

LUANA MARTA DE ALMEIDA RUFINO

**DESEMPENHO NUTRICIONAL E CARACTERÍSTICAS
METABÓLICAS EM BOVINOS ALIMENTADOS COM FORRAGENS
TROPICAIS EM RESPOSTAS À SUPLEMENTAÇÃO
INFREQUENTE COM COMPOSTOS NITROGENADOS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

R926d
2015
Rufino, Luana Marta de Almeida, 1987-
Desempenho nutricional e características metabólicas em
bovinos alimentados com forragens tropicais em respostas à
suplementação infrequente com compostos nitrogenados / Luana
Marta de Almeida Rufino. – Viçosa, MG, 2015.
xii, 98f. : il. ; 29 cm.

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

1. Bovino - Alimentação e rações. 2. Nutrição animal.
3. Suplementos dietéticos. 4. Plantas forrageiras. 5. Proteínas na
nutrição animal. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-graduação em
Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 636.0852

LUANA MARTA DE ALMEIDA RUFINO

DESEMPENHO NUTRICIONAL E CARACTERÍSTICAS
METABÓLICAS EM BOVINOS ALIMENTADOS COM FORRAGENS
TROPICAIS EM RESPOSTAS À SUPLEMENTAÇÃO INFREQUENTE
COM COMPOSTOS NITROGENADOS

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: 27 de fevereiro de 2015.

Sebastião de Campos Valadares Filho
(Coorientador)

Mário Fonseca Paulino
(Coorientador)

Rilene Ferreira Diniz Valadares

Joanis Tilemahos Zervoudakis

Edenio Detmann
(Orientador)

A **Deus**, pela presença constante em minha vida.

Aos meu pais, **Vanderlei e Elza**, meus grandes exemplos.

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

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

Ao **Luís Henrique**, por toda ajuda e carinho.

Dedico

AGRADECIMENTOS

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio na realização deste trabalho.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT-Ciência Animal), pelas imprescindíveis colaborações.

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

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

À Professora Rilene Valadares, e ao Professor Joanis Zervoudakis pela disposição em colaborar com o trabalho.

À Professora Luciana Rennó, pelo carinho, atenção e ajuda sempre que necessário.

À Professora Maria Ignez Leão e ao Faider, pela colaboração na cirurgia dos animais.

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

As minhas irmãs e ao meu namorado João Paulo, por estarem comigo em todos os momentos. Obrigada pela ajuda imprescindível durante as coletas de madrugada e principalmente durante as 600 coletas de sangue.

Ao Luís Henrique Rodrigues Silva, pela valiosa ajuda durante a fase de campo do experimento. Sem você tudo teria sido muito mais difícil. Obrigada por ter sido um anjo na minha vida.

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

Aos amigos Gercino e Bernardo, pela ajuda durante as fases de coletas. Obrigada mesmo!

Ao bolsista Danilo, pela ajuda principalmente durante a fase laboratorial.

Aos colegas de orientação, Erick, Marcília, Márcia, Hugo, Malber, Janderson, Marcelo, Gabriel e Tadeu pelo companheirismo e agradável convivência na “salinha”.

Aos colegas e amigos da Pós Graduação em Zootecnia da UFV, que dividiram vários momentos importantes comigo.

Aos amigos da Toca do Tatu, Timão, Rodolfo, Philipe, Rafael, Pestana e Mascate, pela amizade e pelos momentos de descontração.

Aos meus amigos da graduação, Carlos Stefenson e Rafael Azevedo, pelo incentivo e torcida.

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

As funcionárias da Pós, Fernanda e Mariana, pela atenção e paciência.

À Fernanda e Laiane, pela acolhida na república e companhia nos meus últimos meses em Viçosa!

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

BIOGRAFIA

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

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

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

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

Em agosto de 2011, iniciou o curso de doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 27 de fevereiro de 2015.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12
CAPÍTULO 1: Desempenho nutricional e características metabólicas em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade em respostas à suplementação infrequente com compostos nitrogenados	
Introdução.....	19
Material e Métodos.....	22
Resultados.....	31
Discussão.....	45
Conclusão.....	54
Referências Bibliográficas	55
CAPÍTULO 2: Desempenho nutricional e características metabólicas em bovinos alimentados com forragem tropical de média qualidade em respostas à suplementação infrequente com compostos nitrogenados	
Introdução.....	63
Material e Métodos.....	66
Resultados.....	75
Discussão.....	88
Conclusão.....	93
Referências Bibliográficas	93

RESUMO

RUFINO, Luana Marta de Almeida, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2015. **Desempenho nutricional e características metabólicas em bovinos alimentados com forragens tropicais em respostas à suplementação infrequente com compostos nitrogenados.** Orientador: Edenio Detmann. Coorientadores: Mário Fonseca Paulino e Sebastião de Campos Valadares Filho.

Foram realizados dois experimentos objetivando avaliar o desempenho nutricional e as características metabólicas em bovinos de corte alimentados com forragens tropicais. Os experimentos diferiram apenas em relação à qualidade dos fenos de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*) ofertados, sendo de baixa qualidade (47,2 g de proteína bruta/kg de matéria seca) no primeiro experimento e de média qualidade (80,5 g de proteína bruta/kg de matéria seca) no segundo experimento. Em ambos os experimentos foram utilizados cinco novilhos mestiços, fistulados no rúmen e abomaso, distribuídos em delineamento em quadrado latino 5 x 5, com cinco tratamentos e cinco períodos experimentais. Foram avaliados os seguintes tratamentos: controle, sem suplementação (somente forragem basal); 30/D, suplementação diária com o fornecimento diário de 30% das exigências de proteína degradável no rúmen (PDR); 30/I, suplementação infrequente (a cada três dias) com o fornecimento equivalente diário de 30% das exigências de PDR; 60/D, suplementação diária com o fornecimento diário de 60% das exigências de PDR; 60/I, suplementação infrequente (a cada três dias) com o fornecimento equivalente diário de 60% das exigências de PDR. Como fonte de proteína bruta (PB) suplementar foi utilizada mistura composta por 85% de caseína e 15% de ureia:sulfato de amônio (9:1). Cada experimento foi constituído de cinco períodos experimentais com 24 dias de duração. No primeiro experimento, o fornecimento de suplemento não alterou ($P > 0,05$) o consumo voluntário em relação ao tratamento controle, com exceção dos consumos de PB e matéria orgânica digerida (MOD), os quais foram ampliados ($P < 0,05$) com o fornecimento de suplementos. Para todas as medidas de consumo foi observado efeito de interação entre quantidade de suplemento e frequência de suplementação ($P < 0,05$). Considerando-se o desdobramento deste efeito, observou-se que o fornecimento infrequente de 60% das exigências de PDR deprimiu o consumo voluntário ($P < 0,05$). O fornecimento de suplementos ampliou ($P < 0,05$) os coeficientes de digestibilidade total da MO e PB e a concentração dietética de MOD. Por outro lado, o aumento na quantidade de suplementos ampliou ($P < 0,05$) os coeficientes de digestibilidade total da MO, PB e FDN e a concentração de MOD na dieta. O balanço aparente de compostos

nitrogenados (BN) foi incrementado ($P < 0,05$) pelo fornecimento de suplementos em relação ao controle, mas não foi afetado ($P > 0,05$) pela quantidade de suplemento, frequência de suplementação ou sua interação. Por outro lado, a eficiência de uso do nitrogênio (EFUN), além de ter sido ampliada pelo fornecimento de suplementos ($P < 0,05$), foi maior ($P < 0,05$) nos animais recebendo 60% das exigências de PDR em comparação aos animais recebendo 30% das exigências de PDR, não sendo afetado ($P > 0,05$) pela frequência de suplementação. O balanço de compostos nitrogenados no rúmen (BNRU) foi incrementado ($P < 0,05$) pelo fornecimento de suplementos e foi superior ($P < 0,05$) com o fornecimento de 60% em relação a 30% das exigências de PDR. A concentração de NAR foi incrementada nos tratamentos com suplementação nitrogenada em relação ao tratamento controle ($P < 0,05$). Adicionalmente, observou-se efeito da quantidade de suplemento, evidenciando maiores concentrações de NAR ($P < 0,05$) nos tratamentos com 60% das exigências de PDR em relação aos tratamentos 30% PDR ($P < 0,05$). Além disto, para NAR houve interação entre dias de amostragem e tratamentos ($P < 0,05$), sendo que o desmembramento deste efeito mostrou que apenas nos tratamentos cuja suplementação foi infrequente houve diferença entre dias ($P < 0,05$), observando-se maiores valores de NAR no primeiro dia de amostragem, com queda gradativa na concentração para os demais dias. A concentração de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF1) no plasma foi maior nos animais suplementados em relação aos do tratamento controle ($P < 0,05$). Adicionalmente, houve efeito da quantidade de suplemento ($P < 0,05$), cujos tratamentos com suplementação com o suprimento de 60% das exigências PDR apresentaram maiores concentrações plasmáticas de IGF1. A concentração de nitrogênio uréico no soro (NUS) e a excreção fracional de nitrogênio ureico (EFNU) foram ampliadas pela suplementação ($P < 0,05$) e incrementadas ($P < 0,05$) com o aumento na quantidade de suplemento fornecido, mas não foram afetadas ($P > 0,05$) pela frequência de suplementação. A concentração de NUS somente variou entre dias de amostragem para os tratamentos com suplementação infrequente ($P < 0,05$), nestes casos, as concentrações se elevaram ($P < 0,05$) do primeiro para o segundo, decrescendo ($P < 0,05$) do segundo para o terceiro dia. No segundo experimento, o consumo de PB foi ampliado ($P < 0,05$) com o fornecimento de suplementos e foi maior ($P < 0,05$) quando os suplementos contemplavam 60% das exigências de PDR. Houve efeito da frequência de fornecimento de suplementos para os consumos medidos em unidades de tamanho corporal, os quais foram menores ($P < 0,05$) nos tratamentos com fornecimento infrequente em relação aos tratamentos cuja suplementação foi realizada diariamente. O fornecimento de suplemento ampliou ($P < 0,05$) os coeficientes de digestibilidade ruminal, intestinal e total da PB. O BNRU foi

incrementado ($P < 0,05$) pelo fornecimento de suplementos e foi superior ($P < 0,05$) com o fornecimento de 60% em relação a 30% das exigências de PDR. A concentração de NAR foi incrementada nos tratamentos com suplementação nitrogenada em relação ao tratamento controle ($P < 0,05$), e observou-se também efeito da quantidade de suplemento, evidenciando maiores valores ($P < 0,05$) nos tratamentos com o suprimento de 60% das exigências de PDR em relação ao suprimento de 30% das exigências de PDR ($P < 0,05$); e efeito de frequência de suplementação, sendo maiores valores de NAR observados nos tratamentos cujos suplementos foram oferecidos de forma infrequente ($P < 0,05$). Ainda em relação à concentração de NAR, houve efeito de interação entre dias de amostragem e tratamentos, o desmembramento deste efeito mostrou que apenas nos tratamentos cuja suplementação foi infrequente houve diferença entre dias ($P < 0,05$), observando-se maiores valores ($P < 0,05$) de NAR no primeiro dia de amostragem, com queda gradativa na concentração para os demais dias. Não houve efeito de suplementação ou da frequência de fornecimento dos suplementos sobre a concentração sanguínea de glicose ($P > 0,05$); entretanto, houve aumento ($P < 0,05$) na glicose sanguínea quando se elevou a quantidade de suplemento de 30% para 60% das exigências de PDR. A concentração de NUS foi ampliada pela suplementação ($P < 0,05$) e incrementada ($P < 0,05$) com o aumento na quantidade de suplemento fornecido, mas não foram afetadas ($P > 0,05$) pela frequência de suplementação. Além disso, houve interação ($P < 0,05$) entre tratamentos e dia de amostragem, cujo estudo do efeito evidenciou mostrou que a concentração de NUS somente variou entre dias de amostragem para os tratamentos com suplementação infrequente ($P < 0,05$). Neste caso, para o suprimento infrequente de 30% das exigências de PDR, as concentrações de NUS mantiveram-se estáveis ($P > 0,05$) nos dois primeiros dias de avaliação, decaindo ($P < 0,05$) ao terceiro dia. Com o suprimento infrequente de 60% das exigências de PDR as concentrações de NUS se elevaram ($P < 0,05$) no segundo dia de avaliação, reduzindo-se ($P < 0,05$) ao terceiro dia. Desta forma, conclui-se que a redução na frequência de suplementação nitrogenada em bovinos alimentados com forragens tropicais de baixa e média qualidade não compromete a retenção corporal de compostos nitrogenados. Contudo, o fornecimento infrequente de suplementos nitrogenados resulta em efeitos negativos sobre o consumo voluntário de forragem.

ABSTRACT

RUFINO, Luana Marta de Almeida, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2015. **Nutritional performance and metabolic characteristics in cattle fed tropical forages in response to infrequent supplementation with nitrogenous compounds.** Adviser: Edenio Detmann. Co-advisers: Mário Fonseca Paulino and Sebastião de Campos Valadares Filho.

Two experiments were carried out to evaluate the nutritional performance and metabolic characteristics in beef cattle fed tropical forages. The experiments differed only with regards to the quality of signal grass hay (*Brachiaria decumbens*) offered to the animals, being low-quality (47.2 g crude protein/kg of dry matter) in the first experiment and medium-quality (80.5 g crude protein/kg of dry matter) in the second experiment. In both experiments five crossbred steers, fitted with rumen and abomasum cannulae were used according to a 5 x 5 Latin square design, with five treatments and five experimental periods. The following treatments were evaluated in both experiments: control, without supplementation (only basal forage); 30/D, daily supplementation with daily supply of 30% of rumen degradable protein (RDP) requirements; 30/I, infrequent supplementation (every third day) with the equivalent daily supply of 30% RDP requirements; 60/D, supplemented daily with the daily supply of 60% RDP requirements; 60/I, infrequent supplementation (every third day) with the equivalent daily supply of 60% of the RDP requirements. The supplemental crude protein (CP) was a mixture of casein (85%) and urea:ammonium sulfate (9:1, 15%). Each experiment consisted of five experimental periods lasting 24 days. In the first experiment, the supplementation did not change ($P>0.05$) voluntary intake compared to the control, except for intakes of CP and digested organic matter (DOM), which were increased ($P<0.05$) by supplementation. For all intake measurements an interaction between amount of supplement and supplementation frequency was observed ($P<0.05$). Considering the study of this effect, it was observed that infrequent supplementation where 60% RDP requirements were provided decreased voluntary intake ($P<0.05$). Overall, supplementation increased ($P<0.05$) the total digestibility of OM, CP and the dietary concentration of MOD. On the other hand, the increase in supplement amount caused an increase ($P<0.05$) in the total digestibility of OM, NDF and the DOM concentration in the diet. The apparent nitrogen balance (NB) was increased ($P<0.05$) by the supplementation compared to control, but it was not affected ($P>0.05$) by the amount of supplement, supplementation frequency or their interaction. Moreover, the efficiency of nitrogen utilization (ENU) was improved ($P<0.05$) by and supplementation and was also greater ($P<0.05$) in animals receiving 60% RDP requirements compared to animals receiving 30% RDP requirements. The frequency of supplementation did not affect ($P>0.05$) the ENU. The nitrogen balance in the rumen (NBR)

was increased ($P < 0.05$) with the supplementation and was also higher ($P < 0.05$) when 60% RDP were supplied compared to 30% RDP requirements. The RAN concentration was increased in the treatments with nitrogen supplementation compared to the control ($P < 0.05$). Additionally, it was observed effect of the amount of supplement on RAN, where higher concentrations ($P < 0.05$) were verified when 60% RDP requirements were provided. Moreover, an interaction between treatments and sampling days ($P < 0.05$) was observed on RAN concentrations. In this case, the RAN concentrations decreased from first to third day of sampling only for the treatments where supplementation was infrequent. The concentration of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in the plasma was higher in supplemented animals compared to the control ($P < 0.05$). Additionally, there was an effect of the amount of supplementation ($P < 0.05$), with higher IGF-I concentration occurring at 60% RDP requirements. The concentration of serum urea nitrogen (SUN) and the fractional excretion of urea nitrogen (FEUN) were increased by supplementation ($P < 0.05$) and also increased ($P < 0.05$) with the increase in the amount supplement, but there was not effect ($P > 0.05$) of supplementation frequency. The concentration of SUN only varied between sampling days for treatments with infrequent supplementation ($P < 0.05$), where concentrations increased ($P < 0.05$) from the first to the second sampling day and then decreased ($P < 0.05$) from the second to the third sampling day. In the second experiment, CP intake was increased ($P < 0.05$) with the supplementation and was also greater ($P < 0.05$) when the supplements amount increased. An effect of supplementation frequency was detected on voluntary measured in relation to the body size. The intake was lower ($P < 0.05$) for the treatments where the supplementation was infrequent compared to daily supplementation. Overall, the supplementation increased ($P < 0.05$) the ruminal, intestinal and total digestibility of CP. The NBR was increased ($P < 0.05$) by supplementation and was also greater ($P < 0.05$) for 60% compared to 30% RDP requirements. The RAN concentration was increased in the treatments with nitrogen supplementation compared to the control ($P < 0.05$). Supplying 60% RDP requirements also increased ($P < 0.05$) RAN concentration compared to 30% RDP requirements. Moreover, RAN concentrations were higher ($P < 0.05$) for infrequent supplementation compared to daily supplementation. Also in relation to the RAN concentration, there was an interaction effect between sampling days and treatments, where only the treatments whose supplementation was infrequent presented difference between sampling days ($P < 0.05$), with highest RAN values ($P < 0.05$) verified in the first sampling day, with a gradual decrease in the concentration for the other days. There was effect neither of supplementation nor supplementation frequency on blood glucose

concentration ($P>0.05$); however, there was an increase ($P<0.05$) in blood glucose when the amount supplements increased. The concentration of SUN was increased with supplementation ($P<0.05$) and was also greater ($P<0.05$) with the increase in the amount of supplement, but it was not affected ($P>0.05$) by supplementation frequency. In addition, there was an interaction ($P<0.05$) between treatments and sampling day on SUN. The study of this effect showed that the SUN concentration varied between sampling days only for the treatments with infrequent supplementation ($P<0.05$). In this case, for the infrequent supply 30% of RDP requirements, the SUN concentrations remained stable ($P>0.05$) from the first to the second sampling day, decreasing ($P<0.05$) in the third day. For the infrequent supply of 60% RDP requirements SUN concentrations were greater ($P<0.05$) on the second sampling day, being lower ($P<0.05$) in the first and third sampling day. The decrease in the frequency of nitrogen supplementation in cattle fed low- and medium-quality tropical forages does not compromise the body accretion of nitrogenous compounds. However, the infrequent supply of nitrogen supplements results in negative effects on voluntary forage intake.

INTRODUÇÃO GERAL

As forragens tropicais apresentam elevado conteúdo de fibra em detergente neutro (FDN), a qual responde, com grande frequência, a mais de 600g/kg de matéria seca (MS) da dieta (Paulino et al., 2006), correspondendo à fonte energética de menor custo para produção bovina nos trópicos (Detmann et al., 2008).

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

Assim, sua elevada representatividade como fonte energética nos trópicos, associada à variabilidade natural e às interferências ou interações oriundas de outros componentes dietéticos, direciona os nutricionistas a entender como explorar a FDN no sistema digestivo dos ruminantes, otimizando os sistemas de produção animal nos trópicos (Detmann et al., 2008); o que torna preponderante o estudo de estratégias que otimizem a utilização da fibra para bovinos em pastejo.

Uma vez que as gramíneas tropicais são fontes de energia de menor custo para bovinos, deve-se enfatizar maneiras para aumentar a produção e utilização de energia na pastagem que pode ser convertida em produto animal (Paulino et al., 2008a).

As regiões de clima tropical são caracterizadas pela distribuição desuniforme das chuvas, resultando em acentuada defasagem na oferta de forragem nas pastagens durante os períodos de precipitação escassa (período seco); em contrapartida, o período das águas é caracterizado pela abundância na oferta de forragem. Desta forma, os fatores climáticos são

responsáveis pela extensa variabilidade da composição química das gramíneas tropicais durante o ano, tendo como consequência alterações no desempenho dos animais manejados em pastagens (Costa, 2009).

Durante o período seco do ano, as forragens tropicais sob pastejo são caracterizadas pela queda na qualidade nutricional, a qual é ressaltada pelo aumento na lignificação e queda na digestibilidade da fibra insolúvel (Leng, 1990; Paulino et al., 2008b) e pelo baixo teor de proteína bruta (PB), o qual se situa em patamares inferiores aos considerados limítrofes para que os microrganismos ruminais apresentem plena capacidade de degradação dos carboidratos fibrosos (<70-80 g/kg de PB, com base na MS; Lazzarini et al., 2009a; Sampaio et al., 2009).

A carência de compostos nitrogenados, em tais situações, implica não somente em deficiência proteica para o animal, mas em deficiência de precursores nitrogenados para síntese dos sistemas enzimáticos microbianos responsáveis pela extração de energia oriunda da fibra da forragem de baixa qualidade (Detmann et al., 2009). Desta forma, múltiplas carências nutricionais são observadas (Paulino et al., 2006), implicando no fato de a suplementação com compostos nitrogenados ser a principal ferramenta de manejo para garantir o desempenho de bovinos mantidos nestas condições.

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

Relações funcionais entre suplementos proteicos e utilização de forragens tropicais de baixa qualidade têm sido recentemente estabelecidas em condições brasileiras. A maximização do consumo de forragem é estabelecida com massa de PB suplementar que permita elevar o nível de PB da dieta a valores próximos a 90-100g/kg de MS (Lazzarini et al., 2009b; Figueiras

et al., 2010; Sampaio et al., 2010). Por outro lado, Detmann et al. (2009) estabeleceram que 8 mg de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) por dL de fluido ruminal são necessários para que haja maximização da extração de energia a partir da FDN de forragens tropicais de baixa qualidade. Estes mesmos autores relevaram, contudo, que 15 mg NAR/dL de fluido ruminal seriam necessários para maximização do consumo de FDN, destacando que, neste ponto, haveria melhor adequação da relação proteína: energia no metabolismo animal.

Contudo, apesar destes esforços, maiores refinamentos são ainda necessários no entendimento da interação entre suplementação proteica e utilização de forragens de baixa qualidade. Na grande maioria dos estudos, evidencia-se que o aumento no suprimento de proteína degradável no rúmen (PDR) constitui o elemento de maior importância na definição de suplementos para bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade (DelCurto et al., 1990; Souza et al., 2010). Em estudos conduzidos em condições tropicais, concentrações de NAR inferiores a 5 mg/dL estão associados à mobilização significativa de proteína corporal para manutenção do crescimento microbiano ruminal (Sampaio et al., 2010).

No entanto, o nitrogênio ruminal funcionalmente disponível (nitrogênio disponível para o crescimento microbiano) se origina não somente da PDR, mas também do nitrogênio disponibilizado no rúmen através da reciclagem de ureia, que é formada a partir do nitrogênio absorvido ou do nitrogênio mobilizado de fontes endógenas. O nitrogênio reciclado tem potencial para contribuir significativamente para o suprimento de nitrogênio ruminal (Wickersham et al., 2004), fator que tem definido o estudo de estratégias de suplementação infrequente para bovinos manejados em pastos tropicais (Zervoudakis, 2003; Moraes et al., 2010).

A suplementação infrequente tem como principal objetivo a otimização do uso de mão de obra e consequente redução dos custos associados à distribuição dos suplementos e ao manejo dos animais. Esta consiste essencialmente no fornecimento da mesma massa de

suplementos ofertados aos animais suplementados diariamente; contudo, a massa seria ofertada de forma acumulada em dias alternados, sendo esta alternância variável em função da estratégia de manejo definida para o sistema de produção.

A oferta infrequente de suplementos apresentaria vantagem em relação à suplementação com auto regulação de consumo, pois a composição dos suplementos poderia ser mais flexível, sem a necessidade de utilização de altos níveis de reguladores de consumo, como cloreto de sódio e ureia, nem sempre necessários ou compatíveis com as metas de suplementação.

Em termos de forragem de baixa qualidade, o principal mecanismo metabólico utilizado como argumento para a suplementação infrequente é a reciclagem de nitrogênio (Krehbiel et al., 1998; Bonhert et al., 2002; Atkinson et al., 2010a). Neste contexto, o nitrogênio ingerido nos dias de suplementação seria responsável pela elevação do status de nitrogênio do organismo animal. Assim, com a maior massa de nitrogênio circulante, haveria disponibilidade deste para o suprimento de demandas como a manutenção de nitrogênio ruminal via reciclagem durante os dias em que o suplemento não fosse ofertado.

Embora evidências experimentais possam conduzir à inferência de que a eficiência de uso do nitrogênio reciclado para manutenção ruminal seja inferior ao fornecimento direto (Bandyk et al., 2001; Wickersham et al., 2004; Rufino, 2011), a suplementação infrequente tem sido constantemente avaliada no Brasil (Tabela 1) e no exterior (Tabela 2).

Em geral, os estudos com suplementação infrequente conduzidos no Brasil são centrados sobre características produtivas e econômicas, com algumas avaliações de variáveis nutricionais como consumo voluntário. Contudo, observa-se ausência de informações quanto à eficiência metabólica de uso dos compostos nitrogenados.

Considerando-se a literatura consultada, percebe-se que a suplementação nitrogenada para animais alimentados com forragem de baixa qualidade incrementa o consumo voluntário e o desempenho animal, ao passo que a redução na frequência de oferecimento dos suplementos

tem propiciado resultados similares àqueles obtidos com o oferecimento diário (Tabela 1). Exceção é feita a dois trabalhos conduzidos por De Paula et al. (2010; 2011), nos quais a redução da frequência de suplementação incrementou o ganho e o consumo voluntário de forragem em relação ao fornecimento diário (Tabela 1).

Embora os efeitos da suplementação com compostos nitrogenados sejam classicamente direcionados à melhor adequação do ambiente ruminal para atividade dos microrganismos fibrolíticos, ampliando-se o consumo e a digestibilidade dos componentes fibrosos da forragem (Detmann et al., 2009), resultados recentes obtidos em condições tropicais têm permitido evidenciar que eventos metabólicos podem ser relevantes no tocante à eficiência de uso do nitrogênio ingerido, o que conseqüentemente implicaria em maior retenção corporal de nitrogênio sem necessariamente serem alterados o consumo voluntário e a produção de compostos microbianos no rúmen (Detmann et al., 2010; Lazzarini, 2011; Rufino, 2011; Detmann et al., 2014a).

De todos os efeitos causados pela suplementação ruminal, talvez o mais proeminente seja a ampliação da concentração de NAR (Detmann et al., 2010; Rufino, 2011). Em animais não suplementados existe a tendência de o rúmen atuar sob balanço negativo de compostos nitrogenados, o que indica ganho líquido de nitrogênio via reciclagem (Detmann et al., 2010). Assim, o suprimento de compostos nitrogenados via suplementação poderia suprir nitrogênio ao rúmen, reduzindo a demanda por nitrogênio reciclado (Rufino, 2011; Detmann et al., 2014a).

Tabela 1 – Resumo de resultados obtidos em estudos com suplementação infrequente no Brasil

Estudo	PB na Forragem (%)	Suplemento			Variação no Ganho Médio Diário ³		Variação do Consumo Voluntário de Forragem ³	
		Proteína Bruta (%)	Massa diária ¹	Frequências Estudadas ²	S vs. C	I vs. D	S vs. C	I vs. F
De Paula et al. (2010)	4,01	32	1 kg	D, 3X	n.a.	↑	n.a.	→
Rosa et al. (2010)	19,4	17	10 g/kg PC	C, D, 5X	→	→	n.a.	n.a.
Canesin et al. (2009)	3,5	24	1 kg	D, 3X	n.a.	→	n.a.	n.a.
Canesin (2009)	3,0-4,8	21-28	10 g/kg PC	D, 5X, DA	n.a.	→	n.a.	→
De Paula et al. (2011)	4,54	32	1 kg	C, D, 3X	n.a.	n.a.	↓	↑
Morais et al. (2009)	5,89-7,55	n.d. ⁴	5 g/kg PC	D, 5X, 3X	n.a.	n.a.	n.a.	→
Moraes et al. (2010)	5,66	30	1 kg	D, 6X, 5X, 3X	n.a.	n.a.	n.a.	→
Goes et al. (2005)	5,07	24	0,4 kg	C, D, 3X, 2X	↑	→	n.a.	n.a.
Biberg (2008)	3,60	23,7	3,5 g/kg PC	C, D, 5X, 3X	n.a.	n.a.	↑	→
Simioni et al. (2009)	4,6	25	3-6 g/kg PC	D, DA	↑	→	↑	→
Silveira (2007)	2,18-3,15	25,9	3,5 g/kg PC	C, D, 3X, 1X	↑	→	n.a.	n.a.
Zervoudakis (2003)	6,21	27,44	0,5 kg	C, D, 3X, 2X	→	→	n.a.	n.a.
Zervoudakis (2003)	5,75	31,18	0,5 kg	C, D, 3X, 2X	→	→	n.a.	n.a.

¹ Massa equivalente diária de suplemento em kg ou em g por kg de peso corporal.

² C = controle, sem suplementação; D = suplementação diária; DA = suplementação em dias alternados; 6X, 5X, 4X, 3X, 2X, 1X = fornecimento de suplementos em termos de vezes em uma semana.

³ S vs. C = efeitos da suplementação em relação ao controle (sem suplementação); I vs. D = efeito da suplementação infrequente em comparação ao fornecimento diário; n.a. = não avaliado no estudo; ↑ = efeito positivo; ↓ = efeito negativo; → = sem alteração.

⁴ não detectado nos relatos do estudo.

O suprimento de NAR é provido pela degradação da proteína dietética e pelos eventos de reciclagem de nitrogênio na forma de ureia via saliva e epitélio ruminal (Van Soest, 1994). Considerando-se a baixa concentração de NAR em animais alimentados com forragem de baixa qualidade, a reciclagem de nitrogênio nesta situação assumiria papel de mecanismo para manutenção do crescimento dos microrganismos ruminais. Em outras palavras, quando a massa de nitrogênio dietético disponível no rúmen é baixa, se espera participação significativa da reciclagem como ferramenta para a sustentação do crescimento microbiano ruminal (Rufino, 2011; Detmann et al., 2014b).

O nitrogênio direcionado para manutenção do pool ruminal de nitrogênio amoniacal é retirado da corrente sanguínea a partir da ureia circulante. Esta transferência é de certa forma facilitada, uma vez que a ureia transferida para o rúmen é rapidamente degradada à amônia pelos microrganismos ureolíticos presentes no epitélio ruminal (NRC, 1985). Isto faz com que a concentração de ureia no rúmen seja extremamente baixa em relação à concentração sanguínea, garantindo gradiente favorável para sua transferência (Van Soest, 1994). No entanto, a intensidade de transferência de ureia não deve ser vista simplesmente como efeito do ambiente de crescimento microbiano, mas como processo de interação entre o microrganismo e o hospedeiro com regulação específica (Waterlow, 2006).

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

Tabela 2 - Resumo de resultados obtidos em estudos com suplementação infrequente no exterior

Estudo	PB na Forragem (%)	Suplemento			Variação no Consumo Voluntário de Forragem ³		Variação do Balanço de Compostos Nitrogenados ³	
		Proteína Bruta (%)	Massa diária ¹	Frequências Estudadas ²	S vs. C	I vs. D	S vs. C	I vs. F
Krehbiel et al. (1998)	7,5	49	0,162 kg	C, D, DA ₃	↑	→	n.a.	n.a.
Wickersham et al. (2008)	4,7	95,5	61-183 mg N/kg PC	D, DA ₃	n.a.	→	n.a.	→
Atkinson et al. (2010a)	4,2	54,3-73,9	7,85 g N	D, DA ₂	n.a.	→	n.a.	n.a.
Atkinson et al. (2010b)	4,2	54,3-73,9	7,85 g N	D, DA ₂	n.a.	↓ ou →	n.a.	→
Bonhert et al. (2002)	5,2	52,8-59,8	1,9 g PB/kg PC	C, D, DA ₃ , DA ₆	→	↓	↑	→
Currier et al. (2004)	4,3	28,6-28,7	1 g PB/kg PC	C, D, DA ₂	→	↓	↑	→
Farmer et al. (2004a)	5,3	42	3,6 g/kg PC	D, 2X	n.a.	↓	n.a.	↓
Farmer et al. (2004b)	5,6	30	4,1 g/kg PC	D, DA ₂	n.a.	→	n.a.	n.a.
Farmer et al. (2001)	4,8	43	3,6 g/kg PC	D, 2X, 3X, 5X	n.a.	↓	n.a.	n.a.
Loy et al. (2008)	8,7	20,0-35,4	2,1-8,1 g/kg PC	D, 3X	n.a.	↓	n.a.	n.a.
Loy et al. (2007)	8,2	31	4 g/kg PC	C, D, DA ₂	↓	↓	n.a.	n.a.

¹ Massa equivalente diária de suplemento em kg ou em g por kg de peso corporal. N = em nitrogênio. PB em proteína bruta. Sem indicação = matéria seca.

² C = controle, sem suplementação; D = suplementação diária; DA₂, DA₃, DA₆ = suplementação em dias alternados a cada 2, 3 ou 6 dias; 5X, 3X, 2X = fornecimento de suplementos em termos de vezes em uma semana.

³ S vs. C = efeitos da suplementação em relação ao controle (sem suplementação); I vs. D = efeito da suplementação infrequente em comparação ao fornecimento diário; n.a. = não avaliado no estudo; ↑ = efeito positivo; ↓ = efeito negativo; → = sem alteração.

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

Os aminoácidos utilizados para síntese de uréia são retirados do pool sanguíneo de aminoácidos livres (Waterlow, 2006). Por sua vez, o pool de aminoácidos circulantes é mantido homeostaticamente (Van Soest, 1994).

Assim, com a maior captura hepática de aminoácidos, a manutenção homeostática do pool de aminoácidos seria realizada por intermédio de dois diferentes mecanismos. Em primeiro lugar, os aminoácidos absorvidos no intestino delgado (proteína metabolizável), deixariam de ser utilizados para síntese de tecidos (Detmann et al., 2010), reduzindo a eficiência da conversão da proteína metabolizável em proteína líquida (Lazzarini, 2011; Rufino, 2011).

Em segundo lugar, aminoácidos poderiam ser retirados dos tecidos, reduzindo a retenção de nitrogênio corpóreo (Detmann et al., 2010). Este argumento foi validado em condições tropicais por Rufino (2011), que verificou que na ausência de suplementação nitrogenada bovinos mobilizam maior quantidade de nitrogênio a partir de proteínas musculares.

Adicionalmente, animais alimentados com forragens de baixa qualidade deficientes em PB tendem a reduzir a excreção urinária de nitrogênio e ampliam o percentual do nitrogênio retido no organismo e reciclado ao ambiente ruminal (Hennessy & Nolan, 1988; Rufino, 2011). Isto indica que menor percentual da ureia circulante seria eliminada na urina,

mostrando que maior proporção seria redirecionada para a reutilização em locais de possível demanda no organismo, como a manutenção ruminal.

Com a suplementação ruminal ocorreria aumento na disponibilidade de NAR, tornando positivo o balanço de nitrogênio no rúmen e reduzindo a demanda de nitrogênio no rúmen a partir da reciclagem de ureia (Detmann et al., 2010; Rufino, 2011). Tais eventos parecem ampliar a eficiência de uso do nitrogênio absorvido (Lazzarini, 2011), uma vez que a proteína metabolizável deixaria de ser utilizada para eventos de reciclagem e seria efetivamente utilizada para síntese de tecidos corporais (Detmann et al., 2010). Adicionalmente, a maior disponibilidade de nitrogênio causada pela suplementação levaria à menor mobilização de proteína muscular (Rufino, 2011). A soma destes eventos culminaria na ampliação do balanço corporal de nitrogênio (Lazzarini, 2011; Rufino, 2011; Detmann et al., 2014b).

Devido aos efeitos metabólicos causados pela suplementação com compostos nitrogenados sobre a retenção de nitrogênio no organismo animal e considerando-se que o principal argumento biológico para a utilização de suplementação infrequente reside sobre um evento metabólico (reciclagem), a interpretação biológica e produtiva dos possíveis benefícios da suplementação infrequente deveria ser calcada em mensurações da eficiência de uso do nitrogênio suplementar.

A avaliação da eficiência de uso do nitrogênio com a suplementação infrequente é muitas vezes obtida de trabalhos conduzidos em condições não tropicais, observando-se respostas variáveis, como a perda ou manutenção da eficiência em relação à suplementação diária (Tabela 2). Embora alguns autores argumentem que a redução da frequência possa manter a eficiência de uso do nitrogênio ingerido (Atkinson et al., 2010a), evidências têm sido apresentadas de que a redução na frequência pode reduzir a eficiência de uso do nitrogênio ingerido e também a eficiência de uso do nitrogênio absorvido, uma vez que parte

da massa circulante de nitrogênio seria perdida devido ao incremento nas perdas urinárias (Farmer et al., 2004a; 2004b). Contudo, avaliações envolvendo a eficiência de uso de nitrogênio com a suplementação infrequente não foram encontradas no Brasil.

Objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação infrequente com compostos nitrogenados sobre o desempenho nutricional e as características metabólicas em bovinos alimentados com forragens tropicais

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATKINSON, R.L.; TOONE, C.D.; LUDDEN, P.A. Effects of ruminal protein degradability and frequency of supplementation on site and extent of digestion and ruminal fermentation characteristics in lambs fed low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.88, p.718-726, 2010a.
- 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, 2010b.
- BANDYK, C.A.; COCHRAN, R.C.; WICKERSHAM, T.A.; TITGEMEYER, E.C.; FARMER, C.G.; HIGGINS, J.J. Effect of ruminal vs postruminal administration of degradable protein on utilization of low-quality forage by beef steers. **Journal of Animal Science**, v.79, p.225-231, 2001.
- BIBERG, F.A. **Efeito da frequência de suplementação sobre os parâmetros ruminais, ingestão de matéria seca, desaparecimento da MS, FDN e digestibilidade aparente total em bovinos recebendo feno**. 2008. 37f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2008.
- BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; DeLCURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on performance and nitrogen use in ruminants consuming low-quality forage: Cow performance and efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1629-1637, 2002.
- CANESIN, R.C. **Frequência da suplementação de bovinos da raça nelore mantidos em pastagens**. 2009. 119f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Estadual Paulista/Jaboticabal, 2009.
- CANESIN, R.C.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A.; REY, F.S.B; RESENDE, K.T.; TEIXEIRA, I.A.M.A. Desempenho de bovinos em pastejo submetidos a duas frequências de suplementação no período da seca. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.31, p.417-423, 2009.

- COSTA, V.A.C. **Desempenho nutricional de bovinos em pastejo no período das águas com suplementação proteica ou proteico-energética.** 2009. 90f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.
- CURRIER, T.A.; BOHNERT, D.W.; FALCK, S.J.; SCHAUER, C.S.; BARTLE, S.J. Daily and alternate day supplementation of urea or biuret to ruminants consuming low-quality forage: I. Effects on cow performance and the efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal of Animal Science**, v.82, p.1508-1517, 2004.
- DE PAULA, N.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; CARVALHO, D.M.G.; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L.K.; MORAES, E.H.B.K.; OLIVEIRA, A.A. Suplementação infrequente e fontes proteicas para recria de bovinos em pastejo no período seco: desempenho produtivo e econômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.873-882, 2010.
- DE 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.
- DeLCURTO, T.; COCHRAN, R.C.; CORAH, L.R.; BEHARKA, A.A.; VANZANT, E.S.; JOHNSON, D.E. Supplementation of dormant Tallgrass-Prarie forage: II. Performance and forage utilization characteristics in grazing beef cattle receiving supplements of different protein concentrations. **Journal of Animal Science**, v.68, p.532-542, 1990.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Avaliação nutricional de alimentos ou de dietas? Uma abordagem conceitual. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 6, 2008, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2008. p.21-52.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MANTOVANI, H.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SAMPAIO, C.B.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; DETMANN, K.S.C. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livestock Science**, v.126, p.136-146, 2009.

- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Otimização do uso dos recursos forrageiros basais. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, 2010, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 2010. p.191-240.
- 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, 2014a.
- 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, 2014b.
- FARMER, C.G.; COCHRAN, R.C.; SIMMS, D.D. et al. The effects of several supplementation frequencies on forage use and the performance of beef cattle consuming dormant tallgrass prairie forage. **Journal of Animal Science**, v.79, p.2276-2285, 2001.
- 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 tallgrass-prairie. **Journal of Animal Science**, v.82, p.884-894, 2004b.
- FIGUEIRAS, J.F.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALENTE, T.N.P.; VALADARES FILHO, S.C.; LAZZARINI, I. Intake and digestibility in cattle under grazing supplemented with nitrogenous compounds during dry season. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1303-1312, 2010.
- GOES, R.H.T.B.; MANCIO, A.B.; ALVES, D.D.; LANA, R.P. Frequência de suplementação da dieta de novilhos em recria, mantidos no pasto de *Brachiaria brizantha* na região Amazônica. Desempenho animal. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.27, p.491-496, 2005.

- HENNESSY, D.W.; NOLAN, J.V. Nitrogen kinetics in cattle fed a mature subtropical grass hay with and without protein meal supplementation. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.39, p.1135-1150, 1988.
- HUNTINGTON, G.B.; ARCHIBEQUE, S.L. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.77, p.1X-11X, 2000.
- KREHBIEL, C.R.; FERRELL, C.L.; FREETLY, H.C. Effects of frequency of supplementation on dry matter intake and net portal and hepatic flux of nutrients in mature ewes that consume low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2464-2473, 1998.
- LAZZARINI, I. **Desempenho nutricional de bovinos em pastejo durante os períodos de seca e águas suplementados com compostos nitrogenados e/ou amido**. 2011. 62f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA, F.A. Consumo, digestibilidade e dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária**, v.61, p.635-647, 2009a.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA, F.A. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.10, p.2021-2030, 2009b.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of poor-quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Reviews**, v.3, p.277-303, 1990.
- LOY, T.W.; MacDONALD, J.C.; KLPFENSTEIN, T.J.; ERICKSON, G.E. Effect of distillers grains or corn supplementation frequency on forage intake and digestibility. **Journal of Animal Science**, v.85, p.2625-2630, 2007.

- LOY, T.W.; KLPFENSTEIN, T.J.; ERICKSON, G.E.; MACKEN, C.N.; MacDONALD, J.C. Effect of supplemental energy source and frequency on growing calf performance. **Journal of Animal Science**, v.86, p.3504-3510, 2008.
- MARINI, J.C.; VAN AMBURGH, M.E. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, v.81, p.545-552, 2003.
- MARINI, J.C.; KLEIN, J.D.; SANDS, J.M.; VAN AMBURGH, M.E. Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transport abundance in lambs. **Journal of Animal Science**, v.82, p.1157-1164, 2004.
- MORAES, E.H.B.K.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, K.A.K.; DETMANN, E.; SOUZA, M.G. Avaliação nutricional de estratégias de suplementação para bovinos de corte durante a estação seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.608-616, 2010.
- MORAIS, J.A.S.; BERCHIELLI, T.T.; QUEIROZ, M.F.S.; KELI, A.; REIS, R.A.; SOUZA, S.F. Influência da frequência de suplementação no consumo, na digestibilidade e na fermentação ruminal em novilhos de corte mantidos em pastagem de capim-marandu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, 1824-1834, 2009.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Ruminant nitrogen usage**. Washington: Academic Press, 1985. 119p.
- PARKER, D.S.; LOMAX, M.A.; SEAL, C.J.; WILTON, J.C. Metabolic implications of ammonia production in the ruminant. **Proceedings of Nutrition Society**, v.54, p.549-563, 1995.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação animal em pasto: energética ou protéica? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3, 2006, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: SIMFOR, 2006. p.359-392.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Bovinocultura funcional nos trópicos. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 6, 2008, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2008a. p.275-306.

- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALENTE, E.E.L., BARROS, L.V. Nutrição de bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 4, 2008, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2008b, p.131-169.
- ROSA, A.T.N.; ROCHA, M.G.; POTTER, L.; ROSO, D.; COSTA, V.G.; RIBEIRO, L.A.; SICHONANY, M.J.O. Recria de bezerras de corte em pastagem de azevém sob frequências de suplementação. **Ciência Rural**, v.40, p.2549-2554, 2010.
- RUFINO, L.M.A. **Suplementação nitrogenada ruminal e/ou abomasal em bovinos alimentados com forragem tropical**. 2011. 44f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; LAZZARINI, I.; SOUZA, M.A.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.38, p.560-569, 2009.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; PAULINO, P.V.R.; QUEIROZ, A.C. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds **Tropical Animal Health and Production**, v.42, p.1471-1479, 2010.
- SILVEIRA, L.F. **Desempenho e comportamento ingestivo diurno de bezerros desmamados em diferentes frequências de suplementação protéico-energética na época da seca**. 2007. 47f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Universidade de Brasília, 2007.
- SIMIONI, F.L.; ANDRADE, I.F.; LADEIRA, M.M.; GONÇALVES T.M.; MATA JÚNIOR, J.I.; CAMPOS, F.R. Níveis e frequência de suplementação de novilhos de corte a pasto na estação seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.2045-2052, 2009.
- SOUZA, M.A.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; SAMPAIO, C.B.; LAZZARINI, I.; VALADARES FILHO, S.C. Intake, digestibility and rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p.1299-1310, 2010.

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

WATERLOW, J.C. **Protein turnover**. Wallingford: CAB International, 2006. 320p.

WICKERSHAM, T.A.; COCHRAN, R.C.; TITGEMEYER, E.C.; FARMER, C.G.; KLEVESAHL, E.A.; ARROQUY, J.I.; JOHNSON, D.E.; GNAD, D.P. Effect of postruminal protein supply on the response to ruminal protein supplementation in beef steers fed a low-quality grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.115, p.19-36, 2004.

WICKERSHAM, T.A.; TITGEMEYER, E.C.; COCHRAN, R.C.; WICKERSHAM, E.E.; MOORE, E.S. Effect of postruminal protein supply on the response to ruminal protein supplementation in beef steers fed a low-quality grass hay. **Journal of Animal Science**, v.86, p.3089-3099, 2008.

ZERVOUDAKIS, J.T. **Suplementos múltiplos de auto-controle de consumo e frequência de suplementação, na recria de novilhos durante os períodos das águas e transição águas-seca**. Viçosa:UFV, 2003, 78p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

CAPÍTULO 1

Desempenho nutricional e características metabólicas em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade em respostas à suplementação infrequente com compostos nitrogenados

Introdução

As pastagens constituem a principal fonte de nutrientes para a bovinocultura de corte no Brasil, sendo que a sua utilização como recurso forrageiro basal destaca-se dos demais meios de alimentação pelo baixo custo de produção.

Animais em pastejo estão sujeitos a alterações tanto na quantidade, como na qualidade das forragens consumidas. Em alguns períodos do ano a produção e o consumo de forragem são suficientes para acumular reservas corporais, enquanto, em outros, o consumo é suficiente apenas para a manutenção ou ainda pode haver catabolismo das reservas corporais (Canesin et al., 2006).

Durante o período seco do ano observa-se defasagem quantitativa e qualitativa na oferta de forragem, caracterizada principalmente pelo aumento da lignificação, queda na digestibilidade da fibra (Leng, 1990; Paulino et al., 2008), além do baixo teor de proteína bruta (PB), apresentando valores inferiores aos considerados limítrofes para a degradação dos carboidratos fibrosos pelos microrganismos ruminais (<70 g PB/kg de matéria seca; Lazzarini et al., 2009).

A suplementação de bovinos em pastejo permite inserir fontes de nutrientes adicionais, refletindo em mudanças no consumo de forragem, na disponibilidade de energia dietética e, conseqüentemente, no desempenho animal (Paulino et al., 2010).

Segundo Paulino et al. (2012), os sistemas de produção de bovinos de corte têm evoluído para a intensificação, nos quais os animais têm sido selecionados para produzir cada vez mais em menor período de tempo, demandando nutrientes de forma intensa para suprir o seu alto potencial de crescimento e desenvolvimento.

Neste contexto, nos sistemas de produção eficientes a suplementação deve ser adotada como prática tecnológica, objetivando produção compatível com o mérito genético dos animais. Como geralmente o suplemento é considerado insumo de alto custo, há necessidade de fornecê-lo de forma racional, a fim de que a eficiência econômica não fique comprometida (Paulino et al., 2004).

Na grande maioria dos estudos, evidencia-se que o aumento no suprimento de proteína degradável no rúmen constitui o elemento de maior importância na definição de suplementos para bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade (DelCurto et al., 1990; Souza et al., 2010). Além disso, a complexidade dos efeitos do nitrogênio sobre a produção de animais em pastejo nos trópicos aumenta quando considera-se que sua disponibilidade metabólica afeta o uso da energia metabolizável e que a retenção de nitrogênio no organismo animal é reflexo da eficiência de uso de todos os substratos envolvidos na síntese corporal e de produtos (Detmann et al., 2014a).

O nitrogênio ruminal funcionalmente disponível (nitrogênio disponível para o crescimento microbiano) se origina não somente da proteína degradável no rúmen, mas também do nitrogênio disponibilizado no rúmen através da reciclagem de ureia, que é formada a partir do nitrogênio absorvido ou do nitrogênio mobilizado de fontes endógenas. O nitrogênio reciclado tem potencial para contribuir significativamente para o suprimento de nitrogênio ruminal (Wickersham et al., 2004), fator que tem definido o estudo de estratégias de suplementação infrequente para bovinos manejados em pastagens.

Sob a ótica da bovinocultura de precisão, tecnologias que envolvam a redução de custo do suplemento em si e da sua distribuição nos pastos são fundamentais (Paulino et al., 2006). A suplementação infrequente consiste basicamente no fornecimento da mesma massa de suplementos ofertados aos animais suplementados diariamente; contudo, a massa é ofertada de forma acumulada em dias alternados, sendo esta alternância variável em função da estratégia de manejo definida para o sistema de produção.

A redução da frequência de suplementação dos animais tem como principal objetivo a otimização do uso de mão de obra e consequente redução dos custos associados à distribuição dos suplementos.

O principal mecanismo metabólico utilizado como argumento para a suplementação infrequente é a reciclagem de nitrogênio (Krehbiel et al., 1998; Bonhert et al., 2002; Atkinson et al., 2010a). Neste contexto, o nitrogênio ingerido nos dias de suplementação seria responsável pela elevação do status de nitrogênio do organismo animal (Detmann et al., 2014b). Assim, com a maior massa de nitrogênio circulante, haveria disponibilidade deste para o suprimento de demandas como a manutenção de nitrogênio ruminal via reciclagem durante os dias em que o suplemento não fosse ofertado.

Devido aos efeitos metabólicos causados pela suplementação com compostos nitrogenados sobre a retenção de nitrogênio no organismo animal e considerando-se que o principal argumento biológico para a utilização de suplementação infrequente reside sobre um evento metabólico (reciclagem), a interpretação biológica e produtiva dos possíveis benefícios da suplementação infrequente deveria ser calcada em mensurações da eficiência de uso do nitrogênio suplementar.

A avaliação da eficiência de uso do nitrogênio com a suplementação infrequente tem sido realizada apenas em trabalhos conduzidos em condições não tropicais, nos quais

observam-se respostas variáveis, como a perda ou a manutenção da eficiência em relação à suplementação diária (Currier et al., 2004; Atkinson et al., 2010b; McGuire et al., 2013).

Embora alguns autores argumentem que a redução da frequência possa manter a eficiência de uso do nitrogênio ingerido (Atkinson et al., 2010a), evidências têm sido apresentadas de que a redução na frequência pode reduzir a eficiência de uso do nitrogênio ingerido e também a eficiência de uso do nitrogênio absorvido, uma vez que parte da massa circulante de nitrogênio seria perdida devido ao incremento nas perdas urinárias (Farmer et al., 2004a; 2004b).

No Brasil, os trabalhos com suplementação infrequente têm sido baseados em mensurações produtivas e econômicas, não sendo encontrados estudos com avaliações envolvendo as eficiências dietética e metabólica de uso de nitrogênio.

Desta forma, objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação infrequente com compostos nitrogenados no rúmen sobre o desempenho nutricional, características metabólicas e dinâmica ruminal dos compostos fibrosos em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

Foram utilizados cinco novilhos mestiços, não castrados, com peso corporal (PC) médio inicial de 262 ± 20 kg, fistulados no rúmen e no abomaso. Os animais foram mantidos em baias individuais cobertas, com piso de concreto, dispostas com comedouro e acesso irrestrito a água e mistura mineral.

Os procedimentos experimentais foram conduzidos conforme normas da Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV; protocolo 17/2013).

A alimentação volumosa basal foi constituída por feno de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*) com teor médio de PB de 47,2 g/kg de matéria seca (MS; Tabela 1), o qual foi fornecido diariamente ad libitum, às 6h00 e 18h00, permitindo-se sobras de aproximadamente 100 g/kg de forragem fornecida.

Foram avaliados os seguintes tratamentos: controle, sem suplementação (somente forragem); 30/D, suplementação diária com o fornecimento diário de 30% das exigências de proteína degradável no rúmen (PDR); 30/I, suplementação infrequente (a cada três dias) com o fornecimento equivalente diário de 30% das exigências de PDR; 60/D, suplementação diária com o fornecimento diário de 60% das exigências de PDR; e 60/I, suplementação infrequente (a cada três dias) com o fornecimento equivalente diário de 60% das exigências de PDR.

As exigências de PDR foram calculadas com base no sistema BR-CORTE (Marcondes et al., 2010), considerando-se um novilho mestiço Europeu × Zebu, não castrado, com 250 kg de PC e ganho esperado de 500 g/dia. Para os tratamentos com o fornecimento de 30 e 60% das exigências de PDR, foram fornecidos, em média, 110 e 220 g de PB suplementar diariamente. No caso dos tratamentos com suplementação infrequente, a massa de PB suplementar diária foi mantida, sendo, contudo, fornecida a cada três dias, perfazendo, em média, 330 e 660 g de PB no dia determinado para a suplementação, seguido por dois dias sem o fornecimento de suplemento.

Como fonte de PB suplementar foi utilizada a mistura de caseína e ureia:sulfato de amônio (9:1). O suplemento foi constituído por 85 e 15% de caseína e ureia:sulfato de amônio, respectivamente, apresentando, aproximadamente, 1140 g PB/kg MS (Tabela 1).

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

Item	Feno ⁴	Suplemento
MS ¹	900,5±3,4	893,5
MO ²	967,1±1,3	981,2
PB ²	47,2±0,4	1140,0
EE ²	8,8±0,7	1,5
FDNcp ²	817,7±4,5	-
PIDN ²	27,9±1,1	-
CNF ^{2,3}	93,3±4,7	93,8
Lignina ²	81,3±1,7	-
FDNi ²	446,7±3,4	-

¹g/kg de matéria natural. ² g/kg de matéria seca. ³calculados segundo Detmann & Valadares Filho (2010). ⁴ Média ± erro padrão.

Previamente ao início do experimento os animais foram adaptados por 15 dias às condições de manejo, às instalações e à forragem ofertada.

O experimento foi constituído de cinco períodos experimentais com 24 dias de duração cada. Devido à suplementação infrequente ocorrer a cada três dias, todas as atividades foram realizadas em conjunto de dias múltiplos de três. Os primeiros nove dias de cada período experimental foram destinados à adaptação dos animais aos suplementos e às frequências de fornecimento.

A suplementação característica de cada tratamento foi iniciada no primeiro dia de cada período experimental. O suplemento total foi fracionado em duas porções de mesmo peso, acondicionado em sacos de papel e fornecido diretamente no rúmen dos animais simultaneamente ao fornecimento da forragem (6h00 e 18h00).

O consumo e os coeficientes de digestibilidade foram avaliados do 10º ao 16º dia de cada período. Neste sentido, foi computado o consumo médio do 10º ao 15º dias e as sobras obtidas do 11º ao 16º dias. Amostras do feno fornecido e das sobras deste período foram

compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período experimental.

A excreção fecal foi avaliada por intermédio de coletas pontuais de fezes, realizadas do 11º ao 16º dias de cada período experimental, seguindo-se a distribuição: 11º dia – 4h00 e 16h00; 12º dia – 6h00 e 18h00; 13º dia – 8h00 e 20h00; 14º dia – 10h00 e 22h00; 15º dia – 12h00 e 24h00; e 16º dia – 2h00 e 14h00.

Com o objetivo de se estimar o fluxo abomasal, os animais receberam entre o 8º e o 15º dias de cada período experimental, 4 g/dia do indicador Co-EDTA (Udén et al., 1980). O indicador foi fracionado em quatro doses de mesmo peso e acondicionados no rúmen dos animais a cada seis horas (06h00, 12h00, 18h00 e 24h00). Desta forma, entre o 11º e o 16º dia de cada período experimental, foram realizadas coletas de digesta abomasal seguindo-se a distribuição: 11º dia – 6h00; 12º dia – 10h00; 13º dia – 14h00; 14º dia – 18h00; 15º dia – 22h00; e 16º dia – 2h00, sendo coletadas aproximadamente 1 L de digesta em cada horário. As amostras de digesta abomasal foram divididas em duas partes. A primeira parte (aproximadamente 750 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 independentemente. A segunda parte (aproximadamente 250 mL) foi congelada e ao final de cada período experimental, foram realizadas amostras compostas por animal, sendo essas amostras utilizadas para o isolamento de bactérias (Reynal et al., 2005; Krizsan et al., 2010).

Do 16º ao 18º dias de cada período experimental foram realizadas coletas totais de urina. Foram adaptados aos animais funis coletores sob a região peniana, os quais foram acoplados a mangueiras de polietileno que direcionavam a urina a reservatórios de polietileno mantidos em caixas de isopor com gelo. As coletas foram iniciadas às 6h00 do 16º dia de cada período. Ao final de cada período de 24 horas, o total de urina foi mensurado

e duas alíquotas de 50 mL foram obtidas. A primeira foi conduzida ao Laboratório de Nutrição Animal do DZO para avaliação dos teores de nitrogênio total (método INCT-CA N-001/1; Detmann et al., 2012), ureia (método enzimático colorimétrico com fator clareante de lípidos; Human® 10505) e creatinina (método do picrato alcalino; Human® 006). A segunda alíquota de urina foi congelada (-80°C), e enviada para laboratório comercial (Laboratórios Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG) para quantificação dos teores de 3-metil-histidina por intermédio de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC).

Nos 19º, 20º e 21º 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) e tubos com vácuo e inibidor de coagulação (BD Vacutainer® K2). Ao final do período de coleta foram produzidas seis amostras compostas por animal em cada período experimental, as quais foram enviadas para laboratório comercial (Laboratório Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG) para serem analisadas quanto às concentrações séricas de: ureia (método enzimático colorimétrico com fator clareante de lípidos; Human® 10505), creatinina (método do picrato alcalino; Human® 006), glicose (método enzimático colorimétrico; Biosystems® A15), triglicérides (método enzimático colorimétrico; Biosystems® A15), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF1; método da quimioluminescência; DiaSorin®) e ácidos graxos não esterificados (NEFA; espectrofotometria enzimática); e concentração plasmática de aminoácidos livres (HPLC; cromatografia quantitativa de aminoácidos).

Ainda durante os 19º, 20º e 21º dias, imediatamente após as coletas de sangue foram tomadas amostras de conteúdo ruminal às 6h00, 12h00, 18h00 e 24h00 para avaliação do pH, da concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) e de ácidos graxos voláteis (AGV; acetato, propionato e butirato). As amostras foram coletadas manualmente na

interface líquido:sólido do ambiente ruminal, filtradas por uma camada tripla de gaze e submetidas à avaliação do pH por intermédio de potenciômetro digital. Em seguida, foi separada uma alíquota de 40 mL, fixada com 1 mL de H₂SO₄ (1:1) e congelada (-20°C) para posterior análise da concentração de NAR. Uma segunda alíquota de 20 mL foi fixada com 5 mL de ácido meta-fosfórico (250 g/L) e congelada (-20°C) para avaliação posterior da concentração de AGV.

No 22º e 24º dias foram realizados os esvaziamentos ruminais para quantificação da massa residente de fibra no rúmen e das taxas de degradação e passagem do material fibroso. No 22º dia, o conteúdo ruminal foi retirado às 10h00 (4 horas após a alimentação matinal) e no 24º dia, às 6h00 (antes da alimentação matinal). O material coletado foi acondicionado em recipiente de polietileno e pesado. Após homogeneização, alíquota de aproximadamente 50 g/kg do material foi retirada, sendo o material restante retornado ao rúmen dos animais. Ressalta-se que o esvaziamento ruminal não foi realizado durante três dias, como preconizado para os demais procedimentos, devido ao grande estresse provocado nos animais.

As amostras de feno, sobras, fezes, digesta abomasal (fases líquida e sólida) e de conteúdo ruminal (amostra oriunda do esvaziamento), foram secas em estufa com ventilação forçada (60°C), processadas em moinho de facas (1 e 2 mm) e compostas, com base no peso seco ao ar, por animal e período experimental.

Posteriormente, as alíquotas de feno, sobras, fezes e digesta abomasal, processadas em peneiras de porosidade 1 mm, foram avaliadas quanto aos teores de MS pelo método INCT-CA G-003/1, matéria orgânica (MO) pelo método INCT-CA M-001/1, PB pelo método INCT-CA N-001/1, extrato etéreo (EE) pelo método INCT-CA G-005/1, fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) pelos métodos INCT-CA F-

002/1, INCT-CA M-002/1 e INCT-CA N-004/1, e lignina pelo método INCT-CA F-005/1, conforme técnicas descritas por Detmann et al. (2012).

As amostras de digesta abomasal (fases líquida e sólida) foram avaliadas quanto à sua concentração de cobalto por intermédio de espectrofotometria de absorção atômica.

As amostras de feno, sobras, fezes, digesta abomasal (fase sólida) e de conteúdo ruminal (amostra oriunda do esvaziamento), processadas em peneira de 2 mm, foram avaliadas quanto ao teor de FDN indigestível (FDNi) pelo método INCT-CA F-009/1, utilizando-se sacos F57 (Ankom®) em procedimento de incubação in situ por 288 horas (Detmann et al., 2012).

A excreção fecal de MS foi estimada pela razão entre a concentração fecal e o consumo diário de FDNi. O fluxo abomasal de matéria seca foi estimado utilizando a FDNi como indicador da fase sólida e o Co-EDTA como indicador de fase líquida. Para este procedimento, pressupôs-se que a FDNi 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 & Siddons (1986).

As taxas relativas à dinâmica ruminal da FDN, da FDN potencialmente digestível (FDN_{pd}) e da FDNi foram estimadas por intermédio das equações:

$$\text{MRFDN} = \text{MRm} \times [\text{FDNR}] \quad (1);$$

$$\text{MRFDNi} = \text{MRm} \times [\text{FDNiR}] \quad (2);$$

$$\text{MRFDN}_{\text{pd}} = \text{MRFDN} - \text{MRFDNi} \quad (3);$$

$$k_{\text{iFDN}} = \frac{\text{CFDN}}{\text{MRFDN}} \div 24 \quad (4);$$

$$k_{\text{iFDN}_{\text{pd}}} = \frac{\text{CFDN}_{\text{pd}}}{\text{MRFDN}_{\text{pd}}} \div 24 \quad (5);$$

$$kpFDN = \frac{FaFDN}{MRFDN} \div 24 \quad (6);$$

$$kpFDNpd = \frac{FaFDN - CFDNi}{MRFDNpd} \div 24 \quad (7);$$

$$kpFDNi = \frac{CFDNi}{MRi} \div 24 \quad (8);$$

$$kdFDNpd = kiFDNpd - kpFDNpd \quad (9);$$

em que: MRFDN = massa ruminal de FDN (g); MRm = massa ruminal de MS (g); [FDNR] = concentração ruminal de FDN (g/g de MS); MRFDNpd = massa ruminal de FDNpd (g); MRFDNi = massa ruminal de FDNi (g); [FDNiR] = concentração ruminal de FDNi (g/g de MS); kiFDN = taxa de ingestão de FDN (/h); CFDN = consumo de FDN (g/dia); kiFDNpd = taxa de ingestão de FDNpd (/h); CFDNpd = consumo de FDNpd (g/dia); kpFDN = taxa de passagem ruminal da FDN (/h); FaFDN = fluxo abomasal de FDN (g/dia); kpFDNpd = taxa de passagem ruminal da FDNpd (/h); FaFDN = fluxo abomasal de FDN (g/dia); CFDNi = consumo de FDNi (g/dia); kpFDNi = taxa de passagem ruminal da FDNi (/h); e kdFDNpd = taxa de degradação da FDNpd (/h).

A concentração de NAR foi quantificada pelo método colorimétrico INCT-CA N-006/1 (Detmann et al., 2012). As concentrações obtidas nos diferentes tempos de amostragem foram combinadas por animal e período, dentro de cada dia de coleta, produzindo-se, ao final, valor único, representativo da média diária de concentração de NAR para cada um dos três dias de avaliação. Combinação similar foi conduzida sobre os valores de pH ruminal.

As amostras de líquido ruminal relativas á avaliação da concentração de AGV, depois de descongeladas, foram compostas proporcionalmente (volumes iguais para cada coleta) por animal e período, sendo produzidas então amostras relativas aos três dias de avaliação, as quais foram analisadas por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC;

cromatógrafo Shimadzu, modelo SPD-10A VP), utilizando-se coluna de fase reversa (fase móvel de ácido orto-fosfórico em água, 10 mL/L) e detector ultra-violeta em comprimento de onda de 210 nm.

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

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

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

$$CNUF = \frac{EUC}{CSC} \times NUS \quad (10);$$

$$EFNU = \frac{EUNU}{CNUF} \quad (11);$$

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

As estimativas de CNUF e EFNU foram avaliadas para cada um dos três dias de coletas urinárias.

Os experimento foi implementado e analisado segundo delineamento em quadrado latino 5×5 , com cinco tratamentos, cinco animais e cinco períodos experimentais segundo esquema fatorial $2 \times 2 + 1$ (dois níveis de suplementação: 30 ou 60% das exigências de PDR; duas frequências de suplementação: diária ou a cada três dias; mais tratamento controle, sem suplementação). Os efeitos de tratamentos foram assumidos como fixos, ao passo que os efeitos de animal e período experimental foram assumidos como aleatórios.

As variáveis mensuradas e avaliadas em função de diferentes dias (NAR, NUS, pH ruminal, concentrações de AGV, concentrações sanguíneas de aminoácidos, glicose, triglicérides, IGF1 e NEFA, excreções urinárias de nitrogênio, nitrogênio ureico e 3-metilhistidina; CNUF e EFNU) foram avaliadas em esquema de medidas repetidas no tempo por intermédio de método de modelos mistos (Kaps & Lamberson, 2004). Para este caso, foi realizada previamente a escolha da melhor estrutura de matriz de (co)variâncias por intermédio do critério de Akaike corrigido, optando-se por estrutura com simetria composta. O cômputo dos graus de liberdade foi realizado segundo o critério de Kenward-Rogers.

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio do procedimento MIXED do SAS (Statiscal Analysis System; versão 9.4) adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados

Em geral, o fornecimento de suplemento não alterou ($P > 0,05$) o consumo voluntário em relação ao tratamento controle, com exceção dos consumos de PB e MO digerida (MOD), os quais foram ampliados ($P < 0,05$) com o fornecimento de suplementos (Tabela 2).

Para todas as medidas de consumo foi observado efeito de interação entre quantidade de suplemento e frequência de suplementação ($P < 0,05$; Tabela 2). Considerando-se o

desdobramento deste efeito, observou-se para os consumos de forragem, FDN e FDNi, todos em kg/dia, e para todos os consumos avaliados em relação ao PC que o fornecimento infrequente de 60% das exigências de PDR deprimiu o consumo ($P < 0,05$) em relação tanto ao fornecimento diário de 60% das exigências de PDR quanto ao fornecimento infrequente de 30% das exigências de PDR.

Por outro lado, para os consumos de MS, MO, PB, FDN digerida (FDND) e FDN não digerida (FDNND) verificou-se que o fornecimento infrequente de 60% das exigências de PDR reduziu o consumo ($P < 0,05$) em relação ao fornecimento desta mesma quantidade de forma diária. O consumo de MOD foi ampliado ($P < 0,05$) pelo fornecimento diário de 60% das exigências de PDR em relação ao fornecimento infrequente desta mesma quantidade e ao fornecimento diário de 30% das exigências de PDR.

Não foram verificados efeitos ($P > 0,05$) da frequência de suplementação ou interação entre frequência de suplementação e quantidade de suplemento, sobre os coeficientes de digestibilidade total, ruminal e intestinal e sobre a concentração de MOD na dieta (Tabela 3).

O fornecimento de suplemento ampliou ($P < 0,05$) o coeficientes de digestibilidade ruminal da PB. Adicionalmente, os coeficientes de digestibilidade ruminal da PB foram maiores ($P < 0,05$) com o fornecimento de 60% das exigências de PDR em relação ao fornecimento de 30% de PDR, independentemente da frequência de fornecimento. Ressalta-se que coeficientes de digestibilidade ruminal da PB positivos somente foram obtidos quando 60% das exigências de PB foram supridas (Tabela 3).

Tabela 2 - Consumo voluntário de matéria seca (MS), MS de forragem (MSF), matéria orgânica (MO) proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), MO digerida (MOD), fibra em detergente neutro digerida (FDND), FDN não digerida (FDNND) e relação PB:MOD em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos ¹					EPM	Valor-P ²			
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I		C vs. S	Q	F	Q × F
	kg/dia									
MS	3,277	3,437	3,552	3,802	2,944	0,2419	0,499	0,558	0,090	0,032
MSF	3,277	3,344	3,459	3,616	2,758	0,2419	0,938	0,309	0,090	0,032
MO	3,172	3,328	3,439	3,683	2,853	0,2357	0,495	0,565	0,090	0,032
PB	0,151	0,263	0,269	0,383	0,344	0,0108	<0,001	<0,001	0,092	0,034
FDNcp	2,680	2,737	2,830	2,948	2,265	0,2023	0,935	0,298	0,095	0,034
FDNi	1,433	1,472	1,532	1,569	1,194	0,1219	0,935	0,206	0,105	0,033
MOD	0,877	0,953	0,965	1,207	0,938	0,0758	0,045	0,063	0,039	0,026
FDND	0,940	0,905	0,950	1,042	0,799	0,0769	0,798	0,897	0,104	0,025
FDNND	1,740	1,832	1,880	1,907	1,466	0,1507	0,805	0,155	0,105	0,050
PB:MOD ³	179	281	282	320	371	-	-	-	-	-
	g/ kg de peso corporal									
MS	13,9	14,6	15,1	15,8	12,1	0,91	0,653	0,328	0,079	0,026
MSF	13,9	14,1	14,7	15,1	11,3	0,91	0,874	0,173	0,084	0,028
MO	13,5	14,1	14,6	15,3	11,7	0,88	0,646	0,334	0,080	0,025
FDNcp	11,4	11,6	12,0	12,3	9,3	0,75	0,876	0,176	0,102	0,032
FDNi	6,1	6,2	6,5	6,5	4,8	0,42	0,878	0,130	0,108	0,031

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infreqüentemente (a cada 3 dias), respectivamente.

² C vs. S, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da freqüência de suplementação; Q × F, interação entre quantidade de suplemento e freqüência de suplementação.

³ g PB/kg MOD.

Nenhum efeito foi verificado ($P>0,05$) sobre os coeficientes de digestibilidade intestinal (Tabela 3).

O fornecimento de suplementos ampliou ($P<0,05$) os coeficientes de digestibilidade total da MO e PB e a concentração dietética de MO digerida (Tabela 3). Por outro lado, o aumento na quantidade de suplementos ampliou ($P<0,05$) os coeficientes de digestibilidade total da MO, PB e FDNcp e a concentração de MOD na dieta (Tabela 3).

Observou-se efeito da frequência de suplementação ($P<0,05$) sobre as massas ruminais de FDN, FDNpd e de FDNi, sendo que maiores massas foram verificadas com o fornecimento diário de suplementos. Nenhum outro efeito foi verificado sobre estas variáveis ($P>0,05$; Tabela 4).

Não foram verificados efeitos ($P>0,05$) sobre as taxas associadas à dinâmica ruminal dos compostos fibrosos (Tabela 4).

O consumo de nitrogênio apresentou o mesmo comportamento verificado para o consumo de PB (Tabela 5). Por outro lado, nenhum efeito ($P>0,05$) foi verificado sobre a excreção fecal de nitrogênio.

O balanço aparente de compostos nitrogenados (BN) foi incrementado ($P<0,05$) pelo fornecimento de suplementos em relação ao controle, mas não foi afetado ($P>0,05$) pela quantidade de suplemento, frequência de suplementação ou sua interação (Tabela 5). Por outro lado, a eficiência de uso do nitrogênio (EFUN, g/g de nitrogênio ingerido), além de ter sido ampliado pelo fornecimento de suplementos ($P<0,05$), foi maior ($P<0,05$) nos animais recebendo 60% das exigências de PDR em comparação aos animais recebendo 30% das exigências de PDR, não sendo afetado ($P>0,05$) pela frequência de suplementação (Tabela 5).

Tabela 3 - Coeficientes de digestibilidade (g/g) ruminal, intestinal e total da matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e concentração dietética de matéria orgânica digerida (MOD; g/kg MS) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos ¹					EPM	Valor-P ²			
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I		C vs. S	Q	F	Q × F
			Ruminal ³							
MO	0,168	0,166	0,159	0,158	0,191	0,0323	0,999	0,701	0,679	0,536
PB	-0,735	-0,071	-0,120	0,088	0,171	0,1151	<0,001	0,044	0,867	0,525
FDNcp	0,350	0,341	0,362	0,347	0,405	0,0266	0,574	0,275	0,088	0,403
			Intestinal ³							
MO	0,123	0,134	0,143	0,199	0,178	0,0367	0,310	0,178	0,869	0,679
PB	0,456	0,497	0,507	0,582	0,583	0,0445	0,085	0,070	0,895	0,909
FDNcp	-0,003	-0,020	-0,044	-0,002	-0,072	0,0444	0,393	0,879	0,161	0,489
			Total							
MO	0,274	0,287	0,281	0,328	0,338	0,0174	0,015	<0,001	0,850	0,499
PB	0,110	0,482	0,451	0,625	0,654	0,0278	<0,001	<0,001	0,955	0,219
FDNcp	0,349	0,333	0,337	0,352	0,364	0,0199	0,801	0,022	0,371	0,621
MOD	266	278	272	318	327	16,8	0,015	0,001	0,857	0,506

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infreqüentemente (a cada 3 dias), respectivamente.

² C vs. S, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da freqüência de suplementação; Q × F, interação entre quantidade de suplemento e freqüência de suplementação.

³ Calculado como fração do que chegou ao local de digestão.

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

Item	Tratamentos ¹					EPM	Valor-P ²			
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I		C vs. S	Q	F	Q × F
	g/kg de peso corporal									
MRFDN	18,5	19,1	17,3	19,7	14,6	1,22	0,447	0,301	0,004	0,122
MRFDNpd	4,2	4,0	3,6	4,1	3,2	0,33	0,190	0,725	0,047	0,369
MRFDNi	14,4	15,1	13,7	15,5	11,4	1,09	0,654	0,256	0,005	0,114
	/h									
ki FDN	0,0258	0,0262	0,0297	0,0266	0,0268	0,00289	0,586	0,612	0,445	0,509
ki FDNpd	0,0546	0,0568	0,0653	0,0592	0,0587	0,00533	0,277	0,633	0,359	0,314
kd FDNpd	0,0413	0,0419	0,0522	0,0441	0,0497	0,00588	0,290	0,972	0,107	0,620
kp FDN	0,0168	0,0174	0,0188	0,0174	0,0159	0,00194	0,727	0,334	>0,999	0,334
kp FDNpd	0,0132	0,0148	0,0132	0,0151	0,0091	0,00323	0,949	0,490	0,181	0,443
kp FDNi	0,0178	0,0182	0,0203	0,0181	0,0180	0,00226	0,702	0,530	0,601	0,537

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infreqüentemente (a cada 3 dias), respectivamente.

² C vs. S, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da freqüência de suplementação; Q × F, interação entre quantidade de suplemento e freqüência de suplementação.

O balanço de compostos nitrogenados no rúmen (BNRU) foi incrementado ($P < 0,05$) pelo fornecimento de suplementos e foi superior ($P < 0,05$) com o fornecimento de 60% em relação a 30% das exigências de PDR. Esta variável não foi afetada ($P > 0,05$) pela frequência de suplementação ou pela interação entre frequência e quantidade de suplementos (Tabela 5). Ressalta-se que somente foram observados valores positivos de BNRU quando 60% das exigências de PDR foram supridas via suplementação.

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (NMIC, g/dia) e a eficiência de síntese microbiana (EFM) foram afetados ($P < 0,05$) pela quantidade de suplementos, sendo observados maiores valores quando os suplementos atendiam 60% das exigências de PDR (Tabela 5). Para estas variáveis não se observou efeito da suplementação, da frequência de fornecimento do suplemento e da interação entre a quantidade de suplemento e frequência de suplementação ($P > 0,05$).

O pH ruminal não diferiu ($P > 0,05$) entre controle e tratamentos envolvendo suplementação (Tabela 6). Houve efeito da frequência de suplementação, cujos valores médios de pH foram maiores ($P < 0,05$) nos tratamentos com fornecimento infrequente. Observou-se efeito de dia ($P < 0,05$) sobre os valores de pH, cujos maiores valores de pH ruminal foram observados em média no primeiro dia de amostragem (1º dia – 6,73; 2º dia – 6,61; 3º dia – 6,59).

Tabela 5 - Consumo de nitrogênio (CN, g/dia), excreção fecal de nitrogênio (EFN, g/dia), balanço aparente de compostos nitrogenados (BN, g/dia), eficiência de uso do nitrogênio (EFUN, g/g N ingerido), balanço nitrogenado no rúmen (BNRU, g/dia), fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (NMIC, g/dia) e eficiência de síntese microbiana (EFM - g PB microbiana/kg de MO digerida) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos ¹					EPM	Valor-P ²			
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I		C vs. S	Q	F	Q × F
CN	24,2	42,1	43,0	61,4	55,0	1,72	<0,001	<0,001	0,091	0,034
EFN	21,5	21,9	23,6	23,1	19,4	1,68	0,754	0,316	0,507	0,083
BN	-12,3	-7,3	-7,2	0,0	-4,6	2,52	0,019	0,069	0,380	0,355
EFUN	-0,52	-0,18	-0,17	0,00	-0,08	0,058	<0,001	0,036	0,552	0,462
BNRU	-17,2	-2,6	-5,2	5,5	8,9	3,65	<0,001	0,005	0,910	0,360
NMIC	13,1	14,2	14,8	26,8	21,9	3,84	0,160	0,022	0,573	0,480
EFM	95,3	92,5	94,2	144,3	151,6	23,92	0,352	0,037	0,850	0,906

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infrequentemente (a cada 3 dias), respectivamente..

² C vs. S, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da frequência de suplementação; Q × F, interação entre quantidade de suplemento e frequência de suplementação.

A concentração de NAR foi incrementada nos tratamentos com suplementação nitrogenada em relação ao tratamento controle ($P < 0,05$; Tabela 6). Adicionalmente, observou-se efeito da quantidade de suplemento, evidenciando maiores valores ($P < 0,05$) nos tratamentos com 60% das exigências de PDR em relação aos tratamentos 30% PDR ($P < 0,05$). Houve interação entre dias de amostragem e tratamentos ($P < 0,05$). O desmembramento deste efeito mostrou que apenas nos tratamentos cuja suplementação foi infrequente houve diferença entre dias ($P < 0,05$), observando-se maiores valores de NAR no primeiro dia de amostragem, com queda gradativa na concentração para os demais dias (Figura 1).

A concentração ruminal de ácidos graxos voláteis (AGV) não diferiu ($P > 0,05$) entre controle e tratamentos envolvendo suplementação (Tabela 6). Sobre esse parâmetro observou-se efeito de dia ($P < 0,05$), cujos maiores valores de AGV ruminais foram observados no primeiro dia de amostragem (1º dia – 5,647; 2º dia – 5,363; 3º dia – 4,772).

Adicionalmente, não foram verificados efeitos ($P > 0,05$) sobre as proporções molares de acetato, propionato, butirato e sobre a relação acetato:propionato (A/P; Tabela 6).

Nenhum efeito foi verificado ($P > 0,05$) sobre as concentrações sanguíneas de glicose, triglicérides, ácidos graxos não esterificados, aminoácidos totais, e excreção urinária de 3metil-histidina (Tabela 7).

A concentração de IGF1 no plasma foi maior nos animais suplementados em relação aos do tratamento controle ($P < 0,05$). Adicionalmente, houve efeito da quantidade de suplemento ($P < 0,05$), cujos tratamentos com suplementação com o suprimento de 60% das exigências PDR apresentaram maiores concentrações plasmáticas de IGF1 (Tabela 7). Não foram verificados efeitos ($P > 0,05$) da frequência de suplementação, dia de amostragem ou das interações estudadas.

Tabela 6 - Concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR – mg/dL), pH ruminal, concentração ruminal de ácidos graxos voláteis (AGV – mmol/dL), proporção molar de acetato, propionato e butirato (mmol/100mmol) e relação acetato:propionato (A:P) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos					EPM	Valor P ²					
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I		C vs. S	Q	F	Q × F	D	T × D
pH	6,67	6,55	6,64	6,60	6,74	0,109	0,542	0,111	0,029	0,618	0,002	0,294
NAR	4,8	15,1	13,2	23,5	31,4	3,56	<0,001	<0,001	0,305	0,112	<0,001	<0,001
AGV	5,646	5,213	5,120	5,219	5,106	0,7520	0,251	0,993	0,779	0,978	0,032	0,842
Acetato	66,26	65,62	66,66	66,12	65,31	1,680	0,794	0,711	0,918	0,421	0,672	0,973
Propionato	23,38	23,54	21,81	22,97	24,03	1,719	0,823	0,489	0,778	0,252	0,345	0,744
Butirato	10,35	10,84	11,53	10,90	10,65	0,401	0,130	0,265	0,544	0,204	0,220	0,711
A:P	3,03	3,04	3,16	2,98	2,89	0,242	0,959	0,381	0,934	0,561	0,332	0,876

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infrequentemente (a cada 3 dias), respectivamente.

² C, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da frequência de suplementação ; Q × F, interação entre quantidade de suplemento e frequência de suplementação; D, efeito do dia de amostragem; T × D, interação entre tratamento e dia de amostragem.

As excreções diárias de nitrogênio (EUN) e de nitrogênio ureico (EUNU) e a CNUF foram incrementadas com a suplementação ($P < 0,05$); além disso, as estimativas destas variáveis foram maiores ($P < 0,05$) nos tratamentos com o suprimento de 60% das exigências de PDR em relação aos suplementados com 30% das exigências de PDR. Não houve efeito ($P > 0,05$) de frequência de suplementação e interação entre quantidade de suplementos e frequência. No entanto, verificou-se para estas variáveis efeito do dia de amostragem ($P < 0,05$). Nestes casos, os valores permaneceram estáveis entre o primeiro e o segundo dia ($P > 0,05$), havendo decréscimo ($P < 0,05$) no terceiro dia de amostragem.

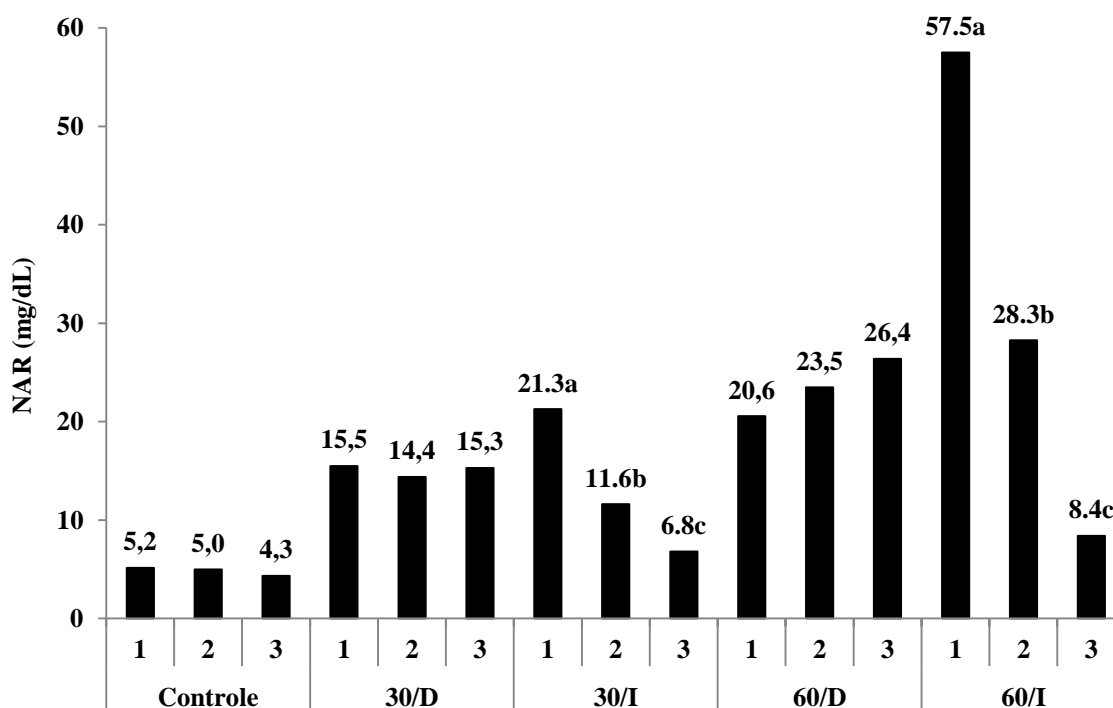


Figura 1 - Concentração média diária de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) em função dos dias de amostragem e dos diferentes tratamentos (Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infrequentemente, respectivamente; para maiores detalhes, consultar a Tabela 6). Médias, dentro dos tratamentos com suplementação infrequente, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P < 0,05$).

A concentração de NUS e a EFNU foram ampliadas pela suplementação ($P < 0,05$) e incrementadas ($P < 0,05$) com o aumento na quantidade de suplemento fornecido, mas não foram afetadas ($P > 0,05$) pela frequência de suplementação (Tabela 7). Em ambos os casos houve interação ($P < 0,05$) entre tratamentos e dia de amostragem.

A concentração de NUS somente variou entre dias de amostragem para os tratamentos com suplementação infrequente ($P < 0,05$). Nestes casos, as concentrações se elevaram ($P < 0,05$) do primeiro para o segundo, decrescendo ($P < 0,05$) do segundo para o terceiro dia (Figura 2).

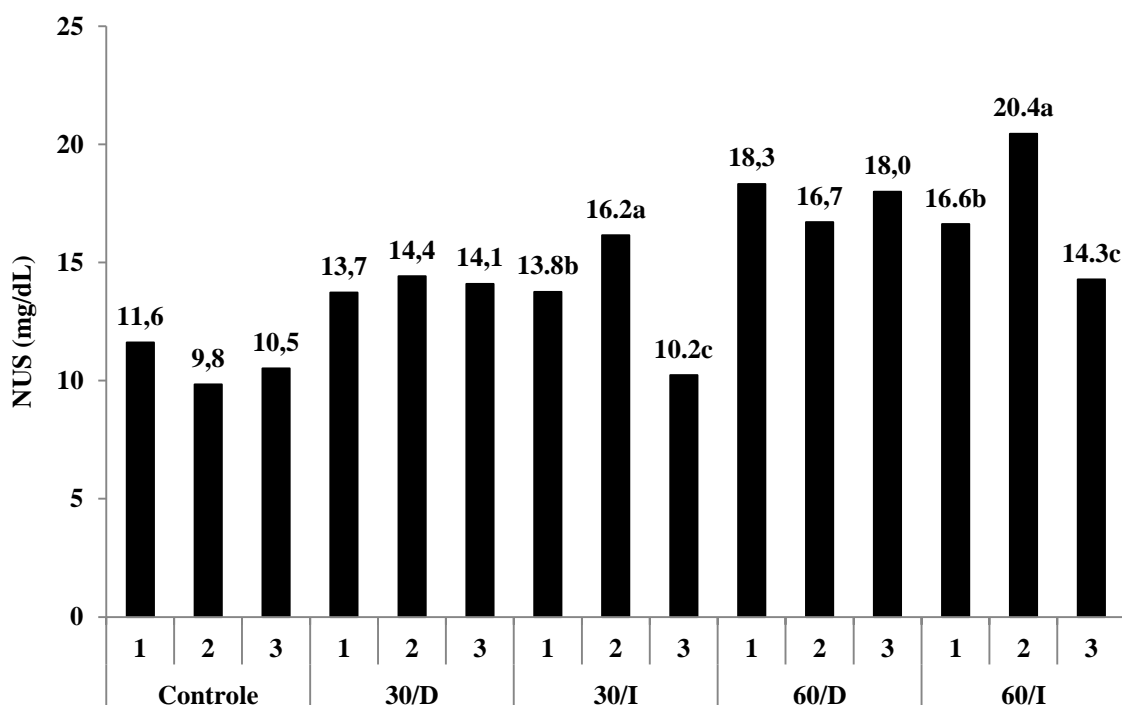


Figura 2 - Concentração média diária de nitrogênio ureico no soro (NUS) em função dos dias de amostragem e dos diferentes tratamentos (Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infrequentemente, respectivamente; para maiores detalhes, consultar a Tabela 7). Médias, dentro dos tratamentos com suplementação infrequente, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P < 0,05$).

Tabela 7 – Concentração sanguínea de glicose (mg/dL), triglicérides (mg/dL), fator de crescimento similar à insulina (IGF1, ng/mL), ácidos graxos não esterificados (NEFA, mmol/L), concentração sanguínea absoluta de aminoácidos (AA, μ mol/L), excreção urinária de 3-metil-histidina (3MTH, mg/g de creatinina), excreção urinária de nitrogênio (EUN, g/dia), excreção urinária de nitrogênio uréico (EUNU, g/dia), concentração de nitrogênio uréico no soro (NUS, mg/dL), carga de nitrogênio uréico filtrada pelos rins (CNUF, g/dia) e excreção fracional de nitrogênio uréico (EFNU, g/g) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos						Valor P ²					
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I	EPM	C	Q	F	F × Q	D	T × D
Glicose	58,1	61,1	58,8	57,7	62,0	2,95	0,376	0,970	0,585	0,092	0,066	0,068
Triglicérides	14,1	15,2	14,5	14,7	14,5	1,24	0,532	0,778	0,674	0,778	0,829	0,182
IGF1	33,2	46,8	42,2	56,8	74,3	12,06	0,013	0,008	0,358	0,130	0,687	0,490
NEFA	0,24	0,22	0,24	0,23	0,26	0,016	0,985	0,412	0,179	0,505	0,971	0,994
AA	2256	2204	2243	2166	2192	108,8	0,272	0,310	0,453	0,869	0,100	0,146
3MTH	110,8	114,3	109,6	116,7	90,7	18,30	0,838	0,526	0,249	0,148	0,196	0,626
EUN	15,2	27,5	25,9	38,2	36,2	1,96	<0,001	<0,001	0,307	0,925	0,018	0,135
EUNU	6,7	19,1	17,2	29,6	29,7	1,74	<0,001	<0,001	0,492	0,452	0,006	0,129
NUS	10,7	14,1	13,4	17,7	17,1	1,16	<0,001	0,001	0,364	0,912	0,003	0,001
CNUF	25,6	32,6	28,8	43,2	44,5	3,65	0,004	0,001	0,687	0,421	0,036	0,943
EFNU	0,271	0,589	0,595	0,704	0,720	0,0493	<0,001	0,024	0,823	0,922	0,553	0,023

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infreqüentemente (a cada 3 dias), respectivamente..

² C, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da freqüência de suplementação; D, efeito do dia de amostragem; T × D, efeito da interação entre tratamento e dia de amostragem.

Por outro lado, a EFNU somente variou entre dias quando 60% das exigências de PDR foram fornecidas de forma infrequente ($P < 0,05$). Neste caso, os valores de EFNU se mantiveram estáveis no primeiro e segundo dia ($P > 0,05$), decrescendo ($P < 0,05$) no terceiro dia de amostragem (Figura 3).

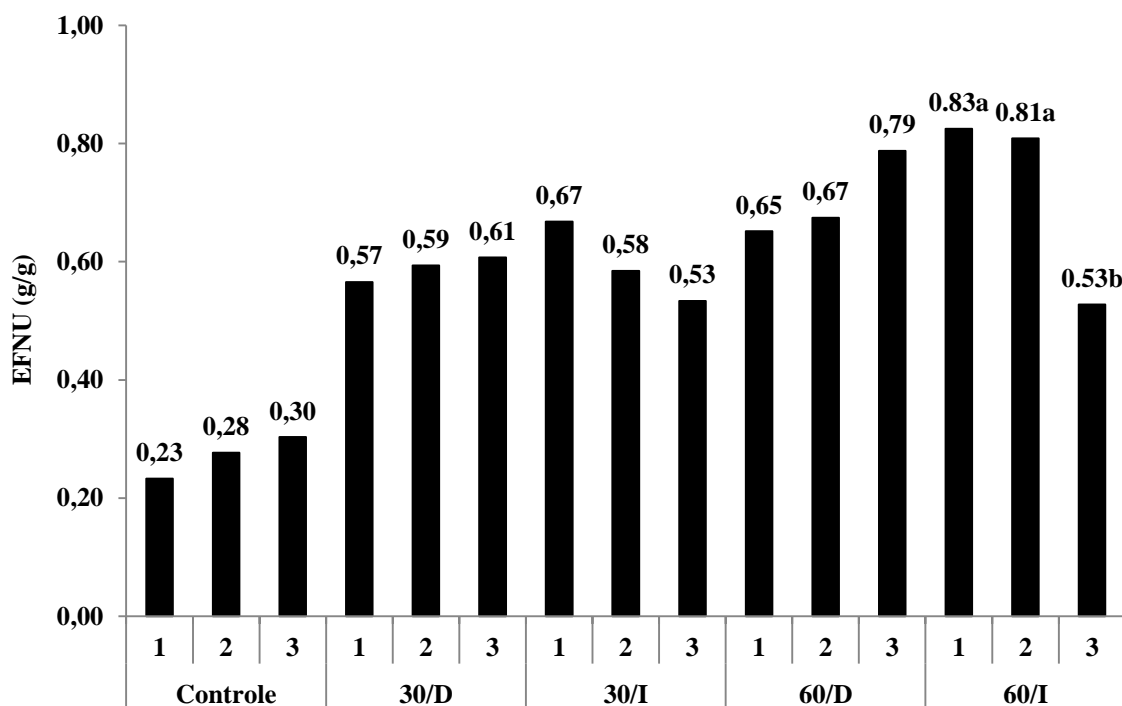


Figura 3- Excreção fracional de nitrogênio ureico (EFNU) em função dos dias de amostragem e dos diferentes tratamentos (Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infrequentemente, respectivamente; para maiores detalhes, consultar a Tabela 7). Médias, dentro do tratamento 60/I, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P < 0,05$).

Discussão

De acordo com observações obtidas em condições tropicais, o fornecimento adicional de nitrogênio para animais consumindo forragem de baixa qualidade favoreceria o crescimento de bactérias fibrolíticas, ampliando a degradação ruminal da FDN, o consumo voluntário de forragem e a extração energética a partir dos carboidratos fibrosos (Paulino et al., 2008; Detmann et al., 2010).

Entretanto, efeitos positivos sobre o consumo voluntário (Tabela 2), sobre a digestibilidade da fibra (Tabela 3), sobre dinâmica ruminal dos compostos fibrosos (Tabela 4) e sobre as concentrações de AGV (Tabela 6), não foram verificados neste trabalho, contrariando os aspectos previamente apresentados.

Os principais efeitos da adição de suplementos sobre as características de consumo e digestão centraram-se sobre o aumento no consumo e coeficiente de digestibilidade ruminal e total da PB e sobre o consumo e concentração dietética de MOD (Tabelas 2 e 3). Estes efeitos refletem tão somente a própria adição do suplemento, com alto teor proteico e alta digestibilidade. Isto é reforçado contrastando-se o comportamento dos consumos de MOD e FDND (Tabela 2). Considerando-se que o suplemento era isento de FDN (Tabela 1), a falta de efeito da suplementação sobre o consumo de FDND, indica que nenhuma alteração geral foi causada pela suplementação sobre o consumo e digestão da forragem.

Uma provável explicação para a ausência de efeitos da suplementação sobre o consumo e digestão da forragem basal reside sobre a qualidade da forragem em si. A forragem utilizada apresentava baixo teor de PB, incorrendo em níveis de NAR (Tabela 6) aquém do necessário para maximização do uso da fibra no rúmen (8 mg/dL; Detmann et al., 2009) e balanço de compostos nitrogenados no rúmen negativos (Tabela 5), indicando a baixa disponibilidade de proteína a partir da forragem. Contudo, mesmo com a ampliação

da concentração de NAR com o uso de suplementos (Tabela 6), não houve incremento no consumo ou digestão ruminal da fibra. No entanto, a concentração de FDNi na forragem respondeu por cerca de 55% da FDN total, o que indica baixa qualidade da fibra. Considerando-se que a FDNi possui efeito de repleção ruminal superior à FDNpd (Waldo et al., 1972; Detmann, et al., 2010), pressupõe-se que o efeito de repleção ruminal total da FDN da forragem estivera em patamar tão elevado, ao ponto de não propiciar melhorias em sua dinâmica ruminal com a adição de suplementos nitrogenados. Este comportamento corrobora com outros autores, os quais não verificaram efeito da suplementação com compostos nitrogenados em animais alimentados com forragens de baixa qualidade (Bonhert et al., 2002; Currier et al., 2004; McGuire et al., 2013).

Segundo Detmann et al. (2014b), o consumo voluntário de forragens tropicais seria responsivo à adequação da relação PB:MOD (indicativo da relação proteína:energia) na dieta, com o ponto de máximo próximo a 288 g PB/kg MOD. Considerando o tratamento controle, observa-se que a relação PB:MOD encontra-se aquém do necessário para maximização do consumo. Contudo, mesmo com a suplementação com 30% das exigências de PDR, a qual elevou a relação PB:MOD a valores próximos daqueles nos quais esperaria-se a maximização do consumo (Tabela 2), não se verificou alteração no consumo de forragem. Isto parece reiterar que alterações no consumo em função da suplementação com compostos nitrogenados foram restringidas pelas características da forragem em si.

Os efeitos dos diferentes tipos de suplementos sobre o consumo voluntário se caracterizaram pela presença de interação entre quantidade de suplementos e frequência de suplementação, no qual se verificou queda no consumo com o suprimento infrequente de 60% das exigências de PDR (Tabela 2).

Este efeito se deve à elevada massa de nitrogênio suprida de uma única vez no ambiente ruminal, a qual propiciou valores extremamente elevados de NAR no dia do

fornecimento dos suplementos (Figura 1). Ressalta-se que a avaliação do consumo voluntário durante o período de mensuração permitiu evidenciar que a queda na ingestão de forragem ocorreu somente no dia em que o suplemento foi fornecido (Figura 4). Os animais suplementados infreqüentemente com 60% das exigências de PDR demonstraram consumo similar ao observado para os demais tratamentos nos dias em que não receberam suplemento. Contudo, considerando-se a média do ciclo de três dias, a queda verificada no primeiro dia comprometeu o consumo médio em todo o ciclo. Comportamento similar foi verificado por Drewnoski et al. (2011).

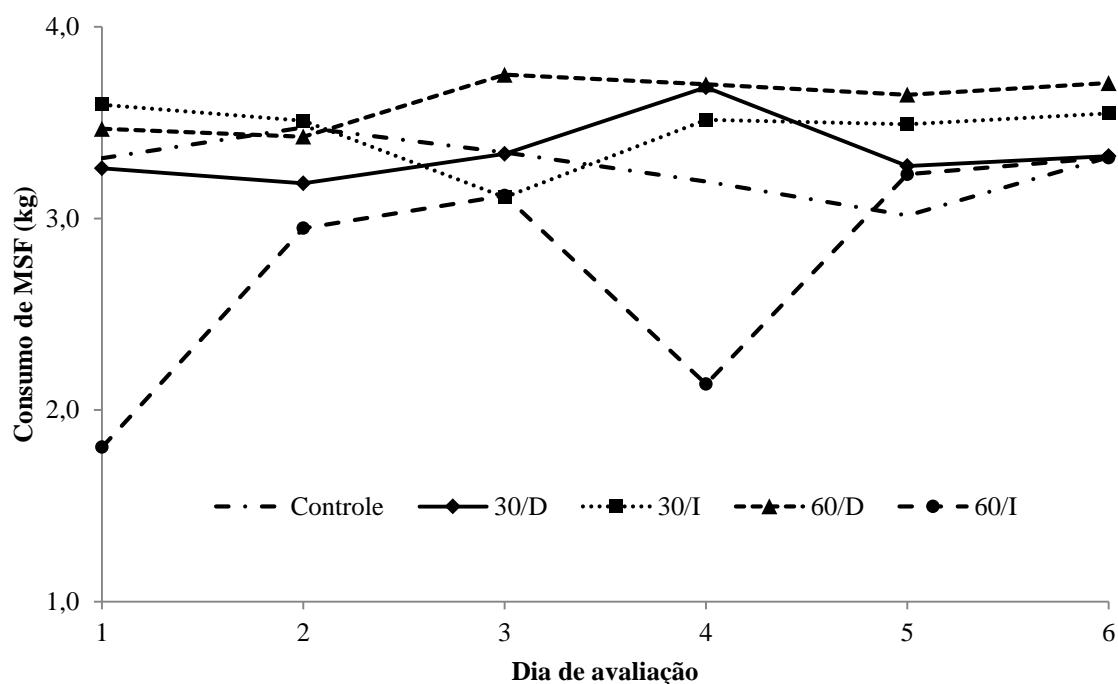


Figura 4 - Consumo médio diário de matéria seca de forragem (MSF) durante o período de mensuração do consumo voluntário em função dos diferentes tratamentos (Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infreqüentemente).

O excesso de amônia ruminal implica em excesso de amônia nos fluidos circulantes e no meio intra-celular (Visek, 1984). Este quadro ocasiona o estabelecimento de sensações

de mal-estar nos animais (Detmann et al., 2007), os quais os levam a reduzir o consumo como tentativa de aproximação a uma situação de conforto. Por outro lado, a suplementação com 60% das exigências de PDR implicou nas mais elevadas relações PB:MOD na dieta (Tabela 2), o que poderia acarretar em redução de consumo voluntário devido ao excesso de catabolismo de compostos nitrogenados (Poppi & McLenann, 1995; Illius & Jessop, 1996; Detmann et al., 2014b). Considerando-se somente o dia em que a suplementação ocorreu, a relação PB:MOD na dieta foi, em média, de 882 g PB/kg MOD, valor extremamente superior ao recomendado por Detmann et al. (2014b) como ponto de maximização do consumo voluntário de forragens tropicais (288 g PB/kg MOD), o que corrobora a ocorrência de efeitos metabólicos negativos sobre o consumo.

A partir destes argumentos, verifica-se que a suplementação infrequente com grandes massas de compostos nitrogenados pode conduzir a respostas negativas no consumo e, conseqüentemente, no desempenho animal (Farmer et al., 2004b). No entanto, há de se ressaltar que a concentração de NAR no ambiente ruminal é dependente da energia suplementar (Erdman et al., 1986). No presente estudo, a baixa qualidade da forragem associada à ausência de uma fonte de energia de alta disponibilidade no suplemento pode ter favorecido o aparecimento de resposta negativa sobre o consumo quando 60% das exigências de PDR foram supridas infreqüentemente. Assim, a resposta a esta massa de proteína suplementar pode ser diferente caso a forragem apresente melhor qualidade ou uma forte energética seja incluída no suplemento.

De forma geral, os efeitos dos suplementos sobre os coeficientes de digestibilidade centraram-se sobre a ampliação da digestibilidade ruminal e total da PB com o aumento na quantidade de suplemento fornecida, a qual refletiu em ampliação dos coeficientes de digestibilidade da MO (Tabela 3). Para os componentes não fibrosos da dieta, os coeficientes de digestibilidade aparente são diretamente proporcionais ao consumo deste componente, o

que reflete os altos valores do coeficiente de digestibilidade verdadeiro e a diluição da fração metabólica fecal (Van Soest, 1994; McGuire et al., 2013). Deve ser destacado que os coeficientes de digestibilidade ruminal da PB (Tabela 3) e, conseqüentemente, o balanço de compostos nitrogenados no rúmen (Tabela 5), migraram de valores negativos para valores positivos na medida em que se ampliou a quantidade de PB na dieta total.

A redução da frequência de suplementação implicou em diminuição da massa ruminal de componentes fibrosos (Tabela 4). Segundo Cappelozza et al. (2013), a alta liberação de amônia no rúmen com a suplementação infrequente, como verificado neste estudo para o dia em que ocorreu a suplementação (Figura 1), poderia comprometer balanço osmótico no ambiente ruminal, o que culminaria em maior entrada de água por intermédio do epitélio e maior consumo de água pelos animais. Isto implicaria em maior enchimento de água no rúmen, o que poderia reduzir sua capacidade quando à acomodação de outros componentes. No entanto, a despeito deste efeito, não se observou comprometimento das taxas associadas à dinâmica ruminal dos compostos fibrosos (Tabela 4).

De forma geral, os efeitos mais consistentes da suplementação foram observados sobre o BN e a EFUN (Tabela 5). Em ambos os casos, a suplementação incrementou as estimativas obtidas. O aumento na quantidade de suplemento incrementou a EFUN e tendeu a ampliar o BN ($P < 0,07$). A frequência de suplementação não afetou estas variáveis. Considerando que BN e EFUN estão diretamente associadas ao desempenho produtivo (i.e., ganho de peso), os resultados deste estudo concordam com resultados apontados na literatura nos quais a redução da frequência de suplementação não afetou o desempenho produtivo de animais alimentados com forragens tropicais de baixa qualidade (Zervoudakis, 2003; Canesin et al., 2009; Moraes et al., 2010; Morais et al., 2014).

Parte do incremento no BN e na EFUN obtidos com o aumento na quantidade de suplementos pode ser atribuída ao incremento no suprimento de proteína metabolizável a

partir do NIMC (Tabela 5). Contudo, mesmo sem incremento em NMIC, melhorias em BN e EFUN foram também observadas para os tratamentos com o fornecimento de 30% das exigências de PDR. Segundo Detmann et al. (2014c), incrementos no suprimento de proteína metabolizável de origem microbiana respondem por apenas 18,5% dos incrementos observados em BN em bovinos alimentados com forragens tropicais. Isto indica que efeitos secundários ou metabólicos da suplementação com compostos nitrogenados afetam a eficiência de uso dos compostos nitrogenados no organismo animal.

Os efeitos da proteína suplementar não podem ser avaliados de forma isolada, pois o metabolismo animal está baseado na integração de diferentes mecanismos, na disponibilidade de diversos substratos e metabólitos e em complexo sistema de sinalização e regulação bioquímica e hormonal (Detmann et al., 2014b). Incrementos no desempenho produtivo e nutricional têm sido associados com melhorias no “status de proteína” no organismo animal (Egan, 1965; Egan & Moir, 1965; Kemptom et al., 1977). Em termos teóricos, a expressão “status de proteína” ou “status de nitrogênio” define a disponibilidade quantitativa e qualitativa de compostos nitrogenados para todas as funções fisiológicas no metabolismo animal, incluindo-se as funções associadas com o metabolismo de outros compostos (e.g., energia). Portanto, o status de proteína constitui um termo relativo que dependerá do nível de produção e estágio fisiológico do animal, os quais definirão os requerimentos de compostos nitrogenados (Detmann et al., 2014b).

Levando-se em consideração o conceito de “status de proteína”, pode ser percebido que os compostos nitrogenados disponíveis para o metabolismo animal seriam utilizados para diferentes funções metabólicas seguindo-se uma ordem de prioridade para o animal, a saber: sobrevivência (e.g., reciclagem de nitrogênio), manutenção e produção (i.e., crescimento, reprodução, etc). Portanto, deposições de N na forma de tecidos corporais ou

de produtos somente ocorreriam depois de supridas as demandas por compostos nitrogenados de maior prioridade (Detmann et al., 2014b).

Considerando-se uma situação alimentar “normal”, sem que haja uma deficiência proeminente de compostos nitrogenados, a quantidade de N reciclada ao ambiente ruminal mantém-se relativamente constante (Marini & Van Ambourgh, 2003; Maltby et al., 2005; Reynolds & Kristensen, 2008). Portanto, haverá menor deposição de N na forma de tecidos sob baixas concentrações dietéticas de compostos nitrogenados devido ao fato de uma maior percentagem do N ingerido ser direcionada para reciclagem e, como consequência, menor percentagem do N estará disponível para produção (Detmann et al., 2014b).

As questões relacionadas às prioridades metabólicas dos compostos nitrogenados podem ser percebidas, ao menos em parte, a partir da avaliação do BNRU. Diversas estimativas negativas de BNRU (como as verificadas neste estudo; Tabela 5) têm sido obtidas em experimentos conduzidos em condições tropicais, o que significa que o fluxo de N para o abomaso é superior ao consumo de N. Nestes casos, existirá maior dependência dos eventos de reciclagem para prover suprimento adequado de N no ambiente ruminal (Detmann et al., 2014b).

Sob condições tropicais, o BNRU está positivamente associado à disponibilidade de N (concentração dietética de PB e concentração de NAR), mas não sofre influência direta da digestibilidade da dieta (Detmann et al., 2014b). Este comportamento indica que a deficiência dietética de N é a causa da falta de equilíbrio no ambiente ruminal concernente ao balanço de N e situações de BNRU negativos podem ser contornadas pela utilização de suplementos proteicos (Figueiras et al., 2010; Costa et al., 2011; Lazzarini, 2011). De acordo com avaliações conduzidas por Detmann et al. (2014b), seriam necessárias concentrações mínimas de 9,2 mg NAR/dL de fluido ruminal para proporcionar um equilíbrio aparente entre input e output de N no rúmen (i.e., BNRU = 0) e, conseqüentemente, garantir boa

disponibilidade de N para outras demandas no metabolismo animal. Neste experimento, o fornecimento de suplementos elevou as concentrações médias de NAR a valores superiores a 9,2 mg/dL (Tabela 6), o que suporta a elevação das estimativas de BNRU a valores próximos ou superiores a 0 nos animais suplementados.

Alguns autores tem verificado que o fornecimento de suplementos nitrogenados podem reduzir o catabolismo de proteína muscular para o uso em demandas metabólicas de N de maior prioridade (Rufino, 2011; Detmann et al., 2014d). No entanto, o fornecimento de suplementos ou alterações nos esquemas de suplementação não afetaram a excreção urinária de 3-metil-histidina (Tabela 7), a qual constitui indicador direto da quebra de proteína muscular.

No entanto, a concentração séria de IGF1 foi ampliada tanto pela suplementação, como pela quantidade de suplementos produzidos (Tabela 7). O IGF1 é um regulador endócrino do crescimento muscular em bovinos e constitui, além de sua ação independente, ligação importante entre o hormônio de crescimento e o processo metabólico de crescimento (Pell & Bates, 1990; Drewnoski et al., 2014). As concentrações de IGF1 são responsivas tanto ao plano nutricional como à composição da dieta, sendo a concentração de proteína aparentemente mais importante do que a concentração energética (Pell & Bates, 1990). Desta forma, apesar da ausência de variação na concentração de metabólitos circulantes (glicose, aminoácidos, NEFA e triglicérides; Tabela 7), a suplementação com compostos nitrogenados causou estímulo anabólico sobre a síntese de proteína corporal, o que é verificado pelos maiores BN e EFUN (Tabela 5). Torna-se importante ressaltar que não foram observados efeitos da frequência de suplementação sobre estas características.

Farmer et al. (2004a) sugeriram alguns mecanismos que podem ser importantes na diminuição do impacto da redução da frequência de suplementação e minimização das diferenças no desempenho de bovinos em relação a suplementação diária, entre estes: a

reciclagem de nitrogênio, o aumento na concentração de NAR e o prolongamento ou manutenção dos níveis de amônia nos dias de não fornecimento de suplemento.

No presente estudo, o benefício da manutenção de NAR não se mostrou efeito consistente devido à queda acentuada das concentrações de amônia a partir do dia em que os suplementos foram fornecidos (Figura 1). Avaliações indiretas do aumento na reciclagem poderiam ser verificadas por intermédio de decréscimos no BNRU (Detmann et al., 2014b). Contudo, não foram observados efeitos da frequência de suplementação sobre o BNRU (Tabela 5).

A avaliação conjunta do comportamento de NAR e NUS para os animais suplementados de forma infrequente (Figuras 1 e 2) sugere a existência de mecanismos metabólicos de tamponamento para a perda de compostos nitrogenados. Geralmente, as concentrações de NAR e NUS são linearmente associadas (Valadares et al., 1997; Costa et al., 2011). Contudo, as máximas concentrações de NAR foram observadas no dia de fornecimento dos suplementos (Figura 1), ao passo que as máximas concentrações de NUS somente foram verificadas no dia posterior ao fornecimento dos suplementos (Figura 2), indicando conservação de nitrogênio no organismo dos animais suplementados infreqüentemente. Ressalta-se que as concentrações de NAR e NUS não variaram entre dias para os demais tratamentos.

A soma destes comportamentos fez com que as excreções médias diárias de nitrogênio e nitrogênio ureico na urina e a carga de nitrogênio filtrada pelos rins não fossem afetadas pela frequência de suplementação (Tabela 7). Adicionalmente, ressalta-se que a EFNU se reduziu do primeiro para o terceiro dia de avaliação com a suplementação infrequente com 60% das exigências de PDR. Embora sem diferenças entre dias ($P > 0,05$), percebe-se que queda similar em EFNU foi verificada para a suplementação infrequente com 30% das exigências de PDR (Figura 3).

Desta forma, levanta-se a possibilidade de que mecanismos de tamponamento existentes no metabolismo animal possam auxiliar, talvez de forma coordenada com os estímulos anabólicos, na manutenção do status de nitrogênio dos animais nos dias em que a suplementação não é efetuada, garantindo retenção de nitrogênio no organismo de forma similar aos animais suplementados diariamente.

Os efeitos positivos verificados com a ampliação na quantidade de suplementos sobre NMIC e sobre EFM parecem ser resultantes de uma deficiência global de compostos nitrogenados na forragem basal. Como ressaltado anteriormente, além de baixa disponibilidade de material a ser digerido, há indício de baixa disponibilidade do nitrogênio presente na forragem. Assim, a adição de maior massa de nitrogênio suplementar propiciou maior disponibilidade de nitrogênio e de MOD para o crescimento microbiano no rúmen (Detmann et al., 2014b).

Conclusão

A redução na frequência de suplementação nitrogenada em bovinos alimentados com forragens tropicais de baixa qualidade não compromete a eficiência nutricional e metabólica dos animais. Contudo, o fornecimento de grandes massas de suplementos nitrogenados resulta em efeitos negativos sobre o consumo voluntário de forragem.

Referências Bibliográficas

ATKINSON, R.L.; TOONE, C.D.; LUDDEN, P.A. Effects of ruminal protein degradability and frequency of supplementation on site and extent of digestion and ruminal fermentation characteristics in lambs fed low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.88, p.718-726, 2010a.

- 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, 2010b.
- BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; DeLCURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on performance and nitrogen use in ruminants consuming low-quality forage: Cow performance and efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1629-1637, 2002.
- CANESIN, R.C.; BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; FATURI, C. Características da carcaça e da carne de novilhos mantidos em pastagem de capim-marandu submetidos a diferentes estratégias de suplementação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.2368-2375, 2006.
- CANESIN, R.C.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A.; REY, F.S.B; RESENDE, K.T.; TEIXEIRA, I.A.M.A. Desempenho de bovinos em pastejo submetidos a duas frequências de suplementação no período da seca. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.31, p.417-423, 2009.
- CAPPELLOZZA, B.I.; BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J.; VANZANT, 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 in ruminal fermentation. **Livestock Science**, v. 155, p. 214-222, 2013.
- COSTA, V.A.C.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T.; CARVALHO, I.P.C.; VALENTE, T.N.P. Digestibilidade total e parcial e balanço nitrogenado em bovinos em pastejo no período das águas recebendo suplementos com nitrogênio não-proteico e/ou proteína verdadeira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2815-2826, 2011.
- CURRIER, T.A.; BOHNERT, D.W.; FALCK, S.J.; SCHAUER, C.S.; BARTLE, S.J. Daily and alternate day supplementation of urea or biuret to ruminants consuming low-quality

- forage: I. Effects on cow performance and the efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal of Animal Science**, v.82, p.1508-1517, 2004.
- DeLCURTO, T.; COCHRAN, R.C.; CORAH, L.R.; BEHARKA, A.A.; VANZANT, E.S.; JOHNSON, D.E. Supplementation of dormant Tallgrass-Prarie forage: II. Performance and forage utilization characteristics in grazing beef cattle receiving supplements of different protein concentrations. **Journal of Animal Science**, v.68, p.532-542, 1990.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.980-984, 2010.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.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 low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livestock Science**, v.126, p.136-146, 2009.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Otimização do uso dos recursos forrageiros basais. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, 2010, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 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.; BATISTA, E.D.; RUFINO, L.M.A. Aspectos nutricionais aplicados a bovinos em pastejo nos trópicos. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 9, 2014, Viçosa, **Anais...** Viçosa, DZO-UFV, 2014a. p.239-267.

- 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.; PAULINO, M.F.; FRANCO, M.O.; RUFINO, L.M.A.; SAMPAIO, C.B.; BATISTA, E.D. Princípios de nutrição de bovinos em pastejo nos trópicos. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 9, 2014, Ilhéus, **Anais...** Ilhéus, Bahia, 2014c.
- 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, 2014d.
- DREWNOSKI, M.E.; POORE, M.H.; BENSON, G.A. Effect of frequency of supplementation of a soyhulls and corn gluten feed blend on hay intake and performance of growing steers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 164, p.38-44, 2011.
- 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. Nutritional status and intake regulation in sheep. 2. The influence of sustained duodenal infusions of casein or urea upon voluntary intake of low-protein roughages by sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.16, p.451-462, 1965.
- EGAN, A.R.; MOIR, R.J. Nutritional status and intake regulation in sheep. 1. Effects of duodenally infused single doses of casein, urea and propionate upon voluntary intake of a low-protein roughage by sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.16, p.437-449, 1965.
- ERDMAN, R.A., PROCTOR, G.H, VANDERSALL, J.H. Effect of rumen ammonia concentration on in situ rate and extent of digestion of feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2313-2320, 1986.

- 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 tallgrass-prairie. **Journal of Animal Science**, v.82, p.884-894, 2004b.
- FIGUEIRAS, J.F.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALENTE, T.N.P.; VALADARES FILHO, S.C.; LAZZARINI, I. Intake and digestibility in cattle under grazing supplemented with nitrogenous compounds during dry season. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1303-1312, 2010.
- FRANCE, J.; SIDDON, R.C. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. **Journal of Theoretical Biology**, v.121, p.105-120, 1986.
- ILLIUS, A.W., JESSOP, N.S. Metabolic constraints on voluntary intake in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3052-3062, 1996.
- KAPS, M.; LAMBERSON, W. **Biostatistics for animal science**. Wallingford: CAB International, 2004. 445p.
- KEMPTON, T. J., J. V. NOIAN, J.V.; LENG, R.A. Principles for the use of nonprotein nitrogen and by-pass protein in diets for ruminants. **World Animal Review**, v.22, p.2-7, 1977.
- 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.
- KRIZSAN, S.J. AHVENJÄRVI, S.; VOLDEN, H.; BRODERICK, G.A. Estimation of rumen outflow in dairy cows fed grass silage-based diets by use of reticular sampling as an alternative to sampling from the omasal canal. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1138-1147, 2010.

- LAZZARINI, I. **Desempenho nutricional de bovinos em pastejo durante os períodos de seca e águas suplementados com compostos nitrogenados e/ou amido**. 2011. 62f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA, F.A. Dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.635-647, 2009.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Reviews**., v.3, p.277-303. 1990.
- MALTBY, S.A.; REYNOLDS, C.K.; LOMAX, M.A.; BEEVER, D.E. Splanchnic metabolism of nitrogenous compounds and urinary nitrogen excretion in steers fed alfalfa under condition of increased absorption of ammonia and L-arginine supply across the portal-drained viscera. **Journal of Animal Science**, v. 83, p.1075-1087, 2005.
- MARCONDES, M.I.; GIONBELLI, M.P.; VALADARES FILHO, S.C.; CHIZZOTTI, M.L.; PAULINO, M.F. Protein requirements of zebu beef cattle. In: VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L.; PAULINO, P.V.R. (Eds.) **Nutrient requirements of zebu beef cattle BR-CORTE**. 2nd. ed. Viçosa: DZO-UFV, 2010. p.107-126.
- MARINI, J.C.; VAN AMBURGH, M.E. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, v.81, p.545-552, 2003.
- McGUIRE, D.L.; BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J.; COOKE, R.F. Daily and alternate day supplementation of urea or soybean meal to ruminants consuming low-quality cool-season forage: I-Effects on efficiency of nitrogen use and nutrient digestion. **Livestock Science**, v.155, p.205-213, 2013.
- MORAES, E.H.B.K.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, K.A.K.; DETMANN, E.; SOUZA, M.G. Avaliação nutricional de estratégias de suplementação para bovinos de corte durante a estação seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.608-616, 2010.

- MORAIS, J.A.S.; BERCHIELLI, T.T.; QUEIROZ, M.F.S.; KELI, A.; REIS, R.A.; SOUZA, S.F. Influência da frequência de suplementação no consumo, na digestibilidade e na fermentação ruminal em novilhos de corte mantidos em pastagem de capim-marandu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, 1824-1834, 2009.
- PAULINO, M.F.; FIGUEIREDO, D.M.; MORAES, E.H.B.K.; PORTO, M.O.; SALES, M.F.L.; ACEDO, T.S.; VILLELA, S.D.J.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação de bovinos em pastagens: uma visão sistêmica. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 4, 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2004. p.93-144.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação animal em pasto: energética ou protéica? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3, 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMFOR, 2006. p.359-392.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Bovinocultura funcional nos trópicos. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 6, 2008 Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2008. p.275-305.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, A.G.; CABRAL, C.H.A.; VALENTE, E.E.L.; BARROS, L.V.; DE PAULA, N.F.; LOPES, S.A.; COUTO, V.R.M. Bovinocultura programada. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, 2010, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2010. p.267-297.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; SILVA, A.G.; ALMEIDA, D.M.; VALENTE, E.E.L.; MACIEL, I.F.S.; NASCIMENTO, J.L.M.; BITTENCOURT, J.A.; MARTINS, L.S.; BARROS, L.V.; DE PAULA, N.F.; MENDES, R.K.V.; LOPES, S.A.; CARVALHO, V.V. Bovinocultura de alto desempenho com sustentabilidade. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 8, 2012, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2012. p.183-196.
- PELL, J. M.; BATES, P. C. The nutritonal 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**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.67-96.
- 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.; KRISTENSEN, N.B. 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. **Suplementação nitrogenada ruminal e/ou abomasal em bovinos alimentados com forragem tropical**. 2011. 44f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.
- SOUZA, M.A.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; SAMPAIO, C.B.; LAZZARINI, I.; VALADARES FILHO, S.C. Intake, digestibility and rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p.1299-1310, 2010.
- ÚDEN, P.; COLUCCI, P.E.; Van SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as marker in digesta. Rate of passage studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture.**, v.31, p.635-632, 1980
- 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, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M.; VALADARES FILHO, S.C.; SAMPAIO, I.B. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de ammonia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.1270-1278, 1997.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

- VISEK, W.J. Amonia: 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. **Jornal of Dairy Science**, v.55, p.125-129, 1972.
- WICKERSHAM, T.A.; COCHRAN, R.C.; TITGEMEYER, E.C.; FARMER, C.G.; KLEVESAHL, E.A.; ARROQUY, J.I.; JOHNSON, D.E.; GNAD, D.P. Effect of postruminal protein supply on the response to ruminal protein supplementation in beef steers fed a low-quality grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.115, p.19-36, 2004.
- ZERVOUDAKIS, J.T. **Suplementos múltiplos de auto-controle de consumo e frequência de suplementação, na recria de novilhos durante os períodos das águas e transição águas-seca**. Viçosa:UFV, 2003, 78f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

CAPÍTULO 2

Desempenho nutricional e características metabólicas em bovinos alimentados com forragem tropical de média qualidade em respostas à suplementação infrequente com compostos nitrogenados

Introdução

As gramíneas tropicais sob pastejo durante a estação seca do ano apresentam declínio na qualidade nutricional, o que reflete principalmente em baixa concentração de proteína bruta (PB) e incremento na lignificação da parede celular. Em contrapartida, durante o período chuvoso, as forrageiras tropicais, exibem alto crescimento e a forragem produzida possui valor nutritivo superior àqueles observados durante a época seca. Contudo, segundo Detmann et al. (2014a), as gramíneas tropicais raramente podem ser consideradas dieta equilibrada para animais em pastejo, pois estas irão exibir invariavelmente uma ou mais limitações nutricionais que causarão restrições sobre o consumo de pasto, a digestão da forragem ou a metabolizabilidade dos substratos absorvidos.

Os pastos tropicais durante o período chuvoso apresentam desequilíbrio na relação proteína:energia, com excesso relativo de energia (Detmann et al., 2010). Desta forma, os programas de suplementação utilizados durante a época das águas devem focar no estabelecimento de equilíbrio dietético que envolva a elevação da concentração dietética de proteína para que o excedente relativo de substratos energéticos da forragem possa ser transformado em produto animal (Detmann et al., 2014a).

De forma geral, a eficiência de utilização do nitrogênio no organismo do animal está mais fortemente associada ao suprimento de nitrogênio do que ao conteúdo de energia da

dieta e é ampliada pela melhoria nas condições do status de proteína no organismo animal (Detmann et al., 2014b).

A suplementação exclusivamente energética em animais em pastejo durante o período das águas poderia resultar em incrementos no consumo de pasto, porém verifica-se aumento na eficiência metabólica somente com o fornecimento de compostos nitrogenados (Figueiras, 2013).

Segundo Detmann et al. (2009), considerando-se situações nas quais deficiências ruminais de compostos nitrogenados são observadas, os programas de suplementação devem propiciar concentração mínima de 9 mg de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) por dL de fluido ruminal, garantindo aos microrganismos disponibilidade de compostos nitrogenados para a síntese dos sistemas enzimáticos microbianos responsáveis pela degradação dos carboidratos fibrosos da forragem. Entretanto, a maioria dos estudos em condições tropicais tem indicado que estímulos sobre o consumo voluntário são observados com a elevação da disponibilidade dietética de nitrogênio a patamares superiores àqueles necessários para a degradação, evidenciando que existem efeitos secundários ou metabólicos do nitrogênio suplementar (Detmann et al., 2014a).

A eficiência de utilização de nitrogênio para ruminantes é considerada baixa e é também altamente variável em comparação a outros animais de produção. Dentro deste contexto, a baixa eficiência de utilização do nitrogênio em ruminantes em comparação aos não-ruminantes reflete não apenas no desempenho produtivo e na eficiência econômica, mas também na emissão de contaminantes para o meio ambiente (Calsamiglia et al., 2010).

O nitrogênio ruminal funcionalmente disponível (nitrogênio disponível para o crescimento microbiano) se origina não somente da proteína degradável no rúmen, mas também do nitrogênio disponibilizado no rúmen através da reciclagem de ureia, que é formada a partir do nitrogênio absorvido ou do nitrogênio mobilizado de fontes endógenas.

O nitrogênio reciclado tem potencial para contribuir significativamente para o suprimento de nitrogênio ruminal (Wickersham et al., 2004), fator que tem definido o estudo de estratégias de suplementação infrequente para bovinos manejados em pastagens.

Adicionalmente, entre todos os custos envolvidos no processo de suplementação, o de transporte e distribuição diária dos suplementos para animais em pastejo são bastante expressivos. Assim, o fornecimento do suplemento em menor frequência poderia permitir ao pecuarista obter relação custo:benefício mais favorável, uma vez que este sistema permite otimização e racionalização da mão-de-obra, do combustível e de maquinários associados ao processo de suplementação (De Paula et al., 2010).

A suplementação infrequente consiste basicamente no fornecimento da mesma massa de suplementos ofertados aos animais suplementados diariamente; contudo, a massa é ofertada de forma acumulada em dias alternados, sendo esta alternância variável em função da estratégia de manejo definida para o sistema de produção.

O entendimento comparativo dos impactos da suplementação com compostos nitrogenados em diferentes frequências de fornecimento poderia fornecer informações essenciais sobre formas de suplementação que otimizassem a economia de nitrogênio no sistema biológico representado pelo animal ruminante e também gerar informações sobre o equilíbrio entre fornecimento, retenção corpórea e perdas ambientais de nitrogênio em programas de suplementação.

Desta forma, objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação infrequente com compostos nitrogenados no rúmen sobre o desempenho nutricional, características metabólicas e dinâmica ruminal dos compostos fibrosos em bovinos alimentados com forragem tropical de média qualidade.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

Foram utilizados cinco novilhos mestiços, não castrados, com peso corporal (PC) médio inicial de 241 ± 16 kg, fistulados no rúmen e no abomaso. Os animais foram mantidos em baias individuais cobertas, com piso de concreto, dispostas com comedouro e acesso irrestrito a água e mistura mineral.

Os procedimentos experimentais foram conduzidos conforme normas da Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV; protocolo 17/2013).

A alimentação volumosa basal foi constituída por feno de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*) com teor médio de PB de 80,5 g/kg de matéria seca (MS; Tabela 1), o qual foi fornecido diariamente ad libitum, às 6h00 e 18h00, permitindo-se sobras de aproximadamente 100 g/kg de forragem fornecida.

Foram avaliados os seguintes tratamentos: controle, sem suplementação (somente forragem); 30/D, suplementação diária com o fornecimento diário de 30% das exigências de proteína degradável no rúmen (PDR); 30/I, suplementação infrequente (a cada três dias) com o fornecimento equivalente diário de 30% das exigências de PDR; 60/D, suplementação diária com o fornecimento diário de 60% das exigências de PDR; 60/I, suplementação infrequente (a cada três dias) com o fornecimento equivalente diário de 60% das exigências de PDR.

As exigências de PDR foram calculadas com base no sistema BR-CORTE (Marcondes et al., 2010), considerando-se um novilho mestiço Europeu \times Zebu, não castrado, com 250 kg de PC e ganho esperado de 500 g/dia. Para os tratamentos com o fornecimento de 30 e 60% das exigências de PDR, foram fornecidos, em média, 110 e 220

g de PB suplementar diariamente. No caso dos tratamentos com suplementação infrequente, a massa de PB suplementar diária foi mantida, sendo, contudo, fornecida a cada três dias, perfazendo, em média, 330 e 660 g de PB no dia determinado para a suplementação, seguido por dois dias sem o fornecimento de suplemento.

Como fonte de PB suplementar foi utilizada mistura de caseína e ureia:sulfato de amônio (9:1). O suplemento foi constituído por 85 e 15% de caseína e ureia:sulfato de amônio, respectivamente, apresentando, aproximadamente, 1140 g PB/kg MS (Tabela 1).

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

Item	Feno ⁴	Suplemento
MS ¹	902,4±2,4	893,5
MO ²	944,6±0,5	981,2
PB ²	80,5±2,6	1140,0
EE ²	9,1±0,4	1,5
FDNcp ²	771,9±4,1	-
PIDN ²	46,8±2,9	-
CNF ^{2,3}	83,0±4,4	93,8
Lignina ²	58,1±1,9	-
FDNi ²	337,3±12	-

¹g/kg de matéria natural. ² g/kg de matéria seca. ³calculados segundo Detmann & Valadares Filho (2010). ⁴ Média ± erro padrão.

Previamente ao início do experimento os animais foram adaptados por 15 dias às condições de manejo, às instalações e à forragem ofertada.

O experimento foi constituído de cinco períodos experimentais com 24 dias de duração cada. Devido à suplementação infrequente ocorrer a cada três dias, todas as atividades foram realizadas em conjunto de dias múltiplos de três. Os primeiros nove dias

de cada período experimental foram destinados à adaptação dos animais aos suplementos e às frequências de fornecimento.

A suplementação característica de cada tratamento foi iniciada no primeiro dia de cada período experimental. O suplemento total foi fracionado em duas porções de mesmo peso, acondicionado em sacos de papel e fornecido diretamente no rúmen dos animais simultaneamente ao fornecimento da forragem (6h00 e 18h00).

O consumo e os coeficientes de digestibilidade foram avaliados do 10º ao 16º dia de cada período. Neste sentido, foi computado o fornecimento de feno médio do 10º ao 15º dias e as sobras obtidas do 11º ao 16º dias. Amostras do feno fornecido e das sobras deste período foram compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período experimental.

A excreção fecal foi avaliada por intermédio de coletas pontuais de fezes, realizadas do 11º ao 16º dias de cada período experimental, seguindo-se a distribuição: 11º dia – 4h00 e 16h00; 12º dia – 6h00 e 18h00; 13º dia – 8h00 e 20h00; 14º dia – 10h00 e 22h00; 15º dia – 12h00 e 24h00; e 16º dia – 2h00 e 14h00.

Com o objetivo de se estimar o fluxo abomasal, os animais receberam entre o 8º e o 15º dias de cada período experimental, 4 g/dia do indicador Co-EDTA (Udén et al., 1980). O indicador foi fracionado em quatro doses de mesmo peso e acondicionados no rúmen dos animais a cada seis horas (06h00, 12h00, 18h00 e 24h00). Desta forma, entre o 11º e o 16º dia de cada período experimental, foram realizadas coletas de digesta abomasal seguindo-se a distribuição: 11º dia – 6h00; 12º dia – 10h00; 13º dia – 14h00; 14º dia – 18h00; 15º dia – 22h00; e 16º dia – 2h00, sendo coletadas aproximadamente 1 L de digesta em cada horário. As amostras de digesta abomasal foram divididas em duas partes. A primeira parte (aproximadamente 750 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 independentemente. A segunda parte (aproximadamente 250 mL) foi congelada e ao final de cada período experimental, foram realizadas amostras compostas por animal, sendo essas amostras utilizadas para o isolamento de bactérias (Reynal et al., 2005; Krizsan et al., 2010).

Do 16º ao 18º dias de cada período experimental foram realizadas coletas totais de urina. Foram adaptados aos animais funis coletores sob a região peniana, os quais foram acoplados a mangueiras de polietileno que direcionavam a urina a reservatórios de polietileno mantidos em caixas de isopor com gelo. As coletas foram iniciadas às 6h00 do 16º dia de cada período. Ao final de cada período de 24 horas, o total de urina foi mensurado e duas alíquotas de 50 mL foram obtidas. A primeira foi conduzida ao Laboratório de Nutrição Animal do DZO para avaliação dos teores de nitrogênio total (método INCT-CAN-001/1; Detmann et al., 2012), ureia (método enzimático colorimétrico com fator clareante de lípidos; Human® 10505) e creatinina (método do picrato alcalino; Human® 006). A segunda alíquota de urina foi congelada (-80°C), e enviada para laboratório comercial (Laboratórios Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG) para quantificação dos teores de 3-metil-histidina por intermédio de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC).

Nos 19º, 20º e 21º 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 três amostras compostas por animal em cada período experimental, as quais foram enviadas para laboratório comercial (Laboratório Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG) para serem analisadas quanto às concentrações séricas de: ureia (método enzimático colorimétrico com fator clareante de lípidos; Human® 10505), creatinina (método do picrato alcalino; Human® 006), glicose

(método enzimático colorimétrico; Biosystems® A15) e triglicérides (método enzimático colorimétrico; Biosystems® A15).

Ainda durante os 19º, 20º e 21º dias, imediatamente após as coletas de sangue foram tomadas amostras de conteúdo ruminal às 6h00, 12h00, 18h00 e 24h00 para avaliação do pH, da concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) e de ácidos graxos voláteis (AGV; acetato, propionato e butirato). As amostras foram coletadas manualmente na interface líquido:sólido do ambiente ruminal, filtradas por camada tripla de gaze e submetidas à avaliação do pH por intermédio de potenciômetro digital. Em seguida, foi separada uma alíquota de 40 mL, fixada com 1 mL de H₂SO₄ (1:1) e congelada (-20°C) para posterior análise da concentração de NAR. Uma segunda alíquota de 20 mL foi fixada com 5 mL de ácido meta-fosfórico (250 g/L) e congelada (-20°C) para avaliação posterior da concentração de AGV.

No 22º e 24º dias foram realizados os esvaziamentos ruminais para quantificação da massa residente de fibra no rúmen e das taxas de degradação e passagem do material fibroso. No 22º dia, o conteúdo ruminal foi retirado às 10h00 (4 horas após a alimentação matinal) e no 24º dia, às 6h00 (antes da alimentação matinal). O material coletado foi acondicionado em recipiente de polietileno e pesado. Após homogeneização, alíquota de aproximadamente 50 g/kg do material foi retirada, sendo o material restante retornado ao rúmen dos animais. Ressalta-se que o esvaziamento ruminal não foi realizado durante três dias, como preconizado para os demais procedimentos, devido ao grande estresse provocado nos animais.

As amostras de feno, sobras, fezes, digesta abomasal (fases líquida e sólida) e de conteúdo ruminal (amostra oriunda do esvaziamento), foram secas em estufa com ventilação forçada (60°C), processadas em moinho de facas (1 e 2 mm) e compostas, com base no peso seco ao ar, por animal e período experimental.

Posteriormente, as alíquotas de feno, sobras, fezes e digesta abomasal, processadas em peneiras de porosidade 1 mm, foram avaliadas quanto aos teores de MS pelo método INCT-CA G-003/1, matéria orgânica (MO) pelo método INCT-CA M-001/1, PB pelo método INCT-CA N-001/1, extrato etéreo (EE) pelo método INCT-CA G-005/1, fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}) pelos métodos INCT-CA F-002/1, INCT-CA M-002/1 e INCT-CA N-004/1, e lignina pelo método INCT-CA F-005/1, conforme técnicas descritas por Detmann et al. (2012).

As amostras de digesta abomasal (fases líquida e sólida) foram avaliadas quanto à sua concentração de cobalto por intermédio de espectrofotometria de absorção atômica.

As amostras de feno, sobras, fezes, digesta abomasal (fase sólida) e de conteúdo ruminal (amostra oriunda do esvaziamento), processadas em peneira de 2 mm, foram avaliadas quanto ao teor de FDN indigestível (FDN_i) pelo método INCT-CA F-009/1, utilizando-se sacos F57 (Ankom®) em procedimento de incubação in situ por 288 horas (Detmann et al., 2012).

A excreção fecal de MS foi estimada pela razão entre a concentração fecal e o consumo diário de FDN_i. O fluxo abomasal de matéria seca 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 & Siddons (1986).

As taxas relativas à dinâmica ruminal da FDN, da FDN potencialmente digestível (FDN_{pd}) e da FDN_i foram estimadas por intermédio das equações:

$$\text{MRFDN} = \text{MRm} \times [\text{FDNR}] \quad (1);$$

$$\text{MRFDNi} = \text{MRm} \times [\text{FDNiR}] \quad (2);$$

$$\text{MRFDNpd} = \text{MRFDN} - \text{MRFDNi} \quad (3);$$

$$\text{kiFDN} = \frac{\text{CFDN}}{\text{MRFDN}} \div 24 \quad (4);$$

$$\text{kiFDNpd} = \frac{\text{CFDNpd}}{\text{MRFDNpd}} \div 24 \quad (5);$$

$$\text{kpFDN} = \frac{\text{FaFDN}}{\text{MRFDN}} \div 24 \quad (6);$$

$$\text{kpFDNpd} = \frac{\text{FaFDN} - \text{CFDNi}}{\text{MRFDNpd}} \div 24 \quad (7);$$

$$\text{kpFDNi} = \frac{\text{CFDNi}}{\text{MRi}} \div 24 \quad (8);$$

$$\text{kdFDNpd} = \text{kiFDNpd} - \text{kpFDNpd} \quad (9);$$

em que: MRFDN = massa ruminal de FDN (g); MRm = massa ruminal de MS (g); [FDNR] = concentração ruminal de FDN (g/g de MS); MRFDNpd = massa ruminal de FDNpd (g); MRFDNi = massa ruminal de FDNi (g); [FDNiR] = concentração ruminal de FDNi (g/g de MS); kiFDN = taxa de ingestão de FDN (/h); CFDN = consumo de FDN (g/dia); kiFDNpd = taxa de ingestão de FDNpd (/h); CFDNpd = consumo de FDNpd (g/dia); kpFDN = taxa de passagem ruminal da FDN (/h); FaFDN = fluxo abomasal de FDN (g/dia); kpFDNpd = taxa de passagem ruminal da FDNpd (/h); FaFDN = fluxo abomasal de FDN (g/dia); CFDNi = consumo de FDNi (g/dia); kpFDNi = taxa de passagem ruminal da FDNi (/h); e kdFDNpd = taxa de degradação da FDNpd (/h).

A concentração de NAR foi quantificada pelo método colorimétrico INCT-CA N-006/1 (Detmann et al., 2012). As concentrações obtidas nos diferentes tempos de amostragem foram combinadas por animal e período, dentro de cada dia de coleta, produzindo-se, ao final, valor único, representativo da média diária de concentração de NAR

para cada um dos dias de avaliação. Combinação similar foi conduzida sobre os valores de pH ruminal.

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

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

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

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

$$CNUF = \frac{EUC}{CSC} \times NUS \quad (10);$$

$$EFNU = \frac{EUNU}{CNUF} \quad (11);$$

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

As estimativas de CNUF e EFNU foram avaliadas para cada um dos dias de coletas urinárias.

Os experimento foi implementado e analisado segundo delineamento em quadrado latino 5×5 , com cinco tratamentos, cinco animais e cinco períodos experimentais segundo esquema fatorial $2 \times 2 + 1$ (dois níveis de suplementação: 30 ou 60% das exigências de PDR; duas frequências de suplementação: diária ou a cada três dias; mais tratamento controle, sem suplementação). Os efeitos de tratamentos foram assumidos como fixos, ao passo que os efeitos de animal e período experimental foram assumidos como aleatórios.

As variáveis mensuradas e avaliadas em função de diferentes dias (NAR, NUS, pH ruminal, concentrações de AGV, concentrações sanguíneas de glicose e triglicérides, excreções urinárias de nitrogênio, nitrogênio ureico e 3-metilhistidina; CNUF e EFNU) foram avaliadas em esquema de medidas repetidas no tempo por intermédio de método de modelos mistos (Kaps & Lamberson, 2004). Para este caso, foi realizada previamente a escolha da melhor estrutura de matriz de (co)variâncias por intermédio do critério de Akaike corrigido, optando-se por estrutura com simetria composta. O cômputo dos graus de liberdade foi realizado segundo o critério de Kenward-Rogers.

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio do procedimento MIXED do SAS (Statiscal Analysis System; versão 9.4) adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados

De forma geral, o fornecimento de suplemento não alterou ($P>0,05$) o consumo voluntário, com exceção dos consumos de PB, o qual foi ampliado ($P<0,05$) com o fornecimento de suplementos (Tabela 2). Além disso, verificou-se efeito da quantidade de suplemento ofertado, para o consumo de PB, o qual foi maior ($P<0,05$) quando os suplementos contemplavam 60% das exigências de PDR.

Houve efeito da frequência de fornecimento de suplementos para os consumos de MO digerida (MOD) e FDN digerida (FDND), os quais foram menores ($P<0,05$) nos tratamentos com fornecimento infrequente. Adicionalmente, os consumos de MS, MS de forragem, MO e FDN expressos em função do peso corporal foram menores ($P<0,05$) para a suplementação infrequente em relação aos tratamentos cuja suplementação foi realizada diariamente (Tabela 2).

Não foram verificados efeitos ($P>0,05$) da frequência de suplementação sobre os coeficientes de digestibilidade total, ruminal e intestinal, e sobre a concentração de MOD na dieta (Tabela 3).

Tabela 2 - Consumo voluntário de matéria seca (MS), MS de forragem (MSF), matéria orgânica (MO) proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), MO digerida (MOD) e fibra em detergente neutro digerida (FDND), FDN não digerida (FDNND) e relação PB:MOD em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos ¹					EPM	Valor-P ²			
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I		C vs. S	Q	F	Q × F
	kg/dia									
MS	4,984	5,084	4,792	5,541	4,771	0,4158	0,848	0,464	0,090	0,423
MSF	4,984	4,991	4,699	5,355	4,585	0,4158	0,817	0,672	0,090	0,423
MO	4,715	4,808	4,535	5,248	4,518	0,3929	0,842	0,452	0,091	0,419
PB	0,400	0,515	0,486	0,645	0,582	0,0319	<0,001	0,001	0,088	0,501
FDNcp	3,832	3,837	3,617	4,132	3,536	0,3153	0,836	0,633	0,086	0,404
FDNi	1,643	1,601	1,516	1,760	1,530	0,1776	0,726	0,418	0,151	0,491
MOD	2,272	2,445	2,300	2,705	2,204	0,1749	0,386	0,572	0,041	0,230
FDND	2,011	2,102	1,978	2,243	1,822	0,1490	0,857	0,953	0,043	0,241
FDNND	1,821	1,735	1,639	1,890	1,713	0,2320	0,570	0,349	0,267	0,736
PB:MOD ³	176	213	216	238	273	-	-	-	-	-
	g/ kg de peso corporal									
MS	19,4	20,6	19,1	21,6	18,2	1,87	0,702	0,949	0,044	0,379
MSF	19,4	20,2	18,8	20,9	17,5	1,87	0,942	0,787	0,045	0,376
MO	18,4	19,5	18,1	20,5	17,2	1,78	0,708	0,954	0,043	0,359
FDNcp	14,9	15,5	14,4	16,1	13,5	1,41	0,966	0,831	0,044	0,375
FDNi	6,4	6,5	6,0	6,8	5,8	0,76	0,835	0,889	0,096	0,548

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infreqüentemente (a cada 3 dias), respectivamente.

² C vs. S, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da freqüência de suplementação; Q × F, interação entre quantidade de suplemento e freqüência de suplementação.

³ g PB/kg MOD.

O fornecimento de suplemento ampliou ($P < 0,05$) os coeficientes de digestibilidade ruminal, intestinal e total da PB (Tabela 3). Além disso, observou-se efeito da quantidade de suplemento ofertada, verificando que maiores valores ($P < 0,05$) de digestibilidade ruminal e total da PB nos tratamentos cuja oferta correspondia a 60% das exigências de PDR em relação aos tratamentos com 30% das exigências de PDR. Ressalta-se que valores positivos para digestibilidade ruminal da PB somente foram verificados quando 60% das exigências de PDR foram supridas (Tabela 3).

Houve efeito de interação ($P < 0,05$) entre quantidade de suplemento e frequência de suplementação para o coeficiente de digestibilidade ruminal da MO. Contudo, o estudo desse efeito não evidenciou diferença entre os níveis dos fatores estudados ($P > 0,05$).

Observou-se efeito da quantidade de suplemento ($P < 0,05$) sobre a massa ruminal de FDNi, sendo que maiores massas foram verificadas com o fornecimento de 30% das exigências de PDR, independentemente da frequência de fornecimento dos suplementos. Houve efeito de interação ($P < 0,05$) entre frequência de fornecimento e quantidade de suplemento sobre a massa ruminal de FDN, cujo desmembramento evidenciou que apenas no tratamento com o fornecimento de 60% das exigências de PDR de forma infrequente houve queda ($P < 0,05$) na massa ruminal de FDN. Nenhum efeito foi verificado sobre a massa ruminal de FDNpd ($P > 0,05$; Tabela 4).

Nenhum efeito foi verificado ($P > 0,05$) sobre as taxas associadas à dinâmica ruminal dos compostos fibrosos (Tabela 4).

O consumo de nitrogênio apresentou o mesmo comportamento verificado para o consumo de PB (Tabela 5). Por outro lado, nenhum efeito ($P > 0,05$) foi verificado sobre a excreção fecal de nitrogênio.

Tabela 3 - Coeficientes de digestibilidade (g/g) ruminal, intestinal e total da matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e concentração dietética de matéria orgânica digerida (MOD; g/kg MS) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos ¹					EPM	Valor-P ²			
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I		C vs. S	Q	F	Q × F
			Ruminal ³							
MO	0,322	0,295	0,362	0,360	0,305	0,0423	0,778	0,895	0,826	0,036
PB	-0,335	-0,139	-0,047	0,090	0,005	0,0687	<0,001	0,019	0,946	0,116
FDNcp	0,539	0,501	0,535	0,528	0,518	0,0319	0,331	0,769	0,459	0,202
			Intestinal ³							
MO	0,245	0,297	0,215	0,258	0,263	0,0529	0,675	0,867	0,189	0,138
PB	0,589	0,629	0,601	0,623	0,645	0,0360	0,030	0,172	0,807	0,080
FDNcp	-0,014	0,092	0,011	0,051	0,003	0,0494	0,169	0,474	0,075	0,619
			Total							
MO	0,489	0,509	0,505	0,526	0,496	0,0341	0,177	0,731	0,206	0,303
PB	0,454	0,587	0,589	0,657	0,655	0,0335	<0,001	0,001	0,986	0,868
FDNcp	0,532	0,547	0,543	0,553	0,525	0,0320	0,503	0,646	0,236	0,374
MOD	463	481	478	499	470	32,3	0,173	0,691	0,214	0,303

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infrequentemente (a cada 3 dias), respectivamente.

² C vs. S, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da frequência de suplementação; Q × F, interação entre quantidade de suplemento e frequência de suplementação.

³ Calculado como fração do que chegou ao local de digestão.

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

Item	Tratamentos ¹					EPM	Valor-P ²			
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I		C vs. S	Q	F	Q × F
	g/kg de peso corporal									
MRFDN	17,7	17,7	18,0	17,8	15,8	1,64	0,473	0,048	0,100	0,028
MRFDNpd	4,1	3,4	3,5	4,2	3,3	0,52	0,264	0,390	0,315	0,215
MRFDNi	13,6	14,3	14,5	13,6	12,5	1,42	0,895	0,039	0,474	0,275
ki FDN	0,0364	0,0383	0,0337	0,0403	0,0363	0,00508	0,762	0,315	0,067	0,888
ki FDNpd	0,0993	0,1117	0,1059	0,1035	0,1010	0,01491	0,676	0,624	0,757	0,900
kd FDN	0,0194	0,0193	0,0181	0,0203	0,0191	0,00256	0,878	0,380	0,312	0,965
kd FDNpd	0,0927	0,0961	0,0979	0,0931	0,0923	0,01425	0,880	0,738	0,968	0,921
kp FDN	0,0170	0,0191	0,0155	0,0200	0,0172	0,00305	0,597	0,409	0,058	0,800
kp FDNpd	0,0066	0,0156	0,0080	0,0104	0,0087	0,00333	0,227	0,449	0,127	0,313
kp FDNi	0,0201	0,0207	0,0177	0,0232	0,0197	0,00370	0,932	0,231	0,088	0,884

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infreqüentemente (a cada 3 dias), respectivamente.

² C vs. S, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da freqüência de suplementação; Q × F, interação entre quantidade de suplemento e freqüência de suplementação.

Não observou-se efeito ($P>0,05$) da suplementação, da quantidade de suplemento, frequência de suplementação ou sua interação sobre o balanço de compostos nitrogenados (BN) e sobre a eficiência de uso do nitrogênio (EFUN) (Tabela 5)

O balanço de compostos nitrogenados no rúmen (BNRU) foi incrementado ($P<0,05$) pelo fornecimento de suplementos e foi superior ($P<0,05$) com o fornecimento de 60% em relação a 30% das exigências de PDR. Esta variável não foi afetada ($P>0,05$) pela frequência de suplementação ou pela interação entre frequência e quantidade de suplementos (Tabela 5). Ressalta-se que somente foram observados valores positivos de BNRU nos animais suplementados.

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (NMIC, g/dia), e a eficiência de síntese microbiana (EFM) não foram afetados ($P>0,05$) pela suplementação, quantidade de suplementos, frequência de suplementação ou interação quantidade de suplemento e frequência de suplementação (Tabela 5).

O pH ruminal não diferiu ($P>0,05$) entre controle e tratamentos envolvendo suplementação (Tabela 6). Houve interação ($P<0,05$) entre frequência de suplementação e quantidade de suplemento, no qual os tratamentos com o suprimento de 30% das exigências de PDR com fornecimento infrequente e 60% das exigências de PDR com fornecimento diário apresentaram menores valores ($P<0,05$) de pH em relação aos demais tratamentos envolvendo suplementação. Observou-se efeito de dia ($P<0,05$) sobre os valores de pH, cujos maiores valores ($P<0,05$) de pH ruminal foram observados no primeiro dia de amostragem (1° dia – 6,38; 2° dia – 6,20; 3° dia – 6,19).

Tabela 5 - Consumo de nitrogênio (CN, g/dia), excreção fecal de nitrogênio (EFN, g/dia), balanço aparente de compostos nitrogenados (BN, g/dia), eficiência de uso do nitrogênio (EFNU, g/g N ingerido), balanço nitrogenado no rúmen (BNRU, g/dia), fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (NMIC, g/dia) e eficiência de síntese microbiana (EFM - g PB microbiana/kg de MO digerida) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos ¹						Valor-P ²			
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I	EPM	C vs. S	Q	F	Q × F
CN	63,9	82,4	77,8	103,2	93,1	5,11	<0,001	0,001	0,088	0,499
EFN	35,3	34,1	31,9	35,8	23,6	4,08	0,408	0,505	0,146	0,777
BN	3,3	9,6	7,1	17,4	9,0	3,90	0,063	0,159	0,122	0,381
EFUN	0,05	0,12	0,09	0,17	0,10	0,047	0,126	0,386	0,206	0,542
BNRU	-21,4	-12,1	-4,8	9,0	1,7	5,83	0,001	0,006	0,998	0,100
NMIC	31,1	40,5	44,8	53,6	42,6	7,81	0,073	0,420	0,615	0,262
EFM	84,4	100,2	122,3	123,1	130,9	20,05	0,123	0,417	0,439	0,710

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infrequentemente (a cada 3 dias), respectivamente.

² C vs. S, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da frequência de suplementação; Q × F, interação entre quantidade de suplemento e frequência de suplementação.

A concentração de NAR foi incrementada nos tratamentos com suplementação nitrogenada em relação ao tratamento controle ($P < 0,05$; Tabela 6). Adicionalmente, observou-se efeito da quantidade de suplemento, evidenciando maiores valores ($P < 0,05$) nos tratamentos com o suprimento de 60% das exigências de PDR em relação ao suprimento de 30% das exigências de PDR ($P < 0,05$); e efeito de frequência de suplementação, sendo maiores valores de NAR observados nos tratamentos cujos suplementos foram fornecidos de forma infrequente ($P < 0,05$).

Ainda em relação à concentração de NAR, houve efeito de interação entre dias de amostragem e tratamentos ($P < 0,05$). O desmembramento deste efeito mostrou que apenas nos tratamentos cuja suplementação foi infrequente houve diferença entre dias ($P < 0,05$), observando-se maiores valores ($P < 0,05$) de NAR no primeiro dia de amostragem, com queda gradativa na concentração para os demais dias (Figura 1).

A concentração ruminal de ácidos graxos voláteis (AGV) não diferiu ($P > 0,05$) entre tratamentos (Tabela 6). Sobre esta variável observou-se efeito de dia ($P < 0,05$), havendo queda na concentração de AGV no terceiro dia de amostragem (1º dia – 5,129; 2º dia – 5,271; 3º dia – 4,411).

Adicionalmente, não foram verificados efeitos ($P > 0,05$) de suplementação, quantidade de suplemento, frequência de fornecimento, dia de amostragem e as respectivas interações sobre as proporções molares de acetato, propionato, butirato e sobre a relação acetato:propionato (Tabela 6).

Tabela 6 - Concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR – mg/dL), pH ruminal, concentração ruminal de ácidos graxos voláteis (AGV – mmol/dL), proporção molar de acetato, propionato e butirato (mmol/100mmol) e relação acetato:propionato (A:P) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos					EPM	Valor P ²					
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I		C vs. S	Q	F	Q × F	D	T × D
pH	6,30	6,29	6,21	6,19	6,31	0,098	0,302	0,966	0,667	0,027	<0,001	0,655
NAR	6,8	13,8	16,4	21,3	28,0	1,85	<0,001	<0,001	0,009	0,197	<0,001	<0,001
AGV	4,971	4,606	4,810	5,105	5,193	0,4806	0,916	0,227	0,683	0,871	0,046	0,353
Acetato	67,71	66,50	68,08	67,01	67,71	0,860	0,653	0,930	0,148	0,565	0,161	0,609
Propionato	20,64	21,59	21,27	21,21	20,67	0,384	0,125	0,124	0,174	0,723	0,305	0,256
Butirato	11,65	11,91	10,65	11,78	11,62	0,665	0,790	0,436	0,195	0,310	0,267	0,579
A:P	3,30	3,09	3,22	3,19	3,31	0,098	0,310	0,265	0,162	0,917	0,221	0,425

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infrequentemente (a cada 3 dias), respectivamente.

² C, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da frequência de suplementação ; Q × F, interação entre quantidade de suplemento e frequência de suplementação; D, efeito do dia de amostragem; T × D, interação entre tratamento e dia de amostragem.

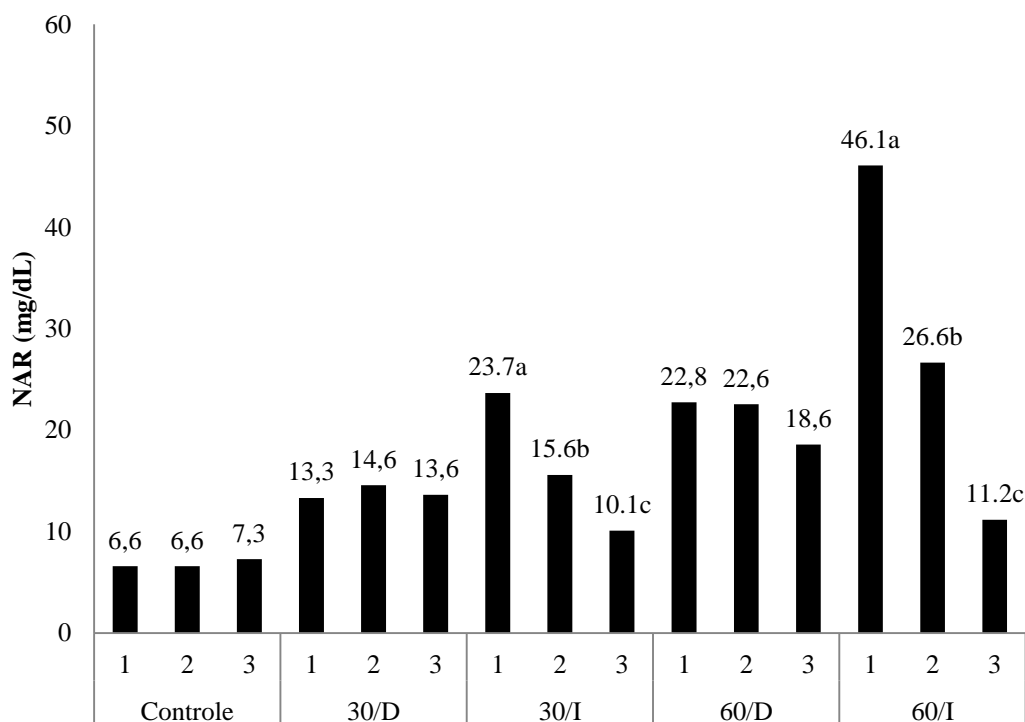


Figura 1 - Concentração média diária de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) em função dos dias de amostragem e dos diferentes tratamentos (Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infreqüentemente, respectivamente; para maiores detalhes, consultar a Tabela 6). Médias, dentro dos tratamentos com suplementação infreqüente, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P < 0,05$).

Não houve efeito de suplementação ou da frequência de fornecimento dos suplementos sobre a concentração sanguínea de glicose ($P > 0,05$); entretanto, houve aumento ($P < 0,05$) na glicose sanguínea quando elevou-se a quantidade de suplemento de 30% para 60% das exigências de PDR. Além disso, para essa variável observou-se também efeito de dia ($P < 0,05$), cujos valores médios de glicose sanguínea foram maiores no terceiro dia de amostragem (1º dia – 44,3; 2º dia – 46,0; 3º dia – 50,4).

Observou-se efeito da frequência de suplementação sobre a concentração sanguínea de triglicérides cujos valores foram maiores ($P < 0,05$) nos tratamentos com fornecimento

diário em relação aos tratamentos com fornecimento infrequente, não sendo observados efeitos de suplementação, quantidade de suplemento, dia de amostragem ou suas interações ($P>0,05$; Tabela 7).

Não foram verificados efeitos ($P>0,05$) de suplementação, quantidade de suplemento, frequência de fornecimento, dia de amostragem e as respectivas interações sobre a excreção urinária de 3-metil-histidina (Tabela 7).

A suplementação aumentou ($P<0,05$) a excreção urinária de nitrogênio, não sendo verificados efeitos ($P>0,05$) de quantidade de suplemento, frequência de fornecimento, dia de amostragem e das respectivas interações (Tabela 7).

A excreção urinária de nitrogênio ureico (EUNU) foi maior nos animais suplementados em relação aos animais do tratamento controle ($P<0,05$). Adicionalmente, houve efeito da quantidade de suplemento ($P<0,05$), cujos tratamentos cuja suplementação contemplava 60% das exigências PDR apresentaram maiores EUNU em relação aos animais com suplementação de 30% das exigências de PDR (Tabela 7). Não foram verificados efeitos ($P>0,05$) da frequência de suplementação, dia de amostragem ou das interações estudadas.

Tabela 7 – Concentração sanguínea de glicose (mg/dL), triglicérides (mg/dL), excreção urinária de 3-metil-histidina (3MTH, mg/g de creatinina), excreção urinária de nitrogênio (EUN, g/dia), excreção urinária de nitrogênio uréico (EUNU, g/dia), concentração de nitrogênio uréico no soro (NUS, mg/dL), carga de nitrogênio uréico filtrada pelos rins (CNUF, g/dia) e excreção fracional de nitrogênio uréico (EFNU, g/g) em função dos diferentes tratamentos

Item	Tratamentos						Valor P ²					
	Controle	30/D	30/I	60/D	60/I	EPM	C	Q	F	F × Q	D	T × D
Glicose	46,5	42,3	46,3	48,1	51,4	5,10	0,829	0,031	0,129	0,895	0,003	0,571
Triglicérides	15,7	16,5	15,7	16,7	12,6	2,12	0,799	0,181	0,038	0,132	0,161	0,895
3MTH	105,0	106,9	97,8	102,9	94,1	10,36	0,527	0,629	0,183	0,922	0,170	0,276
EUN	25,6	39,0	45,2	49,9	52,7	4,95	0,001	0,078	0,369	0,727	0,884	0,621
EUNU	8,6	19,1	19,0	28,9	24,5	2,54	<0,001	<0,001	0,075	0,080	0,868	0,617
NUS	7,0	12,0	11,3	15,9	17,1	1,49	<0,001	<0,001	0,664	0,229	<0,001	<0,001
CNUF	18,6	33,5	34,4	45,7	48,9	4,58	<0,001	<0,001	0,422	0,655	0,048	0,124
EFNU	0,467	0,571	0,560	0,682	0,537	0,0509	0,019	0,299	0,077	0,119	0,036	0,927

¹ Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infrequentemente (a cada 3 dias), respectivamente..

² C, controle versus suplementados; Q, efeito da quantidade de suplemento; F, efeito da frequência de suplementação; D, efeito do dia de amostragem; T × D, efeito da interação entre tratamento e dia de amostragem.

A concentração de NUS foi ampliada pela suplementação ($P<0,05$) e incrementada ($P<0,05$) com o aumento na quantidade de suplemento fornecido, mas não foi afetada ($P>0,05$), em média, pela frequência de suplementação (Tabela 7). Contudo, houve interação ($P<0,05$) entre tratamentos e dia de amostragem. O estudo desse efeito mostrou que a concentração de NUS somente variou entre dias de amostragem para os tratamentos com suplementação infrequente ($P<0,05$). Neste caso, para o suprimento infrequente de 30% das exigências de PDR, as concentrações de NUS mantiveram-se estáveis ($P>0,05$) nos dois primeiros dias de avaliação, decaindo ($P<0,05$) ao terceiro dia. Com o suprimento infrequente de 60% das exigências de PDR as concentrações de NUS se elevaram ($P<0,05$) no segundo dia de avaliação, reduzindo-se ($P<0,05$) ao terceiro dia (Figura 2).

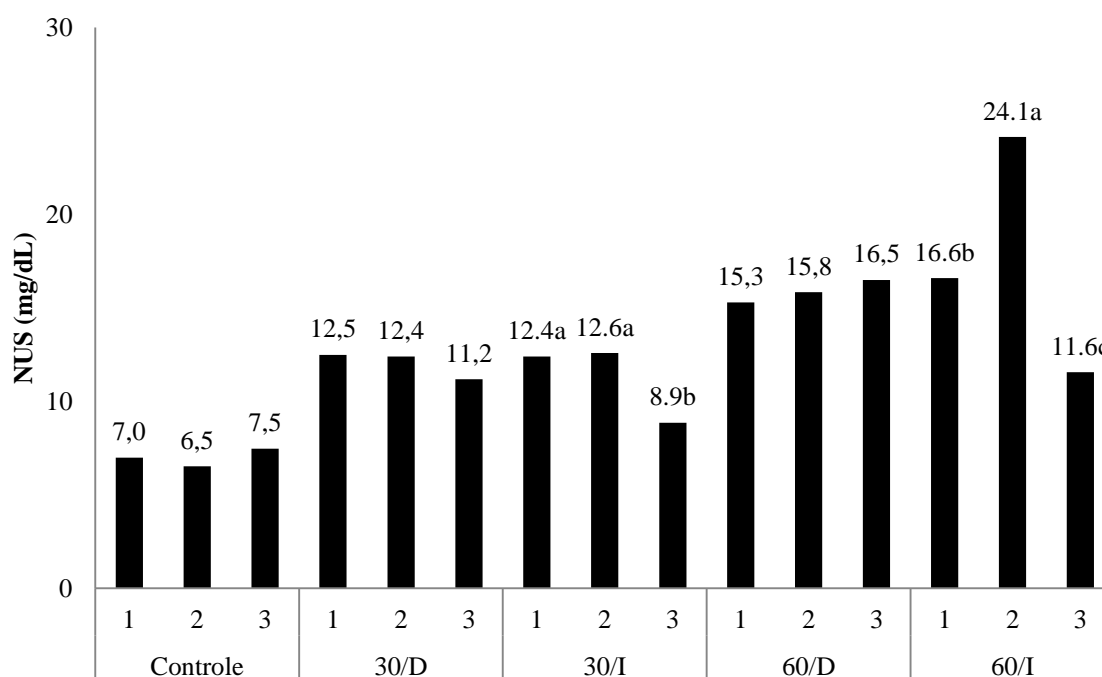


Figura 2 - Concentração média diária de nitrogênio ureico no soro (NUS) em função dos dias de amostragem e dos diferentes tratamentos (Controle, sem suplementação; 30 e 60, quantidade de suplemento correspondente a 30 e 60% das exigências diárias de PDR, respectivamente; D e I, suplementos ofertados diariamente ou infrequentemente, respectivamente; para maiores detalhes, consultar a Tabela 7). Médias, dentro dos tratamentos com suplementação infrequente, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P<0,05$).

A CNUF e a EFNU foram incrementadas com a suplementação ($P < 0,05$); além disso, as estimativas de CNUF foram maiores ($P < 0,05$) nos tratamentos com o suprimento de 60% das exigências de PDR em relação aos suplementados com 30% das exigências de PDR. Não houve efeitos ($P > 0,05$) de frequência de suplementação e interação entre quantidade de suplementos e frequência. No entanto, verificou-se para estas variáveis efeito do dia de amostragem ($P < 0,05$). No caso da CNUF, os valores permaneceram estáveis entre o primeiro e o segundo dia ($P > 0,05$), havendo decréscimo ($P < 0,05$) no terceiro dia de amostragem (1º dia – 36,1; 2º dia – 40,6; 3º dia – 31,9). Em relação à EFNU, os valores foram maiores ($P < 0,05$) no terceiro dia de avaliação (1º dia – 0,562; 2º dia – 0,497; 3º dia – 0,632).

Discussão

Neste estudo não foram verificados efeitos positivos da suplementação com compostos nitrogenados sobre o consumo voluntário (Tabela 2). Este comportamento corrobora os resultados obtidos por outros autores em condições tropicais ao fornecerem suplementos proteicos a bovinos alimentados com forragens tropicais de média a alta qualidade (Zervoudakis et al., 2008; Costa et al., 2011a; Lazzarini, 2011; Figueiras, 2013). De acordo com Van Soest (1994) e Lazzarini et al. (2009a), respostas com a suplementação nitrogenada quanto ao consumo de forragem deixam de ser evidentes quando os teores de PB da forragem basal são superiores a 70-80 g/kg MS, o que se aproxima da forragem utilizada neste estudo (Tabela 1). Nesta situação, os quesitos mínimos em compostos nitrogenados para a atividade fibrolítica microbiana são supridos (Lazzarini et al., 2009b), o que é corroborado para ausência de efeito sobre a taxa de degradação da FDN_{pd} (Tabela 4) e sobre os coeficientes de digestibilidade da FDN (Tabela 3).

Por outro lado, quando considerados os consumos por unidade de tamanho corporal, verificou-se que a suplementação infrequente reduziu o consumo voluntário de forragem (Tabela 2). Concomitantemente, observou-se queda nos consumos de MOD e de FDND. Assim, considerando-se que não houve efeito da frequência de suplementação sobre os coeficientes de digestibilidade (Tabela 3), pode-se inferir que existem efeitos negativos da redução da frequência sobre o consumo de forragem basal. Nota-se, embora sem efeito de interação entre frequência de suplementação e quantidade de suplemento ($P > 0,05$), que reduções mais proeminentes no consumo voluntário foram observados com o suprimento infrequente de 60% das exigências de PDR (Tabela 2). Comportamento similar foi verificado por Drewnoski et al. (2011).

Este efeito se deve à elevada massa de nitrogênio suprida de uma única vez no ambiente ruminal, a qual propiciou valores elevados de NAR no dia do fornecimento dos suplementos (Figura 1). O excesso de amônia ruminal implica em excesso de amônia nos fluidos circulantes e no meio intra-celular (Visek, 1984). Este quadro ocasiona o estabelecimento de sensações de mal-estar nos animais (Detmann et al., 2007), os quais os levam a reduzir o consumo como tentativa de aproximação a uma situação de conforto.

A redução no consumo é de certa forma corroborado pelas taxas associadas à dinâmica de trânsito da FDN. Apesar de não apresentar diferenças significativas, observou-se tendência de redução nas taxas de ingestão ($P < 0,07$) e passagem ($P < 0,06$) da FDN quando os suplementos foram ofertados de forma infrequente (Tabela 4).

Os principais efeitos sobre as características de digestão centraram-se sobre o aumento nos coeficientes de digestibilidade ruminal, intestinal e total da PB com o suprimento de suplementos e sobre os coeficientes de digestibilidade ruminal e total da PB com o aumento na quantidade de suplemento (Tabela 3). Para os componentes não fibrosos da dieta, os coeficientes de digestibilidade aparente são diretamente proporcionais ao

consumo deste componente, o que reflete os altos valores do coeficiente de digestibilidade verdadeiro e a diluição da fração metabólica fecal (Van Soest, 1994; McGuire et al., 2013). Deve ser destacado que os coeficientes de digestibilidade ruminal da PB (Tabela 3) e, conseqüentemente, o balanço de compostos nitrogenados no rúmen (Tabela 5), se ampliaram na medida em que mais nitrogênio foi fornecido, tornando-se positivos na medida em que se ampliou a quantidade de PB na dieta total.

Valores positivos de balanço de compostos nitrogenados no rúmen estão associados a melhorias no status de nitrogênio no organismo animal e à melhoria na eficiência produtiva (Detmann et al., 2014a).

A complexidade dos efeitos do nitrogênio sobre a produção de animais em pastejo nos trópicos aumenta quando consideramos que sua disponibilidade metabólica afeta o uso da energia metabolizável e que a retenção de nitrogênio no organismo animal é reflexo da eficiência de uso de todos os substratos envolvidos na síntese corporal e de produtos (Detmann et al., 2014a).

De forma geral, o fornecimento de suplementos tendeu a ampliar a retenção de nitrogênio no organismo animal ($P < 0,07$) e o suprimento de proteína microbiana ($P < 0,08$; Tabela 5), mesmo com o incremento na perdas urinárias de nitrogênio (Tabela 7). Ressalta-se que, a despeito dos efeitos negativos sobre o consumo (Tabela 2), a redução na frequência de suplementação não propiciou redução na retenção corporal de nitrogênio ou na eficiência de uso do nitrogênio (Tabela 5), assim como verificado no Capítulo 1 desta Tese.

O suprimento adicional de proteína para animais alimentados com forragens tropicais é responsável pelo incremento no status de nitrogênio no organismo, propiciando maior disponibilidade quantitativa e qualitativa de compostos nitrogenados para funções de produção (Egan, 1965; Detmann et al., 2014a), ocasionando reduções no catabolismo muscular (Detmann et al., 2014b) e ampliação das atividades anabólicas (Drewnoski et al.,

2014; Capítulo 1). Este comportamento é corroborado pelos resultados obtidos por diversos autores em condições tropicais (Costa et al., 2011b; Rufino, 2011; Lazzarini, 2011; Figueiras, 2013).

Ao menos parcialmente, os efeitos da suplementação com compostos nitrogenados sobre o status de nitrogênio podem ser suportados pela elevação na concentração de glicose sanguínea com o aumento no fornecimento de nitrogênio (Tabela 7). Parte da glicose demandada pelo animal ruminante pode ser sintetizada a partir de aminoácidos gliconeogênicos (Van Soest, 1994). No entanto, sob baixa disponibilidade de nitrogênio amplia-se a demanda de aminoácidos para síntese hepática de ureia (Parker et al., 1995). Assim, o aumento no suprimento de nitrogênio suplementar poderia incorrer em menor uso de aminoácidos gliconeogênicos para o metabolismo intermediário do nitrogênio, ampliando, como consequência, a disponibilidade de precursores para síntese de glicose.

Por outro lado, deve ser ressaltada a ausência de efeitos da redução da frequência de suplementação sobre a retenção corporal de nitrogênio (Tabela 5), fato que em situações de produção refletiria na manutenção do desempenho animal em relação a animais suplementados diariamente, como verificado por diversos autores (Canesin et al., 2009; Simioni et al., 2009; Rosa et al., 2010)

Farmer et al. (2004) sugeriram alguns mecanismos que podem ser importantes na diminuição do impacto da redução da frequência de suplementação e minimização das diferenças no desempenho de bovinos em relação a suplementação diária, entre estes: a reciclagem de nitrogênio, o aumento na concentração de NAR e o prolongamento ou manutenção dos níveis de amônia nos dias de não fornecimento de suplemento.

No presente estudo, o benefício da manutenção de NAR não se mostrou efeito consistente devido à queda acentuada das concentrações de amônia a partir do dia em que os suplementos foram fornecidos (Figura 1). Avaliações indiretas do aumento na reciclagem

poderiam ser verificadas por intermédio de decréscimos no BNRU (Detmann et al., 2014b). Contudo, não foram observados efeitos da frequência de suplementação sobre o BNRU (Tabela 5).

A avaliação conjunta do comportamento de NAR e NUS para os animais suplementados de forma infrequente (Figuras 1 e 2) sugere a existência de mecanismos metabólicos de tamponamento para a perda de compostos nitrogenados. Geralmente, as concentrações de NAR e NUS são linearmente associadas (Valadares et al., 1997; Costa et al., 2011b). Contudo, as máximas concentrações de NAR foram observadas no dia de fornecimento dos suplementos (Figura 1), ao passo que as maiores concentrações de NUS somente foram verificadas no dia posterior ao fornecimento dos suplementos, de forma mais proeminente com o suprimento infrequente de 60% das exigências de PDR (Figura 2), indicando conservação de nitrogênio no organismo dos animais suplementados infreqüentemente. Ressalta-se que as concentrações de NAR e NUS não variaram entre dias para os demais tratamentos.

A soma destes comportamentos fez com que as excreções médias diárias de nitrogênio e nitrogênio ureico na urina e a carga de nitrogênio filtrada pelos rins não fossem afetadas pela frequência de suplementação (Tabela 7). Adicionalmente, ressalta-se que a EFNU se manteve, em média, estável do primeiro para o segundo dia de avaliação, mesmo considerando-se a elevação na concentração de NUS.

Desta forma, levanta-se a possibilidade de que mecanismos de tamponamento existentes no metabolismo animal possam auxiliar, talvez de forma coordenada com os estímulos anabólicos, na manutenção do status de nitrogênio dos animais nos dias em que a suplementação não é efetuada, garantindo retenção de nitrogênio no organismo de forma similar aos animais suplementados diariamente.

Conclusão

A redução na frequência de suplementação nitrogenada em bovinos alimentados com forragens tropicais de média qualidade não compromete a retenção corporal de compostos nitrogenados. Contudo, o fornecimento infrequente de suplementos nitrogenados resulta em efeitos negativos sobre o consumo voluntário de forragem.

Referências Bibliográficas

- CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; REYNOLDS, C.K.; KRISTENSEN, N.B.; Van VUUREN, A.M. Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. **Animal**, v.4, p.1184-1196, 2010.
- CANESIN, R.C.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A.; REY, F.S.B; RESENDE, K.T.; TEIXEIRA, I.A.M.A. Desempenho de bovinos em pastejo submetidos a duas frequências de suplementação no período da seca. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.31, p.417-423, 2009.
- COSTA, V.A.C.; DETMANN, E.; PAULINO, M.P.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T.; CARVALHO, I.P.C.; VALENTE, T.N.P. Consumo e dinâmica ruminal da fibra em detergente neutro em bovinos em pastejo no período das águas recebendo suplementação com nitrogênio não-proteico e/ou proteína verdadeira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2805-2814, 2011a.
- COSTA, V.A.C.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T.; CARVALHO, I.P.C.; VALENTE, T.N.P. Digestibilidade total e parcial e balanço nitrogenado em bovinos em pastejo no período das águas recebendo suplementos com nitrogênio não-proteico e/ou proteína verdadeira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2815-2826, 2011b.
- DE 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 proteicas para recria de bovinos em pastejo no período seco: desempenho produtivo e econômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.873-882, 2010.
- 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.; VALADARES FILHO, S.C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.980-984, 2010.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MANTOVANI, H.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SAMAPAI, C.B.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; DETMANN, K.S.C. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livestock Science**, v.126, p.136-146, 2009.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Otimização do uso dos recursos forrageiros basais. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, 2010, Viçosa. **Anais...** Viçosa, DZO-UFV, 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.; BATISTA, E.D.; RUFINO, L.M.A. Aspectos nutricionais aplicados a bovinos em pastejo nos trópicos. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 9., 2014 Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: DZO-UFV, 2014a. p.239-267.
- 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.

- DREWNOSKI, M.E.; POORE, M.H.; BENSON, G.A. Effect of frequency of supplementation of a soyhulls and corn gluten feed blend on hay intake and performance of growing steers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 164, p.38-44, 2011.
- 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. Nutritional status and intake regulation in sheep. 2. The influence of sustained duodenal infusions of casein or urea upon voluntary intake of low-protein roughages by sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.16, p.451-462, 1965.
- FARMER, C.G.; COCHRAN, R.C.; NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C.; JOHNSON, D.E.; WICKERSHAM, T.A. Ruminal and host adaptations to changes in frequency of protein supplementation. **Journal of Animal Science**, v.82, p.895-903, 2004.
- FIGUEIRAS, J.F. **Desempenho nutricional de bovinos em pastejo suplementados durante os períodos de transição seca águas e de águas**. 2013. 73f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- FIGUEIRAS, J.F.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALENTE, T.N.P.; VALADARES FILHO, S.C.; LAZZARINI, I. Intake and digestibility in cattle under grazing supplemented with nitrogenous compounds during dry season. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1303-1312, 2010.
- FRANCE, J.; SIDDON, R.C. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. **Journal of Theoretical Biology**, v.121, p.105-120, 1986.
- KAPS, M.; LAMBERSON, W. **Biostatistics for animal science**. Wallingford: CAB International, 2004. 445p.
- KRIZSAN, S.J. AHVENJÄRVI, S.; VOLDEN, H.; BRODERICK, G.A. Estimation of rumen outflow in dairy cows fed grass silage-based diets by use of reticular sampling as an alternative to sampling from the omasal canal. **Journal of Dairy Science**, v.9, p.1138-1147, 2010.

- LAZZARINI, I. **Desempenho nutricional de bovinos em pastejo durante os períodos de seca e águas suplementados com compostos nitrogenados e/ou amido**. 2011. 62f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA, F.A. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.2021-2030, 2009a.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA, F.A. Dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.635-647, 2009b.
- MARCONDES, M.I.; GIONBELLI, M.P.; VALADARES FILHO, S.C.; CHIZZOTTI, M.L.; PAULINO, M.F. Protein requirements of zebu beef cattle. In: VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L.; PAULINO, P.V.R. (Eds.) **Nutrient requirements of zebu beef cattle BR-CORTE**. 2nd. ed. Viçosa: DZO-UFV, 2010. p.107-126.
- McGUIRE, D.L.; BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J.; COOKE, R.F. Daily and alternate day supplementation of urea or soybean meal to ruminants consuming low-quality cool-season forage: I-Effects on efficiency of nitrogen use and nutrient digestion. **Livestock Science**, v.155, p.205-213, 2013.
- PARKER, D.S.; LOMAX, M.A.; SEAL, C.J.; WILTON, J.C. Metabolic implications of ammonia production in the ruminant. **Proceedings of Nutrition Society**, v.54, p.549-563, 1995.
- REECE, W.O. Função renal nos mamíferos. In: REECE, W.O. (Ed.) **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.67-96.
- 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.; KRISTENSEN, N.B. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. **Journal of Animal Science**, v.86, p.E293-E305, 2008.
- ROSA, A.T.N.; ROCHA, M.G.; POTTER, L.; ROSO, D.; COSTA, V.G.; RIBEIRO, L.A.; SICHONANY, M.J.O. Recria de bezerras de corte em pastagem de azevém sob frequências de suplementação. **Ciência Rural**, v.40, p.2549-2554, 2010.
- RUFINO, L.M.A. **Suplementação nitrogenada ruminal e/ou abomasal em bovinos alimentados com forragem tropical**. 2011. 44f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; PAULINO, P.V.R.; QUEIROZ, A.C. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds **Tropical Animal Health and Production**, v.42, p.1471-1479, 2010.
- SIMIONI, F.L.; ANDRADE, I.F.; LADEIRA, M.M.; GONÇALVES T.M.; MATA JÚNIOR, J.I.; CAMPOS, F.R. Níveis e frequência de suplementação de novilhos de corte a pasto na estação seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.2045-2052, 2009.
- SOUZA, M.A.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; SAMPAIO, C.B.; LAZZARINI, I.; VALADARES FILHO, S.C. Intake, digestibility and rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p.1299-1310, 2010.
- ÚDEN, P.; COLUCCI, P.E.; Van SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as marker in digesta. Rate of passage studies. **Journal of the Science of. Food and Agriculture.**, v.31, p. 635-632, 1980
- 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, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M.; VALADARES FILHO, S.C.; SAMPAIO, I.B. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de ammonia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.1270-1278, 1997.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VISEK, W.J. Amonia: its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p.481-498, 1984.
- WICKERSHAM, T.A.; COCHRAN, R.C.; TITIGEMEYER, E.C.; FARMER, C.G.; KLEVESAHL, E.A.; ARROQUY, J.I.; JOHNSON, D.R.; GNAD, D.P. Effect of postruminal protein supply on the reponse to ruminal protein supplementation in beef steers fed a low-quality grass hay. **Animal Feed Science and Techonology**, v.115, p.19-36, 2004.
- ZERVOUDAKIS, J.T.; PAULINO, M.F.; CABRAL, L.S.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, E.H.B.K. Suplementos múltiplos de auto controle de consumo na recria de novilhos no período das águas. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.1968-1973, 2008.