentos suplementados não se observou efeito da frequência de suplementação ($P \geq 0,07$) sobre o consumo de PB, a relação PB e matéria orgânica digerida e o consumo de MS (g/kg peso corporal). Em contrapartida, para as demais variáveis relacionadas ao consumo, verificou-se efeito linear decrescente ($P<0,04$) com o aumento dos intervalos de suplementação. Adicionalmente, a suplementação ampliou ($P<0,02$) as taxas de ingestão da FDN, FDNpd, a taxa de degradação da FDNpd e a taxa de passagem da FDNi, embora não tenha afetado ($P>0,29$) a taxa de passagem da FDNpd. O fornecimento de suplementos elevou ($P<0,02$) a excreção fecal de N, o balanço de N no corpo e no rúmen (BNR), a eficiência de uso do N e a produção de N microbiano no rúmen (NMIC). Apenas o BNR ($P<0,02$) e NMIC ($P<0,04$) foram afetados pelas frequências de suplementação, ambas de forma quadrática. Verificou-se interação entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação para as concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR; $P<0,01$). A interação indicou variações entre dias ($P<0,01$) quando a suplementação ocorreu a cada 48 ou 96 horas. Nesses casos, as concentrações de NAR apresentaram picos ($P<0,05$) nos dias de fornecimento dos suplementos. A excreção urinária de N (EUN) foi superior ($P<0,01$) com o fornecimento de suplementos. Contudo, para EUN efeito de interação entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação foi verificada ($P<0,01$), em somente se verificou variação entre dias para a suplementação a cada 96 horas ($P<0,01$). Neste caso, a excreção apresentou pico ($P<0,05$) no dia após a suplementação. A concentração de NUS apresentou comportamento análogo à excreção urinária de N. A suplementação infrequente não compromete o desempenho nutricional de

bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade, desde que intervalos muito longos entre suplementações não sejam utilizados.

Palavras-chave: Quadrado Latino. Metabolismo. Nitrogênio. Proteína Bruta. Urina.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the nutritional and metabolic performance of cattle fed with low quality tropical forage and supplemented under different frequencies. Five Nellore heifers (386±38 kg) fistulated in the rumen and abomasum were used in a 5 × 5 Latin Square design. The treatments were: control (forage and mineral mixture), supplementation every 12 hours, every 24 hours, every 48 hours and every 96 hours. The amount of supplement offered was equal to 0.25% of the animal body weight on a daily basis. All measurements were taken considering the four-day supplementation cycle. The treatments were evaluated by orthogonal polynomial contrasts ($\alpha = 0.05$), investigating effects of linear, quadratic, and cubic order according to the intervals between supplementations. An additional contrast was performed between the control and supplemented treatments. In general, there was a positive effect ($P < 0.01$) of supplementation on voluntary intake. On the other hand, among the supplemented treatments there was no effect of the frequency of supplementation ($P \geq 0.07$) on the intake of CP, the relationship between dietary CP and digested organic matter and the DM intake (g/kg body weight). In contrast, for the other variables related to intake, there was a decreasing linear effect ($P < 0.04$) with the increase in supplementation intervals. In addition, supplementation increased ($P < 0.02$) the rates of ingestion of NDF, pdNDF, the rate of degradation of pdNDF and the rate of passage of NDFi, although it did not affect ($P > 0.29$) the rate of passage of pdNDF. The supply of supplements increased ($P < 0.02$) the fecal excretion of N, the balance of N in the body and in the rumen (NBR), the efficiency of use of N and the production of microbial N in the rumen (NMIC). Only NBR ($P < 0.02$) and NMIC ($P < 0.04$) were affected by supplementation frequencies, both in a quadratic order. There was an interaction between treatments and supplementation cycle days for ruminal ammoniacal nitrogen concentrations (RAN; $P < 0.01$). The interaction indicated variations between days ($P < 0.01$) when supplementation occurred every 48 or 96 hours, where the RAN concentration peaked ($P < 0.05$) on the days of supplement supply. The urinary excretion of N (UEN) was higher ($P < 0.01$) with the supply of supplements. However, the interaction effect between treatments and supplementation cycle days was verified ($P < 0.01$) for UEN, where there was only variation between days for supplementation every 96 hours ($P < 0.01$). In this case, the excretion peaked ($P < 0.05$) on the day after supplementation. The concentration of serum urea N showed a pattern similar to the urinary excretion of N. Infrequent supplementation does not compromise the nutritional performance of cattle fed with low quality tropical forage, provided that very long intervals between supplementations are not used.

Keywords: Crude protein. Latin square. Metabolism. Nitrogen. Urine.

INTRODUÇÃO

A tomada de decisão sobre a frequência com que suplementos serão ofertados a animais ruminantes em pastejo depende de fatores que transcendem aspectos nutricionais. Verifica-se que a necessidade de suplementação diária pode ser um fator limitante em sistemas de produção de bovinos de corte, principalmente devido à necessidade de mão de obra, estrutura e logística para realização desta atividade, com consequente elevação nos custos operacionais (Paula et al., 2010; Cappelozza et al., 2013).

Neste sentido, pesquisas têm sido propostas na tentativa de reduzir a frequência de fornecimento de suplementos, sem contudo, comprometer o desempenho dos animais (Bohnert et al., 2002a; 2002b; Paula et al., 2010; Morais et al., 2014). Estas pesquisas possuem como principal argumento teórico a capacidade dos ruminantes de conservar nitrogênio (N) via reciclagem deste elemento para o trato gastrointestinal (Van Soest, 1994; Lapierre e Lobley, 2001). Adicionalmente à reciclagem de N, um possível atraso na atividade das enzimas do ciclo da ornitina, com consequente formação de proteínas lábeis (i.e., estoque de curto prazo de N no fígado), pode permitir que, nos dias em que os animais não recebem suplementação, haja N disponível no rúmen para síntese de enzimas microbianas e manutenção do desempenho dos animais (Reynolds e Kristensen, 2007; Atkinson et al., 2009).

No entanto, para nosso conhecimento, ainda não há consenso na literatura quanto aos efeitos da suplementação infrequente sobre a performance animal e eficiência de utilização do N. De fato, com a utilização da suplementação infrequente, pode-se afirmar que o *status* de N no corpo do animal é ampliado (Detmann et al., 2014b). Por outro lado, conforme apontado por Drewnoski e Poore (2012), há potencial para efeitos negativos da suplementação infrequente e estes seriam proporcionais às doses de suplementos utilizadas e à própria redução da frequência de fornecimento de suplementos *per si*.

Os principais efeitos negativos associados à suplementação infrequente são a redução do consumo de forragem (Palma, 2018, Rufino et al., 2020; Reis et al., 2020) e a elevação das perdas urinárias de N (Farmer et al., 2004a; 2004b). A redução observada no consumo de forragem seria decorrente da hidrólise e fermentação de grandes quantidades de ureia ou proteína degradável no rúmen (PDR), com conseqüente excesso de amônia nos fluidos circulantes e no meio intracelular (Visek, 1984), levando à sensações de mal-estar nos animais (Detmann et al., 2007). De forma similar, quando se infunde grandes quantidades de carboidratos não fibrosos (CNF; e.g., amido) no rúmen, em virtude da alta taxa de degradação destes compostos, pode-se observar queda do pH ruminal. Valores de pH ruminal abaixo de 6,2 podem ser tomados como prejudiciais à digestão da fibra, principalmente devido à redução da atividade das bactérias fibrolíticas (Hoover, 1986). Por outro lado, a elevação das perdas urinárias de N é decorrente do excesso de N circulante representado pelas altas concentrações de N ureico no soro (NUS) observados principalmente um dia após a suplementação (Palma, 2018; Rufino et al., 2020; Reis et al., 2020). Portanto, a redução no consumo de forragem associada às perdas urinárias de N pode acarretar em diminuição da performance animal e eficiência de utilização de N.

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o impacto da suplementação infrequente sobre desempenho nutricional e metabolismo de bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório Animal, localizado nas dependências do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. O mesmo foi conduzido sob autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV; protocolo nº 018/2019).

Para realização do experimento foi utilizado delineamento experimental em quadrado latino 5×5 , utilizando-se cinco novilhas Nelore, com peso corporal (PC) inicial de 386 ± 38 kg, fistuladas no rúmen e no abomaso. Os animais foram mantidos em baias individuais ($2 \text{ m} \times 5 \text{ m}$) cobertas, com piso de concreto, dispostas com comedouros (para fornecimento de forragem e suplementos) e com acesso irrestrito a água e mistura mineral comercial (80 g/kg de fósforo).

A alimentação volumosa basal foi constituída por feno de tifton (*Cynodom sp.*) de baixa qualidade (Tabela 1), o qual foi fornecido diariamente *ad libitum*, às 6h00 e 18h00, permitindo-se sobras de aproximadamente 100 g/kg da forragem fornecida.

Foram aplicados às unidades experimentais os seguintes tratamentos: controle (somente feno e mistura mineral completa) e esquemas de suplementação a cada 12 horas (S12), 24 horas (S24), 48 horas (S48) e a cada 96 horas (S96).

A definição da suplementação utilizada foi baseada no atendimento da exigência de PB estabelecida pelo sistema BR-CORTE (Valadares filho et al., 2016), considerando-se uma fêmea Nelore, com 350 kg PC e ganho de peso esperado de 600 g/dia. Para isto, o suplemento foi formulado para conter 300 g de proteína bruta (PB) por kg de matéria seca (MS), sendo este composto por 546 g/kg de milho moído, 390 g/kg de farelo de soja, 35 g/kg de mistura ureia:sulfato de amônia (9:1) e 29 g/kg de mistura mineral, com base na matéria natural (Tabela 1). Conforme os cálculos das exigências, a quantidade de suplemento ofertada aos animais (suplementação diária) foi de 2,5 g/kg PC com base na pesagem realizada no início de cada período experimental.

A suplementação inerente a cada tratamento foi iniciada no primeiro dia de cada período experimental. Nos dias de suplementação, os suplementos foram ofertados aos animais utilizando-se comedouros confeccionados em madeira, com dimensões de 40 cm largura × 80 cm comprimento × 15 cm de altura. Para o esquema de suplementação diária com dois horários de fornecimento (S12), o suplemento foi ofertado em duas porções de mesma massa (equivalente a 1,25 g/kg PC), nos mesmos horários de fornecimento do volumoso basal. Para o esquema de suplementação diária com um horário de fornecimento (S24), a quantidade total de suplemento foi ofertada no horário das 6h00 (2,5 g/kg PC). Para os esquemas de suplementação infrequente a cada 48 horas (S48) e a cada 96 horas (S96), a quantidade total de suplementos foi ofertada no horário de 6h00. Salienta-se que para os esquemas de suplementação S48 e S96, no dia da suplementação, o suplemento ofertado foi equivalente 5 e 10 g/kg PC, respectivamente, garantindo equivalência de consumo diário do suplemento durante os ciclos de suplementação (i.e., a cada quatro dias).

O experimento foi constituído de cinco períodos experimentais com 27 dias de duração cada. Devido à suplementação infrequente ter ocorrido a cada dois e quatro dias, todas as mensurações foram realizadas em ciclos múltiplos de quatro dias (i.e., ciclo de suplementação). Os primeiros 12 dias de cada período experimental foram destinados à adaptação dos animais aos suplementos e às frequências de fornecimento.

O consumo e os coeficientes de digestibilidade total e ruminal foram avaliados em dois ciclos de suplementação, sendo estes do 13º ao 20º dias de cada período. Neste sentido, foi computado os alimentos ofertados do 13º ao 20º dias e as sobras obtidas do 14º ao 21º dias. Amostras do feno fornecido e das sobras deste período foram compostas proporcionalmente ao obtido em cada dia de coleta, com base no peso seco ao ar, por animal e período experimental. Amostras do suplemento foram reservadas a cada partida produzida.

A excreção fecal foi avaliada por intermédio de coleta total de fezes, realizadas do 18º ao 21º dias de cada período experimental, iniciando-se às 06h00. A cada 24 horas, as fezes foram pesadas, misturadas manualmente e uma alíquota (50 g/kg) foi obtida e acondicionada em estufa com circulação de ar (55°C). As amostras foram processadas em moinho de facas com peneira de porosidade 2 mm. Em sequência, metade de cada amostra foi novamente processada com peneira de porosidade 1 mm. Amostras compostas foram produzidas proporcionalmente a cada coleta, com base no peso seco ao ar, por animal e período experimental.

O fluxo abomasal foi estimado utilizando-se esquema de indicador duplo, sendo a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e o Co-EDTA utilizados como indicadores de fase sólida e líquida, respectivamente. Foram diluídos 5 g/dia de Co-EDTA em 4 L de água, os quais foram infundidos no rúmen continuamente do 8º ao 16º dias de cada período experimental por intermédio de bomba peristáltica (BP 600/4, Milan[®] Equipamentos Científicos, Inc., Colombo, Paraná, Brasil).

Oito amostras de conteúdo abomasal (1200 mL/amostra) foram coletadas do 13º ao 16º dias de cada período experimental segundo o cronograma: 13º às 2h00 e às 14h00, 14º às 5h00 e às 17h00, 15º às 8h00 e às 20h00; e 16º às 11h00 e às 23h00. As amostras de digesta abomasal foram divididas em duas porções. A primeira porção (600 mL) foi utilizada para estimar o fluxo abomasal de digesta, sendo as amostras filtradas em tecido náilon (malha com porosidade de 100 µm) para separação das fases líquida e sólida, as quais foram avaliadas separadamente. Essas amostras foram secas, processadas e compostas como descrito para as amostras fecais. A segunda porção (600 mL) foi utilizada para o isolamento de bactérias associadas à fase sólida ou de partículas (BAP) e líquida (BAL) (Reynal et al., 2005). Posteriormente, as amostras foram liofilizadas (-80°C), processadas em almofariz e compostas por animal e período experimental.

Do 21º ao 24º dia de cada período experimental, foram realizadas coletas totais de urina. Foram adaptadas aos animais sondas tipo Foley de 2 vias (nº 26, Rush Amber, Kamuting, Malásia), as quais foram acopladas à mangueiras de polietileno que direcionavam o volume urinário excretado pelos animais à reservatórios de polietileno mantidos em baixa temperatura no interior de caixas de isopor com gelo. As coletas tiveram início às 6h00 do 21º dia de cada período. Ao final de cada período de 24 horas, o volume urinário foi mensurado e uma alíquota de 50 mL foi obtida. A alíquota obtida foi imediatamente conduzida ao laboratório para avaliação dos teores de N total (método INCT-CA N-001/1; Detmann et al., 2012), amônia (método INCT-CA N-006/1; Detmann et al., 2012), ureia (método enzimático-colorimétrico, Bioclin® K056) e creatinina (método enzimático-colorimétrico, Bioclin® K067).

Nos 21º, 22º, 23º e 24º dias de cada período experimental, foram coletadas amostras sanguíneas dos animais às 6h00, 12h00, 18h00 e 24h00, diretamente da veia jugular utilizando tubos com vácuo e gel acelerador de coagulação (BD Vacutainer®, SST II Advance). Ao final do período de coleta foram produzidas amostras compostas por animal e dia do ciclo de suplementação. As concentrações séricas de glicose (método enzimático-colorimétrico glicose oxidase-peroxidase, Bioclin® K082), ureia (método cinético de tempo fixo, Bioclin® K056), creatinina (método cinético-colorimétrica, Bioclin® K067), proteína total (método biureto, Bioclin® K031), albumina (método verde de bromocresol, Bioclin® K040), aspartato aminotransferase (AST; método cinético UV-IFCC - sem piridoxal fosfato, Bioclin® K048), alanina aminotransferase (ALT; método cinético UV-IFCC - sem piridoxal fosfato, Bioclin® K049) e gamaglutamiltransferase (GGT; método SZASZ IFCC, Bioclin® K080) foram quantificadas utilizando-se analisador bioquímico automático (BS200E, Mindray, China). A concentração sérica do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) foi analisada por quimioluminescência em laboratório comercial (Laboratório Hermes Pardini, Belo Horizonte,

MG). A concentração sanguínea de globulinas foi estimada pela diferença entre as concentrações de proteína total e albumina.

Ainda durante os 21º, 22º, 23º e 24º dias, simultaneamente às coletas de sangue foram tomadas amostras de conteúdo ruminal às 6h00, 12h00, 18h00 e 24h00 para avaliação do pH, da concentração de N amoniacal ruminal (NAR) e de ácidos graxos voláteis (AGV; acetato, propionato e butirato). As amostras foram coletadas manualmente na interface líquido:sólido do rúmen, filtradas através camada tripla de gaze e submetidas à avaliação do pH por intermédio de potenciômetro digital. Em seguida, foi separada uma alíquota de 20 mL, sendo esta posteriormente fixada com 5 mL de ácido metafosfórico (250 g/L) e congelada (-20°C) para avaliação posterior da concentração de AGV. Uma segunda alíquota de 40 mL foi tomada, sendo esta posteriormente fixada com 1 mL de H₂SO₄ (1:1) e congelada (-20°C) para posterior análise da concentração de NAR.

A concentração de NAR foi quantificada pelo método colorimétrico INCT-CA N-006/1 (Detmann et al., 2012). A avaliação da concentração de AGV foi obtida por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC; cromatógrafo Shimadzu, modelo SPD-10A VP), utilizando-se coluna de fase reversa (fase móvel de ácido orto-fosfórico em água, 10 mL/L) e detector ultravioleta em comprimento de onda de 210 nm. As concentrações de NAR e AGV e os valores de pH ruminal obtidos nos diferentes tempos de amostragem foram combinadas por animal e período dentro de cada dia de coleta, produzindo-se, ao final, valores médios representativos de cada dia do ciclo de suplementação.

No 25º e 27º dias foram realizados esvaziamentos ruminais para quantificação da massa residente de fibra no rúmen e das taxas de consumo, degradação e passagem do material fibroso. No 25º dia, o conteúdo ruminal foi retirado às 12h00 (6 horas após a alimentação matinal) e no 27º dia, às 6h00 (antes da alimentação matinal). O material coletado foi acondicionado em recipiente de polietileno e pesado. Após homogeneização, uma alíquota de

aproximadamente 50 g/kg do material foi retirada, sendo o material restante retornado ao rúmen dos animais. O processamento e composição das amostras seguiu o que foi descrito para as amostras fecais. Devido ao estresse causado pelo esvaziamento, este procedimento não seguiu o cronograma relacionado ao ciclo de suplementação.

As amostras de feno, sobras e suplemento foram moídas como previamente descrito. Posteriormente, as amostras de alimentos, sobras, digesta, conteúdo ruminal e fezes, processadas a 1 mm foram analisadas quanto as teores de MS (secagem a 105°C/16 horas; método INCT-CA G003/1), cinzas (combustão em mufla a 600°C; método INCT-CA M001/1) e PB (procedimento de Kjeldahl; método INCT-CA N-001/1) segundo os métodos padronizados pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT-CA; Detmann et al., 2012). As concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) foram avaliadas segundo Mertens (2002) com o uso de α -amilase termoestável e omitindo-se o uso de sulfito de sódio. Os teores de FDN foram expressos com correção para proteína e cinzas contaminantes (FDN_{cp}). Nas amostras processadas a 2 mm procedeu-se à quantificação da concentração de FDN_i utilizando-se sacos F57 (Ankom®), em procedimento de incubação *in situ* por 288 horas, conforme recomendado por Valente et al. (2011). A FDN potencialmente degradável (FDN_{pd}) foi estimada como a diferença entre a FDN_{cp} e a FDN_i.

As amostras de digesta abomasal (fases líquida e sólida) foram também avaliadas quanto à sua concentração de cobalto por intermédio de espectrofotometria de absorção atômica (espectrofotômetro GBC Avanta Σ , Scientific Equipment, Braeside, Victoria, Austrália), após digestão nitro perclórica das amostras (Palma et al., 2015).

O fluxo abomasal de MS foi estimado utilizando a FDN_i como indicador da fase sólida e o Co-EDTA como indicador de fase líquida. Para este procedimento, pressupôs-se que a FDN_i constituiu indicador ideal, estando, portanto, concentrada apenas na fase sólida, ao passo que o Co-EDTA foi considerado indicador não ideal, concentrando-se na fase líquida, mas podendo

ser parcialmente deslocado para a fase sólida. Os fatores de reconstituição da digesta foram obtidos segundo France e Siddons (1986). As taxas de ingestão e passagem ruminal da FDN, FDN_{pd} e FDN_i foram estimadas pela razão entre a ingestão e fluxo abomasal e a massa ruminal, respectivamente. A taxa de degradação da FDN_{pd} foi obtida pela diferença entre as taxas de ingestão e passagem (Allen e Linton, 2007).

As amostras de bactérias associadas às fases líquida (BAL) e sólida/partículas (BAP), ambas oriundas do isolamento na digesta abomasal, foram avaliadas quanto aos teores de N (método INCT- CA N-001/1; Detmann et al., 2012) e bases púricas (Ushida et al., 1985). As bases púricas foram utilizadas como indicador para avaliação da concentração microbiana na digesta abomasal, tomando-se como base a relação $N_{RNA}:N_{total}$ nas bactérias isoladas em cada fase. A síntese ruminal de compostos nitrogenados microbianos foi quantificada por intermédio do produto entre concentração e fluxo diário de digesta abomasal.

As estimativas do balanço aparente de compostos nitrogenados foram obtidas pela subtração das excreções fecais e urinárias do consumo de N. Para este cálculo, considerou-se a média de excreção urinária de N nos quatro dias de avaliação.

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

$$CNUF = \frac{EUC}{CSC} \times NUS \quad (1);$$

$$EFNU = \frac{EUNU}{CNUF} \quad (2);$$

em que: CNUF, carga de N ureico filtrada pelos rins (g/dia); EUC, excreção urinária de creatinina (g/dia); CSC, concentração sanguínea de creatinina (g/dL); NUS, concentração de N ureico no soro (g/dL); EFNU, excreção fracional de N ureico (g/g), e EUNU: excreção urinária de N ureico (g/dia).

As variáveis mensuradas foram analisadas por meio de análise de variância (ANOVA), utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.4), segundo o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + \varepsilon_{ijk} \quad (3);$$

em que: Y_{ijk} : variável resposta mensurada no animal i , no período j e no tratamento k ; μ : constante geral; A_i : efeito do animal i (aleatório); P_j : efeito do período j (aleatório); T_k : efeito do tratamento k (fixo); ε_{ijk} : erro aleatório não observável, pressuposto NID ($0; \sigma^2_\varepsilon$).

Devido ao caráter quantitativo dos tratamentos aplicados (S12, S24, S48 e S96), realizou-se decomposição parcial das somas de quadrados de tratamentos em contrastes relativos aos efeitos de ordem linear, quadrática e cúbica em função dos intervalos entre suplementações, utilizando-se coeficientes calculados por intermédio do procedimento IML do SAS. Para assegurar a ortogonalidade do processo de comparação entre tratamentos, um contraste adicional foi construído para comparação entre os grupos controle e suplementado.

Para o caso de variáveis tomadas nas mesmas unidades experimentais em tempos distintos, o modelo foi reparametrizado adicionando-se os efeitos de tempo e interação entre tempo e tratamento, em esquema de medidas repetidas. A mais adequada estrutura de (co)variâncias da matriz R foi selecionada utilizando-se o menor valor do critério de Informação de Akaike corrigido (Littel et al., 2006). Os graus de liberdade do denominador para os testes sobre os efeitos fixos foram calculados utilizando-se método de Kenward-Roger. Foi utilizado 0,05 como nível crítico de probabilidade para ocorrência do erro tipo I.

Para as variáveis em que a interação tempo e tratamento foi significativa, utilizou-se o comando *slice* do PROC MIXED para investigar as diferenças entre dias do ciclo de suplementação dentro de cada tratamento, sendo utilizada a diferença mínima significativa (DMS) de Fisher como teste de comparação múltipla.

RESULTADOS

Em geral, observou-se efeito positivo ($P < 0,01$) da suplementação sobre o consumo voluntário, independentemente da forma de mensuração (i.e., em kg ou g/kg de peso corporal; Tabela 2). Por outro lado, entre os tratamentos suplementados não se observou efeito da frequência de suplementação ($P \geq 0,07$) sobre o consumo de PB (kg/dia), a relação entre PB e matéria orgânica digerida (MOD) e o consumo de MS (g/kg de peso corporal). Em contrapartida, para as demais variáveis relacionadas ao consumo voluntário, verificou-se efeito linear decrescente ($P < 0,04$) à medida que os intervalos entre suplementações aumentaram.

Nenhum efeito foi detectado sobre a digestão intestinal ($P \geq 0,16$; Tabela 3). O fornecimento de suplementos ampliou, em média as digestões ruminais da MO e da PB ($P < 0,01$), embora não tenha afetado ($P > 0,18$) a digestibilidade ruminal da FDN_{cp}. Não foram verificados efeitos ($P \geq 0,09$) da frequência de suplementação sobre a digestão ruminal. Como reflexo direto dos efeitos sobre o rúmen, o fornecimento de suplementos ampliou ($P < 0,02$) a digestibilidade total da MO e da PB e concentração dietética de MOD, sem contudo afetar a digestibilidade da fibra ($P > 0,32$). Não foram verificados efeitos ($P \geq 0,09$) das diferentes frequências de suplementação sobre a digestibilidade total.

Em média, a suplementação não afetou ($P \geq 0,28$) a massa residente de fibra no rúmen (Tabela 4). Contudo, o aumento do intervalo entre suplementações reduziu linearmente ($P < 0,03$) o pool ruminal de FDN_{cp} e FDN_i, sem contudo afetar o pool de FDN_{pd} ($P \geq 0,33$). Adicionalmente, o fornecimento de suplementos ampliou ($P < 0,02$), em média, as taxas de ingestão da FDN, FDN_{pd}, a taxa de degradação da FDN_{pd} e a taxa de passagem da FDN_i, embora não tenha afetado ($P > 0,29$) a taxa de passagem da FDN_{pd}. Nenhuma diferença sobre a dinâmica da fibra foi observada ($P \geq 0,09$) entre as diferentes frequências de suplementação.

O consumo de N comportou-se como previamente descrito para o consumo de PB (Tabela 5). O fornecimento de suplementos elevou ($P < 0,02$), em média, a excreção fecal de N,

o balanço de N no corpo (BN) e no rúmen (BNR), a eficiência de uso do N (EFUN) e a produção de N microbiano no rúmen (NMIC). Salienta-se que a oferta de suplementos foi capaz de tornar positivos os valores negativos de BN, EFUN e BNR observados no controle. Entre as variáveis mostradas na Tabela 5, apenas o BNR ($P < 0,02$) e NMIC ($P < 0,04$) foram afetados pela frequências de suplementação, ambas de forma quadrática. Para o caso de NMIC, o efeito quadrático se atribuiu principalmente à queda proeminente observada com a suplementação a cada 96 horas. Para o caso, de BNR, houve pequeno decréscimo para a suplementação a cada 48 horas, embora as diferenças entre tratamentos suplementados tenha sido de pouca amplitude. Nenhum efeito foi observado ($P \geq 0,27$) sobre a eficiência de síntese de proteína microbiana no rúmen, cujo valor médio foi de 105,5 g PB microbiana/kg MOD.

Verificou-se interação entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação para as concentrações de NAR ($P < 0,01$; Tabela 6). De forma geral, a suplementação ampliou as concentrações de NAR ($P < 0,01$) em relação ao controle. O desdobramento da interação (Figura 1) indicou variações entre dias ($P < 0,01$) somente quando a suplementação ocorreu a cada 48 ou 96 horas. Para a suplementação a cada 48 horas, as concentrações de NAR foram mais elevadas ($P < 0,05$) nos dias de fornecimento dos suplementos (dias 1 e 3). Para a suplementação a cada 96 horas, verificou-se pico ($P < 0,05$) de concentração de NAR no dia do fornecimento do suplemento (dia 1), a qual se reduziu ($P < 0,05$) gradativamente até o dia 3, permanecendo estável ($P > 0,05$).

De forma similar à concentração de NAR, observou-se interação ($P < 0,01$) entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação para o pH ruminal (Tabela 6), no qual variações entre dias foram verificadas ($P < 0,03$) somente para a suplementação ofertada a cada 48 ou 96 horas. Para a suplementação a cada 48 horas, o pH ruminal mostrou-se inferior ($P < 0,05$) nos dias em que o suplemento foi ofertado (dias 1 e 3). Quando a suplementação ocorreu a cada 96

horas, o pH foi mínimo ($P < 0,05$) para o dia da suplementação (dia 1), elevando-se e não diferindo ($P > 0,05$) nos demais dias do ciclo de suplementação.

Não se observou efeito de interação entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação para as concentrações ruminais de AGV, para as proporções molares de acetato, propionato e butirato e para a relação acetato:propionato (A:P) ($P \geq 0,23$; Tabela 6). Em geral, o fornecimento de suplementos apenas reduziu ($P < 0,04$) a proporção molar de propionato. Adicionalmente, a concentração ruminal de AGV ($P < 0,04$), a proporção molar de propionato ($P < 0,01$) e a relação A:P ($P < 0,03$) apresentaram redução linear à medida que aumentaram os intervalos entre suplementações.

Nenhum efeito foi detectado ($P \geq 0,07$) para as excreções urinárias absoluta e fracional de N ureico (Tabela 7). A excreção urinária de N foi, em média, superior ($P < 0,01$) com o fornecimento de suplementos. Contudo, efeito de interação entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação foi verificada ($P < 0,01$). Somente verificou-se variação entre dias para a suplementação a cada 96 horas ($P < 0,01$). Neste caso, a excreção apresentou pico ($P < 0,05$) no dia após a suplementação (dia 2), reduzindo-se aos menores valores nos dias 3 e 4 do ciclo de suplementação (Figura 3). A concentração de NUS apresentou comportamento análogo à excreção urinária de N (Figura 4).

A excreção urinária de N amoniacal apresentou interação ($P < 0,01$) entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação. Apesar da similaridade média entre controle e suplementos ($P > 0,99$), a excreção urinária de N amoniacal variou ($P < 0,01$) entre dias do ciclo de suplementação quando o suplemento foi ofertado a cada 96 horas (Figura 5). Nesse caso maiores excreções ($P < 0,05$) foram verificadas nos dois primeiros dias do ciclo de suplementação, havendo redução no terceiro dia e elevação a valor intermediário no quarto dia do ciclo. A carga de N ureico filtrada pelos rins foi elevada ($P < 0,01$), em média, pelo fornecimento de suplementos, havendo ainda interação ($P < 0,01$) entre tratamentos e dias do

ciclo de suplementação (Tabela 7). Variações entre dias foram verificadas ($P < 0,01$) quando a suplementação foi oferecida em intervalos de 48 ou 96 horas (Figura 6). Para o oferecimento de suplemento a cada 48 horas, o pico de N ureico filtrado nos rins ocorreu ($P < 0,05$) para os dias 2 e 3 do ciclo de suplementação. Por outro lado, com a oferta de suplementos a cada 96 horas, esse pico ocorreu ($P < 0,05$) nos dias 1 e 2 do ciclo de suplementação.

Nenhuma das variáveis sanguíneas apresentadas na Tabela 8 apresentou interação ($P \geq 0,16$) entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação. Em média, o fornecimento de suplementos elevou ($P < 0,01$) a concentração sanguínea de IGF1 e a atividade de ALT em comparação ao controle. Adicionalmente, a variação entre intervalos de fornecimento dos suplementos apenas afetou a atividade sanguínea de ALT, a qual decresceu de forma linear ($P < 0,01$) à medida que os intervalos se ampliaram. Nenhum efeito foi observado ($P \geq 0,16$) sobre as concentrações sanguíneas de glicose, albumina, globulinas e proteínas totais ou sobre a atividade sanguínea de AST e GGT.

DISCUSSÃO

Independente das estratégias de fornecimento de suplemento aqui avaliadas, verificou-se que a suplementação proteica foi capaz de impactar positivamente o consumo voluntário de forragem. De forma geral, pode-se associar os efeitos positivos da suplementação sobre o consumo de forragens tropicais de baixa qualidade a dois principais aspectos: correção de deficiências primárias de compostos nitrogenados no rúmen e adequação dos nutrientes disponíveis para absorção e metabolismo (Detmann et al., 2014b).

Tendo em vista as características químicas da forragem utilizada neste trabalho, o teor médio de PB (52,9 g/kg de MS) situou-se abaixo do mínimo necessário para maximizar o crescimento microbiano sobre os carboidratos fibrosos (70-80g de PB/kg de MS; Sampaio et al., 2010; Detmann et al., 2014a), o que compromete diretamente o consumo voluntário de forragem (Detmann et al., 2010; 2014a).

Portanto, em primeira instância, pode-se afirmar que a suplementação foi capaz de reduzir a deficiência primária de nitrogênio no rúmen, aumentando a disponibilidade deste elemento como precursor para síntese de enzimas fibrolíticas (Detmann et al., 2014a). Como consequência, a maior disponibilidade de enzimas fibrolíticas permite incremento na digestão da fibra, elevação no consumo de forragem e impacta positivamente a extração de energia da fibra por parte dos microrganismos e pelo animal (Detmann et al., 2009).

Embora efeitos diretos sobre os coeficientes de digestibilidade da fibra não tenham sido observados, evidências aqui obtidas permitem inferir sua ocorrência com o uso de suplementos. A digestão ruminal da fibra é dependente da intensidade de ação microbiana sobre o substrato e do tempo disponível para que essa ação ocorra. Assim, a expressão de seu coeficiente de digestibilidade dependerá diretamente da dinâmica de degradação ruminal e dos impactos sobre o consumo voluntário. O fornecimento de suplementos impactou diretamente sobre as taxas de degradação e passagem dos compostos fibrosos. Como ambos são

componentes do efeito de repleção ruminal da fibra (Waldo et al., 1972), sua ampliação implica em redução da repleção e aumento do turnover ruminal da fibra. Com o menor tempo de permanência da fibra no rúmen, dois efeitos são verificados: menor tempo disponível para ação enzimática e maior consumo de componentes fibrosos em dietas predominantemente formadas por forragens.

Dessa forma, há um contrabalanceamento entre digestão e passagem, impedindo a verificação de alterações no coeficiente de digestibilidade ruminal da fibra. Contudo, houve aumento no consumo de fibra digerida, o que representa uma medida integradora entre digestão e passagem (Sampaio et al., 2010). Logo, o aumento no consumo de fibra digerida evidencia os efeitos positivos da suplementação em relação ao crescimento microbiano sobre a fibra. Diretamente, torna-se importante ressaltar o efeito positivo da suplementação sobre NMIC.

Por outro lado, salientamos que a redução linear no pool ruminal de fibra na medida em que se ampliou os intervalos de suplementação constitui um efeito não esperado. Possivelmente, isso constitui uma limitação metodológica em relação aos tratamentos aqui aplicados. Devido ao estresse causado pelo processo de esvaziamento, as coletas não compreenderam os quatro dias do ciclo de suplementação (foram realizadas nos dias 1 e 3 do ciclo), o que pode ter causado algum viés sobre as estimativas obtidas.

Adicionalmente, no que diz respeito aos efeitos pós-digestivos da suplementação, a relação PB:MOD tem sido apontada como um dos principais indicadores de adequação metabólica do animal. Adequações nessa relação via suplementos podem impactar positivamente o consumo voluntário (Poppi e McLennan, 1995; Detmann et al., 2014b), uma vez que representa indicador da relação entre proteína e energia metabolizáveis. Reis et al. (2016) postularam que a máxima ingestão de forragem seria observada com relação PB:MOD de 220 g/kg. Neste sentido, salienta-se que a suplementação, em média, foi capaz de incrementar a relação PB:MOD, com potencial efeito benéfico sobre o consumo de forragem.

Portanto, tanto a redução das deficiências primárias de compostos nitrogenados, quanto a maior adequação da relação proteína:energia propiciada pela suplementação, parecem ser responsáveis pelo incremento de consumo observado.

Por outro lado, em se tratando das frequências de suplementação, em geral, verificou-se redução linear do consumo voluntário à medida que se ampliou os intervalos de fornecimento do suplemento. Contudo, de forma pragmática, em média, percebe-se que a suplementação a cada 12 ou 24 horas conferiram consumos de forragem muito próximos. Reduções proeminentes no consumo voluntário foram efetivamente observadas para os intervalos de 48 e, principalmente, 96 horas.

Em situações de suplementação proteica infrequente, é comum se observar redução proeminente no CMSF no dia da suplementação (Drewnoski e Poore, 2012; Palma, 2018; Reis, et al., 2020; Rufino et al., 2020). Particularmente para a suplementação a cada 96 horas, verificou-se pico de amônia de 23,5 mg/dL ocorrido no dia da suplementação. Para o caso de forragens de baixa qualidade, excessos de amônia ruminal, normalmente acima de 15 mg/dL, são associados a reduções no trânsito e no consumo de componentes fibrosos (Detmann et al., 2009; 2014a; Palma, 2018). Uma vez em excesso, a amônia pode reduzir o consumo devido a potenciais deficiências de ATP hepático causada por utilização excessiva no ciclo da ureia (Visek, 1984), elevação da produção de calor corporal (Poppi e McLennan, 1995) e desconfortos em virtude do excesso de amônia no sangue e interior das células (Detmann et al., 2007).

A noção dos efeitos de uma alta carga de amônia pode ser suportada pelo comportamento paralelo da concentração de NUS. Quando é necessária detoxificação de altas quantidades de amônia, a capacidade de síntese de ureia do fígado pode sofrer sobrecarga e parte da amônia ser captada nos hepatócitos perivenosos na forma de glutamina, potencialmente causando um “atraso” ao longo do tempo na síntese de ureia (Allen et al., 2009). Segundo

Cappellozza et al. (2015), o “atraso” na redução da síntese de ureia também pode ser resultado de mecanismo fisiológico no qual há retardo na expressão de enzimas associadas ao ciclo da ornitina. Desta forma, as concentrações de NUS em animais suplementados de forma infrequente constantemente apresentam pico um dia após a suplementação (Krehbiel et al., 1998; Palma, 2018; Reis, et al., 2020; Rufino et al., 2020), conforme pôde ser observado para a suplementação a cada 96 horas.

Por outro lado, o fornecimento de maiores quantidades de concentrado com a suplementação a cada 48 ou 96 horas pode afetar negativamente o ambiente ruminal, o que é suportado, em primeira instância, pela queda acentuada no pH ruminal verificada nos dias de suplementação. Em animais suplementados infreqüentemente, o fornecimento de grandes quantidades de amido leva à redução da taxa de degradação dos componentes fibrosos no dia da suplementação. Reis et al. (2020) evidenciaram esse efeito com a redução nos dias de suplementação e elevação da taxa de degradação da fibra nos dias em que o suplemento não foi fornecido, o que garantiu um efeito médio ao longo dos dias de suplementação similar entre frequências, como observado neste estudo.

Contudo, o impacto imediato da redução pode elevar o efeito de repleção ruminal da fibra nos dias de fornecimento dos suplementos, contribuindo para a redução média no consumo voluntário de forragem. Esse efeito se baseia no fato de o aumento excessivo de amido no rúmen poder incrementar efeitos amensais negativos entre espécies fibrolíticas e não-fibrolíticas que competem por substratos. Essa competição tende a favorecer as espécies não fibrolíticas, que apresentam maiores taxa de crescimento e capacidade competitiva em comparação às espécies fibrolíticas (Carvalho et al., 2011).

Adicionalmente, o fornecimento de maiores quantidades de concentrados, como com a suplementação a cada 48 e 96 horas, pode ampliar as reações de oxidação hepática, causando acúmulo de produtos finais da oxidação, como ATP. O acúmulo hepático de produtos com

ligações fosfato de alta energia desencadeia estímulos nervosos ao cérebro que determinam a redução da atividade de alimentação (Allen et al., 2009). Assim, considerando que o controle do consumo possui natureza multifatorial, no qual o animal direciona suas atividades em função da minimização de desconforto (Forbes, 2003), a integração dos fatores aqui demonstrados parece justificar a redução do consumo voluntário, notadamente nos animais suplementados nas menores frequências avaliadas.

De forma geral, os efeitos da suplementação sobre os coeficientes de digestibilidade se concentraram sobre a digestão da MO no rúmen, devido especificamente ao fornecimento de suplemento proteico. Como consequência, o fornecimento de suplementos incrementou a digestibilidade ruminal e total da PB, sem contudo afetar a digestibilidade intestinal. Salienta-se que para o controle, o coeficiente de digestibilidade ruminal da PB foi negativo, indicando alta participação relativa do N reciclado para manutenção do equilíbrio deste compartimento quanto à disponibilidade de compostos nitrogenados (Detmann et al., 2017). A suplementação permitiu acrescentar N dietético, reduzir a participação relativa do N reciclado no ambiente ruminal e ampliar o coeficiente de digestibilidade ruminal da PB (Batista et al., 2017; Palma, 2018). Adicionalmente, com a maior disponibilidade dietética de N, o coeficiente de digestibilidade aparente da PB pôde ser ampliado devido à diluição causada na fração metabólica fecal (Van Soest, 1994).

Além da ampliação do consumo e aspectos relacionados à digestão, neste trabalho foi possível verificar ampliação do BN e EFUN com a suplementação. De forma geral, estes efeitos estão associados ao aumento no *status* de N no organismo animal (Egan, 1965; Rufino et al., 2020). O *status* de N pode ser definido como a disponibilidade quantitativa e qualitativa de compostos nitrogenados para as diferentes funções fisiológicas do metabolismo animal, incluindo funções associadas ao metabolismo de outros compostos (i.e., energia; Franco et al., 2017; Rufino et al., 2020). Para tanto, o N disponível para o metabolismo animal deve ser

utilizado em várias funções metabólicas, com a seguinte ordem de prioridade: sobrevivência (e.g., reciclagem de N), manutenção e produção (e.g., crescimento, reprodução, etc.). Portanto, o aumento sobre o BN e EFUN observado com a suplementação é reflexo da ampliação da disponibilidade de N para o crescimento animal e redução proporcional deste elemento utilizada para atender funções de sobrevivência ou manutenção (Detmann et al., 2014a; Franco et al., 2017; Rufino et al., 2020).

Reiterando os efeitos anabólicos positivos da suplementação, verificou-se aumento das concentrações sanguíneas de IGF1 com o fornecimento de suplementos. O IGF1 atua como regulador endócrino do crescimento muscular (Pell e Bates, 1990) e tende a responder positivamente a incrementos nos níveis de proteína suplementar (Drewnoski et al., 2014; Franco et al., 2017). Embora Drewnoski et al. (2014) e Palma (2018) tenham verificado incremento nos níveis séricos de glicose com a suplementação, estes não sofreram alteração neste trabalho.

De forma complementar ao apontado anteriormente, percebe-se que o BNR foi incrementado em decorrência da suplementação. Valores negativos de BNR, como observado para o controle, indicam que o fluxo de N para o abomaso foi superior à ingestão. Isto pode ocorrer em virtude de maior dependência de N reciclado para manter as condições ruminais (Detmann et al., 2014b). Por outro lado, o BNR está associado positivamente à maior disponibilidade de PB dietética, o que reflete sobre as concentrações de NAR (Detmann et al., 2014b). Assim, devido ao incremento do consumo de PB e conseqüente elevação nas concentrações médias de NAR, verifica-se que a suplementação foi capaz de reduzir a dependência relativa do ambiente ruminal por N reciclado.

A despeito da não diferença para a EFUN, verificou-se tendência linear ($P=0,06$) de redução do BN na medida que os intervalos entre suplementações se ampliaram, sendo essa redução evidente para suplementações a cada 48 ou 96 horas (Tabela 5). Efeito similar de redução no BN com maiores intervalos entre as suplementações foi observado por Silva-

Marques et al. (2018). A queda no BN e EFUN podem ser integradas às alterações na carga de N filtrada pelos rins e pela excreção urinária de N, notadamente para a suplementação a cada 96 horas. Estes resultados reforçam a hipótese de que a suplementação infrequente impacta negativamente o BN e a EFUN devido ao incremento das perdas urinárias de N (Farmer et al., 2004a; Farmer et al., 2004b), notadamente à medida que o intervalo entre as suplementações ultrapassa dois dias.

Em relação à produção de compostos nitrogenados microbianos (NMIC), observou-se efeito positivo da suplementação e efeito quadrático para suplementação infrequente (Tabela 5). O efeito geral da suplementação assume caráter lógico uma vez que o suprimento adicional de N ao ambiente ruminal corrigiu uma deficiência global por compostos nitrogenados na forragem basal. Assim, a adição de N suplementar na dieta resultou em maior disponibilidade deste elemento e de MOD para o crescimento microbiano no rúmen (Detmann et al., 2014b; Rufino et al., 2020).

Em contrapartida, o efeito quadrático observado no NMIC pode ser atribuído à queda drástica na produção microbiana com a suplementação a cada 96 horas, uma vez que os valores foram relativamente constantes entre as demais frequências. Essa queda parece estar associada ao desequilíbrio ruminal ligado a esse esquema de suplementação. Em primeiro lugar, houve queda acentuada do pH ruminal no primeiro dia do ciclo de suplementação, o qual pode comprometer o desenvolvimento microbiano. Em segundo lugar, a queda de pH tende a reduzir a permeabilidade da mucosa ruminal à amônia (Abdoun et al., 2007) e aumentar o transporte de ureia a partir da corrente sanguínea (Lu et al., 2014) causando acúmulo de amônia concomitante à suplementação, como verificado neste estudo. Esse acúmulo de NAR no dia da suplementação pode ter afetado negativamente o crescimento microbiano. Por outro lado, o excesso de NAR foi levado até o fígado para ser metabolizado a ureia, implicando na maior concentração de NUS no dia posterior a suplementação, e sendo excretado via urina (maior

EUN um dia após a suplementação). Com isso, as concentrações de NAR nos dias 3 e 4 do ciclo de suplementação não se sustentaram em patamares adequados ao crescimento microbiano fibrolítico (Detmann et al., 2009). Evidência adicional é dada pelo aumento na excreção de N amoniacal com a suplementação a cada 96 horas, a qual funciona como indicativo de sobrecarga hepática, evidenciando deficiência na realização do ciclo da ureia (Palma, 2018). Em suma, embora a reciclagem de N seja o mecanismo fisiológico primário que justifique a utilização da suplementação infrequente (Lapierre e Lobley, 2001; Reynolds e Kristensen, 2008), esta não se mostrou efetiva a ponto de manter o ambiente ruminal propício ao crescimento microbiano na medida em que o intervalo entre suplementações se tornou excessivo, representado aqui pela suplementação a cada 96 horas. O menor crescimento microbiano pode levar à redução no suprimento de proteína metabolizável, comprometendo a deposição de proteína no organismo animal.

A partir dos resultados aqui encontrados, pode-se afirmar que a suplementação infrequente não compromete em si a digestão e o metabolismo de N. Os incrementos verificados no BN e EFUN nos dão indícios de que a performance animal (i.e., ganho de peso diário) não seria afetada com a suplementação infrequente, desde que intervalos muito amplos entre suplementações não sejam utilizados. Isso corrobora diversos resultados na literatura, nos quais o desempenho animal não é afetado pela frequência de suplementação (McIlvan e Shoop, 1962; Bohnert et al., 2002a; Atkinson et al., 2009; Benatti et al., 2012; Drewnoski e Poore, 2012; Morais et al., 2014). No entanto, neste trabalho pôde-se verificar que à medida que o intervalo entre as suplementações se tornou demasiadamente longo, a intensidade dos benefícios observada com a mesma se reduziu. Dentre outros fatores, isto é decorrente do fato de que a quantidade de suplemento fornecida no dia da suplementação é cada vez maior à medida que o intervalo entre as suplementações é ampliado. Animais recebendo altos aportes de N, independente se este é fornecido diretamente no rúmen (Palma, 2018; Reis et al., 2020; Rufino

et al., 2020) ou em comedouros, como realizado aqui, podem apresentar redução no consumo de forragem, sobrecarga hepática e/ou comprometimento do crescimento microbiano por desequilíbrio ruminal. Em linhas gerais, redução no consumo de forragem impõe redução do *input* energético ao metabolismo animal, sobrecargas hepáticas de amônia levam a maiores concentrações de NUS (Cappelozza et al., 2015) e redução no suprimento de proteína metabolizável de origem microbiana. A redução do *input* energético causa restrição direta no ganho de peso e maiores concentrações de NUS estão associadas à perdas reprodutivas devido à alterações no pH uterino (Cappelozza et al., 2015).

Portanto, mesmo diante das vantagens operacionais e de redução de custos associada à suplementação infrequente (Paula et al., 2010; Cappelozza et al., 2013), a decisão pela adoção deste tipo de estratégia deve estar alinhada com possíveis alterações das metas de produção (e.g., ganho de peso diário, peso à primeira cobertura, idade ao primeiro parto, etc.) haja vista que efeitos deletérios sobre a performance produtiva e reprodutiva podem ser observadas, sobretudo à medida que o intervalo entre as suplementações ultrapassar dois dias.

CONCLUSÃO

A suplementação infrequente não compromete o desempenho nutricional de bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade, desde que intervalos entre suplementações superiores a dois dias não sejam utilizados. No entanto, à medida que os intervalos entre as suplementações são ampliados e as doses de suplementos fornecidas nos dias da suplementação aumentam, a intensidade dos benefícios sobre o metabolismo animal reduzem, devido ao excesso de N a ser metabolizado, à redução no consumo de forragem e ao comprometimento do crescimento microbiano devido aos desequilíbrios ruminais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOUN, K.; STUMPF, F.; MARTENS, H. Ammonia and urea transport across the rumen epithelium: a review. **Animal Health Research Reviews**, v.7, p.43-59, 2007.
- ALLEN, M.S.; LINTON J.A.V. In vivo methods to measure digestibility and digestion kinetics of feed fractions in the rumen. In: Proceedings of the 1st Simpósio Internacional Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes. **Anais...** Pirassununga: Universidade de São Paulo, 2007. p.72-89.
- ALLEN, M.S.; BRADFORD, B.J.; OBA, M. The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, v.87, p.3317-3334, 2009.
- ALLEN, M.S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3063-3075, 1996.
- ATKINSON, R.L.; TOONE, C.D.; ROBINSON, T.J.; HARMON, D.L.; LUDDEN, P.A. Effects of ruminal protein degradability and frequency of supplementation on nitrogen retention, apparent digestibility, and nutrient flux across visceral tissues in lambs fed low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.88, p.727-736, 2009.
- BATISTA, E.D.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; TITGEMEYER, E.C.; VALADARES, R.F.D. The effect of CP concentration in the diet on urea kinetics and microbial usage of recycled urea in cattle: a meta-analysis. **Animal**, v.11, p.1303-1311, 2017.
- BENATTI, J.M.B.; MORAES, E.H.B.K.; ZERVOUDAKIS, J.T.; ARAÚJO, C.V.; CABRAL, L.S.; RUFINO JUNIOR, J.; CARVALHO, D. Fornecimento de grão de milho, inteiro ou triturado, em duas frequências de suplementação para bovinos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.41, p.941-950, 2012.

BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J.; DeLCURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: Cow performance and efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1629-1637, 2002a.

BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J.; DeLCURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: II. Ruminal fermentation characteristics. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2978-2988, 2002b.

CAPPELLOZZA, B.I.; BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J.; VAZANT, E.S.; HARMON, D.L.; COOKE, R.F. Daily and alternate day supplementation of urea or soybean meal to ruminants consuming low-quality cool-season forage: II. Effects on ruminal fermentation. **Livestock Science**, v.15, p.214-222, 2013.

CAPPELLOZZA, B.I.; COOKE, R.F.; REIS, M.M.; MARQUES, R.S.; GUARNIERI FILHO, T.A.; PERRY, G.A.; JUMP, D.B.; LYTLE, K.A.; BOHNERT, D.W. Effects of protein supplementation frequency on physiological responses associated with reproduction in beef cows. **Journal of Animal Science**, v.93, p.386-394, 2015.

CARVALHO, I.P.C.; DETMANN, E.; MANTOVANI, H.C.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; COSTA, V.A.C.; GOMES, D.I. Growth and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from rumen fluid according to energy or nitrogen source. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.40, p.1260-1265, 2011.

DETMANN, E.; PAULINO, M.P.; VALADARES FILHO, S.C.; LANA, R.P. Fatores controladores de consumo em suplementos múltiplos fornecidos ad libitum para bovinos manejados a pasto. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, v.55, p.73-93, 2007.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MANTOVANI, H.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SAMPAIO, C.B.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; DETMANN, K.S.C. Parameterization of

ruminal fibre degradation in lowquality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics.

Livestock Science, v.126, p.136-146, 2009.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Otimização do uso de recursos forrageiros basais. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, 2010, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: DZO-UFV, 2010. p.191-240.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. (Eds.) **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; HUHTANEN, P. Nutritional aspects applied to grazing cattle in the tropics: a review based on Brazilian results. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, p.2829-2854, 2014a.

DETMANN, E.; VALENTE, E.E.L.; BATISTA, E.D.; HUHTANEN, P. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, v.162, p.141-153, 2014b.

DETMANN, E.; BATISTA, E.D.; SILVA, T.E.; REIS, W.L.S.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Nutrição de bovinos de corte sob sistema de pastejo com foco na eficiência de utilização de nitrogênio. In: SIMPOSIO DE PECUARIA DE CORTE, 10, 2017. **Anais...** Lavras: SIMPEC, 2017. p.43-72.

DREWNOSKI, M.E.; POORE, M.H. Effects of supplementation frequency on ruminal fermentation and digestion by steers fed medium-quality hay and supplemented with a soybean hull and corn gluten feed blend. **Journal of Animal Science**, v.90, p.881-891, 2012.

DREWNOSKI, M.E.; HUNTINGTON, G.B.; POORE, M.H. Reduced supplementation frequency increased insulin-like growth factor 1 in beef steers fed medium quality hay and supplemented with a soybean hull and corn gluten feed blend. **Journal of Animal Science**, v.92, p.2546-2553, 2014.

EGAN, A.R. The fate and effects of duodenally infused casein and urea nitrogen in sheep fed on a low-protein roughage. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.16, p.169-177, 1965.

FARMER, C.G.; COCHRAN, R.C.; NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C.; JOHNSON, D.E.; WICKERSHAM, T.A. Ruminant and host adaptations to changes in frequency of protein supplementation. **Journal of Animal Science**, v.82, p.895-903, 2004a.

FARMER, C.G.; WOODS, B.C.; COCHRAN, R.C.; HELDT, J.S.; MATHIS, C.P.; OLSON, K.C.; TITGEMEYER, E.C.; WICKERSHAM, T.A. Effect of supplementation frequency and supplemental urea level on dormant tallgrass-prairie hay intake and digestion by beef steers and prepartum performance of beef cows grazing dormant tallgrassprairie. **Journal of Animal Science**, v.82, p.884-894, 2004b.

FORBES, J.M. The multifactorial nature of food intake control. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.81, p.E139-E144, 2003.

FRANCE, J.; SIDDON, R.C. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. **Journal of Theoretical Biology**, v.121, p.105-120, 1986.

FRANCO, M.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; BATISTA, E.D.; RUFINO, L.M.A.; BARBOSA, M.M.; LOPES, A.R. Intake, digestibility, and rumen and metabolic characteristics of cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and different levels of starch. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.30, p.797-803, 2017.

HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2755-2766, 1986.

KREHBIEL, C.R.; FERRELL, C.L.; FREETLY, H.C. Effects of frequency of supplementation on dry matter intake and net portal and hepatic flux of nutrients in mature ewes that consume low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2464-2473, 1998.

LAPIERRE, H.; LOBLEY, G.E. Nitrogen recycling in the ruminant: a review. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.223-236, 2001.

LU, Z.; STUMPF, F.; DEINER, C.; ROSENDAHL, J.; BRAUN, H.; ABDOUN, K.; ASCHENBACH, J.R.; MARTENS, H. Modulation of sheep ruminal urea transport by ammonia and pH. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.307, p.R558-R570, 2014.

McILVAIN, E.H.; SHOOP, M.C. Daily versus every-third-day versus weekly feeding of cottonseed cake to beef steers on winter range. **Journal of Range Management**, p.143-146, 1962.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.

MORAIS, J.A.S.; QUEIROZ, M.F.S.; KELI, A.; VEGA, A.; FIORENTINI, G.; CANESIN, R. C.; REIS, R.A.; BERCHIELLI, T.T. Effect of supplementation frequency on intake, behavior and performance in beef steers grazing Marandu grass. **Animal Feed Science and Technology**, v.189, p.63-71, 2014.

LITTEL, R.C.; MILLIKEN, G.A.; STROUP, W.W.; WOLFINGER, R.D.; SCHABENBERGER, O. **SAS for mixed models**. 2 ed. Cary: SAS Institute, 2006. 814p.

PALMA, M.N.N.; ROCHA, G.C.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E. Evaluation of acid digestion procedures to estimate mineral contents in materials from animal trials. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.28, p.1624-1628, 2015.

PALMA, M.N.N. **Estratégias de suplementação energética para bovinos alimentados com forragem tropical recebendo suplementação proteica infrequente**. 2018. 65f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.

PAULA, N.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; CARVALHO, D.M.G.; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L.K.; MORAES, H.B.K.; OLIVEIRA, A.A. Frequência de suplementação e fontes de proteína para recria de bovinos em pastejo no período seco: desempenho produtivo e econômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.873-882, 2010.

PELL, J.M.; BATES, P.C. The nutritional regulation of growth hormone action. **Nutrition Research Reviews**, v.3, p.163-192, 1990.

POPPI, D.P.; McLENNAN, S.R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, p.278-290, 1995.

REECE, W.O. Função renal nos mamíferos. In: REECE, W.O. (Ed.) **Dukes: Fisiologia dos animais domésticos**. 12º Edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.67-96.

REIS, W.L.S.; DETMANN, E.; BATISTA, E.D.; RUFINO, L.M.A.; GOMES, D.I.; BENTO, C.B.P.; MANTOVANI, H.C.; VALADARES FILHO, S.C. Effects of ruminal and post-ruminal protein supplementation in cattle fed tropical forages on insoluble fiber degradation, activity of fibrolytic enzymes, and the ruminal microbial community profile. **Animal Feed Science and Technology**, v.218, p.1-16, 2016.

REIS, W.L.S.; PALMA, M.N.N.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. Investigation on daily or every three days supplementation with protein or protein and starch of cattle fed tropical forage. *Animal Feed Science and Technology*, 2020 (submetido)

REYNAL, S.M.; BRODERICK, G.A.; BEARZI, C. Comparison of four markers for quantifying microbial protein flow from the rumen of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.4065-4082, 2005.

REYNOLDS, C.K.; N.B. KRISTENSEN. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: An asynchronous symbiosis. **Journal of Animal Science**, v.86, p.293-305, 2008.

RUFINO, L.M.A.; BATISTA, E.D; RODRIGUES, J.P.P; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F.; COSTA e SILVA, L.F.; DETMANN, E. Effects of the amount and frequency of nitrogen supplementation on intake, digestion, and metabolism in cattle fed low-quality tropical grass. **Animal Feed Science And Technology**, v.260, p.114367, 2020.

SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; LAZZARINI, I.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; PAULINO, P.V.; QUEIROZ, A.C. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Tropical Animal Health and Production**, v.42, p.1471-1479, 2010.

SILVA-MARQUES, R.P.; ZERVOUDAQUIS, J.T.; De PAULA, N.F.; ZERVOUDAKIS, L.K.H.; ROSA e SILVA, P.I.J.; MATOS, N.B.N. Effects of proteic-energetic supplementation frequency on growth performance and nutritional characteristics of grazing beef cattle. **Tropical Animal Health and Production**, v.50, p.495-501, 2018.

USHIDA, K.; LASSALAS, B.; JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry: Influence of treatment and preservation. **Reproduction Nutrition Development**, v.25, p.1037-1046, 1985.

VALADARES FILHO, S.C.; COSTA E SILVA, L.F.; LOPES, S.A.; PRADOS L.F.; CHIZZOTTI, M.L.; MACHADO P.A.S.; BISSARO, L.Z.; FURTADO, T. **Nutritional requirements of Zebu and Crossbred cattle BR-CORTE**. 3 ed. Viçosa: DZO-UFV, 2016. 314p.

VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C.; VALADARES FILHO, S.C.; GOMES, D.I.; FIGUEIRAS, J.F. Evaluation of ruminal degradation profiles of forages using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2565-2573, 2011.

Van SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2 ed. Ithaca, NY: Cornell University Press, 1994, 476p.

VISEK, W.J. Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.481-498, 1984.

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.

Tabela 1 - Composição química do feno de tifton 85 e do suplemento

Item ¹	Feno ⁴	Suplemento
MS ²	883,3±3,67	867,4
MO ³	942,9±1,28	925,3
PB ³	52,9±1,38	310,6
FDNcp ³	781,1±6,65	110,8
PIDN ³	43,8±3,95	15,8
FDNi ³	334,4±9,97	32,7

¹ MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; PB, proteína bruta, FDNcp, fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína contaminante; PIDN, proteína insolúvel em detergente neutro; FDNi, FDN indigestível. ² g/kg de matéria natural. ³ g/kg de matéria seca. ⁴ Média ± erro padrão.

Tabela 2 - Consumo voluntário em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade e suplementadas em diferentes frequências

Item ¹	Tratamentos ²					EPM	Valor-P ³			
	C	12	24	48	96		C × S	L	Q	C
kg/dia										
MS	3,39	5,79	5,73	5,13	4,76	0,412	<0,001	0,018	0,616	0,633
MSF	3,39	4,98	4,92	4,32	3,96	0,390	0,006	0,019	0,613	0,613
MO	3,22	5,48	5,42	4,84	4,48	0,386	<0,001	0,016	0,606	0,596
PB	0,19	0,52	0,51	0,49	0,46	0,030	<0,001	0,077	0,802	0,971
FDNcp	2,67	3,99	3,99	3,49	3,19	0,306	0,002	0,016	0,634	0,515
FDNi	1,09	1,66	1,66	1,44	1,32	0,148	0,009	0,038	0,697	0,602
MOD	1,75	3,28	3,23	2,71	2,71	0,192	<0,001	0,017	0,176	0,354
FDND	1,55	2,46	2,42	1,98	1,98	0,171	0,001	0,024	0,192	0,391
PB:MOD ⁴	108	161	158	180	171	7,4	<0,001	0,122	0,076	0,103
g/kg de peso corporal										
MS	9,28	15,26	15,27	13,58	12,98	0,725	<0,001	0,080	0,491	0,418
MSF	9,28	13,09	13,10	11,38	10,79	0,727	0,003	0,016	0,477	0,402
MO	8,79	14,39	14,45	12,78	12,21	0,679	<0,001	0,015	0,482	0,370
FDNcp	7,32	10,51	10,63	9,19	8,73	0,559	0,001	0,014	0,492	0,315
FDNi	3,06	4,42	4,39	3,78	3,61	0,279	0,005	0,022	0,400	0,411

¹ MS, matéria seca, MSF; MS de forragem; MO, matéria orgânica; PB, proteína bruta; FDNcp, fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDNi, fibra em detergente neutro indigestível; MOD, MO digerida; FDND, FDNcp digerida. ² C, controle; e 12, 24, 48 e 96, suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas.

³ C × S = contraste entre tratamentos controle e suplementados; L, Q, C = efeitos de ordem linear, quadrática e cúbica relativos aos intervalos entre suplementações, respectivamente. ⁴ g/kg.

Tabela 3 - Coeficientes de digestibilidade (g/g) ruminal, intestinal e total e concentração dietética de matéria orgânica digerida (g/kg MS) em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade e suplementadas em diferentes frequências

Item ¹	Tratamentos ²					EPM	Valor-P ³			
	C	12	24	48	96		C × S	L	Q	C
Ruminal ⁴										
MO	0,409	0,509	0,470	0,475	0,521	0,023	0,001	0,258	0,079	0,318
PB	-0,176	0,404	0,372	0,368	0,385	0,051	<0,001	0,892	0,606	0,766
FDNcp	0,503	0,548	0,503	0,515	0,566	0,022	0,188	0,186	0,091	0,237
Intestinal ⁴										
MO	0,213	0,170	0,243	0,165	0,176	0,044	0,528	0,571	0,967	0,089
PB	0,496	0,453	0,499	0,474	0,493	0,030	0,559	0,474	0,752	0,202
FDNcp	0,142	0,136	0,214	0,105	0,134	0,062	0,930	0,589	0,779	0,164
Total										
MO	0,536	0,595	0,600	0,563	0,609	0,024	0,011	0,605	0,096	0,265
PB	0,418	0,677	0,685	0,668	0,698	0,018	<0,001	0,279	0,293	0,318
FDNcp	0,571	0,610	0,611	0,574	0,624	0,034	0,325	0,753	0,295	0,584
MOD	509	562	568	531	574	23,4	0,013	0,680	0,094	0,235

¹ MO, matéria orgânica; PB, proteína bruta; FDNcp, fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; MOD, matéria orgânica digerida. ² C, controle; e 12, 24, 48 e 96, suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. ³ C × S = contraste entre tratamentos controle e suplementados; L, Q, C = efeitos de ordem linear, quadrática e cúbica relativos aos intervalos entre suplementações, respectivamente. ⁴ Calculado como fração do que chegou ao local de digestão.

Tabela 4 – Características da dinâmica ruminal dos compostos fibrosos em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade e suplementadas em diferentes frequências

Item ^{1,2}	Tratamentos ³					EPM	Valor-P ⁴			
	C	12	24	48	96		C × S	L	Q	C
Pool ruminal (g/kg de peso corporal)										
FDN	16,32	16,65	15,34	14,72	12,29	1,659	0,280	0,026	0,924	0,653
FDN _{pd}	4,31	4,39	3,34	3,94	3,04	0,799	0,400	0,366	0,989	0,339
FDN _i	11,82	12,39	11,99	10,82	9,29	1,116	0,409	0,009	0,811	0,845
Taxas (/h)										
ki FDN	0,0189	0,0276	0,0284	0,0264	0,0297	0,00236	<0,001	0,312	0,251	0,316
ki FDN _{pd}	0,0434	0,0664	0,0658	0,0611	0,0756	0,00853	0,015	0,322	0,326	0,737
kd FDN _{pd}	0,0375	0,0618	0,0572	0,0528	0,0722	0,00812	0,010	0,169	0,119	0,928
kp FDN _{pd}	0,0058	0,0065	0,0086	0,0104	0,0055	0,00171	0,294	0,480	0,092	0,945
kp FDN _i	0,0114	0,0153	0,0159	0,0149	0,0161	0,00159	0,005	0,631	0,656	0,493

¹ FDN, fibra em detergente neutro; FDN_{pd}, FDN potencialmente digestível; FDN_i, FDN indigestível. ² ki, taxa de ingestão, kd, taxa de degradação, kp, taxa de passagem. ³ C, controle; e 12, 24, 48 e 96, suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. ⁴ C × S = contraste entre tratamentos controle e suplementados; L, Q, C = efeitos de ordem linear, quadrática e cúbica relativos aos intervalos entre suplementações, respectivamente.

Tabela 5 – Características de utilização dos compostos nitrogenados em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade e suplementadas em diferentes frequências

Item ¹	Tratamentos ²					EPM	Valor-P ³			
	C	12	24	48	96		C × S	L	Q	C
CN	29,8	83,5	81,8	78,5	74,3	4,66	<0,001	0,077	0,801	0,971
EFN	17,8	26,9	26,0	25,8	22,2	2,91	0,007	0,109	0,757	0,770
BN ⁴	-8,4	9,4	11,8	2,7	5,0	3,498	<0,001	0,064	0,1859	0,075
EFUN ⁴	-0,35	0,12	0,15	0,06	0,07	0,092	<0,001	0,527	0,735	0,560
BNR	-4,7	35,3	30,3	28,1	32,6	2,03	<0,001	0,639	0,018	0,452
NMIC	28,9	44,3	52,5	51,7	27,4	10,12	0,020	0,019	0,038	0,585
NMICR	0,98	0,59	0,80	0,69	0,46	0,175	0,021	0,178	0,239	0,302
EFM	109	92	124	126	77	25,5	0,840	0,271	0,820	0,499

¹ CN, consumo de N (g/dia), EFN, excreção fecal de N (g/dia); BN, balanço corporal de N (g/dia); EFUN, eficiência de uso do N (g/g N ingerido); BNR, balanço de N no rúmen (g/dia); NMIC, produção de N microbiano no rúmen (g/dia); NMICR, produção relativa de NMIC (g N microbiano/g N ingerido); EFM, eficiência de síntese microbiana (g PB microbiana/kg de MOD). ² C, controle; e 12, 24, 48 e 96, suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. ³ C × S = contraste entre tratamentos controle e suplementados; L, Q, C = efeitos de ordem linear, quadrática e cúbica relativos aos intervalos entre suplementações, respectivamente. ⁴ Calculado utilizando-se a média de excreção urinária de N ao longo do ciclo de suplementação (Tabela 7).

Tabela 6 – Características da fermentação ruminal em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade e suplementadas em diferentes frequências

Item ¹	Tratamentos ²					EPM	Valor-P ³				
	Cont	S12	S24	S48	S96		T×D	C × S	L	Q	C
NAR	2,93	9,14	8,56	9,66	12,66	0,181	<0,001	<0,001	0,001	0,346	0,582
pH	6,49	6,41	6,35	6,46	6,42	0,107	0,004	0,067	0,409	0,386	0,088
AGV	4,46	5,68	5,54	5,63	4,11	0,787	0,902	0,216	0,033	0,381	0,728
Acetato ⁴	75,13	76,99	78,17	77,77	77,56	3,379	0,503	0,116	0,940	0,681	0,582
Propionato ⁴	16,73	11,19	11,75	13,99	16,00	2,908	0,852	0,032	0,001	0,633	0,709
Butirato ⁴	8,06	10,74	9,18	8,27	9,13	0,977	0,238	0,184	0,300	0,075	0,649
A:P	6,55	8,62	8,25	6,45	6,89	2,201	0,296	0,154	0,029	0,079	0,406

¹ NAR, nitrogênio amoniacal ruminal (mg/dL); AGV, concentração ruminal de ácidos graxos voláteis (mmol/dL), A:P, proporção acetato:propionato. ² C, controle; e 12, 24, 48 e 96, suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. ³ T × D, interação entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação; C × S = contraste entre tratamentos controle e suplementados; L, Q, C = efeitos de ordem linear, quadrática e cúbica relativos aos intervalos entre suplementações, respectivamente.

⁴ Proporção molar (mmol/100 mmol).

Tabela 7 – Características da excreção urinária de compostos nitrogenados, nitrogênio uréico no soro e filtração glomerular de nitrogênio uréico em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade e suplementadas em diferentes frequências

Item ¹	Tratamentos ²					EPM	Valor-P ³				
	C	12	24	48	96		T × D	C × S	L	Q	C
EUN	20,7	50,7	44,0	49,6	44,1	2,92	<0,001	<0,001	0,087	0,705	0,003
EUNU	15,1	30,9	20,4	30,7	30,0	6,39	0,263	0,077	0,646	0,877	0,185
EUNA	0,241	0,235	0,231	0,248	0,249	0,0778	0,006	0,996	0,831	0,945	0,897
NUS	6,66	12,74	11,93	12,69	12,40	0,497	<0,001	<0,001	0,987	0,985	0,172
CNUF	25,4	65,4	60,0	65,7	60,4	3,49	<0,001	<0,001	0,424	0,610	0,055
EFNU	0,60	0,51	0,40	0,49	0,52	0,111	0,429	0,305	0,634	0,786	0,417

¹ EUN, excreção urinária de N (g/dia); EUNU, excreção urinária de N uréico (g/dia); EUNA, excreção urinária de N amoniacal (g/dia); NUS, concentração de N ureico no soro (mg/dL), CNUF, carga de N uréico filtrada pelos rins (g/dia); e excreção fracional de N ureico (g/g EFNU). ² C, controle; e 12, 24, 48 e 96, suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. ³ T × D, interação entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação; C × S = contraste entre tratamentos controle e suplementados; L, Q, C = efeitos de ordem linear, quadrática e cúbica relativos aos intervalos entre suplementações, respectivamente.

Tabela 8 – Características sanguíneas em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade e suplementadas em diferentes frequências

Item ¹	Tratamentos ²					EPM	Valor-P ³				
	C	12	24	48	96		T × D	C × S	L	Q	C
IGF1	14,4	20,8	20,3	22,5	20,3	4,25	0,524	<0,001	0,917	0,351	0,479
Glicose ⁴	58,1	61,4	60,4	59,9	61,5	1,71	0,169	0,149	0,837	0,442	0,899
AST	45,1	46,1	49,6	49,1	47,2	3,05	0,351	0,281	0,965	0,334	0,452
ALT	13,2	18,8	18,2	16,6	14,7	2,13	0,673	<0,001	<0,001	0,430	0,758
GGT	12,9	14,6	16,3	14,0	14,4	1,87	0,424	0,203	0,600	0,872	0,248
Proteínas ⁵	7,44	7,17	7,42	7,43	7,28	0,225	0,843	0,230	0,840	0,038	0,248
Albumina ⁵	2,85	2,87	2,89	2,95	2,83	0,201	0,666	0,499	0,550	0,165	0,815
Globulinas ⁵	4,61	4,29	4,53	4,46	4,45	0,313	0,959	0,160	0,657	0,391	0,268

¹ IGF1, fator de crescimento semelhante à insulina (ng/mL); AST, atividade de aspartato aminotransferase (U/L); ALT, atividade de alanina aminotransferase (U/L); GGT, atividade de gamaglutamiltransferase (U/L); ² C, controle; e 12, 24, 48 e 96, suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas.

³ T × D, interação entre tratamentos e dias do ciclo de suplementação; C × S = contraste entre tratamentos controle e suplementados; L, Q, C = efeitos de ordem linear, quadrática e cúbica relativos aos intervalos entre suplementações, respectivamente. ⁴ mg/dL. ⁵ g/dL

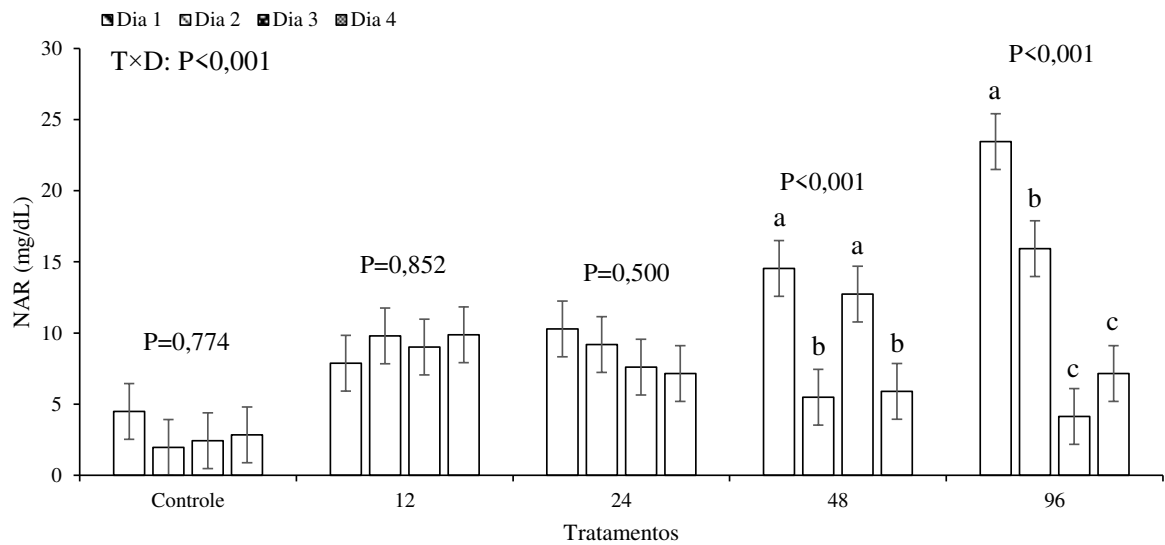


Figura 1 - Concentração média diária de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade de acordo com os diferentes tratamentos e dias do ciclo de suplementação. [12, 24, 48 e 96: suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. Médias, dentro dos tratamentos, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,05)].

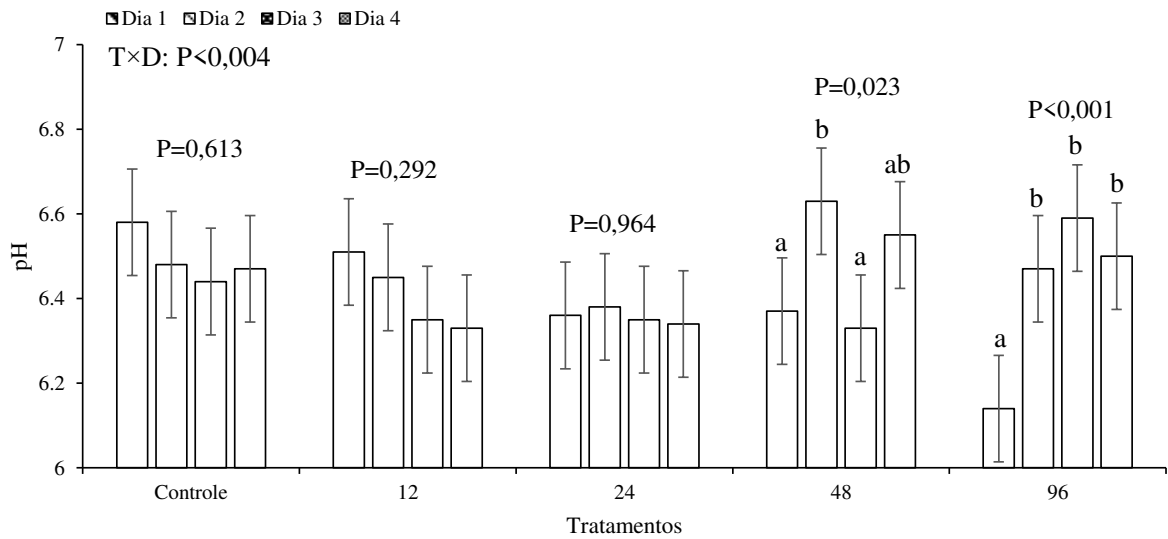


Figura 2 – Valores médios de pH ruminal em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade de acordo com os diferentes tratamentos e dias do ciclo de suplementação. [12, 24, 48 e 96: suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. Médias, dentro dos tratamentos, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P < 0,05$)].

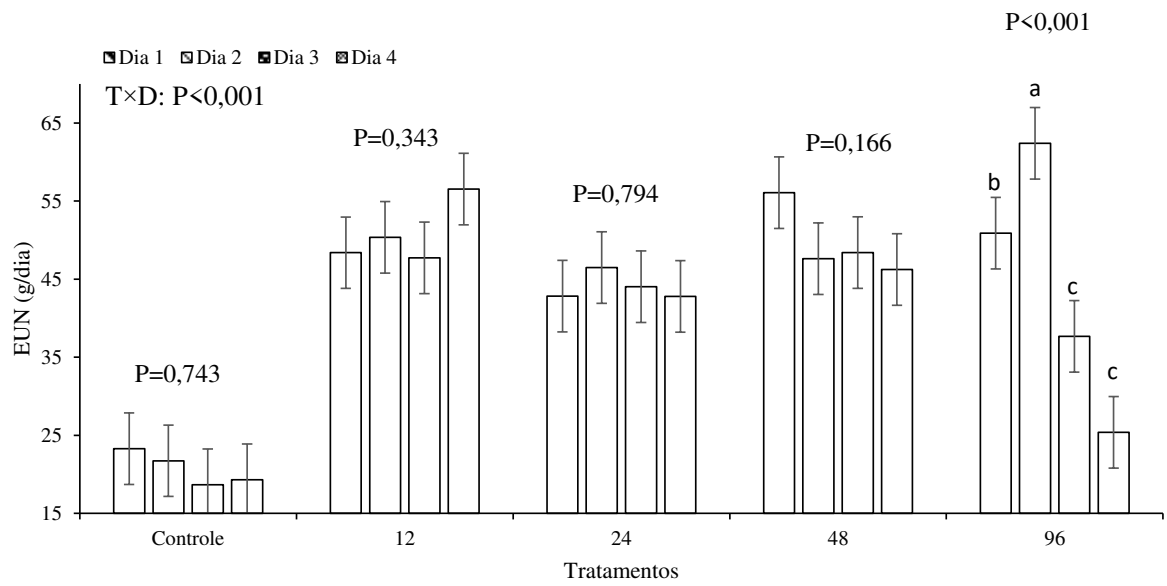


Figura 3 – Excreção urinária de nitrogênio (EUN) em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade de acordo com os diferentes tratamentos e dias do ciclo de suplementação. [12, 24, 48 e 96: suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. Médias, dentro dos tratamentos, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P<0,05$)].

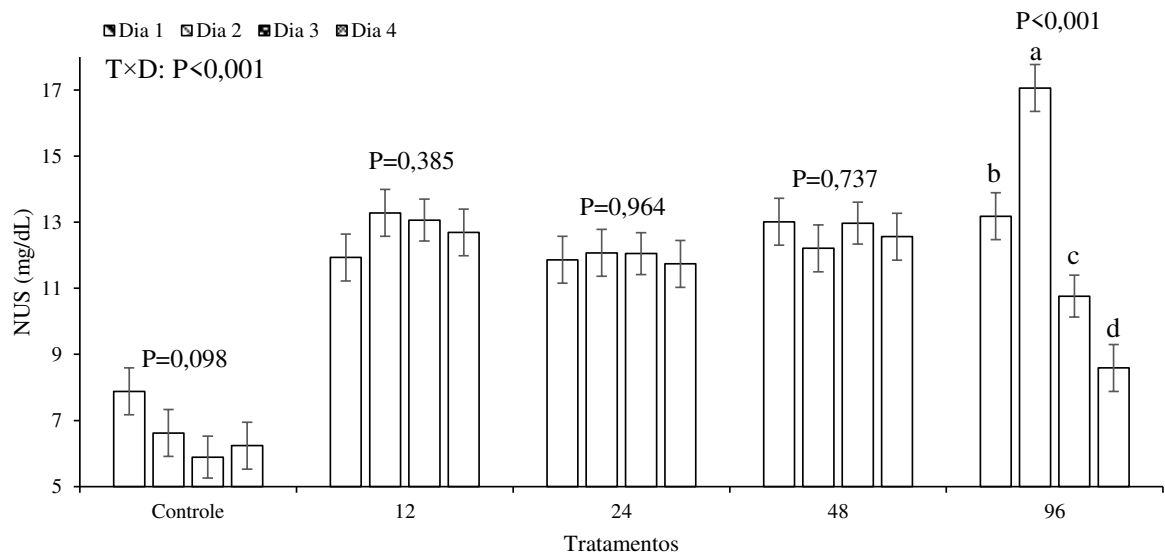


Figura 4 – Concentração média diária de nitrogênio ureico no soro (NUS) em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade de acordo com os diferentes tratamentos e dias do ciclo de suplementação. [12, 24, 48 e 96: suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. Médias, dentro dos tratamentos, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P < 0,05$)].

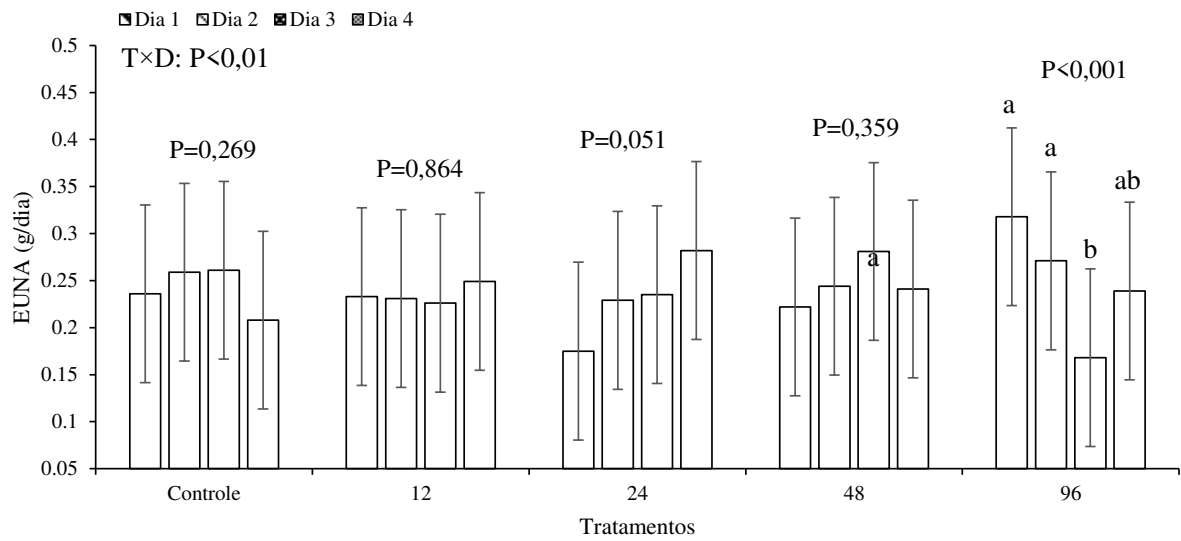


Figura 5 – Excreção urinária de nitrogênio amoniacal (EUNA) em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade de acordo com os diferentes tratamentos e dias do ciclo de suplementação. [12, 24, 48 e 96: suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. Médias, dentro dos tratamentos, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P<0,05$)].

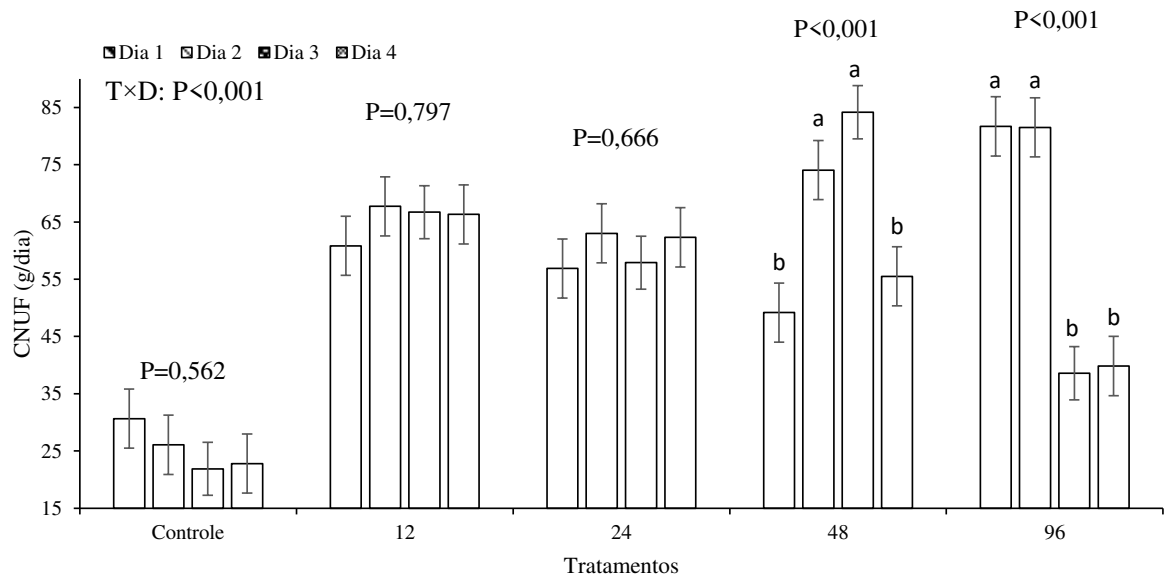


Figura 6 – Carga de nitrogênio ureico filtrada pelos rins (CNUF) em novilhas Nelore alimentadas com forragem tropical de baixa qualidade de acordo com os diferentes tratamentos e dias do ciclo de suplementação. [12, 24, 48 e 96: suplementação a cada 12, 24, 48 e 96 horas. Médias, dentro dos tratamentos, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P < 0,05$)].