

KARINA ZORZI

**DINÂMICA DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO* DA FIBRA EM DETERGENTE
NEUTRO DE CAPIM-BRAQUIÁRIA EM FUNÇÃO DE SUPLEMENTAÇÃO
COM DIFERENTES NÍVEIS E FONTES DE COMPOSTOS NITROGENADOS**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008**

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

T

Z89d
2008

Zorzi, Karina, 1981-

Dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de capim-braquiária em função de suplementação com diferentes níveis e fontes de compostos nitrogenados Karina Zorzi. – Viçosa, MG, 2008.
x, 39f.: il. ; 29cm.

Orientador: Augusto César de Queiroz.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

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

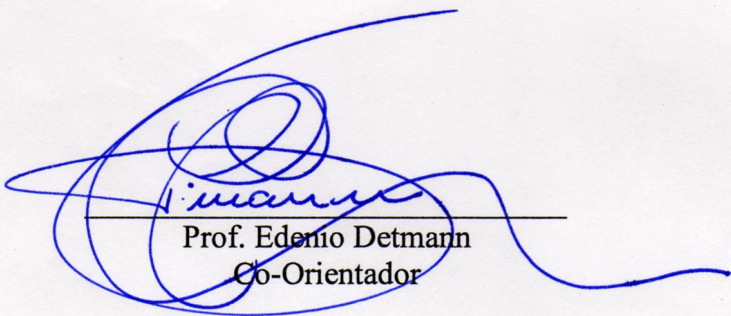
CDD 22.ed. 636.2085

KARINA ZORZI

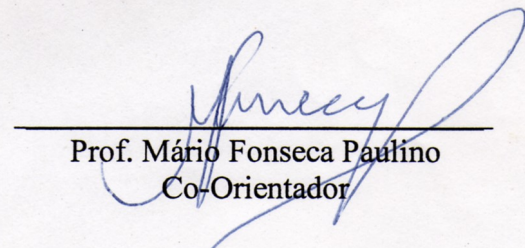
**DINÂMICA DE DEGRADAÇÃO IN VITRO DA FIBRA EM DETERGENTE
NEUTRO DE CAPIM-BRAQUIÁRIA EM FUNÇÃO DE SUPLEMENTAÇÃO
COM DIFERENTES NÍVEIS E FONTES DE COMPOSTOS NITROGENADOS**

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

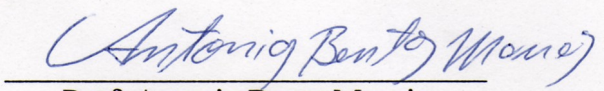
APROVADA: 26 de fevereiro de 2008.



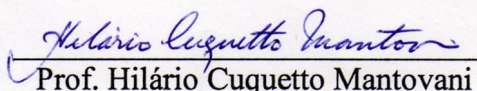
Prof. Edenio Detmann
Co-Orientador



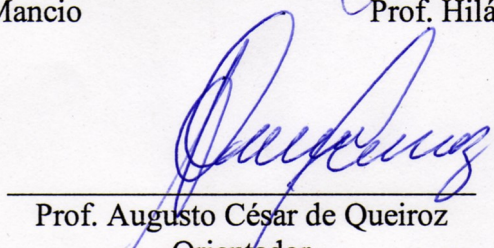
Prof. Mário Fonseca Paulino
Co-Orientador



Prof. Antonio Bento Mancio



Prof. Hilário Cuquetto Mantovani



Prof. Augusto César de Queiroz
Orientador

A Deus, por tudo que tem me proporcionado, especialmente pelo que não sou capaz de reconhecer.

Aos meus amados pais, Edna e Milton, pelo incansável apoio e incentivo para a realização deste curso.

Às minhas irmãs, Carolina e Janaina.

Ao meu irmão Gabriel.

Aos meus sobrinhos Gustavo e Beatriz.

À minha avó Aparecida e tia Marilda pelo amor e carinho.

Aos meus avós paternos, Milton e Eleonora (*in memoriam*) e materno (Adhemar) (*in memoriam*), pelo amor e carinho.

Ao Euzébio pelo amor, carinho, compreensão e por estar sempre ao meu lado fazendo tudo valer a pena.

Ao Professor Augusto César pelo apoio incondicional em todos os momentos e pela valiosa amizade.

Ao Professor Edenio Detmann por tudo o que fez por mim, meus sinceros agradecimentos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida e saúde

À Universidade Federal de Viçosa, pelo acolhimento desde a graduação, instituição a qual me orgulho de ter passado e que sempre amarei.

Ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização deste curso.

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

Aos meus pais pelos ensinamentos de vida, amor incondicional, pela compreensão, apoio, incentivo, confiança e por estarem sempre ao meu lado.

Aos meus irmãos pela alegria e carinho em todos os momentos.

À minha querida vovó Aparecida, a minha tia Marilda e ao meu tio Gilmar.

Ao Euzébio pelo amor, carinho, dedicação e companheirismo demonstrado diariamente.

À Maria do Carmo pelo apoio, carinho e confiança depositados em mim.

Aos amigos André Magalhães, Patrícia, Eric, Marcio, Shirley, Stefanie, Luciana, Lívia, Fabiana Lana, Isis, André Soares, Claudilene e Luana pela amizade.

A Lorena, Weder e Anita pela amizade e companheirismo.

Aos amigos Janderson, Thiago, Viviane, Diego, Darcilene, Marcos Gonçalves, Cláudia, Juliana, Fernanda Godoy, Geraldo e Matheus pela amizade e apoio na condução das atividades de campo e laboratório, além da agradável convivência.

Ao professor Augusto César de Queiroz, pela orientação, pela confiança, pelo exemplo profissional e, sobretudo, pela amizade no decorrer do curso.

Ao Professor Edenio Detmann, pela atenção, dedicação, paciência, competência, transmissão de conhecimentos e pelo imprescindível acompanhamento durante esta tese.

Ao professor Rogério de Paula Lana pelos valiosos ensinamentos e boa vontade em todos os momentos.

Aos professores Antonio Bento Mancio, Hilário Cuquetto Mantovani e Mário Fonseca Paulino, pelos ensinamentos primordiais, pela convicção e pela valiosa participação na banca.

Aos professores Edenio Detmann, José Maurício e Mário Paulino pelos ensinamentos nas disciplinas.

Aos demais Professores do Departamento de Zootecnia, pela contribuição indispensável à minha formação acadêmica.

Aos funcionários, Wellington, Fernando, Monteiro, Valdir, Vera, Pum, Zezé, Marcelo, Celeste, Fernanda e Zé Carlos (Laboratório de anaeróbios) pelo apoio e atenção dispensada durante todo o trabalho.

A amiga de república Marjorie pelo apoio e a colaboração imprescindível neste trabalho, do início ao fim, pela amizade construída e por tantos momentos de alegria e descontração.

Ao bolsista Geraldo Fábio Bayão pelo trabalho responsável que realizou e dedicação demonstrada durante o experimento.

A todos os meus amigos e parentes, que acreditaram e confiaram na concretização do meu trabalho.

E todos contribuíram de alguma forma para que este trabalho se tornasse realidade e sempre serão lembrados com respeito e carinho.

BIOGRAFIA

Karina Zorzi, filha de Milton Gabriel Zorzi Júnior e Edna Aparecida Marcondes Zorzi, nasceu na cidade de Osasco, São Paulo em 15 de Agosto de 1981.

Em maio de 2006, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa.

Em maio de 2006, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em 26 de fevereiro de 2008.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
CAPÍTULO 1 – Degradação ruminal <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro de forragem tropical de alta qualidade em função da suplementação com diferentes níveis e fontes de compostos nitrogenados	
Resumo	6
Abstract	7
Introdução	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	14
Conclusões	20
Literatura Citada	20
CAPÍTULO 2 – Degradação ruminal <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função de suplementação com diferentes relações proteína verdadeira:nitrogênio não-protéico	
Resumo	23
Abstract	24
Introdução	24
Material e Métodos	26
Resultados e Discussão	31
Conclusões	36
Literatura Citada	36
CONCLUSÕES GERAIS	39

RESUMO

ZORZI, Karina, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2008. **Dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de capim-braquiária em função de suplementação com diferentes níveis e fontes de compostos nitrogenados.** Orientador: Augusto César de Queiroz. Co-Orientadores: Edenio Detmann e Mário Fonseca Paulino.

Efetuar-se-iam dois experimentos *in vitro* com o objetivo de avaliar a dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro (FDN) de forragem tropical de alta e baixa qualidade em função da suplementação com diferentes níveis e fontes de compostos nitrogenados. Nos dois experimentos utilizou-se como fonte de proteína verdadeira a caseína e de nitrogênio não-protéico a mistura uréia:sulfato de amônia (U:SA; 9:1). No experimento 1, objetivou-se avaliar a dinâmica de degradação *in vitro* da FDN de forragem tropical de alta qualidade em função da suplementação com compostos nitrogenados. Utilizou-se como forragem basal amostra de capim-braquiária, colhida durante a estação chuvosa. Os três primeiros tratamentos constituíram da adição dos níveis 0,5, 1,0 e 2,0 mg de caseína por mL de solução final de incubação. Para inclusão da mistura U:SA, considerou-se a adição ao meio da mesma quantidade de equivalentes protéicos fornecidos pelos níveis 0,5, 1,0 e 2,0 mg/mL de caseína. No total, sete foram os tratamentos avaliados, incluindo-se um tratamento controle (somente forragem). Os tratamentos foram avaliados em ambiente ruminal simulado por incubação *in vitro*, sendo submetidos a diferentes tempos de incubação: 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas. O procedimento foi repetido quatro vezes, perfazendo o total de quatro avaliações por tempo de incubação para cada tratamento. Os resíduos de incubação foram avaliados quanto ao teor de FDN e interpretados por intermédio de modelo logístico não-linear. Verificou-se que a suplementação com caseína, no nível 0,5 mg/mL, ampliou em 1,1% a taxa de degradação da FDN potencialmente degradável (kFDN_{pd}). Para os níveis 1,0 e 2,0 mg/mL produziu-se efeito inibitório sobre as estimativas deste parâmetro em comparação ao tratamento controle (-6,4 e -9,1%, respectivamente). Por outro lado, a adição isolada de uréia ao meio, independentemente do nível de suplementação, ampliou kFDN_{pd}, sendo observado acréscimo médio de 7,6%. A concentração de nitrogênio amoniacal (NA) no meio foi elevada pela suplementação. Contudo, a suplementação com uréia, mesmo baseada nos mesmos níveis de proteína bruta (PB) utilizados com a suplementação com caseína, conferiu

valores superiores de NA ao meio de incubação. No experimento 2 objetivou-se avaliar a dinâmica da degradação *in vitro* da FDN de forragem tropical de baixa qualidade em função da suplementação com compostos nitrogenados em diferentes relações proteína verdadeira:nitrogênio não-protéico. Os procedimentos de avaliação foram similares ao experimento 1, utilizando-se contudo amostra de capim-braquiária colhida durante a estação seca como forragem basal. O procedimento de incubação foi repetido três vezes, totalizando três avaliações por tempo de incubação para cada tratamento. O tratamento base para a definição dos demais foi constituído da adição de caseína ao meio de incubação de forma a elevar-se o teor de PB da forragem basal ao nível de 8%, com base na matéria seca. Os tratamentos constituíram-se da substituição fracional (0, 1/3, 2/3 e 1) da PB oriunda da caseína por PB oriunda da mistura U:SA, acrescentando-se o tratamento controle (forragem). Verificou-se que a suplementação protéica elevou em 56,8 a 96,0% a kFDNpd em comparação ao tratamento controle e causou redução de 4,5 a 7,4 horas sobre as estimativas de latência discreta. Observou-se que a utilização exclusiva de uréia elevou em 15,9% a estimativa de kFDNpd em relação à suplementação exclusiva com caseína. Contudo, a avaliação do perfil de substituição permitiu evidenciar valores máximos de taxa de degradação e eficiência microbiana sob a relação 2/3 U:SA:1/3 caseína.

ABSTRACT

ZORZI, Karina, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2008. ***In vitro* degradation dynamics of neutral detergent fiber of signal grass according to supplementation with different levels and sources of nitrogenous compounds.** Adviser: Augusto César de Queiroz. Co-Advisers: Edenio Detmann and Mário Fonseca Paulino.

Two experiments *in vitro* were carried out to evaluate the *in vitro* degradation dynamics of neutral detergent fiber (NDF) of high and low-quality tropical forage according to supplementation with different levels and sources of nitrogenous compounds. In the two experiments casein was used as true protein source and the mixture urea: ammonium sulfate (U:AS, 9:1) was used as non-protein nitrogen source. At the first experiment, it was evaluated the *in vitro* degradation dynamics of NDF of high-quality tropical forage according to supplementation with nitrogenous compounds. A sample of signal grass, taken from a pasture during rainy season, was used as basal forage. Three treatments were defined by the levels of casein in final incubation solution: 0.5, 1.0 and 2.0 mg of casein/mL. The U:AS was included in the medium to form another three treatments, such the protein equivalents were the same that defined for casein supplementation. A treatment containing only forage was used as a control. The treatments were evaluated by an *in vitro* incubation procedure. The incubation times were: 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 and 96 hours. The incubation procedure was repeated four times. The incubation residues were evaluated for NDF, followed by the adjustment of a logistic non-linear model. The casein supplementation at the level of 0.5 mg/mL increased the degradation rate of potentially degradable NDF (kpdNDF) (+1.1%). However, supplementation with 1.0 and 2.0 mg/mL decreased the estimates of this parameter compared to control treatment (-6.4 and -9.1%, respectively). On the other hand, supplementation with urea caused a average increment of 7.6% on kpdNDF estimates. The concentration of ammonia nitrogen (AN) was higher with the supplementation. However, the urea supplementation, at the same levels of casein supplementation, produced higher AN levels in the incubation medium. At the second experiment, it was evaluated the *in vitro* degradation dynamics of NDF of low-quality tropical forage according to supplementation with nitrogenous compounds at different ratios true protein:non-protein nitrogen. The experimental materials and procedures were such as in the first experiment, however a sample of signal grass taken from a

pasture during dry season was used as basal forage. The incubation procedure was repeated three times. The reference treatment was defined through addition of casein in the incubation medium, such that the crude protein (CP) level of the basal forage was raised to 8.0%, as dry matter basis. In this way, the treatments were defined from fractional replacement of CP from casein by CP from U:AS (0, 1/3, 2/3 and 1). A treatment containing only forage was used as a control. The protein supplementation increased from 56.8 to 96.0% the kpdNDF compared to control treatment. At same time, the supplementation reduced the discrete lag time (-4.5 to -7.4 hours). The total replacement of casein by urea caused an increase of 15.9% on kpdNDF. However, the evaluation of replacement profile indicated that maximum estimates of degradation rate and microbial growing were obtained on 2/3 U:AS: 1/3 casein ratio.

INTRODUÇÃO GERAL

As pastagens constituem a principal fonte de nutrientes para a bovinocultura no Brasil, destacando-se dos demais meios de alimentação pelo baixo custo de produção e alta praticidade (Paulino et al., 2006). Os pastos tropicais são caracterizados por apresentar rápida taxa de crescimento durante o período chuvoso, levando à maturidade das plantas, as quais contêm altos níveis de constituintes da parede celular. Desta maneira, os animais em pastejo têm disponibilidade de forragem de bom valor nutritivo por curto espaço de tempo, pois o pasto, durante a estação seca, decresce rapidamente em digestibilidade, constituindo o principal fator limitante para a produção animal (Leng, 1984).

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

Durante esse período, em função da baixa assimilação do nitrogênio dietético em proteína microbiana e da alta digestibilidade dos componentes da forragem, excessos de compostos cetogênicos podem ser verificados no metabolismo animal (Leng, 1990; Detmann et al., 2005). Desta forma, sem adequado suprimento de proteína metabolizável, o excesso de compostos energéticos deve ser eliminado, ampliando a produção de calor corporal (Poppi & McLennan, 1995). Este quadro pode, em muitos casos, implicar redução no consumo pelos animais, mecanismo natural para adequação da temperatura corporal a níveis mais próximos ao conforto.

Segundo Detmann et al. (2005), embora durante o período de chuvas as principais deficiências nutricionais do pasto estejam relacionadas à proteína, a melhoria da qualidade da forragem implica em alteração do enfoque nutricional dessas deficiências, passando de dietéticas durante o período da seca, para metabólicas durante o período de chuvas. Assim, dentro do contexto acima apresentado, respostas positivas sobre o crescimento microbiano no rúmen e sobre o desempenho animal seriam obtidas, durante o período das chuvas, a partir da suplementação energética ou com proteína verdadeira degradável no rúmen. Seguindo tais argumentos, em termos teóricos, a

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

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

Paez-Bernal (2007) e Costa et al. (2008) relataram que a suplementação isolada com proteína verdadeira causa efeitos deletérios sobre a utilização da fibra em detergente neutro (FDN), o que foi atribuído a possíveis interações negativas entre espécies microbianas fibrolíticas e não-fibrolíticas.

Entretanto, releva-se a necessidade de estudos que procurem ampliar o entendimento da interação entre a suplementação com diferentes fontes protéicas e a utilização dos carboidratos fibrosos de forragem de boa qualidade, como aquela observada durante o período de crescimento favorável em gramíneas tropicais.

Por outro lado, durante o período da seca, as forrageiras tropicais, em consequência da estacionalidade da produção, não fornecem quantidades suficientes de nutrientes para a produção máxima dos animais. Desta forma, os fatores climáticos são responsáveis pela baixa disponibilidade qualitativa e quantitativa de forragem no período seco, com conseqüente diminuição no desempenho dos animais manejados em pastagens.

Sendo assim, os pastos tropicais, especialmente na época da seca, raramente constituem dieta balanceada, no senso de que seus constituintes orgânicos e inorgânicos estejam presentes em concentrações e proporções que melhor satisfaçam às necessidades dos animais (Paulino et al., 2001). Essa forragem de baixa qualidade nutricional apresenta altos teores de fibra e baixos teores de PB, geralmente abaixo de 7 a 8%, valor limitante para que os microrganismos ruminais apresentem plena capacidade de utilização dos carboidratos fibrosos da forragem basal (Lazzarini, 2007; Sampaio, 2007).

Nessa situação, na qual o alimento ou a reciclagem endógena de nitrogênio não atendem aos requerimentos microbianos, ocorre limitação no crescimento e atividade dos microrganismos (Sniffen et al., 1993) e por conseqüência queda na digestibilidade

da parede celular, resultando em diminuição no consumo de matéria seca e baixo desempenho animal.

Em tal condição, os animais passam por carências múltiplas (Paulino, 1999), sendo que a proteína (ou compostos nitrogenados) assume papel prioritário, tornando-se necessária a suplementação dos animais, a qual reflete mudanças no consumo de forragem, na disponibilidade de energia dietética, na magnitude dos *pools* de precursores bioquímicos do metabolismo e no desempenho animal. Desta forma, amplia-se a taxa de degradação ruminal e a síntese de proteína microbiana, resultando assim em maior aporte de nutrientes para o intestino e ácidos graxos voláteis para o metabolismo energético (Detmann et al., 2004).

Contudo, em recentes estudos conduzidos em condições tropicais verificou-se que a alteração do perfil de origem dos compostos nitrogenados presentes nos suplementos (proteína verdadeira ou nitrogênio não-protéico) pode afetar a utilização da FDN da forragem basal (Paez-Bernal, 2007), o consumo voluntário e a produção microbiana (Acedo et al., 2007) e o desempenho animal durante o período seco do ano (Moraes et al., 2008). Este comportamento parece refletir melhor adequação do perfil dos compostos nitrogenados suplementares no tocante às exigências microbianas (Paez-Bernal, 2007).

Todavia, há necessidade de mais estudos sobre os benefícios da suplementação de bovinos com compostos nitrogenados de diferentes origens sobre a dinâmica de degradação da FDN quando a produção animal se baseia em forragens de baixa qualidade, para que seja então alcançada a otimização na utilização de suplementos.

Neste contexto, definiram-se como objetivos nesta dissertação:

1. avaliar a dinâmica de degradação *in vitro* da FDN de forragem tropical de alta qualidade em função da suplementação com diferentes fontes e níveis de compostos nitrogenados; e
2. avaliar a dinâmica da degradação *in vitro* da FDN de forragem tropical de baixa qualidade em função da suplementação com compostos nitrogenados em diferentes relações proteína verdadeira:nitrogênio não-protéico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEDO, T.S.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. et al. Níveis de uréia em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante a época seca. **Acta Scientiarum (Animal Sciences)**, v.29, p.301-308, 2007.
- COSTA, V.A.C.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de alta qualidade em função de suplementação com proteína e/ou carboidratos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2008 (no prelo).
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Níveis de proteína bruta em suplementos múltiplos para terminação de novilhos mestiço em pastejo durante época seca: desempenho produtivo e característica de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.169-180, 2004.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de transição seca/águas: digestibilidade aparente e parâmetros do metabolismo ruminal e compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1380-1391, 2005.
- LAZZARINI, I. **Consumo, digestibilidade e dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados**. 2007. 52p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- LENG, R.A. Supplementation of tropical and subtropical pastures for ruminant production. In: GILCHRIST, F.M.C.; MACKIE, R.I. (Eds.) **Herbivore nutrition in the subtropics and tropics**. Craighall: The Science Press, 1984. p.129-144.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Review**, v.3, p.277-303, 1990.
- MORAES, E.H.B.K.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Ureia em suplementos protéico-energéticos para bovinos de corte suplementados durante o período da seca: variáveis nutricionais e ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2008 (no prelo).
- PAEZ-BERNAL, D.M. **Dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de capim-braquiária em função de suplementação com diferentes fontes de compostos nitrogenados e carboidratos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007, 49p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- PAULINO, M. F. Estratégias de suplementação para bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 1, 1999, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 1999. p.137-156.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T. Suplementos múltiplos para recria e engorda de bovinos em pastagens. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2, 2001, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 2001. p.187-233.

- PAULINO, M.F.; MOARES, E.H.B.K.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Fontes de energia em suplementos múltiplos de auto-regulação de consumo na recria de novilhos mestiços em pastagem de *Brachiaria decumbens* durante período das águas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.3, p. 957-962, 2005.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação animal em pasto: energética ou protéica? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3, 2006, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: SIMFOR, 2006. p.359-392.
- POPPI, D.P.; McLENNAN, S.R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, p 278-290,1995.
- PORTO, M.O. **Suplementos múltiplos para terminação de bovinos a pasto**. Viçosa: UFV, 2005, 70p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- SAMPAIO, C.B. **Consumo, digestibilidade e dinâmica ruminal em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade suplementados com compostos nitrogenados**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007, 53p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- SNIFFEN, C.J.; BEVERLY, R.W.; MOONEY, C.S. et al. Nutrient requirements versus supply in the dairy cow: strategies to account for variability. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3160-3178, 1993.

CAPÍTULO 1

Degradação ruminal *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de alta qualidade em função da suplementação com diferentes níveis e fontes de compostos nitrogenados¹

Resumo – Objetivou-se avaliar a dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro (FDN) de forragem tropical de alta qualidade em função da suplementação com compostos nitrogenados. Utilizou-se como forragem basal amostra de capim-braquiária, colhida durante a estação chuvosa. Utilizou-se como fonte de proteína verdadeira a caseína e de nitrogênio não-protéico a mistura uréia:sulfato de amônia (U:SA; 9:1). Os três primeiros tratamentos constituíram da adição dos níveis 0,5, 1,0 e 2,0 mg de caseína por mL de solução final de incubação. Para inclusão da mistura U:SA, considerou-se a adição ao meio da mesma quantidade de equivalentes protéicos fornecidos pelos níveis 0,5, 1,0 e 2,0 mg/mL de caseína. No total, foram avaliados sete tratamentos, incluindo-se um tratamento controle (somente forragem). A degradação da FDN foi avaliada em ambiente ruminal simulado por incubação *in vitro*, sendo submetidos a diferentes tempos de incubação: 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas. O procedimento foi repetido quatro vezes, perfazendo o total de quatro avaliações por tempo de incubação para cada tratamento. Os resíduos de incubação foram avaliados quanto ao teor de FDN e interpretados por intermédio de modelo logístico não-linear. Verificou-se que a suplementação com caseína, no nível 0,5 mg/mL, aumentou em 1,1% a taxa de degradação da FDN potencialmente degradável (kFDN_{pd}). Para os níveis 1,0 e 2,0 mg/mL observou-se efeito inibitório sobre as estimativas deste parâmetro em comparação ao tratamento controle (-6,4 e -9,1%, respectivamente). Por outro lado, a adição isolada de uréia ao meio, independentemente do nível de suplementação, ampliou kFDN_{pd}, sendo observado acréscimo médio de 7,6%. A concentração de nitrogênio amoniacal (NA) no meio de incubação foi elevada pela suplementação. Contudo, a suplementação com uréia, mesmo baseada nos mesmos níveis de proteína bruta utilizados com a suplementação com caseína, conferiu valores superiores de NA ao meio de incubação.

Palavras-chave: capim-braquiária, caseína, nitrogênio amoniacal, suplemento, uréia

¹ Trabalho submetido à Revista Brasileira de Zootecnia, sob o protocolo 00041-08.

In vitro rumen degradation of neutral detergent fiber of high-quality tropical forage according to supplementation with different levels and sources of nitrogenous compounds

Abstract – It was evaluated the *in vitro* degradation dynamics of neutral detergent fiber (NDF) of high-quality tropical forage according to supplementation with nitrogenous compounds. A sample of signal grass, taken from a pasture during rainy season, was used as basal forage. Casein was used as true protein source and the mixture urea: ammonium sulfate (U:AS, 9:1) was used as non-protein nitrogen source. Three treatments were defined by the levels of casein in final incubation solution: 0.5, 1.0 and 2.0 mg of casein/mL. The U:AS was included in the medium to form another three treatments, such the protein equivalents were the same that defined for casein supplementation. A treatment containing only forage was used as a control. The treatments were evaluated by an *in vitro* incubation procedure. The incubation times were: 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 and 96 hours. The incubation procedure was repeated four times. The incubation residues were evaluated for NDF, followed by the adjustment of a logistic non-linear model. The casein supplementation at the level of 0.5 mg/mL increased the degradation rate of potentially degradable NDF (kpdNDF) (+1.1%). However, supplementation with 1.0 and 2.0 mg/mL decreased the estimates of this parameter compared to control treatment (-6.4 and -9.1%, respectively). On the other hand, supplementation with urea caused a average increment of 7.6% on kpdNDF estimates. The concentration of ammonia nitrogen (AN) was higher with the supplementation. However, the urea supplementation, at the same levels of casein supplementation, produced higher AN levels in the incubation medium.

Keywords: ammonia nitrogen, casein, signal grass, supplement, urea

Introdução

As pastagens constituem a principal fonte de nutrientes para a bovinocultura no Brasil, destacando-se dos demais meios de alimentação pelo baixo custo de produção e alta praticidade (Paulino et al., 2006). Os pastos tropicais são caracterizados por apresentar rápida taxa de crescimento durante o período chuvoso, levando à maturidade das plantas, as quais contêm altos níveis de constituintes da parede celular. Desta maneira, os animais em pastejo têm disponibilidade de forragem de bom valor nutritivo por curto espaço de tempo, pois o pasto, com a chegada da estação seca, decresce

rapidamente em digestibilidade, constituindo o principal fator limitante para a produção animal (Leng, 1984).

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

Durante este período, em função da baixa assimilação do nitrogênio em proteína microbiana e da alta digestibilidade dos componentes da forragem, excessos de compostos cetogênicos podem ser verificados no metabolismo animal (Leng, 1990; Detmann et al., 2005). Desta forma, sem adequado suprimento de proteína metabolizável, o excesso de compostos energéticos deve ser eliminado, ampliando a produção de calor corporal (Poppi & McLennan, 1995). Este quadro pode, em muitos casos, implicar redução no consumo pelos animais, mecanismo natural para adequação da temperatura corporal a níveis mais próximos ao conforto.

Segundo Detmann et al. (2005), embora durante o período de chuvas as principais deficiências nutricionais do pasto estejam relacionadas à proteína, a melhoria da qualidade da forragem implica em alteração do enfoque nutricional dessas deficiências, passando de dietéticas durante o período da seca, para metabólicas durante o período de chuvas. Assim, dentro do contexto acima apresentado, respostas positivas sobre o crescimento microbiano no rúmen e sobre o desempenho animal seriam obtidas, durante o período das chuvas, a partir da suplementação energética ou com proteína verdadeira degradável no rúmen. Seguindo tais argumentos, em termos teóricos, a suplementação com fontes de nitrogênio não-protéico não conduziria a melhorias na utilização dos substratos fibrosos no ambiente ruminal, podendo, em alguns casos, gerar comprometimento sobre o desempenho animal.

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

Paez-Bernal (2007) e Costa et al. (2008) relataram que a suplementação isolada com proteína verdadeira causa efeitos deletérios sobre a utilização da fibra em

detergente neutro (FDN), o que foi atribuído a possíveis interações negativas entre espécies microbianas fibrolíticas e não-fibrolíticas.

Entretanto, releva-se a necessidade de estudos que procurem ampliar o entendimento da interação entre a suplementação com diferentes fontes protéicas e a utilização dos carboidratos fibrosos de forragem de boa qualidade, como aquela observada durante o período de crescimento favorável em gramíneas tropicais.

Desta forma, de acordo com os pressupostos aqui apresentados, definiu-se como objetivo neste trabalho avaliar a dinâmica de degradação *in vitro* da FDN de forragem tropical de alta qualidade em função da suplementação com diferentes fontes e níveis de compostos nitrogenados.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. A forragem utilizada nos procedimentos de avaliação *in vitro* foi proveniente de amostras de *Brachiaria decumbens* Stapf. colhidas ao início da estação chuvosa (dezembro de 2006) por intermédio de simulação manual de pastejo em piquete do setor experimental de Gado de Corte do Departamento de Zootecnia da UFV.

A forragem, após seca sob ventilação forçada (60°C/72 h), foi processada em moinho de facas (1 mm). Posteriormente, procedeu-se à quantificação dos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), PB, extrato etéreo (EE), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina por solubilização da celulose por ácido sulfúrico (72% p/p), segundo métodos descritos em Silva & Queiroz (2002). As avaliações quanto aos teores de FDN foram conduzidas segundo recomendações de Mertens (2002). Os teores de FDN e FDA foram também expressos na forma corrigida para cinzas e compostos nitrogenados, sendo os procedimentos de correção conduzidos segundo métodos descritos por Mertens (2002) e Licitra et al. (1996), respectivamente (Tabela 1).

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

Tabela 1 - Composição química da forragem e dos suplementos

Item ¹	Forragem	Caseína	Uréia:SA(9:1)
MS ²	213,4	901,3	982,1
MO ³	907,4	978,7	997,6
PB ³	146,2	878,9	2610,0
PB _{NNP} ⁴	746,1	-	-
EE ³	23,1	5,6	-
CT ³	738,1	94,2	-
FDN ³	586,7	-	-
FDNcp ³	497,5	-	-
PIDN ⁴	204,7	-	-
CNF ³	240,6	94,2	-
FDA ³	240,2	-	-
FDAc ³	208,1	-	-
PIDA ⁴	22,7	-	-
Lignina ³	19,9	-	-

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

Os tratamentos constituíram de diferentes fontes e níveis de compostos nitrogenados, sendo utilizado como fonte de proteína verdadeira a caseína e de nitrogênio não-protéico a mistura uréia:sulfato de amônia (U:SA; 9:1). Três tratamentos constituíram da adição dos níveis de 0,5, 1,0 e 2,0 mg de caseína por mL de solução final de incubação. Para inclusão da mistura U:SA, considerou-se a adição ao meio da mesma quantidade de equivalentes protéicos fornecidos pelos níveis 0,5, 1,0 e 2,0 mg/mL de caseína. Desta forma, denominou-se os tratamentos contendo a mistura U:SA como “equivalentes caseína”. No total, foram avaliados sete tratamentos, incluindo-se um tratamento controle, sem a adição de compostos nitrogenados (somente forragem).

As seguintes fontes foram utilizadas: caseína oriunda do leite bovino (pó purificado; Sigma C-5890), uréia PA (Merck 108487) e sulfato de amônio PA (Merck 101217). A composição química dos suplementos é apresentada na Tabela 1.

Alíquotas de forragem (350 mg de MS) foram acondicionadas em frascos de vidro tipo “penicilina” com 50 mL de volume total. Sete alíquotas de 400 mL de solução de McDougall (McDougall, 1949) foram preparadas em frascos erlenmeyer, procedendo-se ao ajustamento do pH para 6,8 por aspensão com dióxido de carbono. A cada frasco adicionou-se caseína ou U:SA de forma a se fornecer os níveis de compostos nitrogenados referentes a cada tratamento, como descrito anteriormente.

Procedeu-se à transferência de 28 mL de solução tampão para cada frasco contendo forragem, segundo os tratamentos, os quais foram mantidos em sala climatizada (39°C) para hidratação das amostras.

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

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

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

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

Ao final de cada tempo de incubação, os frascos foram retirados da sala climatizada e submetidos à mensuração do pH com potenciômetro digital, sendo o conteúdo filtrado sob vácuo em cadinhos filtrantes (porosidade grossa). A fração líquida foi reservada em recipientes plásticos, nos quais foi acrescentado 1 mL de H₂SO₄ (1:1), sendo armazenados a -20°C para posterior análise da concentração de nitrogênio amoniacal (NA).

Os cadinhos foram então acondicionados em frascos de polietileno (120 mL), aos quais adicionaram-se 50 mL de detergente neutro (Mertens, 2002). Depois de vedados, os frascos foram autoclavados (105°C/1 hora), de forma a se extraírem todos os componentes solúveis em detergente neutro (método de micro-extração; Pell &

Schofield, 1993). Após esse tratamento, procedeu-se novamente à filtração sob vácuo e lavagem sequencial do resíduo com água quente e acetona. A FDN residual foi obtida após secagem do material em estufa não-ventilada (105°C/16 horas).

Os resíduos de FDN nos diferentes tempos, para cada tratamento, foram submetidos, por intermédio do algoritmo de Gauss-Newton (Souza, 1998), ao ajustamento do modelo logístico não-linear descrito por Van Milgen et al. (1991):

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

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

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

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

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

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

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

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

em que: c' = taxa fracional de degradação da FDN_{pd} (h^{-1}).

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

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

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

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

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

A taxa específica de crescimento microbiano sobre a FDNpd foi estimada segundo proposições de Beuvink & Kogut (1993):

$$Sgr = \frac{R'(t_i)}{U} \quad (6);$$

em que: Sgr = taxa específica de crescimento microbiano (h⁻¹).

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

$$\frac{1}{Y} = \frac{m}{Sgr} + \frac{1}{Ym} \quad (7);$$

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

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

Ressalta-se que as estimativas para o parâmetro Sgr foram obtidas com base nos valores médios das frações U (77,92±1,22) e I (22,08±1,69), sob o pressuposto de estas serem características únicas e exclusivas do substrato (forragem) (Ørskov, 2000).

As amostras da fração líquida, depois de descongeladas, foram centrifugadas a 1500 x g por 10 minutos, sendo o sobrenadante analisado quanto aos teores de NA segundo o método colorimétrico de Chaney & Marbach (1962).

Os modelos ajustados para os perfis de degradação em função dos diferentes tratamentos foram comparados de forma descritiva. Por sua vez, os valores de pH e concentração de NA obtidos para os diferentes tempos de incubação foram avaliados

segundo delineamento em blocos completos casualizados, considerando-se cada partida de incubação como bloco, em esquema fatorial 7 x 10 (sete tratamentos e dez tempos de incubação). Todos os procedimentos estatísticos, tanto lineares, como não-lineares, foram conduzidos por intermédio do programa SAS (*Statistical Analysis System*), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados e Discussão

As estimativas dos parâmetros de degradação da FDN da forragem são apresentadas na Tabela 2. Antecipa-se que as diferenças quanto à latência discreta foram consideradas de pequena magnitude, sendo, portanto, omitidas da discussão.

Verificou-se que a suplementação com caseína no nível 0,5 mg/mL ampliou em 1,1% a taxa de degradação da FDNpd. Contudo a suplementação com este composto relativa aos níveis 1,0 e 2,0 mg/mL produziu efeito inibitório sobre as estimativas deste parâmetro em comparação ao tratamento controle (forragem), sendo observadas reduções de 6,4 e 9,1%, respectivamente (Tabela 2; Figura 1).

Por outro lado, a adição isolada de uréia ao meio, independentemente do nível de suplementação, ampliou a taxa de degradação da FDNpd, sendo observado acréscimo médio de 7,6% (Tabela 2; Figura 1).

Reflexo deste comportamento foi observado sobre a eficiência de crescimento microbiano sobre a FDNpd (EFM) (Tabela 3). A adição de caseína nos níveis 0,5, 1,0 e 2,0 mg/mL implicou variações de +0,4, -2,4 e -3,4% sobre EFM em relação ao tratamento controle. Por outro lado, variações positivas na ordem de 2,5, 2,8 e 2,3% foram observadas com a adição de uréia, nos níveis descritos anteriormente (Tabela 3).

A queda da degradação ruminal dos carboidratos fibrosos com a adição de proteína verdadeira tem sido relatado por alguns autores. Cone & Van Gelder (1999) constataram redução na taxa de produção de gases por unidade de matéria orgânica *in vitro* à medida que caseína foi adicionada ao meio. Em estudo similar *in vitro*, Oliveira et al. (2005) observaram redução proporcional à adição de caseína ao meio sobre a taxa de produção de gases a partir de celulose.

Tabela 2- Estimativas da taxa fracional comum de latência e degradação (λ), taxa fracional de degradação obtida a partir da conversão do parâmetro λ (c') e latência discreta (L) para a degradação ruminal da fibra em detergente neutro potencialmente degradável (FDNpd), valor relativo da taxa de degradação (VRTD) e desvios-padrão assintóticos (DPA) para os perfis de degradação ajustados em função dos tratamentos

Fonte	Nível	Item					
		λ (h^{-1})	c' (h^{-1}) ¹	L (h)	VRTD (%) ²	DPA	n^3
Controle		0,1003±0,0089	0,0598±0,0053	2,81	100,0	9,68	40
Caseína	0,5	0,1014±0,0067	0,0605±0,0040	2,78	101,1	7,22	40
	1,0	0,0939±0,0062	0,0560±0,0037	3,00	93,6	7,36	39
	2,0	0,0912±0,0056	0,0544±0,0033	3,09	90,9	6,56	40
Uréia	0,5	0,1079±0,0073	0,0643±0,0044	2,61	107,6	7,44	39
	1,0	0,1087±0,0059	0,0648±0,0035	2,59	108,4	5,73	38
	2,0	0,1071±0,0068	0,0639±0,0041	2,63	106,8	6,78	39

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

Em adição, Paez-Bernal (2007) e Costa et al. (2008) verificaram redução de 13,6 e 19,1% na taxa de degradação da FDNpd de forragem tropical de alta qualidade com a adição de caseína ao meio de incubação *in vitro*, respectivamente.

Segundo Paulino et al. (2006), interações microbianas, competições ou alterações na prioridade de utilização de substratos parecem ser os possíveis efeitos causados pela suplementação com proteína verdadeira sobre a utilização da FDNpd em forragens tropicais de alta qualidade.

O efeito negativo da caseína sobre a degradação da FDNpd, assim como observado com os níveis de suplementação 1,0 e 2,0 mg/mL (Tabela 2; Figura 1), foi denominado por Paez-Bernal (2007) e Costa et al. (2008) como “efeito proteína”. Segundo estes autores, este efeito poderia ser atribuído à ocorrência de interações antagonistas entre espécies microbianas, ou seja, a inibição do crescimento de uma ou mais espécies em função da produção de compostos inibidores por outras espécies.

Como exemplo de compostos inibidores envolvidos em interações amensais destacam-se as bacteriocinas, as quais podem ser definidas como peptídeos e proteínas produzidos por intermédio de síntese ribossomal, as quais apresentam estreito espectro de atividade antimicrobiana, a qual, por sua vez, é caracterizada pelo fato do microrganismo produtor apresentar algum mecanismo de auto-proteção (Parente & Ricciardi, 1999).

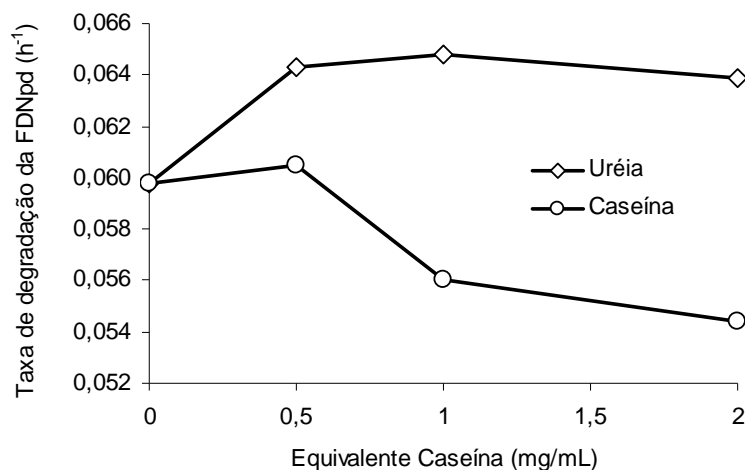


Figura 1 - Comportamento descritivo da taxa fracional de degradação da FDNpd em função da suplementação com caseína ou uréia.

Resultados obtidos *in vitro* permitem indicar que a ampliação no fornecimento de aminoácidos implica incremento na produção de bacteriocinas como reflexo do favorecimento do crescimento de algumas espécies microbianas (e.g. *Lactococcus* sp.) (De Vuyst & Vandamme, 1993; Kim et al., 1997; Parente & Ricciardi, 1999; Aasen et al., 2000), o que poderia suportar os resultados obtidos neste estudo.

Segundo Wolin et al. (1997) a ação de bacteriocinas pode reduzir a atividade celulolítica no rúmen, o que é reforçado com as estimativas da taxa de crescimento específico e eficiência de crescimento microbiano sobre a FDNpd (Tabela 3).

Efeitos deletérios com a suplementação com uréia, portanto, não seriam obtidos devido ao fato de não se adicionar aminoácidos ao meio. Neste sentido, comportamento similar ao obtido neste estudo com a suplementação com uréia foram obtidos por Paez-Bernal (2007).

Por outro lado, verificou-se que para o menor nível de suplementação (0,5 mg/mL) a caseína implicou pequeno estímulo sobre a utilização da FDNpd (Tabelas 2 e 3; e Figura 1), contrariando os resultados obtidos para os níveis mais elevados de suplementação.

Segundo Bryant (1973), os processos fibrolíticos e do crescimento das bactérias que os realizam devem ser enfatizados na importância das interações com outras espécies microbianas, as quais provêm compostos essenciais, como vitaminas do complexo B e ácidos graxos de cadeia ramificada, os quais funcionam como precursores de aminoácidos essenciais, ácidos graxos estruturais e alguns aldeídos.

Tabela 3- Máxima taxa de degradação ($\mu - h^{-1}$), taxa de crescimento específico de microorganismos (Sgr - h^{-1}) e eficiência de crescimento microbiano sobre a FDNpd da forragem (EFM - g MS microbiana/kg de carboidrato degradado) em função dos tratamentos

Fonte	Nível	Item ¹		
		μ	Sgr	EFM
Controle		3,7338 (100,0)	0,0369 (100,0)	259,4 (100,0)
Caseína	0,5	3,7747 (101,1)	0,0373 (101,1)	260,4 (100,4)
	1,0	3,4955 (93,6)	0,0345 (93,5)	253,3 (97,6)
	2,0	3,3950 (90,9)	0,0336 (91,1)	250,6 (96,6)
	0,5	4,0167 (107,6)	0,0397 (107,6)	266,0 (102,5)
Uréia	1,0	4,0465 (108,4)	0,0400 (108,4)	266,6 (102,8)
	2,0	3,9869 (106,8)	0,0394 (106,8)	265,3 (102,3)

¹/Os valores entre parênteses indicam os valores relativos ao tratamento controle (forragem).

Neste contexto, a adição de pequena quantidade de proteína verdadeira degradável poderia ser suficiente para causar pequeno estímulo sobre o crescimento pela disponibilização de precursores para síntese microbiana, sem que se observe, concomitantemente, expressão significativa do efeito proteína.

Este comportamento pode ser reforçado pelos resultados obtidos por Paez-Bernal (2007), o qual observou em experimento *in vitro* que a substituição de parte da uréia por caseína implicou estímulos sobre a taxa de degradação da FDNpd de forragem similar à avaliada neste estudo.

Os valores de pH ruminal não foram influenciados pelos diferentes tratamentos ou tempos de incubação ($P > 0,05$), mantendo-se dentro dos limites considerados adequados à atividade dos microrganismos celulolíticos (Mould et al., 1983).

Por outro lado, a concentração de NA foi afetada somente pelos efeitos principais (tratamentos e tempo) ($P < 0,05$), não sendo observados efeitos de interação ($P > 0,05$). A concentração de NA aumentou com o tempo de incubação ($P < 0,05$), independentemente do tratamento avaliado (Figura 2).

A concentração de NA tem sido empregada freqüentemente como referência à qualificação das condições ruminais para as atividades microbianas, principalmente para os microrganismos que degradam carboidratos fibrosos, os quais empregam o NA como fonte nitrogenada preferencial para crescimento (Russell et al., 1992). A concentração de NA deve estar em condições adequadas para a otimização do crescimento microbiano e posterior utilização dos substratos fibrosos da forragem.

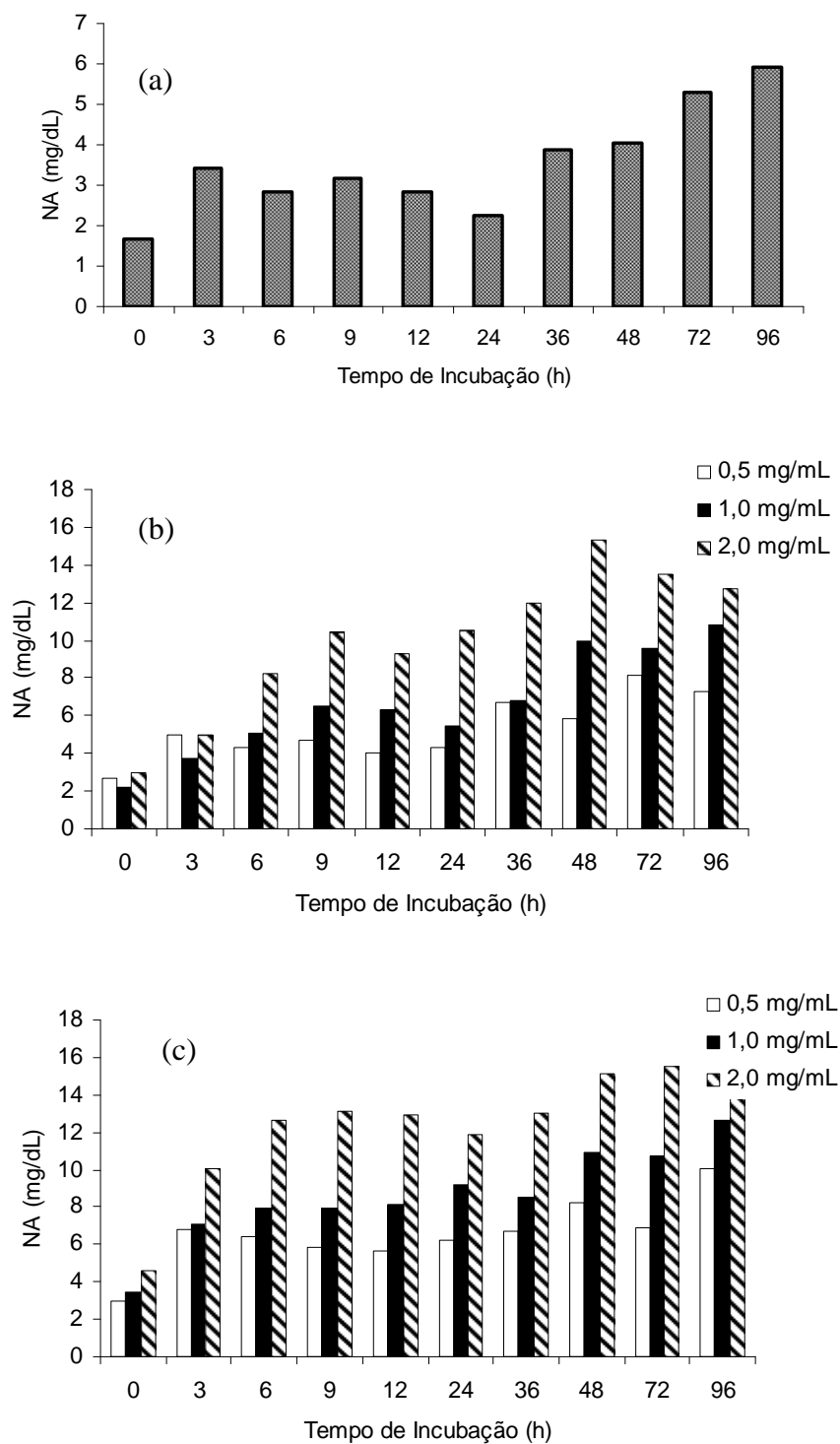


Figura 2 - Comportamento descritivo para a concentração de nitrogênio amoniacal (NA) no meio em função do tempo de incubação [(a): controle (forragem); (b): caseína; e (c): equivalente caseína obtido a partir da uréia].

Sampaio (2007) sugeriu, em condições tropicais, valores de 5,32 e 6,24 mg NA/dL para que os microrganismos mantenham crescimento estável no ambiente

ruminal e possuam plenas condições de utilização da FDNpd da forragem basal, respectivamente.

Mesmo se tratando de experimento *in vitro*, onde não se observam os eventos de reciclagem de NA no ambiente ruminal verificados *in vivo*, observou-se que a ausência de suplementação não conferiu níveis médios de NA considerados, segundo os referenciais apontados por Sampaio (2007), adequados para a utilização da FDNpd da forragem (Figura 3). Em adição, verificou-se que a suplementação conferiu níveis mais adequados de NA ao meio de incubação (Figuras 2 e 3).

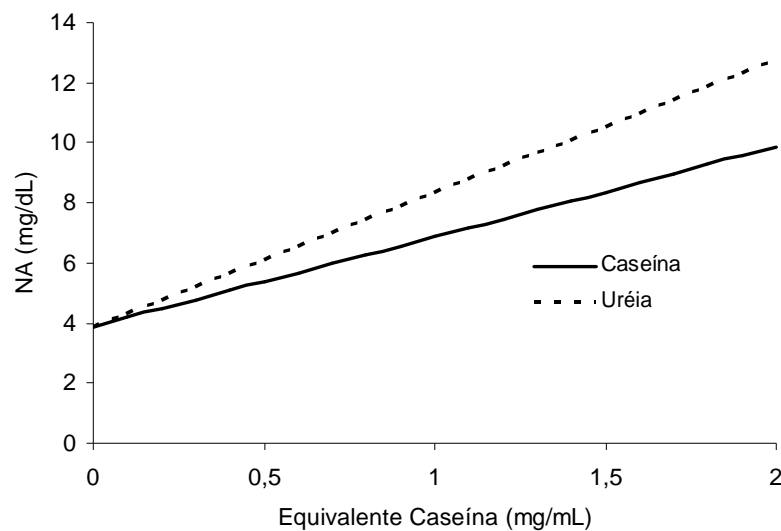


Figura 3 - Estimativa da concentração de nitrogênio amoniacal em função do nível e fonte de suplementação (valor médio para todos os tempos de incubação) [$Y = 3,88014 + 2,99405X_1 + 4,44645X_2$; $R^2 = 0,9888$; em que: X_1 = nível de caseína (mg/mL); e X_2 = nível de equivalentes em caseína a partir da uréia (mg/mL)].

Em contraste direto, a suplementação com uréia, mesmo baseada nos mesmos níveis de PB utilizados com a suplementação com caseína, conferiu valores superiores ($P < 0,05$) de NA ao meio de incubação (Figura 3). Esta melhor eficiência na definição de características mais adequadas ao crescimento microbiano pode contribuir, em adição à ausência do efeito proteína, para a melhor utilização da FDNpd observada com a suplementação com uréia (Tabelas 2 e 3).

Por outro lado, observou-se que, independentemente do nível de suplementação, os estímulos observados com a suplementação com uréia tenderam a ser estáveis (Figura 1). Por intermédio da equação de regressão expressa na Figura 3, observou-se que a suplementação com o nível 0,5 mg/mL conferiu concentração média de NA de

aproximadamente 6,10 mg/dL, valor próximo ao sugerido por Sampaio (2007) para que se estabeleçam condições plenas de utilização dos carboidratos fibrosos da forragem basal, justificando a estabilidade das estimativas da taxa de degradação da FDNpd nos níveis mais elevados de suplementação (Figura 1).

Assim, estes resultados permitem indicar que a implementação de níveis de NA adequados no ambiente ruminal podem constituir a principal via de estímulos sobre a degradação da FDNpd de forragem tropical de alta qualidade com a suplementação com uréia.

Conclusões

A suplementação com proteína verdadeira causou redução da taxa de degradação da fibra em detergente neutro de forragem tropical de alta qualidade, o que parece refletir a ocorrência de interações amensais entre espécies microbianas.

Por outro lado, a suplementação com uréia causou benefícios sobre a utilização dos compostos fibrosos, possivelmente em função da ausência de interações amensais e por implementar melhor disponibilidade de nitrogênio amoniacal para o crescimento microbiano.

Literatura Citada

- AASEN, I.M. ; MØRETRØ, T. ; KATLA, T. et al. Influence of complex nutrients, temperature and pH on bacteriocin production by *Lactobacillus sakei* CCUG 42687. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.53, p.159-166. 2000.
- BEUVINK, J.M.W.; KOGUT, J. Modeling gas production kinetics of grass silages incubated in ruminal fluid. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1041-1046, 1993.
- BRYANT, M.P. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. **Federation Proceedings**, v.32, p.1809-1813, 1973.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p.130-137, 1962.
- CONE, J.W.; Van GELDER, A.H. Influence of protein fermentation on gas production profiles. **Animal Feed Science and Technology**, v.76, p.251-264, 1999.
- COSTA, V.A.C.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de alta qualidade em função de suplementação com proteína e/ou carboidratos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2008 (no prelo).

- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de transição seca/águas: digestibilidade aparente e parâmetros do metabolismo ruminal e compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1380-1391, 2005.
- De VUYST, L.; VANDAMME, E.J. Influence of the phosphorus and nitrogen source on nisin production in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* batch fermentations using complex medium. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v.40, p.17-22. 1993.
- ELLIS, W.C., MATIS, J.H., HILL, T.M. et al. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages. In: FAHEY JR., G.C. (Ed.) **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.682-756.
- KIM, W.S.; HALL, R.J.; DUNN, N.W. The effect of nisin concentration and nutrient depletion on nisin production of *Lactococcus lactis*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.48, p.449-453, 1997.
- LENG, R.A. Supplementation of tropical and subtropical pastures for ruminant production. In: GILCHRIST, F.M.C.; MACKIE, R.I. (Eds.) **Herbivore nutrition in the subtropics and tropics**. Craighall: The Science Press, 1984. p.129-144.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutritional Research and Review**, v.3, p.277-303, 1990.
- LICITRA, G.; HERNANDES, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardizations of procedures for nitrogen fractionation of ruminants feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.
- McDOUGALL, E.I. Studies on ruminal saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemistry Journal**, v.43, p.99-109, 1949.
- MERTENS, D.R.. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, p.1217-1240, 2002.
- MOULD, F.L., ØRSKOV, E.R., MANNS, O. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science and Technology**, v.10, p.15-30, 1983.
- OLIVEIRA, A.L.F.; CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Efeito da fermentação de proteínas na cinética de produção de gases *in vitro*. In: ZOOTE'2005, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Associação Brasileira de Zootecnia, 2005 (CD-ROM).
- ØRSKOV, E. R. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In: GIVENS, D.I.; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E. (Eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. London: CAB International, 2000. p.175-188.
- PAEZ-BERNAL, D.M. **Dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de capim-braquiária em função de suplementação com diferentes fontes de compostos nitrogenados e carboidratos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007, 49p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.

- PARENTE, E.; RICCIARDI, A. Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v.52, p.628-638, 1999.
- PAULINO, M.F.; MOARES, E.H.B.K.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Fontes de energia em suplementos múltiplos de auto-regulação de consumo na recria de novilhos mestiços em pastagem de *Brachiaria decumbens* durante período das águas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.3, p. 957-962, 2005.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação animal em pasto: energética ou protéica? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3, 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMFOR, 2006. p.359-392.
- PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1063-1073.
- PIRT, S.J. The maintenance energy of bacteria in growing cultures. **Proceedings of Royal Society**, Series B, v.163, p.224-231, 1965.
- POPPI, D.P.; McLENNAN, S.R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, p 278-290,1995.
- PORTO, M.O. **Suplementos múltiplos para terminação de bovinos a pasto**. Viçosa: UFV, 2005, 70p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.
- SAMPAIO, C.B. **Consumo, digestibilidade e dinâmica ruminal em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade suplementados com compostos nitrogenados**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007, 53p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos**. Métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.
- SOUZA, G.S. **Introdução aos modelos de regressão linear e não-linear**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1998. 505p.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v.18, p.104-111, 1963.
- Van MILGEN, J.; MURPHY, L.L.; BERGER, L.L. A compartmental model to analyze ruminal digestion. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 2515-2529, 1991.
- VIEIRA, R.A.M., PEREIRA, J.C., MALAFAIA, A.M. et al. The influence of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mineiro variety) growth on the nutrient kinetics in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v.66, p.197-210, 1997.
- WOLIN, M.J.; MILLER, T.L, STEWARD, C.S. Microbe-Microbe interactions. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S (Eds.) **The rumen microbial ecosystem**. 2 ed. London: Chapman Hall, 1997. p.467-491.

CAPÍTULO 2

Degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função de suplementação com diferentes relações proteína verdadeira:nitrogênio não-protéico

Resumo – Objetivou-se avaliar a dinâmica da degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro (FDN) de forragem tropical de baixa qualidade em função da suplementação com compostos nitrogenados em diferentes relações proteína verdadeira:nitrogênio não-protéico. Utilizou-se como forragem basal amostra de capim-braquiária, colhida durante a estação seca. Utilizou-se como fonte de proteína verdadeira a caseína e de nitrogênio não-protéico a mistura uréia:sulfato de amônia (U:SA; 9:1). O tratamento base para a definição dos demais foi constituído da adição de caseína ao meio de incubação de forma a elevar-se o teor de proteína bruta (PB) da forragem basal ao nível de 8%, com base na matéria seca. Os tratamentos foram construídos a partir da substituição fracional (0, 1/3, 2/3 e 1) da PB oriunda da caseína por PB oriunda da mistura U:SA, acrescentando-se tratamento controle (forragem). Os tratamentos foram avaliados em ambiente ruminal simulado por incubação *in vitro*, sendo submetidos a diferentes tempos de incubação: 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas. O procedimento foi repetido três vezes, totalizando três avaliações por tempo de incubação para cada tratamento. Os resíduos de incubação foram avaliados quanto ao teor de FDN e interpretados por intermédio de modelo logístico não-linear. Verificou-se que a suplementação protéica elevou em 56,8 a 96,0% a taxa de degradação da FDN potencialmente degradável (kFDNpd) em comparação ao tratamento controle e causou redução de 4,5 a 7,4 horas sobre as estimativas de latência discreta. Observou-se que a utilização exclusiva de uréia elevou em 15,9% a estimativa de kFDNpd em relação à suplementação exclusiva com caseína. Contudo, a avaliação do perfil de substituição gradativa permitiu evidenciar valores máximos de taxa de degradação e eficiência microbiana sob a relação 2/3 U:SA:1/3 caseína.

Palavras-chave: capim-braquiária, caseína, nitrogênio amoniacal, taxa de degradação, uréia

In vitro rumen degradation of neutral detergent fiber of low-quality tropical forage according to supplementation with different true protein:non-protein nitrogen ratios

Abstract – It was evaluated the *in vitro* degradation dynamics of neutral detergent fiber (NDF) of low-quality tropical forage according to supplementation with nitrogenous compounds at different ratios true protein:non-protein nitrogen. A sample of signal grass, taken from a pasture during dry season, was used as basal forage. Casein was used as true protein source and the mixture urea: ammonium sulfate (U:AS, 9:1) was used as non-protein nitrogen source. The reference treatment was defined through addition of casein in the incubation medium, such that the crude protein (CP) level of the basal forage was raised to 8.0%, as dry matter basis. In this way, the treatments were defined from fractional replacement of CP from casein by CP from U:AS (0, 1/3, 2/3 and 1). A treatment containing only forage was used as a control. The treatments were evaluated by an *in vitro* incubation procedure. The incubation times were: 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 and 96 hours. The incubation procedure was repeated three times. The incubation residues were evaluated regarding NDF, followed by the adjustment of a logistic non-linear model. The protein supplementation increased from 56.8 to 96.0% the degradation rate of potentially degradable NDF (kpdNDF) compared to control treatment. At same time, the supplementation reduced the discrete lag time (-4.5 to -7.4 hours). The total replacement of casein by urea caused an increase of 15.9% on kpdNDF. However, the evaluation of replacement profile indicated that maximum estimates of degradation rate and microbial growing were obtained on 2/3 U:AS: 1/3 casein ratio.

Keywords: ammonia nitrogen, casein, degradation rate, signal grass, urea

Introdução

As forrageiras tropicais, em consequência da estacionalidade da produção, não fornecem quantidades suficientes de nutrientes para a produção eficiente dos animais. Assim, os animais em pastejo têm disponibilidade de forragem de bom valor nutritivo por curto espaço de tempo, pois o pasto, com a chegada da estação seca, decresce rapidamente em digestibilidade, constituindo o principal fator limitante para a produção animal (Leng, 1984).

Desta forma, os fatores climáticos são responsáveis pela baixa disponibilidade qualitativa e quantitativa de forragem no período seco, com conseqüente diminuição no desempenho dos animais manejados em pastagens.

Sendo assim, os pastos tropicais, especialmente na época da seca, raramente constituem dieta balanceada, no senso que seus constituintes orgânicos e inorgânicos estejam presentes em concentrações e proporções que melhor satisfaçam às necessidades dos animais (Paulino et al., 2001). Essa forragem de baixa qualidade nutricional apresenta altos teores de fibra e baixos teores de proteína bruta (PB), geralmente abaixo de 7 a 8%, valor limitante para que os microrganismos ruminais apresentem plena capacidade de utilização dos carboidratos fibrosos da forragem basal (Lazzarini, 2007; Sampaio, 2007).

Nessa situação, onde o alimento ou a reciclagem endógena de nitrogênio não atendem aos requerimentos microbianos, ocorre limitação no crescimento e atividade dos microrganismos (Sniffen et al., 1993) e por conseqüência queda na digestibilidade da parede celular, resultando em diminuição no consumo de matéria seca e baixo desempenho animal.

Em tal condição, os animais passam por carências múltiplas (Paulino, 1999), sendo que a proteína (ou compostos nitrogenados) assume papel prioritário, tornando-se necessária a suplementação dos animais, a qual reflete mudanças no consumo de forragem, na disponibilidade de energia dietética, na magnitude dos *pools* de precursores bioquímicos do metabolismo e no desempenho animal. Desta forma, amplia-se a taxa de degradação ruminal e a síntese de proteína microbiana, resultando assim em maior aporte de nutrientes para o intestino e ácidos graxos voláteis para o metabolismo energético (Detmann et al., 2004).

Contudo, em recentes estudos conduzidos em condições tropicais verificou-se que a alteração do perfil de origem dos compostos nitrogenados presentes nos suplementos (proteína verdadeira ou nitrogênio não-protéico) pode implicar alterações sobre a utilização da fibra em detergente neutro (FDN) da forragem basal (Paez-Bernal, 2007), sobre o consumo voluntário e produção microbiana (Acedo et al., 2007) e sobre o desempenho animal durante o período seco do ano (Moraes et al., 2008). Este comportamento parece refletir melhor adequação do perfil dos compostos nitrogenados suplementares no tocante às exigências microbianas (Paez-Bernal, 2007).

Todavia, há necessidade de mais estudos sobre os benefícios da suplementação com compostos nitrogenados de diferentes origens sobre a dinâmica de degradação da

FDN quando a produção se baseia em forragens de baixa qualidade, para que seja então alcançada a otimização na utilização de suplementos.

Desta forma, objetivou-se avaliar a dinâmica da degradação *in vitro* da FDN de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf) de baixa qualidade em função da suplementação com compostos nitrogenados em diferentes relações proteína verdadeira:nitrogênio não-protéico.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. A forragem utilizada nos procedimentos de avaliação *in vitro* foi proveniente de amostras de *Brachiaria decumbens* Stapf. coletadas por intermédio de cortes rente ao solo em piquetes sob pastejo contínuo do setor de Gado de Corte do Departamento de Zootecnia da UFV, entre os meses de julho a setembro de 2007 (período da seca).

A forragem, após seca sob ventilação forçada (60°C/72 h), foi processada em moinho de facas (1 mm). Posteriormente, procedeu-se à quantificação dos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), PB, extrato etéreo (EE), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina por solubilização da celulose por ácido sulfúrico (72% p/p), segundo métodos descritos em Silva & Queiroz (2002). As avaliações quanto aos teores de FDN foram conduzidas segundo recomendações de Mertens (2002). Os teores de FDN e FDA foram também expressos na forma corrigida para cinzas e compostos nitrogenados, sendo os procedimentos de correção conduzidos segundo métodos descritos por Mertens (2002) e Licitra et al. (1996), respectivamente (Tabela 1).

Os tratamentos constituíram de diferentes fontes e níveis de compostos nitrogenados, sendo utilizado como fonte de proteína verdadeira a caseína e de nitrogênio não-protéico a mistura uréia:sulfato de amônia (U:SA – 9:1).

O tratamento base para a definição dos demais foi constituído da adição de caseína ao meio de incubação de forma a elevar-se o teor de PB da forragem basal ao nível de 8%, com base na MS. Este patamar foi definido em função das recomendações de Lazzarini (2007) e Sampaio (2007), como sendo o nível mínimo de compostos nitrogenados para que os microrganismos apresentem plenas condições para degradação dos carboidratos fibrosos da forragem basal.

A partir desta definição, os tratamentos foram construídos a partir da substituição fracional (0, 1/3, 2/3 e 1) da PB oriunda da caseína por PB oriunda da mistura U:SA, acrescentando-se, ainda tratamento controle (somente forragem). Desta forma, cinco foram os tratamentos avaliados: 1. Forragem (controle); 2. Forragem + PB caseína; 3. Forragem + 2/3 PB caseína + 1/3 PB U:SA; 4. Forragem + 1/3 PB caseína + 2/3 PB U:SA; e 5. Forragem + PB U:SA.

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

Item ¹	Forragem	Caseína	Uréia:SA(9:1)
MS ²	479,1	901,3	982,1
MO ³	928,2	978,7	997,6
PB ³	41,3	878,9	2610,0
EE ³	4,9	5,6	-
CT ³	882,0	94,2	-
FDN ³	742,7	-	-
FDNcp ³	690,2	-	-
PIDN ⁴	492,3	-	-
CNF ³	191,8	94,2	-
FDA ³	420,5	-	-
FDAcp ³	382,2	-	-
PIDA ⁴	213,8	-	-
Lignina ³	72,1	-	-

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

As seguintes fontes foram utilizadas: caseína oriunda do leite bovino (pó purificado; Sigma C-5890), uréia PA (Merck 108487) e sulfato de amônio PA (Merck 101217). A composição química dos suplementos é apresentada na Tabela 1.

Alíquotas de forragem (350 mg de MS) foram acondicionadas em frascos de vidro tipo “penicilina” com 50 mL de volume total. Cinco alíquotas de 300 mL de solução de McDougall (McDougall, 1949) foram preparadas em frascos erlenmeyer, procedendo-se ao ajustamento do pH para 6,8 por aspersão com dióxido de carbono. A cada frasco, adicionou-se caseína ou U:SA de forma a se fornecer os níveis de compostos nitrogenados referentes a cada tratamento. Procedeu-se à transferência de 28 mL de solução tampão para cada frasco contendo forragem, segundo os tratamentos, os quais foram mantidos em sala climatizada (39°C) para hidratação das amostras. A composição final dos componentes adicionados a cada frasco é descrita na Tabela 2.

Durante o processo de hidratação, foi coletado líquido ruminal proveniente de um bovino doador, fistulado no rúmen, mantido nas proximidades da sala de incubação. O animal doador foi alimentado *ad libitum* com silagem de cana de açúcar, sendo submetido a jejum de alimentos (12 horas) anteriormente à coleta. A alimentação base do animal doador, em conjunto com o período de jejum, visou à obtenção de inóculo ruminal com características similares a animais mantidos em pastos tropicais durante o período seco, sem suplementação. O animal teve disponibilidade irrestrita de água e mistura mineral completa (6% de fósforo).

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

Fonte Protéica	Forragem	Relação Protéica			
		1	2/3	1/3	0
Caseína		1	2/3	1/3	0
Uréia		0	1/3	2/3	1
Forragem (mg) ¹	350	350	350	350	350
Caseína (mg) ¹	0	15,4	10,2	5,1	0
U:SA (9:1) (mg) ¹	0	0	1,7	3,5	5,2
Inóculo Ruminal (mL)	7	7	7	7	7
Tampão de McDougall (mL)	28	28	28	28	28

^{1/} Com base na matéria seca.

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

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

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

Ao final de cada tempo de incubação, os frascos foram retirados da sala climatizada e submetidos à mensuração do pH com potenciômetro digital, sendo o conteúdo filtrado sob vácuo em cadinhos filtrantes (porosidade grossa). A fração líquida foi reservada em recipientes plásticos, nos quais foi acrescentado 1 mL de H₂SO₄ (1:1),

sendo armazenados a -20°C para posterior análise da concentração de nitrogênio amoniacal (NA).

Os cadinhos foram então acondicionados em frascos de polietileno (120 mL), aos quais adicionaram-se 50 mL de detergente neutro (Mertens, 2002). Depois de vedados, os frascos foram autoclavados (105°C/1 hora), de forma a se extraírem todos os componentes solúveis em detergente neutro (método de micro extração; Pell & Schofield, 1993). Após esse tratamento, procedeu-se novamente à filtração sob vácuo e lavagem seqüencial do resíduo com água quente e acetona. A FDN residual foi obtida após secagem do material em estufa não-ventilada (105°C/16 horas).

Os resíduos de FDN nos diferentes tempos, para cada tratamento, foram submetidos, por intermédio do algoritmo de Gauss-Newton (Souza, 1998), ao ajustamento do modelo logístico não-linear descrito por Van Milgen et al. (1991):

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Os valores de t_i foram obtidos segundo as descrições de Van Milgen et al. (1991) (Equações 1 e 2, respectivamente):

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

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

A taxa específica de crescimento microbiano sobre a FDN_{pd} foi estimada segundo proposições de Beuvink & Kogut (1993):

$$Sgr = \frac{R'(t_i)}{U} \quad (7);$$

em que: Sgr = taxa específica de crescimento microbiano (h⁻¹).

A partir das estimativas de Sgr, obtiveram-se as eficiências de crescimento microbiano sobre a FDN_{pd}, segundo proposições de Pirt (1965):

$$\frac{1}{Y} = \frac{m}{Sgr} + \frac{1}{Ym} \quad (8);$$

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

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

Ressalta-se que as estimativas para o parâmetro Sgr foram obtidas com base nos valores médios gerais das frações U (46,81±3,24) e I (53,19±3,24), sob o pressuposto de estas serem características únicas e exclusivas do substrato (forragem) (Ørskov, 2000).

As amostras da fração líquida, depois de descongeladas, foram centrifugadas a 1500 x g por 10 minutos, sendo o sobrenadante analisado quanto aos teores de NA segundo método colorimétrico de Chaney & Marbach (1962).

Os modelos ajustados para os perfis de degradação em função dos diferentes tratamentos foram comparados de forma descritiva. Por sua vez, os valores de pH e concentração de NA obtidos para os diferentes tempos de incubação foram avaliados segundo delineamento em blocos completos casualizados, considerando-se cada partida de incubação como bloco, em esquema fatorial 5 x 10 (cinco tratamentos e dez tempos de incubação). Quando pertinente, as médias de pH e concentração de NA foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer. Todos os procedimentos estatísticos, tanto lineares, como não-lineares, foram conduzidos por intermédio do programa SAS (*Statistical Analysis System*), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados e Discussão

Verificou-se que a suplementação protéica elevou em 56,8 a 96,0% (média de 76,5%) a taxa de degradação da FDNpd em comparação ao tratamento controle (Tabela 3). De forma similar, a suplementação protéica causou redução de 4,5 a 7,4 horas sobre as estimativas de latência discreta.

Em experimento similar *in vitro*, Costa et al. (2008) verificaram incremento de 68,5% sobre a taxa de degradação da FDNpd de capim-braquiária de baixa qualidade com a suplementação exclusiva com caseína, corroborando os resultados aqui obtidos.

O incremento na taxa de degradação da FDNpd por intermédio da adição de compostos nitrogenados reitera a natureza prioritária da proteína na suplementação de animais mantidos em pastagens durante a estação seca, situação na qual a extração de energia a partir dos carboidratos fibrosos torna-se limitada por deficiência de compostos nitrogenados para a síntese dos sistemas enzimáticos dos microrganismos ruminais (Satter & Slyter, 1974; Leng, 1990; Paulino et al., 2006; e Sampaio, 2007).

Por outro lado, a latência discreta estima, por aproximação, o tempo necessário para que os eventos preparatórios às atividades de degradação ocorram, envolvendo aspectos físicos (e.g. hidratação) e microbiológicos (e.g. fixação ao substrato, síntese de enzimas, etc). Desta forma, a redução na latência corrobora o fato de o meio tornar-se

mais adequado ao crescimento microbiano com a inclusão de compostos nitrogenados (Sampaio, 2007).

Tabela 3 - Estimativas da taxa fracional de degradação (c), taxa de latência (p), taxa fracional comum para latência e degradação (λ), taxa fracional de degradação obtida a partir da conversão do parâmetro λ (c'), valor relativo da taxa de degradação (VRTD) e tempo de latência discreta (L) para a degradação ruminal da fibra em detergente neutro potencialmente degradável (FDNpd), e desvios-padrão assintóticos (DPA) para os perfis de degradação ajustados em função dos tratamentos

Fonte Protéica		Relação Protéica			
Caseína	Forragem	1	2/3	1/3	0
Uréia		0	1/3	2/3	1
c	---	---	0,0232±0,0156	---	0,0246±0,0334
p	---	---	0,1028±0,1105	---	0,0610±0,0932
λ (h ⁻¹)	0,0227±0,0048	0,0356±0,0080	---	0,0445±0,0049	---
c' (h ⁻¹) ¹	0,0135±0,0028	0,0212±0,0047	---	0,0265±0,0029	---
VRTD (%) ²	100,0	156,8	171,4	196,0	181,7
VRTD (%) ³	---	100,0	109,3	125,0	115,9
L (h)	12,4	7,9	5,0	6,3	6,9
DPA	3,67	5,41	3,42	3,60	3,28

^{1/} Estimado segundo propriedades da distribuição gama-2: $c' = 0,59635\lambda$.^{2/} Valor relativo da taxa de degradação em relação à forragem. ^{3/} Valor relativo da taxa de degradação em relação à caseína.

Segundo Sampaio (2007) e Lazzarini (2007), os efeitos observados sobre a degradação ruminal da fibra de forragem tropical de baixa qualidade com a suplementação com compostos nitrogenados caracterizam a dinâmica de degradação da FDN no ambiente ruminal como processo de segunda ordem (ou processo cinético de *Michaelis-Menten*) (Mertens, 2005), ou seja, a carência de sistemas enzimáticos em níveis inferiores a 7-8% de PB (referência adotada neste trabalho para a suplementação) implica reações de ordem zero (definidas pela deficiência de enzimas), as quais são convertidas em ordem um (definidas pelas características do substrato) à medida que compostos nitrogenados são adicionados ao meio. Desta forma, a suplementação com compostos nitrogenados implica ampliação dos sistemas enzimáticos microbianos no ambiente ruminal.

De fato, a suplementação com compostos nitrogenados elevou em 55,9 a 95,2% a taxa de crescimento específico de microrganismos e em 34,4 a 52,8% a eficiência de crescimento microbiano sobre a FDNpd (Tabela 4), o que indica, indiretamente, maior disponibilidade enzimática para a degradação da fibra basal.

Um dos aspectos envolvidos na melhor adequação do meio de crescimento no tocante à produção de enzimas microbianas é a disponibilidade de NA, o qual é utilizado preferencialmente como precursor para síntese de proteína pelos microrganismos fibrolíticos (Russell et al., 1992). Neste contexto verificou-se que a suplementação protéica elevou ($P < 0,05$) a disponibilidade de NA no meio de incubação (Tabela 5; Figura 1).

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

Fonte Protéica		Relação Protéica ¹			
Caseína	Forragem	1	2/3	1/3	0
Uréia		0	1/3	2/3	1
μ	0,4330(100,0)	0,6790(156,8)	0,7794(180,0)	0,8488(196,0)	0,6904(159,4)
Sgr	0,0084(100,0)	0,0131(155,9)	0,0150(178,6)	0,0164(195,2)	0,0133(158,3)
EFM	117,8(100,0)	158,3(134,4)	171,6(145,7)	180,0(152,80)	159,9(135,7)

¹/Os valores entre parênteses indicam o valor relativo em relação ao tratamento controle (forragem).

Os valores médios observados encontram-se abaixo do patamar mínimo de 5 mg/dL recomendado por Satter & Slyter (1974) para o adequado crescimento microbiano sobre carboidratos. Contudo, em se tratando de experimento *in vitro*, ressalta-se que não são observados eventos de reciclagem de NA como no ambiente ruminal *in vivo*. Assim, menores estimativas de NA em condições de forragem de baixa qualidade *in vitro* devem ser esperadas. Contudo, afirma-se que os aspectos comparativos (precisão experimental) são mantidos, garantindo a validade das inferências comparativas.

Esclarece-se que, no tocante ao pH não foram verificados efeitos de tratamentos ou tempo de incubação ($P > 0,05$). Todos os valores observados permaneceram dentro da faixa ideal para a atividade fibrolítica (Mould et al., 1983).

Contrastando-se apenas os tratamentos envolvendo a suplementação, observou-se que a utilização exclusiva de uréia elevou em 15,9% a estimativa da taxa de degradação da FDNpd em relação à suplementação exclusiva com caseína (Tabela 3).

Uma das possíveis causas deste comportamento pode residir sobre as melhores estimativas de concentração de NA no meio produzidas pela uréia, em comparação à caseína (Tabela 5). Segundo Zorzi et al. (2008), a uréia mostra-se mais efetiva em

implementar níveis de NA em comparação à caseína, mesmo em condições de suplementação similar em termos de equivalentes protéicos.

Tabela 5 - Médias de mínimos quadrados para a concentração de nitrogênio amoniacal do meio em função das relações protéicas e dos carboidratos suplementares

Relação Protéica		Nitrogênio Amoniacal (mg/dL)
Caseína	Uréia	
Forragem		0,14d
1	0	1,63c
2/3	1/3	2,54b
1/3	2/3	3,21a
0	1	3,77a
CV (%)		35,3

^{1/} Médias na coluna, seguidas por letras diferentes, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer (P<0,05).

De outra forma, a suplementação com proteína verdadeira pode acarretar na ocorrência do “efeito proteína”, no qual a produção de inibidores microbianos por espécies não-fibrolíticas levaria ao comprometimento da atividade de espécies fibrolíticas, sendo este efeito incrementado com a maior disponibilidade de aminoácidos no meio (Costa, 2006; Paez-Bernal, 2007; e Zorzi et al., 2008).

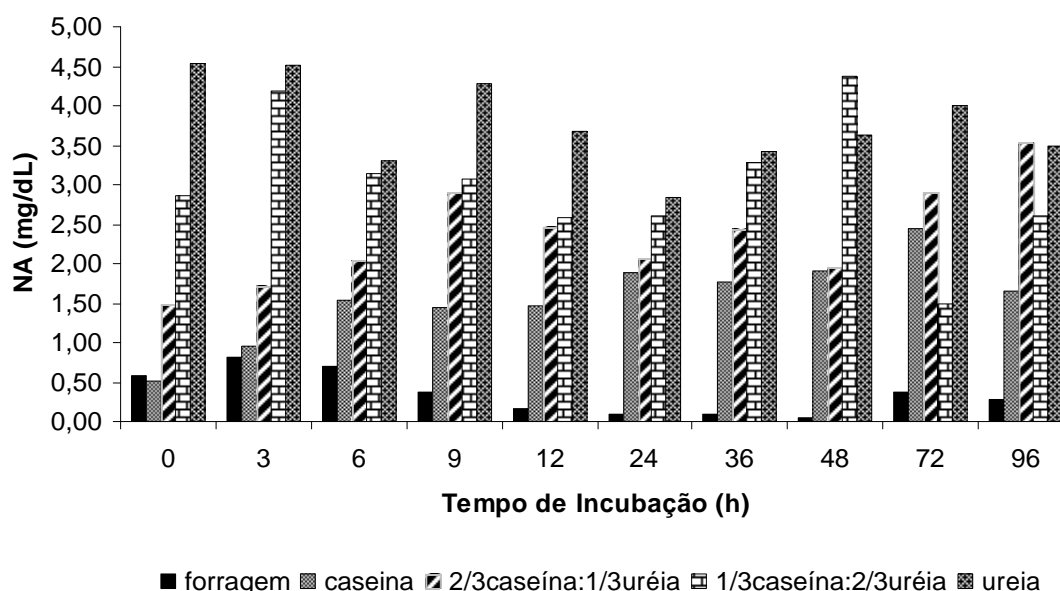


Figura 1 - Valores médios de nitrogênio amoniacal (NA) no meio (mg/dL) em função dos tratamentos.

Contudo, segundo Costa (2006), a ocorrência do efeito proteína, embora evidente sobre forragens de alta qualidade, não seria observado em condições de

ferragem de baixa qualidade em função da deficiência global de compostos nitrogenados no meio. Assim, a adição de proteína verdadeira nestas condições geraria maior benefício pelo fornecimento de compostos nitrogenados, em comparação ao estímulo para o crescimento de espécies produtoras de inibidores.

Neste contexto, os resultados aqui obtidos corroboram a afirmativa de Costa (2006), uma vez que o estímulo obtido com a substituição total da caseína por uréia sobre a taxa de degradação da FDNpd (+15,9%), mostrou-se bastante inferior ao obtido com a adição de caseína ao meio em comparação ao tratamento controle (+56,8%) (Tabela 3).

Embora a substituição total da caseína por uréia tenha elevado a taxa de degradação da FDNpd, a avaliação do perfil de substituição permitiu evidenciar valores máximos de taxa de degradação e de eficiência microbiana sob a relação 2/3 U:SA:1/3 caseína (Tabelas 3 e 4).

De forma similar, Paez-Bernal (2007) encontrou valores máximos de taxas de degradação da FDNpd de ferragem tropical de alta qualidade na mesma relação observada neste estudo.

As bactérias que degradam carboidratos fibrosos utilizam preferencialmente a amônia (potencialmente produzida a partir da uréia) como fonte de compostos nitrogenados para síntese microbiana (Russell et al., 1992). Contudo, os processos fibrolíticos e do crescimento das bactérias que os realizam devem ser enfatizados na importância das interações com outras espécies microbianas, as quais provêm compostos essenciais, como vitaminas do complexo B e ácidos graxos de cadeia ramificada, os quais funcionam como precursores de aminoácidos essenciais, ácidos graxos estruturais e alguns aldeídos (Bryant, 1973).

Assim, em comparação direta, os tratamentos com a suplementação exclusiva com uréia ou com 1/3 da proteína oriunda da caseína, mesmo conferindo concentrações similares de NA (Tabela 5), implicaram diferenças sobre a taxa de degradação da FDNpd, com vantagens para a relação 2/3 U:SA: 1/3 caseína. Isto pode indicar que haveria no meio pequena deficiência de proteína verdadeira degradável, cuja adição à dieta poderia levar a melhorias na produção microbiana (Hoover & Stockes, 1991), pela maior disponibilidade de substratos para síntese microbiana, como ácidos graxos de cadeia ramificada.

Assim, o equilíbrio entre fontes nitrogenadas nos suplementos pode otimizar a utilização da FDNpd de ferragens tropicais de baixa qualidade, ao permitir, além do

fornecimento global de compostos nitrogenados, o suprimento de peptídeos degradáveis no rúmen, que permitam a ocorrência de interações positivas entre espécies microbianas, favorecendo o suprimento de substratos essenciais ao crescimento das bactérias fibrolíticas.

Conclusões

A suplementação protéica implicou melhorias nos aspectos relacionados à dinâmica de degradação da fibra em detergente neutro de forragem de baixa qualidade.

O balanceamento do suplemento, de forma a prover um terço da proteína bruta a partir de proteína verdadeira (caseína) e dois terços a partir de nitrogênio não-protéico (uréia) implicou otimização da degradação e do crescimento microbiano sobre a fibra em detergente neutro.

Literatura Citada

- ACEDO, T.S.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. et al. Níveis de uréia em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante a época seca. **Acta Scientiarum (Animal Sciences)**, v.29, p.301-308, 2007.
- BEUVINK, J.M.W.; KOGUT, J. Modeling gas production kinetics of grass silages incubated in ruminal fluid. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1041-1046, 1993.
- BRYANT, M.P. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. **Federation Proceedings**, v.32, p.1809-1813, 1973.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p.130-137, 1962.
- COSTA, V.A.C. **Dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragens tropicais em função de suplementação protéica e/ou energética**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006, 52p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, 2006.
- COSTA, V.A.C.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função de suplementação com proteína e/ou carboidratos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2008 (no prelo).
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Níveis de proteína bruta em suplementos múltiplos para terminação de novilhos mestiço em pastejo durante época seca: desempenho produtivo e característica de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.169-180, 2004.
- ELLIS, W.C., MATIS, J.H., HILL, T.M. et al. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages. In: FAHEY JR., G.C. (Ed.) **Forage quality**,

- evaluation, and utilization.** Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.682-756.
- HOOVER, W.H & STOKES S. R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3630-3644, 1991.
- LAZZARINI, I. **Consumo, digestibilidade e dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados.** 2007. 52p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- LENG, R.A. Supplementation of tropical and subtropical pastures for ruminant production. In: GILCHRIST, F.M.C.; MACKIE, R.I. (Eds.) **Herbivore nutrition in the subtropics and tropics.** Craighall: The Science Press, 1984. p.129-144.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Review**, v.3, p.277-303, 1990.
- LICITRA, G.; HERNANDES, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardizations of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.
- McDOUGALL, E.I. Studies on ruminal saliva. 1. The composition and output of sheep’s saliva. **Biochemistry Journal**, v.43, p.99-109, 1949.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, p.1217–1240, 2002.
- MERTENS, D.R. Rate and extent of digestion. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J.M.; FRANCE, J. (Eds.) **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism.** 2^a ed. Wallingford: CABI Publishing, 2005. p.13-47.
- MORAES, E.H.B.K.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Uréia em suplementos protéico-energéticos para bovinos de corte suplementados durante o período da seca: variáveis nutricionais e ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2008 (no prelo).
- MOULD, F.L., ØRSKOV, E.R., MANNS, O. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science and Technology**, v.10, p.15-30, 1983.
- ØRSKOV, E. R. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In: GIVENS, D.I.; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E. (Eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition.** London: CAB International, 2000. p.175-188.
- PAEZ-BERNAL, D.M. **Dinâmica de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de capim-braquiária em função de suplementação com diferentes fontes de compostos nitrogenados e carboidratos.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007, 49p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- PAULINO, M. F. Estratégias de suplementação para bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 1, 1999, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 1999. p.137-156.

- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T. Suplementos múltiplos para recria e engorda de bovinos em pastagens. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2, 2001, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 2001. p.187-233.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação animal em pasto: energética ou protéica? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3, 2006, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: SIMFOR, 2006. p.359-392.
- 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.
- PIRT, S.J. The maintenance energy of bacteria in growing cultures. **Proceedings of Royal Society**, Series B, v.163, p.224-231, 1965.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.
- SAMPAIO, C.B. **Consumo, digestibilidade e dinâmica ruminal em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade suplementados com compostos nitrogenados**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007, 53p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.199-208, 1974.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos**. Métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.
- SNIFFEN, C.J.; BEVERLY, R.W.; MOONEY, C.S. et al. Nutrient requirements versus supply in the dairy cow: strategies to account for variability. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3160-3178, 1993.
- SOUZA, G.S. **Introdução aos modelos de regressão linear e não-linear**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1998. 505p.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v.18, p.104-111, 1963.
- Van MILGEN, J.; MURPHY, L.L.; BERGER, L.L. A compartmental model to analyze ruminal digestion. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 2515-2529, 1991.
- VIEIRA, R.A.M., PEREIRA, J.C., MALAFAIA, A.M. et al. The influence of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mineiro variety) growth on the nutrient kinetics in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v.66, p.197-210, 1997.
- ZORZI, K.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C. et al. Degradação ruminal *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de alta qualidade em função da suplementação com diferentes níveis e fontes de compostos nitrogenados **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2008 (submetido).

Conclusões Gerais

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

1. A suplementação com proteína verdadeira causou redução da taxa de degradação da fibra em detergente neutro de forragem tropical de alta qualidade, o que parece refletir a ocorrência de interações amensais entre espécies microbianas;
2. Nestas condições, a suplementação com uréia causou benefícios sobre a utilização dos compostos fibrosos, em função da possível ausência de interações amensais e por implementar melhor disponibilidade de nitrogênio amoniacal para o crescimento microbiano;
3. A suplementação protéica implicou melhorias na dinâmica de degradação da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade; e
4. O balanceamento do suplemento, de forma a prover um terço da proteína bruta a partir de proteína verdadeira (caseína) e dois terços a partir de nitrogênio não-protéico (uréia) implicou aumento da degradação e do crescimento microbiano sobre a fibra em detergente neutro.