

MARCIA DIAS

**TÉCNICAS PARA ESTIMATIVA DE PARÂMETROS DE DIGESTIBILIDADE E
PRODUÇÃO MICROBIANA EM BOVINOS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL

2005

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

T

D541t
2005

Dias, Marcia, 1981-

Técnicas para estimativa de parâmetros de disgestibilidade e produção microbiana em bovinos. / Marcia Dias – Viçosa: UFV, 2005.
x, 65f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Maria Ignez Leão.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Rúmen - Fermentação. 2. Proteínas microbianas.
3. Omaso. 4. Bovino - Nutrição. 5. Nutrição animal.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 636.2085

MARCIA DIAS

**TÉCNICAS PARA ESTIMATIVA DE PARÂMETROS DE DIGESTIBILIDADE E
PRODUÇÃO MICROBIANA EM BOVINOS**

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

APROVADA: 03 de agosto de 2005.

Prof. Edenio Detmann
(Conselheiro)

Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho
(Conselheiro)

Prof. Mário Fonseca Paulino

Prof^a. Rilene Ferreira Diniz Valadares

Prof^a. Maria Ignez Leão
(Orientadora)

Aos meus pais.

Aos meus irmãos.

Ao meu grande amigo Marcelo (*in memoriam*).

A todos os meus amigos.

AGRADECIMENTO

À Deus, pela presença constante em minha vida.

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

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

À professora Maria Ignez Leão, pela orientação, paciência, carinho, amizade e pelos agradáveis momentos de convivência.

Ao professor Edenio Detmann, pelos ensinamentos, preocupação e pelo auxílio fundamental na realização deste trabalho.

Aos Professores Sebastião de Campos Valadares Filho e Mário Fonseca Paulino, pelo apoio e ensinamentos.

À professora Rilene Ferreira Diniz Valadares, pelo pronto atendimento e apoio prestado.

Ao professor Cláudio Borela Espeschit, pelos conselhos, preocupação e apoio nos momentos de fraqueza.

Aos demais professores da Universidade Federal de Viçosa, pelo conhecimento transferido.

Aos funcionários do Laboratório Animal, pela primordial ajuda durante a condução do experimento.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, pela ajuda na realização das análises laboratoriais.

Aos demais funcionários do Departamento de Zootecnia, pelo apoio concedido durante a realização do curso.

Ao Henrique Jorge Fernandes, pelo socorro imediato e pela valiosa ajuda prestada na correção da dissertação, meu eterno agradecimento.

Aos estagiários, Tássio e Rosamaria, pelo fundamental auxílio para a realização desse experimento, pela amizade e pelos agradáveis momentos de descontração.

A Shirley, pela fundamental ajuda durante o período experimental e pela companhia nas madrugadas de coletas.

A Mônica, Poliana, Luciana, Rodrigo, Marco, Livia, João e demais pessoas que auxiliaram no início do experimento com o trato dos animais.

À Luciana Rennó, pela ajuda, atenção e conselhos.

Ao André e ao Warley, pelo envio das marchas laboratoriais.

À Ângela e a Leonília, pela primordial ajuda, pela amizade e agradável convivência.

À Magnólia, pela amizade, companheirismo e pela preocupação.

Aos amigos da Zootecnia, Juliana, Mauro, Anderson, Vinício, Viviane, Juscilene, Marlos, Maykel, Márcia e Karina, por tornarem a vivência em Viçosa mais agradável e descontraída.

À Maura, Walquiria e Marcelo (*in memoriam*), pela amizade, apoio, confiança, torcida e constante presença, mesmo com a distância.

À Kell, Bri, Walter e Kata, pela amizade, apoio e adoráveis regressos a minha querida Cidade Morena.

A professora Mariazinha, ao Antônio e ao Sr. Luiz Antônio, pelo incentivo e pelo apoio.

Aos meus pais, irmãos e demais familiares, pela confiança, torcida, pela força em todas as fases desta caminhada, enfim, por tudo.

Às minhas meninas, por terem sido mais que animais experimentais, sem elas nada seria possível.

A todos que direta ou indiretamente, mesmo que não mencionados, são responsáveis pela realização deste trabalho, meu eterno agradecimento.

BIOGRAFIA

MARCIA DIAS, filha de Lucas Pereira da Silva e Antonia Neves Dias, nasceu em Campos Sales, Ceará em 10 de junho de 1981.

Em dezembro de 2003 terminou o curso de Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Em março de 2004 iniciou o curso de mestrado em Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa em 03 de agosto de 2005.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	vii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUÇÃO	01
REFERÊNCIAS.....	06
Avaliação de Indicadores para Estimação da Digestibilidade Parcial em Bovinos.....	10
Resumo	10
Abstract.....	11
Introdução	12
Material e Métodos.....	14
Resultados e Discussão.....	18
Conclusões.....	23
Referências.....	24
Avaliação de Técnicas para Estimação de Parâmetros de Digestibilidade e Produção Microbiana em Bovinos.....	27
Resumo	27
Abstract.....	28
Introdução	29
Material e Métodos.....	30
Resultados e Discussão.....	35
Conclusões.....	41
Referências.....	43
CONCLUSÕES GERAIS	47
APÊNDICE.....	48

RESUMO

DIAS, Marcia, M.S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2005.
Técnicas para estimativa de parâmetros de digestibilidade e produção microbiana em bovinos. Orientadora: Maria Ignez Leão. Conselheiros: Edenio Detmann e Sebastião de Campos Valadares Filho.

Com a realização deste trabalho, objetivou-se: avaliar as estimativas de digestibilidade intestinal da fibra em detergente neutro obtidas por diferentes indicadores; o efeito das amostras coletadas no período diurno ou diário sobre a digestibilidade e os fluxos omasal e ileal da fibra em detergente neutro estimada por diferentes indicadores; comparar a digestibilidade total e parcial da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}), carboidratos totais (CT) e carboidratos não fibrosos (CNF) com utilização de fibra em detergente neutro indigestível (FDN_i) e de fibra em detergente ácido indigestível (FDA_i); comparar a produção microbiana estimada pela utilização de FDN_i e da FDA_i e comparar a produção microbiana estimada pelos métodos das bases purinas no omaso e da excreção urinária de derivados de purinas. Foram utilizadas quatro novilhas mestiças Holandês-Zebu, fistuladas no rúmen e no íleo, mantidas em regime de confinamento com dieta a base de feno de capim-tifton (*Cynodon spp.*) oferecido *ad libitum* e 1 kg de concentrado (27% PB). O experimento teve duração de 60 dias com três períodos experimentais de 15 dias cada. Antes do primeiro período experimental foi realizada a adaptação dos animais à dieta experimental por sete dias e entre os períodos, respeitou-se intervalo de quatro dias. Cada período experimental iniciou-se com um dia (1º) de coleta total de fezes, três dias (2º ao 4º) para coleta de digesta omasal, seguidos por dois dias (5º e 6º)

de intervalo, novamente um dia (7º) de coleta total de fezes e depois três dias (8º ao 10º) de coleta de digesta ileal, seguidos novamente por dois dias (11º e 12º) de intervalo, um dia (13º) de coleta total de fezes, um dia (14º) para mensuração do pH ruminal e coleta de amostras de urina e líquido ruminal e, finalmente, um dia (15º) de coleta de líquido ruminal para isolamento de bactérias. Para a mensuração do fluxo de digesta omasal foram utilizados os sistemas de indicadores único e duplo. No sistema único foram comparados a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) e o óxido crômico (Cr₂O₃). No sistema duplo foram comparadas as associações entre o complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) com a FDNi (Co-FDNi) e a FDAi (Co-FDAi). Para estimativa do fluxo ileal, foram utilizados apenas os indicadores únicos. As amostras *spot* de urina foram coletadas quatro horas após a alimentação. Os valores das estimativas (omasal e ileal) do fluxo e da digestibilidade intestinal da FDNcp, do período diurno correspondeu à amostra constituída neste período e o período de coleta diária, a média das estimativas dos períodos em questão. Não foi verificada diferença significativa entre as amostras de digesta coletada apenas no período diurno quando comparada às coletas no período diário, podendo a digestibilidade parcial ser estimada com coleta de amostra realizadas apenas no período diurno. Embora a FDNi, a FDAi e o Co-FDAi possam ser utilizados para estimativa de parâmetros de digestibilidade parcial na coleta de digesta omasal, recomenda-se o uso das fibras indigestíveis por serem menos onerosas e de melhor manipulação. Entretanto, dentre as fibras indigestíveis, a FDAi apresenta melhor recuperação e produz estimativas similares para a excreção fecal e a digestibilidade total, quando comparada com a coleta total de fezes. As condições ruminal foram favoráveis à produção microbiana com valores de pH variando de 6,7 a 6,9 e os valores de N-NH₃, de 10,3 a 14,1 mg/dL. As estimativas da produção microbiana via quantificação de derivados de purinas em amostras *spot* de urina demonstram-se similares às obtidas por procedimentos invasivos via fluxo de matéria microbiana omasal.

ABSTRACT

DIAS, Marcia, M.S., Universidade Federal de Viçosa, august 2005.
Techniques for estimative of parameters of digestion and microbe production in bovine. Adviser: Maria Ignez Leão. Committee members: Edenio Detmann and Sebastião de Campos Valadares Filho.

Through the performance of this work it was aimed: to assess the estimative for intestinal digestion of fiber in neutral detergent obtained through different markers; the effect of collected samples during the morning or daily on digestion and omasum and ileum flow of fiber in neutral detergent estimated with different markers; to compare the total and partial digestion of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber corrected for ashes and protein (NDFap), total carbohydrates (CT) and non fiber carbohydrates (NFC) using indigestible neutral detergent fiber (iNDF) and indigestible neutral acid fiber (iADF); to compare microbial production estimated by using iNDF and iADF and to compare microbial production estimated by methods of purine bases in the omasum and urinary secretion of purine derivative. It was used four mixed race young cows Holstein-Zebu, rumen and ileum fistulated, kept in a confinement diet based on Tifton (*Cynodon* spp.) bermudagrass hay offered *ad libitum* and 1kg of concentrated (27% CP). The experiment took 60 days, with three experimental periods of 15 days each. Before the first experimental period, animals were submitted to adaptation to the experimental diet for seven days; intervals of four days between periods were considered. Every experimental period started with one day (1st) of total fecal collection, three days (2nd to 4th) for collection of omasum digestion, followed by two interval days (5th and 6th), again one day of total fecal collection (7th) and then three days (8th to 10th) for collection of ileum digestion, followed by two interval days (11th and 12th), one day for total fecal collection (13th), one day (14th) for measurement of pH of rumen and collection of urine and rumen liquid, and finally one day of collection of rumen liquid to isolate bacteria. Single and double system markers were used to measure flow of omasum digestion. iNDF, iADF and chromium oxide (Cr₂O₃) were compared in the single system. In the double system, it was compared association between cobalt-ethilenediaminotetracetic-acid (Co-EDTA) complex and iNDF (Co-iNDF) and iADF (Co-iADF). It was used only single markers

to estimate ileum flow. Urine *spot* samples were collected four hours after feeding. Values of intestinal flow and digestion of NDFap estimatives (omasum and ileum) from daytime period matched the sample of this period and the period of daily collection matched the estimative average of the corresponding period. Significant difference was not detected between samples of digestion collected just during the daytime period, when compared to the collections of the daily period so, the partial digestion could be estimated based just on sample collection from the daytime period. Despite iNDF, iADF and Co-iADF can be used to estimate parameters of partial digestion on the collection of omasum digestion, it is recommended the use of non-digested fiber for being less expensive and easier to handle. On the other hand, among indigestible fiber, iADF shows better recovery and produce similar estimative for fecal excretion and total digestion, when compared to total fecal collection. Rumen conditions were favourable to microbial production with pH values between 6,7 and 6,9 and N-NH₃ values of 10,3 to 14,1 mg/dL. Estimative of microbial production through quantification of purine derivative in urine *spot* samples show to be similar to those obtained by means of invasive procedures via omasum microbial matter flow.

INTRODUÇÃO

O conhecimento do valor nutritivo dos alimentos é indispensável na formulação de dietas balanceadas e fundamental para estudos de nutrição animal. As mensurações da quantidade e da composição da digesta que passa em diferentes pontos do trato gastrointestinal constituem importante informação para prever a absorção líquida de nutrientes em diferentes segmentos do trato digestivo (France & Siddons, 1986). Como o processo de digestão nos ruminantes é o resultado da seqüência de eventos que ocorrem em diferentes segmentos do trato gastrointestinal, o local de digestão influencia a natureza dos produtos finais absorvidos, a extensão com que as perdas ocorrem e, provavelmente, a resposta produtiva do animal (Merchen et al., 1997). As informações obtidas com esses estudos são utilizadas em sistemas de exigências nutricionais como o Agricultural and Food Research Council (AFRC, 1993) e National Research Council (NRC, 2001). Desta forma, melhorar a acurácia das técnicas utilizadas para a obtenção desses dados reduz o erro na predição de exigências nutricionais (Ahvenjärvi et al., 2003) e torna mais eficiente a utilização dos nutrientes pelos animais, e, conseqüentemente, maior o desempenho animal.

Para que sejam possíveis mensurações da quantidade e da composição da digesta é necessária a fistulação de animais em diferentes segmentos do trato digestivo. As fistulações são importantes para estudos de digestão e de parâmetros ruminais por permitir acesso ao lúmen do trato digestivo para coleta de digesta, infusão de nutrientes e medidas alternativas de estudos de digestibilidade (como o uso de sacos de náilon e coleta de líquido ruminal para determinação da digestibilidade *in vitro*).

Basicamente existem dois tipos de cânulas: cânulas em T, que são adaptadas por meio de fistula permanente, e reentrantes, que desviam o fluxo de digesta para o exterior do animal por curta distância. As cânulas reentrantes apresentam a vantagem de estimar

o fluxo de digesta diretamente, necessitando apenas de algumas sub-amostras. Este modelo, todavia, apresenta difícil recuperação pós-cirúrgica e manutenção dos animais. Além disso, pode haver desvio do fluxo normal da digesta, o que não garante resultados reais. Já as cânulas em T apresentam pós-operatório e manutenção mais fácil e não há a exteriorização da digesta (Harmon & Richards, 1997).

Estudos radiológicos, entretanto, têm mostrado interrupção do fluxo de digesta em ovinos fistulados no intestino. Isto pode ter como conseqüências retenção da digesta e distensão do intestino ao redor da cânula, o que pode influenciar a motilidade da digesta e ocasionar fluxo retrógrado. Algumas vezes, são relatados ainda, em animais cirurgicamente preparados, especialmente aqueles adaptados com cânulas reentrantes, problemas de redução do apetite e outros distúrbios (Wenham & Wyburn, 1980).

A amostragem de digesta com redução de fistulação é, portanto, desejável. Uma das maneiras de se obter estas amostras é a coleta de digesta omasal via fístula ruminal, pela sucção da digesta com o uso de bomba a vácuo.

A amostragem no omaso apresenta vantagens quando comparada àquela realizada no abomaso ou no duodeno por ser menos invasiva e necessitar apenas da fístula ruminal. Além disso, secreções endógenas do abomaso podem ocasionar erros na estimativa da digestão dos nutrientes. Outro fator a justificar a coleta de digesta omasal é a facilidade de manutenção da cânula ruminal, o que possibilita a utilização de mais animais nos experimentos e por períodos mais longos (Huhtanen et al., 1997).

A técnica de amostragem de digesta omasal tem sido bem descrita por Huhtanen et al. (1997) e Ahverjärvi et al. (2000). Segundo este último autor e colaboradores, no entanto, são poucos os trabalhos existentes na literatura em que se estima o fluxo de digesta sem implantação de cânula pós-ruminal.

Por outro lado, para estudo de digestão é necessária à utilização de indicadores para se estimar o fluxo de digesta. Os indicadores fornecem uma série de informações relevantes nos estudos de nutrição: a quantidade ingerida de alimentos ou nutrientes específicos; a taxa de passagem da digesta por todo ou parte do trato digestivo e a digestibilidade total ou parcial do alimento ou de nutrientes específicos. Esta técnica baseia-se no princípio de que, se uma substância de referência (indicador) é indigestível, deve ser totalmente recuperada nas fezes ou em algum segmento do trato gastrointestinal. Assim, um indicador ideal não deve ser absorvido, afetar ou ser afetado pela digesta ou pelos microrganismos do sistema digestivo, ter método específico e sensível de análise, misturar-se homogeneamente com o alimento e distribuir-se de maneira uniforme na

digesta (Owens & Hanson, 1992).

Embora a utilização de indicadores para estimativa da digestibilidade, tem sido muito discutida, até o momento, não foi encontrada uma substância com características de indicador perfeito ou definido um componente químico que se assemelhe às características desejadas. Segundo Merchen (1993), nenhuma das substâncias usadas como indicador preenche todas as características, mas várias são suficientemente adequadas para fornecer dados significativos. Por esta razão, a procura de melhores indicadores constitui um dos assuntos de grande interesse na pesquisa de técnicas que facilitem estudos de nutrição animal.

Nos últimos anos, têm sido propostos várias substâncias ou novos métodos de análises que superariam algumas das limitações anteriores (Piaggio et al., 1991). Pode-se optar por indicadores internos, que ocorrem naturalmente nos alimentos, ou por indicadores externos, que são adicionados às rações ou infundidos via cânulas. Dentre os indicadores internos, pode-se citar: a fibra em detergente ácido indigestível, a fibra em detergente neutro indigestível, a lignina, a cinza insolúvel em detergente ácido, a cinza insolúvel em ácido, entre outros. Como indicadores externos, pode-se citar: o óxido crômico (Cr_2O_3) e o complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA).

Dos indicadores externos, o mais utilizado é o óxido crômico. Sua utilização é bastante difundida para estimativa de produção fecal, de fluxo de matéria seca (MS) e matéria orgânica (MO) no trato gastrintestinal, para inferências sobre o fluxo de proteína microbiana no duodeno, assim como para estudar a partição da digestão dos nutrientes da dieta. A técnica do Cr_2O_3 apresenta grande variação de resultados (Freitas et al., 2002) e seu uso é estimulado, principalmente, por ser menos oneroso, facilmente incorporado à dieta e analisado com relativa facilidade (Merchen, 1993). Vários autores têm relatado que o Cr_2O_3 permite estimativas de coeficientes de digestibilidades semelhantes àquela obtida por coleta total de fezes, no entanto, outras pesquisas mostraram resultados insatisfatórios (Ferret et al., 1999; Detmann et al., 2001; Freitas et al., 2002; Oliveira Jr. et al., 2004).

Entre os indicadores internos, as fibras indigestíveis são as mais utilizadas. Segundo Cochran et al. (1986), a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) são indicadores com potencial de utilização para a estimativa da digestibilidade. Para utilização desse tipo de indicador, amostras dos alimentos, das sobras e das fezes precisam ser incubadas *in situ* ou *in*

vitro, geralmente, por tempo superior a 120 horas para que o desaparecimento da fibra represente uma porção indigestível (Lippke et al., 1986; Moore & Sollenberger, 1997).

Quando se utiliza único indicador, normalmente assume-se que o fluxo da digesta é independente das fases das mesmas e a amostra obtida é representativa. No caso da técnica de coleta de digesta omasal, as amostras podem não ser representativas da digesta que está deixando o rúmen e passando para o omaso (Huhtanen et al., 1997; Ahvenjärvi et al., 2000). Isto requer a utilização de indicadores para reconstituir matematicamente a digesta e, conseqüentemente, diminuir o erro da técnica.

Erros na estimativa da digestibilidade, segundo Owens & Hanson (1992), estão relacionados a problemas na coleta de amostra, devido ao fato destas não serem representativas ou ao uso incorreto de indicadores. Para evitar amostras de digesta não-representativas, a infusão do indicador deve ser feita em todo o rúmen e a digesta deve ser separada em diferentes fases e, então, reconstituída matematicamente. A maioria dos trabalhos, nessa linha de pesquisa, utiliza dois indicadores para reconstituir a digesta e, segundo os autores citados anteriormente, alguns periódicos não estão aceitando trabalhos que utilizam apenas um indicador, pressupondo que a amostra da digesta não é representativa. Porém, vale ressaltar que ainda são poucos os trabalhos existentes sobre esse assunto e informações que confirmam esta premissa em condições tropicais.

De acordo com France & Siddons (1986), a digesta apresenta-se em uma fase líquida (líquido e pequenas partículas) e uma sólida (média e grande partículas), possibilitando a utilização de dois diferentes indicadores considerados ideais (para cada fase). Na fase líquida, o Co-EDTA tem apresetado bons resultados (Ahvenjärvi et al., 2003). Já na fase sólida, podem-se empregar indicadores como as fibras indigestíveis (FDAi e FDNi). Como indicador único, podem-se sugerir as fibras indigestíveis ou o Cr₂O₃. De qualquer forma, a definição da utilização de um ou mais indicadores e a sua escolha, ainda necessita de mais informações científicas.

Além do conhecimento do valor nutritivo dos alimentos, atualmente, outro fator importante na nutrição de ruminantes é o conhecimento da produção microbiana. Uma alta produção microbiana diminui a necessidade de suplementação com proteína dietética não-degradada no rúmen, o que torna desejável a maximização da produção da mesma. A proteína microbiana pode suprir, entre 50 a 100% da proteína metabolizável exigida para bovinos de corte (NRC, 1996).

A quantidade de compostos nitrogenados microbianos pode ser mensurada com indicadores microbianos, como: bases purinas (RNA); ácido 2,6 diaminopimélico

(DAPA); ^{35}S e ^{15}N . Broderick & Merchen (1992) recomendaram a utilização das bases purinas e ^{15}N . Estes autores, contudo, alertaram que nenhum indicador é totalmente adequado, conseqüentemente, as estimativas obtidas são relativas e não absolutas. Valadares Filho et al. (1990), comparando o método direto do DAPA e das purinas, concluíram que o método das bases purinas foi adequado para estimar a produção microbiana. Com estes métodos, entretanto, há necessidade da utilização de animais fistulados, havendo interesse crescente no desenvolvimento de técnicas não-invasivas (Susmel et al., 1994).

Dentre as técnicas de estimativa do fluxo de compostos microbianos ao intestino delgado, a que se baseia na excreção de derivados de purina na urina é menos invasiva por não necessitar que os animais experimentais sejam preparados cirurgicamente. Nesta técnica, assume-se que a absorção de purinas está condicionada à quantidade de proteína microbiana, e esta pode ser estimada a partir da excreção urinária dos derivados de purinas: alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina (Giesecke et al., 1994). No entanto, Chen & Gomes (1992) verificaram que a xantina e a hipoxantina não necessitam ser quantificadas na urina de bovinos por não estarem presentes em quantidades significativas, devido à alta atividade da enzima xantina oxidase responsável pela conversão desses derivados de purinas em ácido úrico.

Embora a técnica de derivados de purina na urina não seja invasiva, é necessária a estimativa da produção total de urina. Considerando que a excreção de creatinina é relativamente constante em função do peso vivo e ser pouco ou não afetada por fatores dietéticos (Valadares et al., 1997), esta pode ser usada como indicador da produção urinária. Isto possibilita a estimativa da excreção dos derivados de purinas sem a necessidade de coleta total de urina, pela utilização de única amostra denominada *spot* (Valadares et al., 1999; Valadares Filho et al., 2001; Leão, 2002; Rennó et al., 2003). Em alguns trabalhos verifica-se confirmação de que as estimativas obtidas a partir da coleta *spot* são representativas das excreções de derivados de purinas e a produção de nitrogênio (N) microbiano (Silva et al., 2001; Oliveira et al., 2001; Leão, 2002; Chizzotti et al., 2004).

Outro fator importante na nutrição animal é conhecer e atender as necessidades fisiológicas dos animais. De acordo com Van Soest (1994), as condições ecológicas do rúmen devem ser mantidas dentro de limites que permitem a normalidade do metabolismo e do crescimento microbiano. Segundo Satter & Slyter (1974), para que haja máxima fermentação ruminal, é necessário aproximadamente 5 mg N-NH₃/dL de

fluido ruminal. A concentração adequada de nitrogênio amoniacal no rúmen é indispensável para o crescimento bacteriano, desde que associado a fontes de energia, e está diretamente relacionada com a solubilidade da proteína dietética e com a retenção de nitrogênio pelo animal (Harmeyer & Martens, 1980). De acordo com Hoover & Stokes (1991), para o máximo crescimento microbiano os valores de pH devem estar, ainda, entre 5,5 e 7,1, variando conforme o tipo e a frequência de arraçoamento.

Neste contexto, definiram-se como objetivos no presente trabalho:

- avaliar as estimativas de digestibilidade intestinal da fibra em detergente neutro obtidas por diferentes indicadores e o efeito das amostras coletadas no período diurno ou diário sobre estas;
- comparar a digestibilidade total e parcial de nutrientes e a produção microbiana com a utilização de fibra em detergente neutro indigestível e fibra em detergente ácido indigestível;
- comparar a produção microbiana estimada pelos métodos das bases purinas no omaso e da excreção urinária de derivados de purinas.

Os trabalhos a seguir foram elaborados com adaptações às normas da Revista Brasileira de Zootecnia.

Referências

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL (AFRC). **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford, UK: CAB International, 1993, 159p.
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P. et al. Determination of reticulo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. **British Journal of Nutrition**, v.83, p.67-77, 2000.
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; SHINGFIELD, K.J. et al. Determination of digesta flow entering the omasal canal of dairy cows using different marker systems. **British Journal of Nutrition**, v.90, p.41-52, 2003.
- BRODERICK, G.A.; MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.68, p.2618-2632, 1992.
- CHEN, X.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details**. Occasional Publication. Bucksburn Aberdeen. Ed. Rowett Research Institute, 1992, 21p.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Excreção de creatinina em novilhos e novilhas. In: REUNIÃO ANUAL DA

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Macromedia, 2004. CD-ROM. Nutrição de ruminantes. NR-399.

COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1600-1609, 2001.

FRANCE, J.; SIDONS, R.C. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. **Journal of Theoretical Biology**, v.121, p.105-119, 1986.

FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R.N. Consumo e digestibilidade aparente total e parcial de rações com cana-de-açúcar e raspa de mandioca ensilados com polpa cítrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1531-1542, 2002. (suplemento)

FERRET, A.; PLAIXATS, J.; CAJA, G. et al. Using markers to estimate dry matter digestibility, faecal output and dry matter intake in dairy ewes fed italian ryegrass hay or alfalfa hay. **Small Ruminant Research**, v.33, n.2, p.145-152, 1999.

GIESECKE, D.; EHRENTREICH, L.; STANGASSINGER, M. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.8, p.2376-2381, 1994.

HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.10, p.1707-1728, 1980.

HARMON, D.L.; RICHARDS, C.J. Considerations for gastrointestinal cannulations in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.75, n.8, p.2248-2255, 1997.

HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3630-3644, 1991.

HUHTANEN, P.; BROTZ, P.G.; SATTER, L.D. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.75, n.5, p.1380-1392, 1997.

LEÃO, M.I. **Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana**. Belo Horizonte, MG:UFMG-Escola de Veterinária, 2002, 57p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2002.

LIPPKE, H.; ELLIS, W.C.; JACOBS, .F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.2, p.403-412, 1986.

MERCHEN, N.R. Digestion, absorption and excretion in ruminants. In: CHURCH, D.C. (ED.) **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. New Jersey: Prentice Hall, 1993. p.172-201.

MERCHEN, R.N.; ELIZALDE, J.C.; DRACKLEY, J.K. Current perspective on assessing site of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2223-223, 1997.

MOORE, J.E.; SOLLEMBERGER, L.E. Techniques to predict pasture intake. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL SOB PASTEJO, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1997. p.81.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1996. 242p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7 ed. Washington DC: National Academic Press, 2001, 381p.

OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.

OLIVEIRA JR., R.C.; PIRES, A.V.; FERNANDES, J.J.R. et al. Avaliação de indicadores para estimar a digestibilidade dos nutrientes em novilhos Nelore alimentados com dietas contendo alto teor de concentrado e fontes nitrogenadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.749-758, 2004.

OWENS, F.N.; HANSON, C.F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.9, p.2605-2617, 1992.

PIAGGIO, L.M.; PRATES, E.R.; PIRES, F.F. et al. Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.20, n.3, p.306-312, 1991.

RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40, 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Macromedia, 2003. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974.

SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.

SUSMEL, P.; STEFENON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. the effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.123, p.257-266, 1994.

VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; GONÇALVES, L.C. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa of silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.

VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; LEÃO, M.I. et al. Eficiência de síntese microbiana em novilhos holandeses, nelores e búfalos mestiços. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.5, p.416-423, 1990.

VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. Recentes avanços em proteína na

nutrição de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 2, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. CD-ROM. Palestras.

VAN SOEST, P.J. **Nutrition ecology of the ruminant.** 2 ed. London: Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.

WENHAM, G.; WYBURN, R.S. A radiological investigation of the effects of cannulation on intestinal motility and digesta flow in sheep. **The Journal of Agricultural Science**, v.95, n.3, p.539-546, 1980.

Avaliação de Indicadores para Estimativa da Digestibilidade Parcial em Bovinos

Resumo - Objetivou-se avaliar a digestibilidade intestinal da fibra em detergente neutro estimada por diferentes indicadores e o efeito das amostras coletadas no período diurno ou diário sobre a digestibilidade desse nutriente. Utilizaram-se quatro novilhas Holandês-Zebu, fistuladas no rúmen e no íleo, mantidas em regime de confinamento com dieta à base de feno de capim-tifton (*Cynodon spp.*) oferecido *ad libitum* e 1 kg de concentrado (27% PB). O experimento durou 60 dias com três períodos de 15 dias cada. A adaptação à dieta experimental, foi de sete dias e entre os períodos, respeitou-se intervalo de quatro dias. No primeiro, sétimo e décimo terceiro dia realizou-se coleta total de fezes; do segundo ao quarto dia, coleta de amostra de digesta omasal e do oitavo ao décimo dia, amostras de digesta ileal. Para a mensuração do fluxo de digesta omasal foram utilizados os sistemas de indicadores único e duplo. No sistema único foram comparados a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) e o óxido crômico (Cr_2O_3). No sistema duplo foram comparadas as associações entre o complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) com a FDNi (Co-FDNi) e a FDAi (Co-FDAi). Para estimativa do fluxo ileal, foram utilizados apenas os indicadores únicos. Não foi verificada diferença significativa entre as amostras de digesta coletada apenas no período diurno, quando comparada às coletas no período diário, podendo a digestibilidade ser estimada com coleta de amostras realizadas apenas no período diurno. Embora a FDNi, a FDAi e o Co-FDAi possam ser utilizados para estimativa de parâmetros de digestibilidade parcial na coleta de digesta omasal, recomenda-se o uso das fibras indigestíveis por serem menos onerosas e de melhor manipulação.

Palavras-chave: complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético, fibra em detergente ácido indigestível, fibra em detergente neutro indigestível, omaso, óxido crômico, período de coleta

Assesment of Markers for Partial Digestion Estimative in Bovine

Abstract – It was aimed to assess intestinal digestion of fiber in neutral detergent estimated for different markers and the effect of collected samples during daytime period or daily on digestion of the nutrient. It was used four young cows Holstein-Zebu, rumen and ileum fistulated; kept in confinement diet based on Tifton (*Cynodon* spp.) bermudagrass hay offered *ad libitum* and 1 kg of concentrated (27% CP). The experiment took 60 days, with three experimental periods of 15 days each. Aadaptation to the experimental diet took seven days and four day intervals were considered between periods. Total fecal collection was performed in the first, seventh and 13th day; from second to fourth day sampling of omasum digestion and from eighth to tenth day ileum digestion samples. Single and double system markers were used to measure flow of omasum digestion. Indigestible neutral detergent fiber (iNDF), Indigestible acid detergent fiber (iADF) and chromium oxide (Cr₂O₃) were compared in the single system. In the double system, it was compared the association between cobalt-ethilenediaminotetracetic-acid (Co-EDTA) complex and iNDF (Co-iNDF) and iADF (Co-iADF). It was used only single markers to estimate ileum flow. Significant difference was not detected between samples of digestion collected just during the daytime period, when compared to the collections of the daily period so, the partial digestion could be estimated based just on sample collection from the daytime period. Despite iNDF, iADF and Co-iADF can be used to estimate parameters of partial digestion on the collection of omasum digestion, it is recommended the use of non-digested fiber for being less expensive and easier to handle.

Key words: cobalt-ethilenediaminotetracetic-acid (Co-EDTA) complex, indigestible acid detergent fiber, indigestible neutral detergent fiber, omasum, chromium oxide, collection period.

Introdução

Mensurações da quantidade e da composição da digesta que passa em diferentes pontos do trato gastrintestinal é uma importante informação para predizer a absorção líquida de nutrientes em diferentes segmentos deste (France & Siddons, 1986). Por outro lado, o processo de digestão nos ruminantes é o resultado líquido de uma seqüência de eventos que ocorrem em diferentes segmentos do trato gastrintestinal, o local de digestão influencia a natureza dos produtos finais absorvidas, a extensão com que as perdas ocorrem e, provavelmente, a resposta produtiva do animal (Merchen et al., 1997). Desta forma, melhorar a acurácia das técnicas utilizadas para a obtenção desses dados reduz o erro na predição de exigências nutricionais (Ahvenjärvi et al., 2003) e torna mais eficiente a utilização dos nutrientes pelos animais, melhorando, conseqüentemente, o desempenho animal.

Para estudos de digestão faz-se necessária a utilização de indicadores para se estimar o fluxo de digesta. Os indicadores fornecem uma série de informações relevantes nos estudos de nutrição: a quantidade ingerida de alimentos ou nutrientes específicos; a taxa de passagem da digesta por todo ou parte do trato digestivo e a digestibilidade do alimento ou de nutrientes específicos. Esta técnica baseia-se no princípio de que, se uma substância de referência (indicador) é indigestível, deve ser totalmente recuperada nas fezes ou em algum segmento do trato gastrintestinal.

Muitos estudos têm sido feitos sobre a utilização de indicadores para estimativa da digestibilidade, mas, até o momento, não foi encontrada uma substância com características de indicador perfeito ou definido um componente químico que se assemelhe às características desejadas. Segundo Merchen (1993), nenhuma das substâncias usadas como indicador preenche todas as características, mas várias são suficientemente adequadas para fornecer dados significativos. Por esta razão, a procura de melhores indicadores constitui um dos assuntos de grande interesse na pesquisa de técnicas que facilitem estudos de nutrição animal.

Nos últimos anos foram propostas várias substâncias ou novos métodos de análises que superariam algumas das limitações anteriores (Piaggio et al., 1991). Pode-se optar por indicadores internos, que ocorrem naturalmente nos alimentos, ou por indicadores externos, que são adicionados às rações ou infundidos via cânulas.

Dos indicadores externos, o mais utilizado é o óxido crômico, entretanto, apresenta grande variação de resultados (Freitas et al., 2002). O uso deste é estimulado,

principalmente, por ser menos oneroso, facilmente incorporado à dieta e analisado com relativa facilidade (Merchen, 1993).

Entre os indicadores internos, as fibras indigestíveis são as mais utilizadas. Segundo Cochran et al. (1986), a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) são indicadores com potencial de utilização para a estimativa da digestibilidade. Esses indicadores apresentam a vantagem de serem obtidos de uma maneira mais simples e econômica.

Quando se utiliza único indicador, normalmente assume-se que o fluxo da digesta é independente das fases das mesmas e a amostra é representativa. No caso da técnica de coleta de digesta omasal, as amostras podem não ser representativas da digesta que está deixando o rúmen e passando para o omaso (Huhtanen et al., 1997; Ahvenjärvi et al., 2000). Isto requer a utilização de indicadores para reconstituir matematicamente a digesta e, conseqüentemente, diminuir o erro da técnica (Owens & Hanson, 1992).

Erros na estimativa da digestibilidade estão relacionados a problemas na coleta de amostra, ao fato destas não serem representativas ou ao uso incorreto de indicadores. Para evitar uma amostragem de digesta não-representativa, a infusão do indicador deve ser feita em todo o rúmen e a digesta deve ser separada em diferentes fases, e então reconstituída matematicamente (Owens & Hanson, 1992). Porém, vale ressaltar que ainda são poucos os trabalhos existentes sobre esse assunto e informações que confirmam esta premissa em condições tropicais.

De acordo com France & Siddons (1986), a digesta apresenta-se em uma fase líquida (líquido e pequenas partículas) e uma sólida (média e grande partículas), possibilitando a utilização de dois diferentes indicadores considerados ideais (para cada fase). Na fase líquida, a utilização do Co-EDTA tem obtido bons resultados (Ahvenjärvi et al., 2003). Já na fase sólida, podem-se empregar indicadores como as fibras indigestíveis (FDAi e FDNi). Como indicador único, podem-se sugerir as fibras indigestíveis ou o Cr_2O_3 . De qualquer forma, é necessário que sejam feitas mais pesquisas sobre a escolha de indicadores e a definição de se utilizar um ou mais.

Desta forma, ao realizar este trabalho, objetivou-se avaliar comparativamente a digestibilidade intestinal da fibra em detergente neutro estimada por diferentes indicadores e o efeito das amostras coletadas no período diurno ou diário sobre a digestibilidade desse nutriente.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. Foram utilizadas quatro novilhas mestiças Holandês-Zebu, fistuladas no rúmen e no íleo, com peso vivo (PV) médio inicial de 220 kg e idade de 12 meses, mantidas em baias individuais de alvenaria de 3 m², cobertas, com pisos recobertos com borracha, dotadas de bebedouros automáticos e comedouros.

O arraçoamento foi realizado duas vezes ao dia (8:00 e 16:00 horas) com dieta a base de feno de capim-tifton (*Cynodon spp.*) oferecido *ad libitum* e 1 kg de concentrado. As proporções dos ingredientes do concentrado são apresentadas na Tabela 1 e a composição química dos alimentos, na Tabela 2.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes do concentrado da dieta experimental expressos na base de matéria seca

Ingredientes	(%MS ¹)
Farelo de soja	46,20
Milho	47,99
Sal	1,22
Fosfato bicálcio	2,47
Calcário	1,45
Sulfato de amônia	0,15
Cloreto de potássio	0,44
Premix mineral ²	0,09

¹/ MS= matéria seca.

²/ Composição percentual: sulfato de zinco, 82,24; sulfato de cobre, 16,45; sulfato de cobalto, 0,99 e selenito de sódio, 0,33.

Tabela 2 – Composição química dos alimentos e do concentrado da dieta experimental

Variáveis ¹	Feno de capim-tifton	Milho	Farelo de soja	Concentrado
MS ²	80,38	84,82	85,64	85,96
MO ³	93,98	99,12	93,48	90,75
PB ³	12,61	8,23	50,27	27,17
EE ³	2,05	4,01	1,22	2,49
CT ³	79,32	86,88	41,99	61,09
FDNcp ³	76,12	37,03	18,33	26,24
CNF ³	3,20	49,85	23,66	34,85
FDA ³	50,88	18,59	26,96	21,38
FDNi ³	31,66	2,48	1,88	2,06
FDAi ³	14,75	0,59	0,69	0,60

¹/ MS= matéria seca, MO= matéria orgânica, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, CT= carboidratos totais FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína, CNF= carboidratos não-fibrosos, FDA= fibra em detergente ácido, FDNi= fibra em detergente neutro indigestível e FDAi= fibra em detergente ácido indigestível.

²/ %.

³/ % MS.

O experimento teve duração de 60 dias com três períodos experimentais de 15 dias cada. Antes do primeiro período experimental foi realizada a adaptação dos animais à dieta experimental por sete dias e entre os períodos, respeitou-se intervalo de quatro dias. As pesagens dos animais foram realizadas ao início e término de cada período experimental. O cronograma de atividades realizadas em cada período pode ser observado na Tabela 3. Neste capítulo foram utilizados apenas os dados provenientes da coleta total de fezes e de digesta omasal e ileal.

Tabela 3- Cronograma de atividades realizadas em cada período experimental

Dia	Atividade
1	Coleta total de fezes
2-4	Coleta de digesta omasal
5 e 6	-
7	Coleta total de fezes
8-10	Coleta de digesta ileal
11 e 12	-
13	Coleta total de fezes
14	Coleta de líquido ruminal para estimativa de pH e N-NH ₃ e coleta de amostra <i>spot</i> de urina
15	Coleta de líquido ruminal para isolamento bacteriano

Para mensuração do fluxo de digesta omasal foram utilizados os sistemas único e duplo de indicadores. No sistema único foram comparados a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) e o óxido crômico

(Cr₂O₃). No sistema duplo foram comparadas as associações entre o complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) com a FDNi (Co-FDNi) e com a FDAi (Co-FDAi). Para o fluxo ileal, foram comparados apenas os indicadores únicos.

Os animais receberam doses diárias de 15 g de Cr₂O₃ e 16 g de Co-EDTA. O Cr₂O₃ foi acondicionado em cartuchos de papel e colocado, via fistula, diretamente no rúmen quatro horas após o arraçoamento matinal, durante todo o período experimental. O Co-EDTA foi produzido conforme procedimentos de Úden et al. (1980) e diluído em água para infusão, via fistula, em vários locais do rúmen. Sua administração foi realizada cinco dias antes do início ao final da coleta de digesta omasal em cada período. O Co-EDTA foi administrado em quatro doses de 4 g cada, com intervalos de seis horas e início duas horas antes do arraçoamento matinal.

Foram coletadas amostras dos alimentos para posteriores análises e, todos os dias antes do arraçoamento matinal, amostras de sobras. Imediatamente após a coleta das sobras, foi feita a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, durante 72 a 96 horas. Após secas e moídas, foram compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período antes de serem armazenadas.

A coleta total de fezes foi realizada por 24 horas iniciando imediatamente antes do arraçoamento matinal. A cada seis horas, a produção fecal obtida pela defecação espontânea de cada animal, foi pesada, homogeneizada e amostrado 10% do peso em matéria natural. Após o período de coleta, foi quantificada a produção fecal total pela soma das quatro pesagens e feita amostra composta das quatro sub-amostragens.

As coletas de digestas (omasal e ileal) foram feitas da seguinte forma: no primeiro dia foram feitas antes do arraçoamento matinal (0 hora) e 6, 12 e 18 horas após. No segundo dia foram feitas às 2, 8, 14 e 20 horas após o arraçoamento e, no terceiro dia, às 4, 10, 16 e 22 horas após o arraçoamento matinal, totalizando 24 horas de coleta de digesta com intervalos de duas horas.

Na coleta de amostras de digesta omasal foi utilizado um conjunto de dispositivos que consistiram de um kitassato, um tubo coletor e uma bomba a vácuo conforme técnica descrita por Leão (2002). As amostras de digesta ileal, foram coletadas em sacos plásticos adaptados na extremidade do tubo da cânula até que a digesta fluísse normalmente.

As amostras de digestas (omasal e ileal) foram congeladas (-20°C) logo após a coleta até serem processadas. Para a digesta omasal, após descongelamento, foi feita amostra composta por animal, período de coleta (diurno e noturno) e período

experimental. As coletas do período diurno foram realizadas nos tempos 0, 2, 4, 6, 8 e 10 horas, já aquelas do período noturno, nos tempos 12, 14, 16, 18, 20 e 22 horas. Depois de feitas as amostras compostas, parte foi filtrada através de camada de tecido de algodão, separando a amostra em duas fases: o líquido filtrado constituiu a fase líquida e o resíduo retido, a fase sólida da digesta omasal. A amostra que não foi filtrada constituiu a digesta total.

O filtrado omasal (fase líquida), o resíduo omasal retido (fase sólida), a digesta omasal total e as amostras de digesta ileal foram submetidos à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, durante 72 a 96 horas. Logo após, foram moídas e armazenadas em frascos para posteriores análises laboratoriais. Nas amostras de digesta ileal, foi feita uma amostra composta por animal, período de coleta (diurno e noturno) e período experimental. Para o preparo da amostra composta por período de coleta, foram considerados os mesmos tempos utilizados nas amostras de digesta omasal.

As amostras totais de digesta omasal e digesta ileal foram submetidas à análise de teor de cromo em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme método descrito por Willians et al. (1962). As amostras dos alimentos, sobras, digesta omasal total, fase sólida omasal e ileal foram submetidas a análise de FDN_i e FDA_i em sacos de Ankon (*filter bags* F57) através de incubação *in situ* por 240 horas (Lippke et al., 1986) em uma vaca holandesa fistulada no rúmen, alimentada com dieta a base de silagem de milho. As amostras de fase líquida e sólida omasal foram preparadas para análise de cobalto em espectrofotômetro de absorção atômica.

Todas as amostras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS) conforme técnica descrita por Silva & Queiroz (2002) e fibra em detergente neutro (FDN) pela técnica da autoclavagem (Pell & Schofield, 1993). No resíduo da FDN foram estimados os teores de cinza e a proteína conforme técnica descrita por Silva & Queiroz (2002) para a obtenção da FDN corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}).

O cálculo do fluxo de MS e de FDN_{cp} nas amostras totais de digesta omasal e ileal, foi estimada com o uso de indicador único (Cr₂O₃, FDN_i e FDA_i), conforme equação de France & Siddons (1986):

$$\frac{\text{Dose do indicador (mg/dia)}}{\text{Concentração do indicador (mg/g digesta)}}$$

No cálculo para o fluxo omasal com duplo indicador, considerou os indicadores

da fase sólida (FDNi e FDAi) ideais e o da fase líquida, não-ideal, segundo a equação (France & Siddons, 1986): $(I_L/C_L) + (I_S/C_S)$, onde I_L é a dose do indicador líquido (Co-EDTA) administrado (mg/dia) menos a quantidade presente na digesta omasal de fase sólida (mg); C_L é a concentração de Co-EDTA (mg/g de digesta omasal de fase líquida); I_S é a dose do indicador sólido (FDNi ou FDAi) em mg/g de digesta omasal de fase sólida e C_S é a concentração do indicador sólido (mg/g de digesta omasal de fase sólida).

Os valores das estimativas (omasal e ileal) do fluxo e da digestibilidade intestinal da FDNcp, do período diurno correspondeu à amostra constituída neste período e o período de coleta diário, a média das estimativas dos períodos diurno e noturno.

Os dados foram analisados de forma independente para cada indicador ou combinação de indicadores, segundo o modelo:

$Y_{ijkm} = \mu + A_i + P_j + e_{ij} + C_k + \varepsilon_{ijklm}$; em que: μ é a constante geral; A_i é o efeito relacionado ao animal i ; P_j é o efeito relacionado ao período j ; e_{ij} é o efeito residual das parcelas experimentais; C_k é o efeito relacionado ao esquema de coleta k e ε_{ijklm} é o erro aleatório, associado a cada observação, pressuposto NID $(0; \sigma^2)$.

Todas as análises estatísticas foram realizadas por intermédio do programa SAS, adotando-se nível de significância de 5%. A comparação entre indicadores ou combinação de indicadores foi realizada pelo intervalo de confiança, considerando como critério de igualdade a observação de sobreposição dos intervalos.

Frente ao pressuposto teórico de digestibilidade nula do FDNcp no intestino delgado, os indicadores ou combinação de indicadores que contiveram o valor paramétrico zero em seus respectivos intervalos de confiança para este parâmetro, foram considerados exatos como estimadores do coeficiente de digestibilidade intestinal.

Resultados e Discussão

As médias do fluxo de FDNcp, em função dos períodos de coleta e dos indicadores avaliados, podem ser observadas na Tabela 4. Não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) dos valores de fluxo na coleta de amostras realizadas no período diurno ou diário tanto para o fluxo omasal quanto para o ileal. Isto pode ser explicado, em parte, devido à taxa de passagem ruminal e o fluxo de digesta terem sido aproximadamente constantes para o intestino delgado. Esse resultado está de acordo

com os observados por Tibo et al. (2000) ao estudarem as digestibilidades parcial e total nos períodos diurno e noturno. Estes autores não constataram diferenças significativas entre os períodos de coleta das amostras, afirmando que a realização de coletas somente durante o dia seria suficiente para se obterem amostras representativas das fezes e das digestas de abomaso e íleo.

Tabela 4 – Fluxos omasal e ileal (kg/dia) de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína, em função dos períodos de coleta e dos indicadores avaliados

Indicadores ¹	Períodos de Coleta		Valor-P ²	Desvio-padrão
	Diurno	Diário		
	Omasal			
Cr ₂ O ₃	1,258	1,300	0,3368	0,097
FDNi	1,233	1,230	0,9573	0,144
FDAi	1,162	1,102	0,1751	0,098
Co-FDNi	1,384	1,390	0,6925	0,031
Co-FDAi	1,158	1,168	0,7319	0,067
	Ileal			
Cr ₂ O ₃	1,157	0,997	0,0669	0,183
FDNi	1,214	1,224	0,7279	0,068
FDAi	1,137	1,150	0,6171	0,058

^{1/} Cr₂O₃= óxido crômico, FDNi= fibra em detergente neutro indigestível, FDAi= fibra em detergente ácido indigestível, Co-FDNi= complexo de cobalto-ácido etilendiaminotetracético (Co-EDTA) associado à FDNi e Co-FDAi= Co-EDTA associado à FDAi.

^{2/} Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre período de coletas.

Considerando os desvios-padrão do fluxo omasal, os indicadores duplos foram mais precisos (P<0,05) quando comparados aos únicos. Ao analisar individualmente cada indicador, o Co-FDAi, apresentou a maior precisão e a FDNi, a menor (P<0,05). Analisando os desvios-padrão do fluxo ileal, o Cr₂O₃ foi o menos preciso. Já as fibras indigestíveis apresentaram desvios-padrão próximos (P<0,05). O resultado da maior precisão do Cr₂O₃ em comparação aos outros indicadores, pode ser explicado em função das flutuações cíclicas em sua excreção (Hooper et al., 1978; Prigge et al., 1981), por não se misturar bem na digesta por ser um pó extremamente fino e pouco solúvel em água, ou, por apresentar características cinéticas distintas da fase da digesta a qual se pretende marcar, devido a sua densidade específica ser maior do que o alimento (Merchen, 1993).

Os intervalos de confiança (IC) do fluxo de FDNcp omasal e ileal, em função dos períodos de coleta e dos indicadores avaliados, podem ser observados na Tabela 5. Analisando os IC, para o fluxo omasal de FDNcp, em função dos períodos de coleta e

dos diferentes indicadores e considerando a interposição dos IC como critério de igualdade, o do Co-FDNi apresentou maior ($P < 0,05$) estimativa do fluxo omasal em relação aos dos outros indicadores, que não diferiram ($P > 0,05$) entre si. Da mesma forma que no fluxo omasal, não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os indicadores únicos no fluxo ileal. Ahvenjärvi et al. (2003) também observaram maior precisão dos indicadores duplos em comparação ao único como verificado neste trabalho. No entanto, o uso dos indicadores únicos (Cr_2O_3 e FDNi) resultou em estimativa maior do fluxo da MO omasal em relação ao indicador duplo (Co-FDNi). Entretanto, ao contrário do que foi observado neste experimento, Freitas et al. (2002) verificaram que o Cr_2O_3 superestimou o fluxo de MS duodenal em relação aos indicadores internos utilizados e a FDNi e a FDAi não diferiam entre si. Já Ítavo et al. (2002) relataram não haver diferenças significativas entre a FDAi e o Cr_2O_3 na estimativa de digestibilidade ruminal da MS, sugerindo que a FDAi pode ser utilizada para estimar as digestibilidades parciais.

Tabela 5 – Limites inferior (LI) e superior (LS) do intervalo de confiança a 95% de probabilidade para o fluxo omasal e ileal de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína da dieta experimental, em função dos períodos de coleta e dos indicadores avaliados

Indicadores ¹	Períodos de Coleta			
	Diurno		Diário	
	LI	LS	LI	LS
	Omasal			
Cr_2O_3	1,193	1,323	1,235	1,365
FDNi	1,136	1,330	1,133	1,327
FDAi	1,096	1,228	1,036	1,168
Co-FDNi	1,363	1,405	1,369	1,411
Co-FDAi	1,113	1,203	1,123	1,213
	Ileal			
Cr_2O_3	1,034	1,280	0,874	1,120
FDNi	1,168	1,260	1,178	1,270
FDAi	1,098	1,176	1,111	1,189

^{1/} Cr_2O_3 = óxido crômico, FDNi= fibra em detergente neutro indigestível, FDAi= fibra em detergente ácido indigestível, Co-FDNi= complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) associado à FDNi e Co-FDAi= Co-EDTA associado à FDAi.

Os dados sobre as médias de digestibilidade de FDNcp utilizando diferentes combinações de indicadores estão presentes na Tabela 6. Comparando os períodos de coletas, observa-se que a digestibilidade intestinal da FDNcp, de modo geral, não ($P > 0,05$) foi influenciada pelos períodos de coleta. Somente ocorreu diferença ($P < 0,05$)

na estimativa da digestibilidade intestinal da FDNcp quando foi utilizado a FDAi no omaso e o Cr₂O₃, no íleo. Isto diferiu dos resultados anteriores, pois ao analisar os fluxos omasal e ileal, nenhuma diferença foi observada, o que pode ter sido decorrente do baixo LI do IC do Cr₂O₃ no fluxo ileal para o período diário (Tabela 5).

Tabela 6 – Coeficientes de digestibilidade intestinal (% do total ingerido) de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína estimado por diferentes indicadores usados no omaso e íleo, em função dos períodos de coleta e das combinações de indicadores

Indicadores ¹		Períodos de Coleta		Valor-P ²	Desvio-padrão
Omaso	Íleo	Diurno	Diário		
Cr ₂ O ₃	Cr ₂ O ₃	4,55	7,50	0,2517	0,057
	FDNi	2,56	0,46	0,0902	0,026
	FDAi	5,37	3,05	0,2095	0,041
FDNi	Cr ₂ O ₃	2,23	7,22	0,0708	0,058
	FDNi	0,24	0,17	0,9720	0,045
FDAi	Cr ₂ O ₃	-2,95	4,13	0,0379	0,069
	FDAi	-2,14	-0,33	0,2829	0,037
Co-FDNi	Cr ₂ O ₃	8,61	13,14	0,1044	0,059
	FDNi	6,62	6,09	0,5841	0,022
Co-FDAi	Cr ₂ O ₃	0,37	4,56	0,1876	0,070
	FDAi	1,19	0,11	0,4657	0,033

^{1/} Cr₂O₃= óxido crômico, FDNi= fibra em detergente neutro indigestível, FDAi= fibra em detergente ácido indigestível, Co-FDNi= complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) associado à FDNi e Co-FDAi= Co-EDTA associado à FDAi.

^{2/} Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre período de coletas.

Os dados sobre os intervalos de confiança dos coeficientes de digestibilidade de FDNcp utilizando diferentes indicadores estão presentes na Tabela 7. Quando comparado o intervalo de confiança e considerando o pressuposto teórico de digestibilidade nula da FDNcp no intestino delgado, todos os indicadores, com exceção do Co-FDNi, foram exatos, pois contiveram o valor paramétrico zero em seus respectivos IC. O uso de Co-FDNi não obteve intervalo de confiança que conteve a digestibilidade intestinal nula do FDNcp, devido ao fluxo omasal ter sido superestimado (Tabela 4) em relação aos demais indicadores. Uma explicação para esta diferença é que o indicador pode não ter resultado em amostra representativa da digesta omasal.

Ao analisar os desvios-padrão das combinações de indicadores, observa-se que a combinação de indicadores iguais obtêm estimativas mais precisas que a combinação de indicadores diferentes no omaso e no íleo. Assim, comparando as combinações de

indicadores, com exceção da combinação do Cr₂O₃, a combinação FDNi-FDNi, FDAi-FDAi, Co-FDNi-FDNi e Co-FDAi-FDAi, foram mais precisas do que a combinação dos indicadores omasais com o Cr₂O₃, como indicador ileal.

Tabela 7 – Limites inferior (LI) e superior (LS) do intervalo de confiança a 95% de probabilidade para os coeficientes de digestibilidade intestinal (% do total ingerido) de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína estimados por diferentes indicadores usados no omaso e íleo, em função dos períodos de coleta e das combinações de indicadores

Indicadores ¹		Períodos de Coleta			
		Diurno		Diário	
Omaso	Íleo	LI	LS	LI	LS
Cr ₂ O ₃	Cr ₂ O ₃	0,71	8,39	3,66	11,34
	FDNi	0,79	4,33	-1,31	2,23
	FDAi	2,64	8,10	0,32	5,78
FDNi	Cr ₂ O ₃	-1,66	9,26	3,33	11,11
	FDNi	-2,78	3,26	-2,85	3,19
FDAi	Cr ₂ O ₃	-7,61	2,52	-0,53	8,79
	FDAi	-4,65	0,37	-2,84	2,18
Co-FDNi	Cr ₂ O ₃	4,61	12,61	9,14	17,14
	FDNi	5,14	8,10	4,61	7,57
Co-FDAi	Cr ₂ O ₃	-4,31	5,05	-0,12	9,24
	FDAi	-1,06	3,44	-2,14	2,36

^{1/} Cr₂O₃= óxido crômico, FDNi= fibra em detergente neutro indigestível, FDAi= fibra em detergente ácido indigestível, Co-FDNi= complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) associado à FDNi e Co-FDAi= Co-EDTA associado à FDAi.

O uso do Cr₂O₃, como indicador omasal, por ter apresentado exatidão somente quando combinado com FDNi ileal nas amostras de 24 horas, tem sua precisão passível de questionamentos. Em outros trabalhos, a utilização do Cr₂O₃ não foi satisfatória (Oliveira et al., 2001; Santos et al., 2001; Imaizumi et al., 2002; Oliveira Jr. et al., 2002; Rabelo, 2002), pois não foram atingidas recuperações satisfatórias de cromo, apresentando coeficientes de digestibilidade baixos ou até negativos. Possíveis causas desses resultados são a maior variação na concentração de cromo do que a FDNi na digesta (Ahvenjärvi et al., 2001) e problemas na técnica de determinação da sua concentração nas amostras.

Detmann et al. (2005) ao analisar a estabilidade do perfil excretório observado para os indicadores internos (MSi, FDNi e FDAi) em relação ao comportamento comumente descrito para o Cr₂O₃, observaram maior estabilidade nos primeiros, justificando tal fato a diferenças na dosagem destes indicadores nos animais. Enquanto

o Cr_2O_3 é comumente introduzido no rúmen em uma ou duas doses diárias, os indicadores internos apresentam dosagem homogênea, coincidente ao consumo de alimentos, o qual pode ser realizado continuamente e constantemente, caso as condições de alimentação sejam mantidas estáveis qualitativamente e quantitativamente (Detmann et al., 2005).

Como pode ser observado na Tabela 7, o uso de indicador único ou duplo, não diferiu ($P>0,05$), o que está de acordo com observações de Lundy et al. (2004) que encontraram digestibilidade da MS e da FDN similares às observadas por Reynal & Broderick (2003), utilizando apenas o Cr_2O_3 como indicador omasal em vez do indicador triplo combinando Co-EDTA, cloreto de itérbio e FDAi.

Como os resultados obtidos com o uso do indicador duplo no omaso foram similares aos obtidos com o uso de indicador único, pode-se recomendar o uso apenas de um indicador único, devido ao seu menor custo e a praticidade. Por existir menor praticidade e precisão (Tabela 6) no uso simultâneo de indicadores diferentes no omaso e no íleo e pelas fibras indigestíveis estarem contidas no alimento, é preferível o uso simultâneo de FDNi ou FDAi no omaso e no íleo para estimar a digestibilidade.

Pereira (2003), ao estudar a FDAi, recomendou a utilização deste indicador para estimativa do fluxo de MS omasal e fecal. Já Freitas et al. (2002) concluíram que a FDAi e o Cr_2O_3 podem ser utilizados na estimativa da produção fecal, mas recomendaram a utilização da FDAi por sua obtenção ser mais simples e econômica. Como neste experimento, esses autores também consideraram que os indicadores internos FDAi e FDNi mostraram-se adequados.

Conclusões

Podem-se utilizar amostras de digesta coletada apenas no período diurno para se estimar a digestibilidade, pois não há diferença entre amostras coletadas no período diurno ou diário.

A FDNi, a FDAi e o Co-FDAi podem ser utilizados como indicadores para estimativa de parâmetros de digestibilidade parcial na coleta de digesta omasal, porém recomenda-se o uso das fibras indigestíveis por serem menos onerosas e de melhor manipulação.

Referências

- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P. et al. Determination of reticulo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. **British Journal of Nutrition**, v.83, p.67-77, 2000.
- AHVENJÄRVI, S.; SKIBA, B.; HUHTANEN, P. Effect heterogeneous digesta chemical composition on the accuracy of measurements of fiber flow in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1611-1620, 2001.
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; SHINGFIELD, K.J. et al. Determination of digesta flow entering the omasal canal of dairy cows using different marker systems. **British Journal of Nutrition**, v.90, p.41-52, 2003.
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- DETMANN, E.; BARROS, E.E.L.; FONTES, C.A.A. et al. Avaliação do perfil nictemeral de excreção de indicadores internos em ensaio de digestão com bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Macromedia, 2005. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.
- FRANCE, J.; SIDDON, R.C. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. **Journal of Theoretical Biology**, v.121, p.105-119, 1986.
- FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R.N. Consumo e digestibilidade aparente total e parcial de rações com cana-de-açúcar e raspa de mandioca ensilados com polpa cítrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1531-1542, 2002. (suplemento)
- HOPPER, J.T., HOLLOWAY, J.W., BUTTS JR., W.T. Animal variation in chromium sesquioxide excretion patterns of grazing cows. **Journal Animal Science**, v.46, n.4, p.1098-1102, 1978.
- HUHTANEN, P.; BROTZ, P.G.; SATTER, L.D. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.75, n.5, p.1380-1392, 1997.
- IMAIZUMI, H.; SANTOS, F.A.P.; PIRES, A.V. et al. Avaliação de diferentes fontes e teores de proteína degradável no rúmen sobre o desempenho e parâmetros ruminais e sanguíneos de vacas Holandesas em final de lactação. **Acta Scientiarum**, v.24, n.4, p.1031-1037, 2002.
- ÍTAVO, L.C.V.; SILVA, F.F.; FERREIRA, C.C.B. et al. Comparação de indicadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo da digesta em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1833-1839, 2002.
- LEÃO, M.I. **Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana**. Belo Horizonte, MG:UFMG-Escola de Veterinária, 2002, 57p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2002.
- LIPPKE, H.; ELLIS, W.C.; JACOBS, .F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.2, p.403-412, 1986.

LUNDY, F.P.; BLOCK, E.; BRIDGES JR., W.C. et al. Ruminal biohydrogenation in Holstein cows fed soybean fatty acids as amides or calcium salts. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.4, p.1038-1046, 2004.

MERCHEN, N.R. Digestion, absorption and excretion in ruminantes In: CHURCH, D.C. (Ed.) **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. 4.ed. Carvallis: O&B Books. 1993. p.172-201.

MERCHEN, R.N.; ELIZALDE, J.C.; DRACKLEY, J.K. Current perspective on assessing site of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2223-223, 1997.

OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.

OLIVEIRA JR., R.C.; SUSIN, I.; PIRES, A.V. et al. Desempenho de cabras em lactação alimentadas com grão de soja. **Acta Scientiarum**, v.24, n.4, p.1113-1118, 2002.

OWENS, F.N.; HANSON, C.F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.9, p.2605-2617, 1992.

PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1063-1073, 1993.

PEREIRA, M.L.A. **Proteína nas dietas de vacas nos terços inicial e médio da lactação**. Viçosa, MG:UFV, 2003, 105p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

PIAGGIO, L.M.; PRATES, E.R.; PIRES, F.F. et al. Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.20, n.3, p.306-312, 1991.

PRIGGE, E.C.; VARGA, G.A.; VICINI, J.L. et al. Comparison of ytterbium chloride and chromium sesquioxide as fecal indicators. **Journal of Animal Science**, v.53, n.6, p.1629-1633, 1981.

RABELO, M.M.A. **Efeitos de fontes e níveis de fibra íntegra, em dietas contendo bagaço de cana-de-açúcar tratado sob pressão e vapor, sobre a digestibilidade, desempenho e comportamento ingestivo de bovinos de corte**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2002. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2002.

REYNAL, S.M.; BRODERICK, G.A. Effects feeding dairy cows protein supplements of varying ruminal degradability. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.3, p.835-843, 2003.

SANTOS, F.A.P.; MENDES JR., M.P.; SIMAS, J.M.C. et al. Processamento do grão de milho e sua substituição parcial por polpa de citros peletizada sobre o desempenho, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras. **Acta Scientiarum**, v.23, n.4, p.923-931, 2001.

SAS. SAS/STAT User's Guide (Release 8.0), SAS Inst., Inc., Cary, NC. 1999.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Viçosa: UFV, 2002, 235p.

TIBO, G.C.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de concentrado em dietas de novilhos mestiços F1 Simental x Nelore. 1 Consumo e digestibilidades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.910-920, 2000.

ÚDEN, P.; COLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.31, n.7, p.625-632, 1980.

WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J.; IISMA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. **Journal of Agricultural Science**, v.59, n.3, p.381-385, 1962.

Avaliação de Técnicas para Estimativa de Parâmetros de Digestibilidade e Produção Microbiana em Bovinos

Resumo - Objetivou-se avaliar estimativas de parâmetros de digestibilidade e produção microbiana utilizando fibra em detergente neutro e ácido indigestível (FDNi e FDAi, respectivamente) e comparar a produção microbiana estimada pelos métodos das bases purinas e excreção urinária de derivados de purinas. Utilizaram-se quatro novilhas Holandês-Zebu, fistuladas no rúmen e no íleo, mantidas em regime de confinamento com dieta à base de feno de capim-tifton (*Cynodon spp.*) oferecido *ad libitum* e 1 kg de concentrado (27% PB). O experimento durou 60 dias: sete de adaptação à dieta (antes do primeiro período); três períodos experimentais de 15 dias cada e quatro dias de intervalo entre os períodos. Realizaram-se as seguintes atividades: coleta total de fezes; coleta de digesta omasal e ileal; coleta de líquido ruminal para isolamento bacteriano e coleta de amostra *spot* de urina. Para a determinação dos fluxos de digesta omasal e ileal foram utilizados como indicadores a FDNi e a FDAi. As amostras *spot* de urina foram realizadas quatro horas após a alimentação. As condições ruminal foram favoráveis à produção microbiana com valores de pH variando de 6,7 a 6,9 e os valores de N-NH₃, de 10,3 a 14,1 mg/dL. Ao contrário da FDNi, a recuperação da FDAi não diferiu de 100% ($P>0,05$) e produziu estimativas similares à excreção fecal e a digestibilidade total, quando comparada com a coleta total de fezes ($P>0,05$). As estimativas da produção microbiana via quantificação de derivados de purinas em amostras *spot* de urina demonstraram-se similares ($P>0,05$) às obtidas por procedimentos invasivos via fluxo de matéria microbiana omasal. Assim, recomenda-se utilização para estimativas de digestibilidade total e parcial, a FDAi e, para a produção microbiana, a excreção urinária dos derivados de purinas.

Palavras-chave: capim-tifton, derivados de purina, fibra em detergente ácido indigestível, fibra em detergente neutro indigestível, indicadores, omaso

Assessment of Techniques for Estimative of Parameters of Digestion and Microbial Production in Bovine

Abstract – It was aimed to assess the estimative of digestion and microbial production parameters by using indigestible neutral and acid detergent fiber (iNDF and iADF respectively) and to compare microbial production estimated by methods of purine bases in the omasum and urinary secretion of purine derivative. It was used four young cows Holstein-Zebu, rumen and ileum fistulated, kept in a confinement diet based on Tifton (*Cynodon* spp.) bermudagrass hay offered *ad libitum* and 1kg of concentrated (27% CP). The experiment took 60 days: seven for adaptation to the diet (before the first period); three 15 day-experimental periods and four interval days between periods. The following activities were performed: total fecal sampling; omasum and ileum digestion sampling, rumen liquid sampling for bacterial isolation and collection of urine *spot* sample. In order to determine omasum flow and ileum digestion, iNDF and iADF were used as markers. Sampling of *spot* urine was made four hours after feeding. Rumen conditions were favourable for microbial production, having pH values between 6,7 to 6,9 and N-NH₃ values from 10,3 to 14,1 mg/dL. On the contrary of iNDF, recovery of iADF did not differed from 100% (P>0,05) and produced similar estimative to fecal excretion and total digestion, when compared to the total fecal sampling (P>0,05). Estimative of microbial production through quantification of purine derivative in urine *spot* samples shows to be similar (P>0,05) to those obtained by means of invasive procedures via omasum microbial matter flow. Thus, it is recommended to use iADF for total and partial digestion estimative and urinary excretion of purine derivative for microbial production.

Key words: tifton bermudagrass hay, purine derivative, indigestible acid detergent fiber, indigestible neutral detergent fiber, markers, omasum

Introdução

Em virtude do processo de digestão nos ruminantes ser o resultado de uma seqüência de eventos que ocorrem em diferentes segmentos do trato gastrintestinal, o local de digestão influencia a natureza dos produtos finais absorvidas, a extensão com que as perdas ocorrem e, provavelmente, a resposta produtiva do animal (Merchen et al., 1997). Os estudos de digestão parcial dos nutrientes das dietas são muito importantes, pois permitem quantificar a utilização dos nutrientes nos diferentes compartimentos do trato gastrintestinal, facilitando a avaliação das diferenças existentes entre alimentos (Valadares Filho, 1985).

Várias substâncias têm sido sugeridas como indicadores de fluxo da digesta, porém nenhuma é perfeita. Algumas, no entanto, apresentam características suficientemente adequadas. Por essa razão, a procura de melhores indicadores constitui um dos assuntos de grande interesse na pesquisa de técnicas que facilitem os estudos em nutrição animal.

Entre os indicadores internos, as fibras indigestíveis são as mais utilizadas, tendo sido recomendadas por vários pesquisadores para a estimativa da digestibilidade (Saliba et al., 1999; Freitas et al., 2002; Pereira, 2003). Segundo Cochran et al. (1986), a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) são indicadores com potencial de utilização para a estimativa da digestibilidade. Esses indicadores apresentam a vantagem de ter quantificação mais simples e econômica.

Além do conhecimento do valor nutritivo dos alimentos, atualmente, outro fator importante na nutrição de ruminantes é o conhecimento da produção microbiana. Elevada produção microbiana diminui a necessidade de suplementação com proteína dietética não degradada no rúmen, o que torna desejável a maximização da produção da mesma. A proteína microbiana pode suprir, entre 50 a 100% da proteína metabolizável exigida para bovinos de corte (NRC, 1996).

A quantidade de compostos nitrogenados microbianos é medida com indicadores microbianos, como: bases purinas (RNA); ácido 2,6 diaminopimélico (DAPA); ³⁵S e ¹⁵N. Broderick & Merchen (1992) recomendaram a utilização das bases purinas e ¹⁵N. Estes autores, contudo, alertaram que nenhum indicador é totalmente adequado, conseqüentemente, as estimativas obtidas são relativas e não absolutas. Valadares Filho et al. (1990a), comparando o método direto do DAPA e das purinas, concluíram que o método das bases purinas, foi adequado para estimar a produção microbiana. Com estes

métodos, entretanto, há necessidade da utilização de animais fistulados, havendo interesse crescente no desenvolvimento de técnicas não-invasivas (Susmel et al., 1994).

Dentre as técnicas de estimativa de compostos microbianos, a que se baseia na excreção de derivados de purina na urina é menos invasiva por não necessitar que os animais experimentais sejam preparados cirurgicamente. Nesta técnica, assume-se que a absorção de purinas está condicionada à quantidade de proteína microbiana, e esta pode ser estimada a partir da excreção urinária dos derivados de purinas: alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina (Giesecke et al., 1994).

Embora a técnica de derivados de purina na urina não seja invasiva, ela necessita de uma estimativa da produção total de urina. Pela excreção de creatinina ser relativamente constante em função do peso vivo e ser pouco ou não afetada por fatores dietéticos (Valadares et al., 1997), esta pode ser usada como um indicador da produção urinária. Isto possibilita a estimativa da excreção dos derivados de purinas sem a necessidade de coleta total de urina, pela utilização de única amostra denominada *spot* (Valadares et al., 1999; Valadares Filho et al., 2001; Leão, 2002; Rennó et al., 2003). Em alguns trabalhos verifica-se confirmação de que as estimativas obtidas a partir da coleta *spot* são representativas das excreções de derivados de purinas e a produção de nitrogênio (N) microbiano (Silva et al., 2001; Oliveira et al., 2001; Leão, 2002; Chizzotti et al., 2004).

Ao realizar este trabalho, objetivou-se comparar as estimativas da digestibilidade total e parcial de nutrientes e a produção microbiana utilizando como indicadores a fibra em detergente neutro indigestível e fibra em detergente ácido indigestível e comparar a produção microbiana estimada pelos métodos das bases purinas e da excreção urinária de derivados de purinas.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. Foram utilizadas quatro novilhas mestiças Holandês-Zebu, fistuladas no rúmen e no íleo, com peso vivo (PV) médio inicial de 220 kg e idade de 12 meses, mantidas em baias individuais de alvenaria de 3 m², cobertas, com pisos recobertos com borracha, dotadas de bebedouros automáticos e comedouros.

O arraçãoamento foi realizado duas vezes ao dia (8:00 e 16:00 horas) com dieta a

base de feno de capim-tifton (*Cynodon spp.*) oferecido *ad libitum* e 1 kg de concentrado. As proporções dos ingredientes do concentrado são apresentadas na Tabela 1 e a composição química dos alimentos, na Tabela 2.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes do concentrado da dieta experimental expresso na base de matéria seca

Ingredientes	(%MS ¹)
Farelo de soja	46,20
Milho	47,99
Sal	1,22
Fosfato bicálcio	2,47
Calcário	1,45
Sulfato de amônia	0,15
Cloreto de potássio	0,44
Premix mineral ²	0,09

¹/ MS= matéria seca.

²/ Composição percentual: sulfato de zinco, 82,24; sulfato de cobre, 16,45; sulfato de cobalto, 0,99 e selenito de sódio, 0,33.

Tabela 2 – Composição química dos alimentos e do concentrado da dieta experimental

Variáveis ¹	Feno de capim-tifton	Milho	Farelo de soja	Concentrado
MS ²	80,38	84,82	85,64	85,96
MO ³	93,98	99,12	93,48	90,75
PB ³	12,61	8,23	50,27	27,17
EE ³	2,05	4,01	1,22	2,49
CT ³	79,32	86,88	41,99	61,09
FDNcp ³	76,12	37,03	18,33	26,24
CNF ³	3,20	49,85	23,66	34,85
FDA ³	50,88	18,59	26,96	21,38
FDNi ³	31,66	2,48	1,88	2,06
FDAi ³	14,75	0,59	0,69	0,60

¹/ MS= matéria seca, MO= matéria orgânica, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, CT= carboidratos totais FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína, CNF= carboidratos não-fibrosos, FDA= fibra em detergente ácido, FDNi= fibra em detergente neutro indigestível e FDAi= fibra em detergente ácido indigestível.

²/ %.

³/ % MS.

O experimento teve duração de 60 dias com três períodos experimentais de 15 dias cada. Antes do primeiro período experimental foi realizada a adaptação dos animais à dieta experimental por sete dias e entre os períodos, respeitou-se intervalo de quatro dias. As pesagens dos animais foram realizadas ao início e término de cada período experimental. O cronograma de atividades realizadas em cada período pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3- Cronograma de atividades realizadas em cada período experimental

Dia	Atividade
1	Coleta total de fezes
2-4	Coleta de digesta omasal
5 e 6	-
7	Coleta total de fezes
8-10	Coleta de digesta ileal
11 e 12	-
13	Coleta total de fezes
14	Coleta de líquido ruminal para estimativa de pH e N-NH ₃ e coleta de amostra <i>spot</i> de urina
15	Coleta de líquido ruminal para isolamento bacteriano

Para a estimativa do fluxo de digesta omasal e ileal foram utilizados como indicadores a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi).

Diariamente foram registradas as quantidades de alimentos fornecidos e das sobras de cada animal para estimativa do consumo. Foram coletadas amostras dos alimentos e, todos os dias antes do arração matinal, amostras de sobras para posteriores análises. Imediatamente após a coleta das sobras, foi feita a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, durante 72 a 96 horas. Após secas e moídas, foram compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período, antes de serem armazenadas.

A coleta total de fezes foi realizada por 24 horas iniciando imediatamente antes do arração matinal. A cada seis horas, a produção fecal obtida pela defecação espontânea de cada animal, foi pesada, homogeneizada e amostrado 10% do peso em matéria natural. Após o período de coleta, foi quantificada a produção fecal total pela soma das quatro pesagens e feita amostra composta das quatro subamostragens.

As coletas de digestas (omasal e ileal) foram realizadas da seguinte forma: no primeiro dia foram feitas antes do arração matinal (0 hora) e 6 horas após. No segundo dia foram feitas às 2 e 8 horas após o arração e, no terceiro dia, às 4 e 10 horas.

Na coleta de amostras de digesta omasal foi utilizado um conjunto de dispositivos que consistiram de um kitassato, um tubo coletor e uma bomba a vácuo conforme técnica descrita por Leão (2002). As amostras de digesta ileal, foram coletadas em sacos plásticos adaptados na extremidade do tubo da cânula até que a digesta fluísse normalmente.

As amostras de digestas (omasal e ileal) e de fezes foram congeladas (-20°C) logo após a coleta para serem processadas posteriormente. Após o descongelamento da digesta omasal, foi feita uma amostra composta por animal e período experimental para depois ser realizado a pré-secagem, juntamente com as amostras de digesta ileal e fecal. Todas as amostras foram estão moídas e armazenadas em frascos para posteriores análises laboratoriais. As amostras de sobras, ileal e fezes após secas e moídas, foram compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período, antes de serem armazenadas.

A coleta de digesta ruminal foi realizada quatro horas após a alimentação para isolamento de bactérias conforme técnica sugerida por Cecava et al. (1990). Para a quantificação do pH e da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) no líquido ruminal, foram realizadas coletas de amostras imediatamente antes e duas, quatro, seis e oito horas após o arraçoamento matinal. O pH foi estimado por peagâmetro digital após filtragem em gaze. Posteriormente, amostras de 50 mL foram acondicionadas em recipientes plásticos contendo um mL de solução de ácido sulfúrico (1:1) e armazenadas em congelador para posterior determinação do N-NH₃ conforme técnica de Fenner (1965), adaptada por Vieira (1980).

Para estimativa da produção de proteína microbiana foram utilizadas as bases purinas como indicador microbiano, cuja quantificação foi realizada de acordo com técnica de Ushida et al (1985). A coleta *spot* de urina foi feita após micção espontânea, a partir de um intervalo de quatro horas do arraçoamento matinal.

As amostras dos alimentos, sobras, fezes, digesta omasal e ileal foram submetidas à análise de FDNi e FDAi em sacos de Ankon (*filter bags* F57) através de incubação *in situ* por 240 horas (Lippke et al., 1986) em uma vaca holandesa fistulada no rúmen, submetida à dieta a base de silagem de milho. Todas as amostras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) conforme técnica descrita por Silva & Queiroz (2002) e fibra em detergente neutro (FDN) pela técnica da autoclavagem (Pell & Schofield, 1993). Do resíduo da FDN foram determinados a cinza e a proteína conforme técnica descrita por Silva & Queiroz (2002) para a obtenção da FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp).

Foram quantificados em todas as amostras os carboidratos totais (CT) de acordo coma equação: $100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$ e os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pela diferença entre os teores de CT e FDNcp.

Os cálculos dos fluxos omasais, ileal e fecais foram conduzidos conforme equação de France & Siddons (1986):

$$\frac{\text{Dose do indicador (mg/dia)}}{\text{Concentração do indicador (mg/g digesta)}}$$

Nas amostras de urina foram estimadas as concentrações de creatinina, alantoína e ácido úrico. A estimativa de creatinina foi realizada pelo método diacetil modificado (kit comercial) e utilizada para o cálculo de estimativa do volume urinário, com base no valor da excreção diária de creatinina (Y, mg/kg PV) estimada pela equação descrita por Chizotti et al. (2004): $Y = 0,9772 + 0,0250 \times PV$. O peso vivo utilizado para o cálculo foi o obtido no término de cada período experimental.

As análises de derivados de purinas (alantoína e ácido úrico) foram realizadas pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987) modificada por Chen & Gomes (1992). As purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (Y, mmol/dia), por intermédio da equação $Y = 0,85X + 0,385 PV^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purinas urinários e $0,385 PV^{0,75}$, contribuição endógena para a excreção de purina (Verbic et al., 1990). O fluxo intestinal de compostos nitrogenados (N) microbianos (Y, gN/dia) foi calculado em função das purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia), utilizando-se a equação $Y = (70X)/(0,83 \times 0,116 \times 1000)$, em que 70 representa o N nas purinas (MgN/mmol); 0,83, a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116, a relação N-RNA:NT nas bactérias (Chen & Gomes, 1992).

Os dados foram analisados, segundo o modelo:

$Y_{ijklm} = \mu + A_i + P_j + e_{ij} + I_k + \varepsilon_{ijklm}$; em que: μ é a constante geral; A_i é o efeito relacionado ao animal i; P_j é o efeito relacionado ao período j; e_{ij} é o efeito residual das parcelas experimental; I_k é o efeito relacionado ao indicador ou ao método de estimação de fluxo microbiano k e ε_{ijklm} é o erro aleatório, associado a cada observação, pressuposto NID (0; σ^2).

Todas as análises estatísticas foram realizadas por intermédio do programa SAS, adotando nível de significância de 5%. Para a comparação das médias de digestibilidade total e parcial, recuperação de indicadores e excreção fecal foi adotado o teste de Tukey

($\alpha= 5\%$).

Resultados e Discussão

Os consumos médios diários de cada nutriente estão apresentados na Tabela 4. O consumo de FDNcp foi próximo a 1,2% PV, valor sugerido por Mertens (1994) como o consumo a partir da qual a ingestão de alimentos é controlada pelo efeito de enchimento. Vale ressaltar que o consumo de MS expresso em % PV consiste em importante unidade de mensuração do consumo em animais, já que viabiliza comparação consistente entre experimentos. O consumo pelos animais observados neste estudo, foi de 1,83% PV, próximos aos observados por Rennó et al. (2004a), de 2,28% PV, e aos obtidos por Leão et al. (2004), de 2,07%. Os valores de consumo de MO e de FDNcp, expressos em % PV também foram próximos aqueles dos experimentos de Leão et al. (2004) e Leão et al. (2005), respectivamente.

Tabela 4 – Consumos médios diários de nutrientes

Nutrientes	Consumos	
	Médias	Erro-padrão
	kg/dia	
MS	3,836	0,215
MO	3,581	0,201
PB	0,593	0,033
EE	0,083	0,004
CT	2,906	0,165
FDNcp	2,546	0,155
CNF	0,359	0,014
	g/kg PV	
MS	18,3	0,098
MO	16,2	0,092
FDNcp	11,9	0,070

^{1/} MS= matéria seca, MO= matéria orgânica, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, CT= carboidratos totais, FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína e CNF= carboidratos não-fibrosos.

A recuperação de indicadores, a excreção fecal e os coeficientes de digestibilidade da dieta experimental são mostrados na Tabela 5. Considerando o intervalo de confiança estimado para os indicadores e comparando suas recuperações entre si, a FDAi apresentou melhor recuperação, uma vez que não diferiu ($P>0,05$) de 100% de recuperação e apresentou maior valor ($P<0,05$), ao contrário da FDNi que diferiu ($P<0,05$) de 100% de recuperação. Devido à baixa recuperação da FDNi, a

excreção fecal foi superestimada, enquanto que a estimativa a partir da FDAi não diferiu ($P>0,05$) da coleta total de fezes. Por causa disso, todos os coeficientes de digestibilidade dos diferentes nutrientes estimados pela FDAi não diferiram ($P>0,05$) com os da coleta total, enquanto os estimados pela FDNi foram subestimados.

Tabela 5 – Recuperação dos indicadores, excreção fecal e coeficientes de digestibilidade total (%) dos nutrientes, em função dos métodos de estimativa

Variáveis ³	Métodos ^{1,2}			Valor – P ⁴	CV (%) ⁵
	Coleta total	FDNi	FDAi		
Recuperação (%)	-	91,58b	103,22a	0,0010	6,6
Excreção fecal	1,544b	1,708 ^a	1,526b	0,0039	8,1
DMS	59,39a	55,51b	60,43a	0,0023	5,4
DMO	61,18a	57,46b	62,19a	0,0023	5,0
DPB	70,13a	67,13b	70,80a	0,0018	3,3
DEE	60,11a	56,20b	61,09a	0,0022	5,3
DCT	59,34a	55,47b	60,42a	0,0024	5,5
DFDNcp	58,54a	54,77b	59,82a	0,0033	5,8
DCNF	61,82a	57,09b	61,98a	0,0020	5,5

^{1/} FDNi= fibra em detergente neutro indigestível e FDAi= fibra em detergente ácido indigestível.

^{2/} Médias, na linha, seguidas por letras diferentes, são diferentes pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

^{3/} MS= matéria seca, MO= matéria orgânica, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, CT= carboidratos totais, FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína e CNF= carboidratos não-fibrosos.

^{4/} Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre métodos.

^{5/} Coeficiente de variação.

Os resultados observados neste experimento estão de acordo com outros observados na literatura, os quais confirmam a utilização da FDAi como indicador para estimativa de produção fecal. Freitas et al. (2002) comparando a FDNi e a FDAi para estimar a produção fecal e o fluxo duodenal de MS em novilhos confinados, afirmaram que a FDAi pode ser usada para estimar a produção fecal, enquanto a FDNi superestimou a produção fecal. Saliba et al. (1999) também observaram melhor resultado com a FDAi ao compararem diferentes indicadores com o método de coleta total de fezes.

Ítavo et al. (2002), avaliando a utilização da FDNi e da FDAi para estimar a produção fecal e a digestibilidade dos nutrientes em bovinos, relataram que a FDNi subestimou a digestibilidade e sugeriram a FDAi como melhor indicador. Já Zeoula et al. (2002) relataram que a FDAi subestimou a digestibilidade aparente da MS quando comparada à coleta total de fezes e Berchielli et al. (1998) e Berchielli et al. (2000), recomendaram o uso de ambos os indicadores (FDNi e FDAi).

Os coeficientes de digestibilidade parcial dos nutrientes, em função dos

indicadores estão presentes na Tabela 6. Com exceção dos coeficientes de digestibilidade ruminal da PB e EE, todos os coeficientes não diferiram ($P>0,05$) entre a FDN_i e a FDA_i. Porém, era esperada diferença entre esses indicadores como observado na digestibilidade total (Tabela 5), pois a quantificação da excreção fecal é a medida básica para qualquer estudo de digestão. A ausência de diferenças significativas pode ser decorrente da maior variabilidade dos resultados de digestibilidade parcial em relação à total, devido a dificuldade de obter-se amostras de digestas homogêneas em métodos invasivos.

A partição da digestão da FDN entre o rúmen e pós-rúmen pode ser utilizada como indicação de disfunção do indicador. Quando o fluxo total da digesta para o duodeno é superestimado, a digestão ruminal da FDN pode ser subestimada e, de forma errônea, grande proporção da FDN será digerida no intestino (Titgemeyer, 1997). Como neste experimento, as digestibilidades da FDN e da MS foram maiores no rúmen, pode-se inferir que ambos indicadores estimaram de forma correta os fluxos de MS no omaso. A digestibilidade ruminal, de modo geral, foi inferior às observadas em outros trabalhos utilizando feno de capim-tifton (Rennó et al., 2004b; Leão et al, 2004). A maior digestão do EE ocorreu no intestino delgado porque no ambiente ruminal não há microrganismos capazes de utilizarem significativamente esse componente como substrato energético.

Tabela 6 – Coeficientes de digestibilidade parcial de nutrientes da dieta experimental, em função dos indicadores

Nutrientes ²	Indicadores ¹		Valor – P ³	CV (%) ⁴
	FDNi	FDAi		
Rúmen				
DMS ⁵	51,16	60,12	0,1286	22,8
DMO ⁵	69,93	74,85	0,2419	12,8
DPB ⁶	23,81	31,98	0,0262	26,4
DEE ⁶	-19,36	-7,92	0,0466	86,7
DCT ⁵	81,80	84,74	0,4533	10,6
DFDNcp ⁵	90,78	91,80	0,7819	9,2
DCNF ⁵	18,84	36,19	0,0870	77,9
Intestino delgado				
DMS ⁵	22,01	12,38	0,0504	59,0
DMO ⁵	12,80	6,22	0,0569	75,5
DPB ⁶	41,19	38,73	0,2178	11,0
DEE ⁶	67,96	66,10	0,0863	3,4
DCT ⁵	-0,33	-4,89	0,1140	236,5
DFDNcp ⁵	0,52	-3,57	0,0991	345,7
DCNF ⁵	-44,12	-30,35	0,5602	144,0
Intestino grosso				
DMS ⁵	26,83	27,50	0,8038	22,51
DMO ⁵	17,27	18,94	0,5066	31,32
DPB ⁶	23,44	27,78	0,1172	23,2
DEE ⁶	-33,05	-23,93	0,0515	34,0
DCT ⁵	18,53	20,15	0,5578	32,4
DFDNcp ⁵	8,70	11,77	0,3132	66,2
DCNF ⁵	125,28	94,16	0,1938	47,8
Intestinos				
DMS ⁵	48,84	39,88	0,1286	28,6
DMO ⁵	30,07	25,15	0,2419	33,6
DPB ⁶	55,99	56,87	0,6200	7,2
DEE ⁶	60,75	61,40	0,6429	5,2
DCT ⁵	18,20	15,26	0,4533	52,9
DFDNcp ⁵	9,22	8,20	0,7819	96,50
DCNF ⁵	81,15	63,81	0,0870	29,57

^{1/} FDNi= fibra em detergente neutro indigestível e FDAi= fibra em detergente ácido indigestível.

^{2/} MS= matéria seca, MO= matéria orgânica, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, CT= carboidratos totais, FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína e CNF= carboidratos não-fibrosos.

^{3/} Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre indicadores.

^{4/} Coeficiente de variação.

^{5/} % do total digestível.

^{6/} % da quantidade que chegou a cada local.

A digestibilidade intestinal da PB foi em média de 56,5%, valor inferior a 66,0% descritos por Leão et al. (2004) e aos 60,41% observados por Rennó et al. (2004b), que também utilizaram feno de capim-tifton como volumoso. A digestibilidade ruminal do EE apresentou valor negativo, indicando síntese de lipídeos microbianos. Já a

digestibilidade intestinal dos CT foi superior aos observados por Rennó et al. (2004b) (11,86%) e por Cabral (2002) de 14,12%. A digestibilidade da FDN no intestino delgado, apresentou valor médio de -1,5%, valor próximo de zero, uma vez que a FDN praticamente não é digerida neste local, confirmando que o fluxo de MS ileal foi estimado corretamente.

A composição das bactérias ruminais é demonstrada na Tabela 7. Os valores médios encontrados para MS e MO de 80,44 e 72,87%, respectivamente, são próximos aos observados por Rennó (2003) de 80,74 e 74,61% e por Valadares Filho et al. (1990b) de 82,35 e 71,43%, respectivamente. Já Leão et al. (2004) encontraram médias maiores ao deste trabalho para MS (89,5%) e inferiores para a MO (71,5%). Os valores de MO foram ainda inferiores aos relatos por Valadares Filho (1995), de 89,20%, em revisão de literatura nacional. Menores valores de MO podem ser decorrentes do alto teor de cinzas nas bactérias devido à contaminação com solução salina durante o seu processo de isolamento, como relatado em alguns trabalhos (Leão, 2002; Rennó, 2003). O valor de NT aqui observado (7,48%), está próximo aos relatados por Leão (2002) e Rennó (2003) de 6,86 e 6,88%, respectivamente.

Tabela 7 – Composição das bactérias ruminais

Variáveis ¹	Médias	Erro-padrão
MS ²	80,44	0,56
MO ³	72,87	1,26
NT ³	7,48	0,11
N-RNA ³	2,40	0,08

¹/ MS= matéria seca, MO= matéria orgânica, NT= compostos nitrogenados totais e N-RNA= compostos nitrogenados do ácido ribonucléico.

²/ %.

³/ % MS.

Os resultados da produção e eficiência microbianas obtidas em coletas de amostras no omaso, em função de diferentes indicadores, estão presentes na Tabela 8. Embora, não tenha havido diferença significativa entre a produção e a eficiência microbiana estimadas com os diferentes indicadores ($P > 0,05$), como na digestibilidade total, os valores obtidos com FDNi foram numericamente superiores. Vale ressaltar, como visto anteriormente (Tabela 5), que a utilização deste último indicador, superestimou a produção fecal e subestimou a digestibilidade total quando comparado à coleta total de fezes, enquanto que os valores obtidos com a FDAi foram similares à coleta total. Assim, é preferível a utilização da FDAi para a estimativa destes parâmetros.

A eficiência microbiana de síntese dos compostos nitrogenados expressos em relação ao consumo de matéria orgânica e carboidratos totais degradados no rúmen (MODR e CTDR, respectivamente) foram inferiores as observadas por Leão (2002) e próximos aos de Rennó (2003) e Reynal et al. (2003). Diferença entre a eficiência microbiana pode ser explicado por diferentes produções microbianas. Segundo Clark et al. (1992), as disponibilidades ruminiais de energia e N são os fatores nutricionais que mais afetam o crescimento microbiano. Sendo assim, a relação volumoso:concentrado dietética poderia influir no crescimento microbiano em razão da variação na disponibilidade de energia. Seguindo este raciocínio, a taxa de passagem é influenciada pelo consumo de alimentos bem como por propriedades intrínsecas deste, como tamanho de partículas e densidades.

Tabela 8 – Produção e eficiência microbiana no omaso, em função de diferentes indicadores

Variáveis	Indicadores ¹		Valor – P ³	CV (%) ²
	FDNi	FDAi		
	Produção microbiana ⁴			
gNmic/dia	44,92	41,78	0,1415	10,0
gMSmic/dia	603,35	562,32	0,1401	9,7
gMOmic/dia	444,04	412,97	0,1387	10,0
	Eficiência microbiana ⁵			
gNmic/kgMODR	18,16	15,80	0,2339	24,3
gNmic/kgCTDR	19,22	17,20	0,2777	21,5
gNmic/kgMOFR	15,04	10,64	0,1732	51,8
gMSmic/kgCTDR	255,40	229,93	0,2889	20,8

^{1/} FDNi= fibra em detergente neutro indigestível e FDAi= fibra em detergente ácido indigestível.

^{2/} Coeficiente de variação.

^{3/} Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre indicadores.

^{4/} Nmic= compostos nitrogenados, MSmic= matéria seca e MOmic= matéria orgânica microbianos.

^{5/} Nmic/MODR= quantidade de Nmic expressos em relação à matéria orgânica degradada no rúmen, Nmic/CTDR= quantidade de Nmic expressos em relação aos carboidratos totais degradados no rúmen, Nmic/MOFR= quantidade de Nmic expressos em relação matéria orgânica fermentada no rúmen (Nmic/MOFR) e MSmic/CTDR = quantidade de MSmic expresso em relação aos carboidratos degradados no rúmen.

As estimativas de volume urinário, excreções de derivados de purinas urinárias e purinas absorvidas podem ser vistas na Tabela 9. A proporção de alantoína e ácido úrico estimados apresentaram composição média próxima da citada por Verbic et al. (1990), de 85% de alantoína. A proporção estimada foi de 81,92% de alantoína, inferior à estimada por Leão (2002) de 87,90% e Rennó (2003) de 91,93%. A concentração de alantoína foi aproximadamente igual à observada por Rennó et al. (2000), no entanto a quantidade de ácido úrico foi inferior neste experimento.

Tabela 9 – Estimativa do volume e excreções de derivados de purinas urinárias e purinas absorvidas

Variáveis ¹	Média	Erro-padrão
VU (kg/dia)	4,65	0,70
ALA (mmol/dia)	74,00	22,27
AU (mmol/dia)	16,33	6,06
Pabs (mmol/dia)	106,27	23,82

¹/ VU= volume urinário, ALA= de alantoína, AU= excreções urinárias de ácido úrico e Pabs= derivados de purinas (ALA + AU) absorvidos.

A produção microbiana de compostos nitrogenados, em função dos indicadores, estão apresentados na Tabela 10. A produção de Nmic diário estimado pelo fluxo omasal com FDAi não diferiu ($P>0,05$) com aquela dos derivados de purina em coleta *spot* de urina. Com isso, podem-se utilizar os derivados de purina para estimativa de produção microbiana por não precisar preparar cirurgicamente os animais e ter maior praticidade. Essa observação está de acordo com as conclusões obtidas por outros pesquisadores (Rennó et al., 2000; Leão, 2002; Chizzotti et al., 2004).

Tabela 10 – Produção microbiana de compostos nitrogenados, em função dos métodos de indicadores

Método ¹	Produção Microbiana (g Nmic/dia) ²
FDAi	41,78
DP	28,32
Valor-P ³	0,1165
CV(%) ⁴	46,32

¹/ FDAi= fibra em detergente neutro indigestível e DP= derivados de purina em coleta *spot* de urina.

²/ Nmic= compostos nitrogenados microbianos.

³/ Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre período de coletas.

⁴/ Coeficiente de variação.

Na Figura 1 são demonstrados os valores de pH, em função dos tempos de coleta. Como pode ser observada, as condições no rúmen foram favoráveis à produção microbiana com valores de pH variando de 6,7 a 6,9, estando dentro da faixa para o máximo crescimento microbiano citado por Hoover & Stokes (1991) de 5,5 a 7,1.

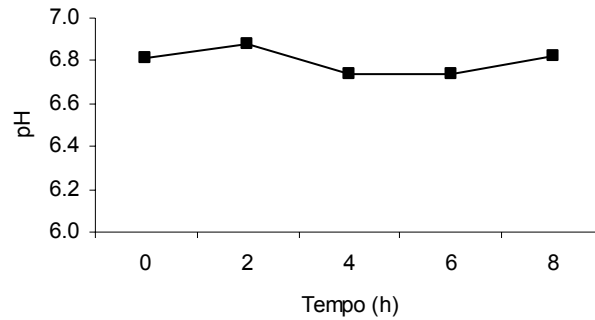


Figura 1 – Valores de pH do líquido ruminal, em função dos tempos de coleta pós-alimentação.

Na Figura 2 são demonstrados os valores de N-NH₃, em função dos tempos de coleta. Os valores de N-NH₃ variaram de 10,3 a 14,1 mg/dL, ficando acima de 5 mg/dL de líquido ruminal sugerido por Satter & Slyter (1974) como mínimo para a produção microbiana. Os maiores valores de N-NH₃ obtidos foram atingidos após duas horas de alimentação.

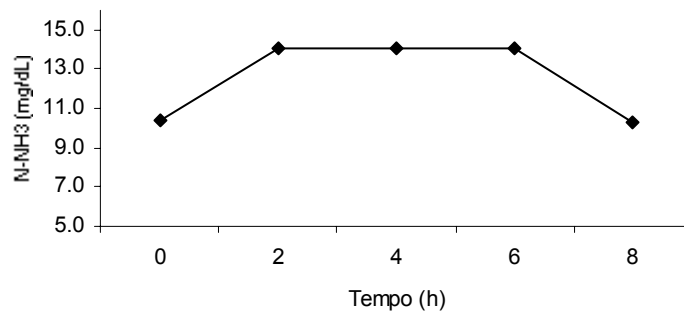


Figura 2 – Valores de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do líquido ruminal, em função dos tempos de coleta pós-alimentação.

Conclusões

A FDAi apresenta melhor recuperação e produz estimativas similares para a excreção fecal e a digestibilidade total quando comparada com a coleta total de fezes.

As estimativas da produção microbiana via quantificação de derivados de purinas em amostras *spot* de urina demonstram-se similares às obtidas por procedimentos invasivos via fluxo de matéria microbiana omasal.

Referências

- BERCHIELLI, T.T.; RODRIGUEZ, N.M.; OSÓRIO NETO, E. et al. Comparação de indicadores de fase sólida para medir fluxo de matéria seca e matéria orgânica no duodeno. **Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia**, v.50, n.2, p.147-152, 1998.
- BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C.L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.830-833, 2000.
- BRODERICK, G.A.; MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.68, p.2618-2632, 1992.
- CABRAL, L.S. **Avaliação de alimentos para ruminantes pro intermédio de métodos *in vivo e in vitro***. Viçosa: UFV, 2002. 133p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.
- CECAVA, M.J.; MERCHEN, N.R.; GAY, L.C. et al. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.9, p.2480-2488, 1990.
- CHEN, X.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: on overview of the technical details**. Occasional publication. Bucksburn Aberdeen. Ed. Rowett Research Institute, 1992, 21p.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Excreção de creatinina em novilhos e novilhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Macromedia, 2004. CD-ROM. Nutrição de ruminantes. NR-399.
- CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2304-2323, 1992.
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- FRANCE, J.; SIDDON, R.C. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. **Journal of Theoretical Biology**, v.121, p.105-119, 1986.
- FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R.N. Consumo e digestibilidade aparente total e parcial de rações com cana-de-açúcar e raspa de mandioca ensilados com polpa cítrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1531-1542, 2002. (suplemento)
- FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **The Journal of Agricultural Science**, v.77, n.8, p.7-12, 1987.
- GIESECKE, D.; EHRENTREICH, L.; STANGASSINGER, M. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.8, p.2376-2381, 1994.
- HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3630-3644, 1991.

ÍTAVO, L.C.V.; SILVA, F.F.; FERREIRA, C.C.B. et al. Comparação de indicadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo da digesta em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1833-1839, 2002.

LIPPKE, H.; ELLIS, W.C.; JACOBS, .F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.2, p.403-412, 1986.

LEÃO, M.I. **Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana**. Belo Horizonte, MG:UFMG-Escola de Veterinária, 2002, 57p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2002.

LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; RENNÓ, L.N. et al. Consumos e digestibilidades totais e parciais de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e extrato etéreo em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1604-1615, 2004.

LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; RENNÓ, L.N. et al. Consumos e digestibilidades totais e parciais de carboidratos totais, fibra em detergente neutro e carboidratos não-fibrosos em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.670-678, 2005.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G.C., (ED.) **Forage quality, evaluation and utilization**. American Society of Agronomy. NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY, EVALUATION AND UTILIZATION, 1994, p.450-493.

MERCHEN, R.N.; ELIZALDE, J.C.; DRACKLEY, J.K. Current perspective on assessing site of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2223-223, 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1996. 242p.

OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.

PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1063-1073, 1993.

PEREIRA, M.L.A. **Proteína nas dietas de vacas nos terços inicial e médio da lactação**. Viçosa, MG:UFV, 2003, 105p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

RENNÓ, L.N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína**. Viçosa, MG:UFV, 2003, 105p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista Brasileira**

de Zootecnia, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.

RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R. F.D. et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40, 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Macromedia, 2003. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.

RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Consumo por novilhos de quatro grupos genéticos alimentados com dietas contendo níveis crescentes de uréia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004a, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Macromedia, 2004a. CD-ROM. Nutrição de ruminantes. NR-332.

RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; DINIZ, R.F. et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: digestibilidade aparente parcial. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004b, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Macromedia, 2004b. CD-ROM. Nutrição de ruminantes. NR-334.

REYNAL, S.M.; BRODERICK, G.A.; AHVENJÄRVI, S. et al. Effect of feeding protein supplements of differing degradability on omasal flow of microbial and undegraded protein. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1292-1305, 2003.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C. et al. Estudo comparativo da lignina isolada da palha de milho, com outros indicadores em ensaio de digestibilidade aparente. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Gmosis, 1999. CD-ROM. Nutrição de Ruminantes. NUR-129.

SAS. SAS/STAT User's Guide (Release 8.0), SAS Inst., Inc., Cary, NC. 1999.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Viçosa: UFV, 2002, 235p.

SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.

SUSMEL, P.; STEFENON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. the effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.123, p.257-266, 1994.

TITGMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal of Animal Science**, v.70, p.2235-2247, 1997.

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

VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; GONÇALVES, L.C. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa of silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.

VALADARES FILHO, S.C. **Digestão total e parcial da matéria seca e carboidratos em bovinos e bubalinos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1985. 147p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1985.

VALADARES FILHO, S.C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em bovinos. In: SIMPÓSIO INTERNATIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa:UFV/DZO, 1995. p.355-388.

VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; LEÃO, M.I. et al. Eficiência de síntese microbiana em novilhos holandeses, nelores e búfalos mestiços. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.5, p.416-423, 1990a.

VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; SANTANNA, R. et al. Composição de bactérias ruminais e absorção de aminoácidos microbianos no intestino delgado de novilhos holandeses, nelores e búfalos mestiços. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.5, p.431-440, 1990b.

VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. Recentes avanços em proteína na nutrição de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 2, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. CD-ROM. Palestras.

VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em rações para ruminantes**. Viçosa:UFV, 1980. 98p. Tese (Doutorando em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1980.

VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **The Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.

ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M. et al. Recuperação fecal de indicadores internos avaliados em ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1865-1874, 2002.

CONCLUSÕES GERAIS

Recomenda-se a amostragem de coleta de digesta omasal e ileal somente no período diurno.

Dentre os indicadores omasais, os duplos são os mais precisos, o Co-EDTA foi o indicador mais preciso e a FDN_i, o menos. Dos indicadores ileais, o Cr₂O₃ foi o menos preciso.

Embora a FDN_i, a FDA_i e o Co-FDA_i podem ser utilizados como indicadores para estimativa de parâmetros de digestibilidade parcial na coleta de digesta omasal, recomenda-se o uso das fibras indigestíveis por serem menos onerosas e de melhor manipulação. Entretanto, a FDA_i apresenta melhor recuperação e produz estimativas similares para a excreção fecal e a digestibilidade total quando comparada com a coleta total de fezes.

A estimativa da produção microbiana via quantificação de derivados de purinas em amostras *spot* de urina, demonstra-se similar aos estimados por procedimentos invasivos via fluxo de matéria microbiana omasal.

APÉNDICE

Tabela 1A – Fluxo omasal (kg/dia) da fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína

ANIM	PER	COLETA	Cr ₂ O ₃	FDNi	FDAi	Co-FDNi	Co-FDAi
1	1	Diurno	1,487	1,252	1,210	1,543	1,322
2	1	Diurno	1,386	1,107	1,103	1,389	1,131
3	1	Diurno	1,046	0,837	0,819	0,926	0,786
4	1	Diurno	1,018	1,022	0,834	1,062	1,035
1	2	Diurno	1,659	1,309	1,091	1,599	1,185
2	2	Diurno	1,450	1,788	1,925	1,923	1,612
3	2	Diurno	1,120	1,304	1,213	1,540	1,224
4	2	Diurno	0,460	0,743	0,808	0,830	0,763
1	3	Diurno	-	-	-	-	-
2	3	Diurno	2,307	2,228	2,001	2,303	1,835
3	3	Diurno	1,217	1,111	1,091	1,322	1,085
4	3	Diurno	0,686	0,870	0,693	0,795	0,762
1	1	Diário	1,578	1,196	1,200	1,572	1,287
2	1	Diário	1,486	1,109	0,824	1,323	1,121
3	1	Diário	0,987	0,809	0,778	0,895	0,776
4	1	Diário	1,084	1,132	1,002	1,057	1,051
1	2	Diário	1,803	1,303	1,047	1,613	0,989
2	2	Diário	1,696	2,246	1,738	2,012	1,654
3	2	Diário	1,118	1,256	1,301	1,513	1,412
4	2	Diário	0,578	0,929	0,797	0,839	0,770
1	3	Diário	-	-	-	-	-
2	3	Diário	2,039	1,948	1,753	2,300	1,791
3	3	Diário	1,315	0,959	1,116	1,308	1,176
4	3	Diário	0,612	0,647	0,563	0,859	0,824

ANIM= animal; PER= período experimental; COLETA= período de coleta; Cr₂O₃= óxido crômico; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Co-FDNi= complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) associado à FDNi e Co-FDAi= Co-EDTA associado à FDAi.

Tabela 2A - Fluxo ileal (kg/dia) da fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína

ANIM	PER	COLETA	Cr ₂ O ₃	FDNi	FDAi
1	1	Diurno	1,202	1,324	1,270
2	1	Diurno	0,813	1,062	1,132
3	1	Diurno	0,774	0,836	0,774
4	1	Diurno	1,077	1,163	1,081
1	2	Diurno	0,437	1,207	1,037
2	2	Diurno	0,958	1,710	1,630
3	2	Diurno	1,035	1,314	1,234
4	2	Diurno	0,791	0,788	0,755
1	3	Diurno	-	-	-
2	3	Diurno	1,614	2,134	1,774
3	3	Diurno	1,170	1,133	1,131
4	3	Diurno	1,097	0,798	0,827
1	1	Diário	1,518	1,305	1,236
2	1	Diário	0,817	1,052	0,959
3	1	Diário	0,718	0,757	0,709
4	1	Diário	1,171	1,161	1,028
1	2	Diário	0,540	1,181	1,109
2	2	Diário	1,735	1,912	1,609
3	2	Diário	1,116	1,321	1,375
4	2	Diário	0,817	0,865	0,813
1	3	Diário	-	-	-
2	3	Diário	2,046	1,956	1,745
3	3	Diário	1,280	1,046	1,102
4	3	Diário	0,970	0,799	0,820

ANIM= animal; PER= período experimental; COLETA= período de coleta; Cr₂O₃= óxido crômico; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível e FDAi= fibra em detergente ácido indigestível.

Tabela 3A – Coeficientes de digestibilidade intestinal (% do total ingerido) de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína estimado por diferentes indicadores usados no omaso e íleo

Indicador omasal			Cr ₂ O ₃			FDNi		FDAi		Co-FDNi		Co-FDAi	
Indicador ileal			Cr ₂ O ₃	FDNi	FDAi	Cr ₂ O ₃	FDNi	Cr ₂ O ₃	FDAi	Cr ₂ O ₃	FDNi	Cr ₂ O ₃	FDAi
ANIM	PER	COLETA											
1	1	Diurno	0,1074	0,0615	0,0818	0,0188	-0,0271	0,0029	0,0227	0,1288	0,0829	0,0452	0,0195
2	1	Diurno	0,2392	0,1353	0,1062	0,1226	0,0187	0,1209	0,0122	0,2405	0,1367	0,1326	-0,0004
3	1	Diurno	0,1567	0,1213	0,1569	0,0361	0,0006	0,0258	0,0260	0,0876	0,0522	0,0071	0,0073
4	1	Diurno	-0,0286	-0,0698	-0,0303	-0,0264	-0,0675	-0,1170	0,1187	-0,0072	0,0484	-0,0204	-0,0221
1	2	Diurno	0,4728	0,1749	0,2407	0,3373	0,0394	0,2530	0,0209	0,4496	0,1518	0,2893	0,0572
2	2	Diurno	0,1484	-0,0784	-0,0543	0,2504	0,0237	0,2918	0,0891	0,2913	0,0646	0,1972	-0,0055
3	2	Diurno	0,0329	-0,0746	-0,0438	0,1036	-0,0040	0,0685	0,0083	0,1949	0,0873	0,0730	-0,0037
4	2	Diurno	-0,2232	-0,2213	-0,1989	-0,0324	-0,0305	0,0116	0,0360	0,0261	0,0280	-0,0190	0,0054
1	3	Diurno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	3	Diurno	0,1815	0,0455	0,1396	0,1608	0,0248	0,1012	0,0594	0,1805	0,0445	0,0577	0,0158
3	3	Diurno	0,0180	0,0321	0,0329	-0,0224	-0,0084	-0,0301	0,0152	0,0583	0,0724	-0,0324	-0,0175
4	3	Diurno	-0,2794	-0,0760	-0,0954	-0,1544	0,0491	-0,2747	0,0907	-0,2055	0,0020	-0,2282	-0,0442
1	1	Diário	0,0226	0,1030	0,1291	-0,1218	-0,0414	-0,1201	0,0136	0,0205	0,1008	-0,0873	0,0192
2	1	Diário	0,2794	0,1812	0,2201	0,1218	0,0236	0,0029	0,0564	0,2110	0,1129	0,1270	0,0677
3	1	Diário	0,1550	0,1326	0,1601	0,0522	0,0298	0,0348	0,0398	0,1017	0,0794	0,0332	0,0382
4	1	Diário	-0,0419	-0,0370	0,0267	-0,0185	-0,0136	-0,0813	0,0127	-0,0548	0,0498	-0,0579	0,0108
1	2	Diário	0,4888	0,2408	0,2685	0,2953	0,0473	0,1962	0,0241	0,4153	0,1673	0,1738	-0,0465
2	2	Diário	-0,0118	-0,0653	0,0262	0,1544	0,1009	0,0010	0,0390	0,0835	0,0300	-0,0244	0,0135
3	2	Diário	0,0009	-0,0781	-0,0989	0,0541	-0,0249	0,0715	-	0,1531	0,0742	0,1141	0,0143

									0,0283				
4	2	Diário	-0,1607	-0,1932	-0,1586	0,0760	0,0435	-0,0134	0,0113	0,0149	0,0176	-0,0317	-0,0296
1	3	Diário	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	3	Diário	-0,0019	0,0218	0,0770	-0,0257	-0,0020	-0,0768	0,0020	0,0665	0,0902	-0,0668	0,0120
3	3	Diário	0,0136	0,1034	0,0819	-0,1230	-0,0332	-0,0629	0,0053	0,0108	0,1006	-0,0400	0,0283
4	3	Diário	-0,2439	-0,1276	-0,1415	-0,2198	-0,1036	-0,2769	0,1746	-0,0759	0,0404	-0,0994	0,0029

ANIM= animal; PER= período experimental; COLETA= período de coleta; Cr₂O₃= óxido crômico; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Co-FDNi= complexo de cobalto-ácido etilendiaminotetracético (Co-EDTA) associado à FDNi e Co-FDAi= Co-EDTA associado à FDAi.

Tabela 4A – Consumos médios diários de nutrientes

ANIM	PER	kg/dia							g/kg do peso vivo		
		MS	MO	PB	EE	CT	FDNcp	CNF	MS	MO	FDN
1	1	4,060	3,799	0,647	0,087	3,064	2,646	0,418	1,832	1,714	1,194
2	1	3,680	3,446	0,554	0,076	2,815	2,394	0,421	1,616	1,513	1,051
3	1	2,830	2,645	0,457	0,063	2,125	1,734	0,391	1,469	1,373	0,900
4	1	3,240	3,017	0,537	0,068	2,413	2,082	0,330	2,031	1,892	1,306
1	2	3,910	3,660	0,614	0,083	2,963	2,583	0,380	1,768	1,654	1,168
2	2	4,870	4,558	0,734	0,102	3,722	3,313	0,409	2,092	1,958	1,423
3	2	3,910	3,655	0,613	0,085	2,957	2,594	0,363	1,975	1,846	1,310
4	2	2,400	2,245	0,397	0,049	1,800	1,485	0,315	1,508	1,411	0,933
1	3	5,560	5,193	0,819	0,118	4,255	3,830	0,425	2,301	2,149	1,585
2	3	5,500	5,134	0,809	0,115	4,210	3,817	0,392	2,290	2,137	1,589
3	3	3,870	3,598	0,595	0,085	2,917	2,607	0,311	1,874	1,742	1,262
4	3	2,200	2,027	0,341	0,059	1,626	1,469	0,156	1,382	1,273	0,923

ANIM= animal; PER= período experimental; MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; PB= proteína bruta; EE= extrato etéreo; CT= carboidratos totais; FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína e CNF= carboidratos não-fibrosos.

Tabela 5A – Recuperação dos indicadores (%)

ANIM	PER	FDNi	FDAi
1	1	91,44	98,74
2	1	94,21	116,96
3	1	107,05	136,73
4	1	102,00	99,08
1	2	102,73	104,33
2	2	74,31	89,38
3	2	89,60	99,44
4	2	84,01	99,73
1	3	76,96	84,69
2	3	91,21	101,95
3	3	103,05	107,48
4	3	82,36	100,17

ANIM= animal; PER= período experimental; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível.

Tabela 6A – Excreção fecal e coeficientes de digestibilidade total dos nutrientes

ANIM	PER	MET	EXC	Coeficientes de digestibilidade total (%)						
				MS	MO	PB	EE	CT	FDNcp	CNF
1	1	CTF	1,678	58,67	60,64	73,03	59,73	58,05	56,92	65,18
2	1	CTF	1,802	51,04	53,25	64,81	50,87	51,04	49,29	60,99
3	1	CTF	1,233	56,42	58,60	71,86	59,15	55,73	49,10	85,10
4	1	CTF	1,448	55,32	57,19	71,10	65,57	53,85	51,68	67,54
1	2	CTF	1,753	55,17	57,38	66,66	52,83	55,59	55,91	53,40
2	2	CTF	2,208	54,67	56,66	64,78	53,53	55,14	56,66	42,75
3	2	CTF	1,731	55,72	57,83	64,72	55,65	56,46	56,58	55,59
4	2	CTF	1,026	57,26	59,69	68,93	51,77	57,87	55,43	69,37
1	3	CTF	2,629	52,72	54,60	62,96	48,47	53,15	53,12	53,43
2	3	CTF	2,461	55,26	56,98	63,74	54,15	55,75	56,81	45,47
3	3	CTF	1,449	62,55	64,34	70,73	59,06	63,19	61,87	74,21
4	3	CTF	1,072	51,26	52,31	62,18	63,65	49,82	53,83	12,05
1	1	FDNi	1,554	61,73	63,56	75,03	62,71	61,15	60,11	67,76
2	1	FDNi	1,451	60,56	62,35	71,65	60,42	60,57	59,16	68,58
3	1	FDNi	0,966	65,88	67,58	77,97	68,02	65,34	60,15	88,33
4	1	FDNi	1,490	54,00	55,93	70,24	64,56	52,49	50,26	66,58
1	2	FDNi	1,726	55,85	58,03	67,16	53,55	56,27	56,58	54,11
2	2	FDNi	1,836	62,31	63,96	70,72	61,37	62,70	63,97	52,40
3	2	FDNi	1,560	60,10	62,00	68,21	60,04	60,77	60,88	59,99
4	2	FDNi	0,864	63,99	66,05	73,83	59,37	64,51	62,46	74,19
1	3	FDNi	2,389	57,03	58,74	66,34	53,18	57,43	57,40	57,68
2	3	FDNi	2,201	59,97	61,51	67,56	58,99	60,41	61,36	51,22
3	3	FDNi	1,390	64,09	65,81	71,94	60,75	64,70	63,44	75,28
4	3	FDNi	0,882	59,93	60,79	68,90	70,11	58,74	62,04	27,69
1	1	FDAi	1,534	62,21	64,01	75,34	63,18	61,64	60,61	68,16
2	1	FDAi	1,698	53,87	55,96	66,84	53,71	53,88	52,23	63,25
3	1	FDAi	1,320	53,35	55,68	69,87	56,27	52,61	45,51	84,05
4	1	FDAi	1,477	54,42	56,33	70,52	64,89	52,93	50,72	66,89
1	2	FDAi	1,801	53,94	56,22	65,74	51,54	54,37	54,70	52,12
2	2	FDAi	1,641	66,31	67,79	73,83	65,47	66,66	67,80	57,45
3	2	FDAi	1,551	60,32	62,22	68,39	60,26	60,99	61,10	60,21
4	2	FDAi	0,862	64,09	66,14	73,90	59,48	64,61	62,56	74,26
1	3	FDAi	2,023	63,67	65,11	71,54	60,41	64,00	63,98	64,21
2	3	FDAi	2,244	59,19	60,76	66,93	58,18	59,64	60,60	50,27
3	3	FDAi	1,494	61,41	63,25	69,84	57,81	62,06	60,71	73,43
4	3	FDAi	0,883	60,72	68,85	61,97	27,57	58,74	70,06	58,67

ANIM= animal; PER= período experimental; MET= método de estimativa; CTF= coleta total de fezes; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; EXC= excreção fecal; MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; PB= proteína bruta; EE= extrato etéreo; CT= carboidratos totais; FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína e CNF= carboidratos não-fibrosos.

Tabela 7A – Coeficientes de digestibilidade no rúmen (%)

ANIM	PER	IND	MS	MO	PB	EE	CT	FDNcp	CNF
1	1	FDNi	64,43	75,48	30,65	-9,38	87,07	96,28	36,07
2	1	FDNi	64,15	78,56	21,29	-27,14	93,54	108,91	22,86
3	1	FDNi	69,08	79,36	29,06	-45,62	95,07	108,68	69,58
4	1	FDNi	56,57	65,36	23,88	-49,28	79,50	88,27	37,15
1	2	FDNi	25,95	63,58	12,91	-34,90	78,00	88,65	2,04
2	2	FDNi	-23,63	25,64	-14,06	-62,94	40,40	56,83	-136,16
3	2	FDNi	64,17	78,81	34,40	9,33	86,65	91,15	53,90
4	2	FDNi	22,58	49,51	11,93	38,83	57,34	67,50	-46,83
1	3	FDNi
2	3	FDNi	61,62	77,06	31,67	-22,81	86,24	86,19	86,79
3	3	FDNi	76,33	84,09	41,96	-27,31	93,31	102,14	31,45
4	3	FDNi	81,50	91,78	38,18	18,27	102,69	103,93	50,47
1	1	FDAi	60,86	71,71	30,39	-9,79	82,35	90,89	34,27
2	1	FDAi	82,56	91,04	41,49	5,48	100,97	110,84	52,53
3	1	FDAi	62,62	71,76	31,71	-40,19	83,77	91,61	68,75
4	1	FDAi	72,65	79,77	32,67	-32,04	94,14	103,27	50,68
1	2	FDAi	55,79	84,37	30,02	-8,39	96,84	105,11	37,94
2	2	FDAi	20,26	52,94	11,75	-26,08	63,57	74,31	-42,78
3	2	FDAi	55,65	70,34	32,03	6,06	77,48	81,85	45,75
4	2	FDAi	39,65	59,99	24,52	47,58	66,24	74,23	-18,26
1	3	FDAi
2	3	FDAi	67,78	80,51	38,51	-10,52	88,18	88,12	88,88
3	3	FDAi	61,19	70,83	32,49	-48,08	80,77	90,15	14,39
4	3	FDAi	82,30	90,06	46,19	28,86	97,86	99,37	65,90

ANIM= animal; PER= período experimental; IND= indicador; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; PB= proteína bruta; EE= extrato etéreo; CT= carboidratos totais; FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína e CNF= carboidratos não-fibrosos.

Tabela 8A – Coeficientes de digestibilidade no intestino delgado (%)

ANIM	PER	IND	MS	MO	PB	EE	CT	FDNcp	CNF
1	1	FDNi	6,41	5,09	30,41	57,20	-4,16	-7,27	13,15
2	1	FDNi	32,12	23,63	54,19	70,48	8,96	4,79	28,15
3	1	FDNi	8,42	9,78	29,71	75,63	-1,19	6,07	-29,07
4	1	FDNi	18,77	17,21	54,20	69,70	0,38	-2,64	14,97
1	2	FDNi	52,45	26,84	45,71	68,81	14,72	8,46	59,32
2	2	FDNi	80,28	41,54	59,93	67,23	22,40	17,80	71,83
3	2	FDNi	-0,31	-1,46	24,06	56,80	-10,26	-4,40	-52,82
4	2	FDNi	53,90	32,47	60,69	38,55	20,33	7,85	133,28
1	3	FDNi
2	3	FDNi	8,69	2,42	38,96	84,91	-11,28	-0,35	-144,22
3	3	FDNi	-4,71	-2,20	27,38	82,49	-12,75	-5,36	-64,40
4	3	FDNi	-13,95	-14,51	27,86	75,78	-30,80	-19,24	-515,55
1	1	FDAi	11,48	9,44	34,35	59,62	0,85	-2,26	18,39
2	1	FDAi	6,00	2,71	43,82	63,80	-7,62	-9,53	1,72
3	1	FDAi	9,13	9,97	31,58	76,28	0,89	6,62	-25,07
4	1	FDAi	16,89	15,46	54,14	69,66	0,22	-2,52	13,32
1	2	FDAi	27,81	10,05	36,52	63,53	-0,02	-4,26	30,15
2	2	FDAi	47,00	21,92	56,42	64,36	8,18	6,09	28,87
3	2	FDAi	-0,83	-1,85	23,70	56,59	-10,34	-4,65	-51,54
4	2	FDAi	34,00	18,70	56,86	32,57	8,51	-1,81	102,29
1	3	FDAi
2	3	FDAi	7,96	2,68	39,47	85,04	-8,65	0,33	-113,39
3	3	FDAi	4,09	5,37	34,21	84,14	-6,17	0,84	-55,75
4	3	FDAi	-27,32	-26,08	15,00	71,46	-39,69	-28,14	-282,80

ANIM= animal; PER= período experimental; IND= indicador; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; PB= proteína bruta; EE= extrato etéreo; CT= carboidratos totais; FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína e CNF= carboidratos não-fibrosos.

Tabela 9A – Coeficientes de digestibilidade no intestino grosso (%)

ANIM	PER	IND	MS	MO	PB	EE	CT	FDNcp	CNF
1	1	FDNi	29,17	19,42	44,12	13,99	17,09	10,99	50,78
2	1	FDNi	3,73	-2,18	2,40	-30,90	-2,50	-13,70	48,99
3	1	FDNi	22,50	10,86	43,56	-15,13	6,12	-14,75	59,50
4	1	FDNi	24,65	17,43	17,09	23,89	20,12	14,36	47,88
1	2	FDNi	21,59	9,58	29,48	-12,10	7,28	2,89	38,64
2	2	FDNi	43,35	32,82	22,94	12,98	37,20	25,37	164,33
3	2	FDNi	36,13	22,66	29,17	-13,22	23,61	13,25	98,92
4	2	FDNi	23,52	18,02	10,26	-28,32	22,33	24,65	13,55
1	3	FDNi
2	3	FDNi	29,70	20,53	13,06	-147,47	25,05	14,16	157,43
3	3	FDNi	28,38	18,11	30,56	-83,69	19,44	3,22	132,95
4	3	FDNi	32,45	22,73	15,20	-83,62	28,11	15,31	565,08
1	1	FDAi	27,66	18,85	45,36	15,90	16,80	11,36	47,34
2	1	FDAi	11,44	6,25	13,76	-15,67	6,65	-1,31	45,75
3	1	FDAi	28,26	18,27	52,85	3,81	15,34	1,76	56,31
4	1	FDAi	10,47	4,77	3,63	11,53	5,64	-0,74	36,00
1	2	FDAi	16,40	5,57	26,08	-17,50	3,18	-0,85	31,92
2	2	FDAi	32,74	25,14	23,86	14,02	28,25	19,59	113,90
3	2	FDAi	45,18	31,51	38,70	2,00	32,86	22,80	105,79
4	2	FDAi	26,35	21,31	19,62	-14,92	25,25	27,59	15,97
1	3	FDAi
2	3	FDAi	24,26	16,82	12,85	-148,07	20,47	11,55	124,50
3	3	FDAi	34,72	23,79	36,82	-67,15	25,40	9,01	141,35
4	3	FDAi	45,01	36,02	32,02	-47,20	41,83	28,76	316,90

ANIM= animal; PER= período experimental; IND= indicador; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; PB= proteína bruta; EE= extrato etéreo; CT= carboidratos totais; FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína e CNF= carboidratos não-fibrosos.

Tabela 10A – Coeficientes de digestibilidade nos intestinos (%)

ANIM	PER	IND	MS	MO	PB	EE	CT	FDNcp	CNF
1	1	FDNi	35,57	24,52	61,11	63,19	12,93	3,72	63,93
2	1	FDNi	35,85	21,44	55,29	61,35	6,46	-8,91	77,14
3	1	FDNi	30,92	20,64	60,33	71,95	4,93	-8,68	30,42
4	1	FDNi	43,43	34,64	62,03	76,94	20,50	11,73	62,85
1	2	FDNi	74,05	36,42	61,71	65,04	22,00	11,35	97,96
2	2	FDNi	123,63	74,36	69,12	71,48	59,60	43,17	236,16
3	2	FDNi	35,83	21,19	46,22	51,09	13,35	8,85	46,10
4	2	FDNi	77,42	50,49	64,72	21,16	42,66	32,50	146,83
1	3	FDNi
2	3	FDNi	38,38	22,94	46,93	62,67	13,76	13,81	13,21
3	3	FDNi	23,67	15,91	49,57	67,84	6,69	-2,14	68,55
4	3	FDNi	18,50	8,22	38,82	55,52	-2,69	-3,93	49,53
1	1	FDAi	39,14	28,29	64,13	66,04	17,65	9,11	65,73
2	1	FDAi	17,44	8,96	51,55	58,13	-0,97	-10,84	47,47
3	1	FDAi	37,38	28,24	67,74	77,19	16,23	8,39	31,25
4	1	FDAi	27,35	20,23	55,81	73,16	5,86	-3,27	49,32
1	2	FDAi	44,21	15,63	53,08	57,15	3,16	-5,11	62,06
2	2	FDAi	79,74	47,06	66,82	69,36	36,43	25,69	142,78
3	2	FDAi	44,35	29,66	53,22	57,46	22,52	18,15	54,25
4	2	FDAi	60,35	40,01	65,33	22,51	33,76	25,77	118,26
1	3	FDAi
2	3	FDAi	32,22	19,49	47,24	62,89	11,82	11,88	11,12
3	3	FDAi	38,81	29,17	58,43	73,49	19,23	9,85	85,61
4	3	FDAi	17,70	9,94	42,21	57,99	2,14	0,63	34,10

ANIM= animal; PER= período experimental; IND= indicador; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; PB= proteína bruta; EE= extrato etéreo; CT= carboidratos totais; FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína e CNF= carboidratos não-fibrosos.

Tabela 11A – Composição das bactérias ruminais (%MS)

ANIM	PER	MS	MO	NT	N-RNA
1	1	78,55	71,86	7,45	1,27
2	1	75,94	71,39	7,46	2,38
3	1	77,45	72,86	7,62	2,10
4	1	78,32	75,39	7,99	2,09
1	2	82,23	80,15	8,01	2,63
2	2	84,44	69,64	7,24	2,20
3	2	80,70	69,78	6,95	2,36
4	2	83,29	74,16	7,68	2,20
1	3	79,15	77,68	7,43	2,53
2	3	84,04	69,76	6,77	2,34
3	3	80,71	68,90	7,64	2,54
4	3

ANIM= animal; PER= período experimental; MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; NT= compostos nitrogenados totais e N-RNA= compostos nitrogenados do ácido ribonucléico.

Tabela 12A – Produção e eficiência microbiana no omaso

ANIM	PER	IND	Produção microbiana			Eficiência microbiana			
			N	MS	MO	NMODR	NCTDR	NMOFR	MSCTDR
1	1	FDNi	36,17	485,59	348,94	12,61	13,56	7,25	182,05
2	1	FDNi	38,36	514,52	367,32	14,17	14,57	9,83	195,39
3	1	FDNi	27,32	358,67	261,33	13,01	13,52	10,58	177,56
4	1	FDNi	25,82	323,01	243,53	13,09	13,46	11,59	168,41
1	2	FDNi	74,43	928,64	744,26	31,99	32,20	23,94	401,82
2	2	FDNi
3	2	FDNi	45,01	647,80	452,05	15,62	17,56	9,38	252,79
4	2	FDNi	42,71	555,98	412,31	38,42	41,38	57,84	538,69
1	3	FDNi	62,00	834,81	648,48	15,63	16,19	7,21	218,03
2	3	FDNi	65,83	972,12	678,12	16,64	18,13	7,38	267,77
3	3	FDNi	31,52	412,34	284,09	10,42	11,58	5,35	151,48
4	3	FDNi
1	1	FDAi	36,30	487,40	350,24	13,33	14,39	7,70	193,20
2	1	FDAi	28,52	382,50	273,07	9,09	10,03	4,65	134,57
3	1	FDAi	26,30	345,29	251,58	13,86	14,77	10,80	193,98
4	1	FDAi	22,84	285,71	215,41	9,49	10,05	7,04	125,80
1	2	FDAi	59,80	746,15	598,00	19,37	20,84	10,80	260,04
2	2	FDAi
3	2	FDAi	46,63	671,14	468,33	18,14	20,35	11,37	292,89
4	2	FDAi	36,60	476,53	353,39	27,18	30,70	30,53	399,67
1	3	FDAi	64,92	874,07	678,98	18,83	19,31	9,29	259,99
2	3	FDAi	59,24	874,82	610,24	14,33	15,96	5,64	235,65
3	3	FDAi	36,66	479,61	330,44	14,39	15,56	8,57	203,54
4	3	FDAi

ANIM= animal; PER= período experimental; IND= indicador; FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; N= compostos nitrogenados; MS= matéria seca e MO= matéria orgânica microbianos; NMODR= quantidade de N expressos em relação à matéria orgânica degradada no rúmen; NCTDR= quantidade de N expressos em relação aos carboidratos totais degradados no rúmen; NMOFR= quantidade de N expressos em relação matéria orgânica fermentada no rúmen (NMOFR) e MSCTDR = quantidade de MS expresso em relação aos carboidratos degradados no rúmen.

Tabela 13A – Estimativa do volume e excreções de derivados de purina urinárias e purinas absorvidas

ANIM	PER	VU (kg/dia)	ALA (mmol/dia)	AU (mmol/dia)	Pabs (mmol/dia)
1	1	5,00	70,76	5,84	90,11
2	1	3,64	50,35	45,20	112,42
3	1	3,02	31,80	2,23	40,03
4	1	2,90	54,67	5,07	70,28
1	2	11,64	291,55	11,43	356,45
2	2	4,23	57,02	6,08	74,24
3	2	2,86	46,32	18,47	76,23
4	2	3,94	48,92	41,09	105,89
1	3	4,38	48,14	29,62	91,49
2	3	5,14	44,74	8,56	62,70
3	3	4,41	69,74	6,00	89,11
4	3

ANIM= animal; PER= período experimental; VU= volume urinário; ALA= de alantóina; AU= excreções urinárias de ácido úrico e Pabs= derivados de purinas (ALA + AU) absorvidos.

Tabela 14A – Produção microbiana de compostos nitrogenados, em função dos métodos de indicadores

ANIM	PER	FDAi	Derivados de purina
1	1	36,30	23,98
2	1	28,52	30,37
3	1	26,30	11,21
4	1	22,84	25,13
1	2	59,80	82,19
2	2	.	18,59
3	2	46,63	17,12
4	2	36,60	46,17
1	3	64,92	18,59
2	3	59,24	13,76
3	3	36,66	24,39
4	3	.	.

ANIM= animal; PER= período experimental; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível.

Tabela 15A – Valores de pH do líquido ruminal, em função dos tempos de coleta pós-alimentação

ANIM	PER	Tempo (h)				
		0	2	4	6	8
1	1	6,8	6,9	6,7	6,7	6,7
2	1	6,8	7,0	6,9	6,9	7,1
3	1	6,7	6,8	6,8	6,9	6,9
4	1	6,6	6,7	6,6	6,6	6,7
1	2	6,7	6,7	6,6	6,5	6,5
2	2	6,9	7,0	6,7	6,7	6,9
3	2	6,9	6,9	6,5	6,5	6,9
4	2	6,8	6,7	6,7	6,5	6,7
1	3	6,9	6,9	6,8	6,7	6,8
2	3	7,1	7,1	7,0	7,0	7,0
3	3	6,9	7,0	6,8	6,8	6,9
4	3	-	-	-	-	-

ANIM= animal; PER= período experimental.

Tabela 16A – Valores de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do líquido ruminal (mg/dL), em função dos tempos de coleta pós-alimentação

ANIM	PER	Tempo (h)				
		0	2	4	6	8
1	1	9,0	12,4	13,0	10,5	9,9
2	1	11,6	14,1	13,7	12,0	10,7
3	1	13,7	13,7	18,7	11,4	11,4
4	1	12,2	14,1	12,8	11,1	9,3
1	2	7,4	13,5	14,1	12,0	8,8
2	2	10,3	14,9	11,4	10,1	10,7
3	2	11,4	18,3	13,7	7,6	9,9
4	2	8,8	20,4	14,1	9,9	9,9
1	3	10,5	12,0	13,1	7,2	9,8
2	3	10,7	10,1	15,8	12,7	10,5
3	3	8,3	10,7	14,4	9,6	12,0
4	3	-	-	-	-	-

ANIM= animal; PER= período experimental.