

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**FONTES DE PROTEÍNA E CONCENTRAÇÃO DE
FÓSFORO EM SUPLEMENTOS PARA BOVINOS
CONSUMINDO FENO DE BAIXA QUALIDADE**

Autora: Fernanda Granzotto
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

“Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração: Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Dezembro – 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**FONTES DE PROTEÍNA E CONCENTRAÇÃO DE
FÓSFORO EM SUPLEMENTOS PARA BOVINOS
CONSUMINDO FENO DE BAIXA QUALIDADE**

Autora: Fernanda Granzotto
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração: Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Dezembro – 2010

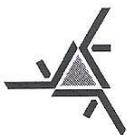
Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

G765 Granzotto, Fernanda
Fontes de proteína e concentração de fósforo em suplementos para bovinos consumindo feno de baixa qualidade / Fernanda Granzotto. -- Maringá: [s.n.], 2010.
81 f.

Orientador : Prof° Dr° Antonio Ferriani Branco.
Tese (doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Estadual de Maringá.

1.Ruminante - Nutrição. 2. Nutrição animal - Bovinos. 3. Dióxido de titânio. 4. Fósforo. 5. Nitrogênio não protéico. 6. Proteína verdadeira. 7. suplementação. I. TÍTULO

CDD 21. ed. 636.2085



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**FONTES DE PROTEÍNA E CONCENTRAÇÃO DE
FÓSFORO EM SUPLEMENTOS PARA BOVINOS
CONSUMINDO FENO DE BAIXA QUALIDADE**

Autora: Fernanda Granzotto
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

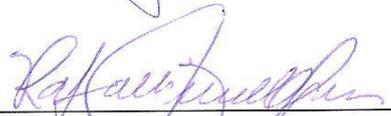
APROVADA em 22 de dezembro de 2010.



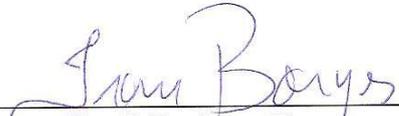
Prof. Dr.^a Lúcia Maria Zeoula



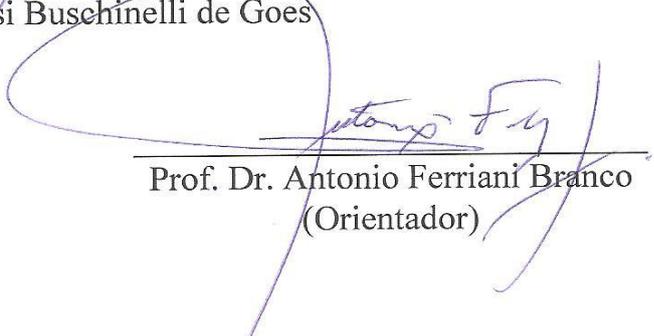
Prof. Dr. Elias Nunes Martins



Prof. Dr. Rafael Henrique de
Tonissi Buschinelli de Goes



Prof. Dr. Iran Borges



Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco
(Orientador)

“...

*Eu não sei se você se recorda do seu primeiro caderno
Eu me recordo do meu
Com ele eu aprendi muita coisa
Foi nele que descobri que a experiência dos erros,
Ela é tão importante quanto à experiência dos acertos.*

Por que vistos de um jeito certo, os erros, eles nos preparam para nossas vitórias e conquistas futuras.

Por que não há aprendizado na vida que não passe pela experiência dos erros.

Caderno é uma metáfora da vida, quando erros cometidos eram demais eu me recordo que nossa professora nos sugeria que a gente virasse a página.

Era um jeito interessante de descobrir a graça que há nos recomeços.

Ao virar a página os erros cometidos deixavam de nos incomodar e a partir deles a gente seguia um pouco mais crescido.

O caderno nos ensina que erros não precisam ser fontes de castigos.

Erros podem ser fontes de virtudes.

Na vida é a mesma coisa.

O erro tem que estar a serviço do aprendizado

Ele não tem que ser fonte de culpas, de vergonhas.

Nenhum ser humano pode ser verdadeiramente grande sem que seja capaz de reconhecer os erros que cometeu na vida.

Uma coisa é a gente se arrepender do que fez

Outra coisa é a gente se sentir culpado

Culpas nos paralisam, arrependimentos não.

Eles nos lançam pra frente, nos ajudam a corrigir os erros cometidos.

Deus é semelhante a um caderno

Ele nos permite os erros pra que a gente aprenda pra fazer do jeito certo.

Você tem errado muito? Não importa, aceite de Deus esta nova página de vida que tem nome de hoje.

Recorde-se das lições do seu primeiro caderno

Quando os erros são demais vire a página

O que está escrito em mim

Comigo ficará guardado

...”

Aos meus pais,

Julio Eugenio Granzotto e Dilma Dal Pasqual Granzotto,

pelo amor, incentivo, dedicação incondicional, enfim, por tudo que sou, tudo que tenho
e tudo que serei.

À minha irmã,

Laura Granzotto,

pelo amor, amizade, companheirismo e por todos os cuidados comigo.

Ao meu esposo,

Alexandre Leseur dos Santos,

pelo amor, amizade, companheirismo, por todos os cuidados comigo e por todas as
horas dedicadas em me ajudar desde o início desse sonho.

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e pelas boas oportunidades.

Aos meus pais, Julio Eugênio Granzotto, Dilma Dal Pasqual Granzotto, e minha irmã, Laura Granzotto, por todo amor, dedicação, união, alegria e compreensão.

Ao meu esposo, Alexandre Leseur dos Santos, por todo amor, compreensão e ajuda, durante todos os momentos.

Ao Professor Dr. Antonio Ferriani Branco, pela orientação, pela competência repassada e compreensão perante as minhas dificuldades.

À Universidade Estadual de Maringá, ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia e à Fazenda Experimental de Iguatemi, por viabilizarem a realização deste trabalho.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia que sempre se dedicaram em manter a qualidade do curso.

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

À Coordenadora do Laboratório de Nutrição Animal, Professora Lúcia Zeoula e às Técnicas do laboratório: Cleuza Volpato e Creuza Azevedo.

Aos Secretários do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Denílson dos Santos Vicentin e Rose Mary Pepinelli, sempre prestativos e pela amizade.

Ao funcionário do Setor de Avaliação de Alimentos para Ruminantes, Wilson Marsola, que sempre esteve pronto para ajudar e colaborar com as atividades experimentais.

Aos amigos do grupo de pesquisa, colegas de trabalho e estagiários: Aline Castelini, Beatriz da Silva Lima, Bruno Diego Longo, Claudia Helena Ferreira Zago, Cláudia Mara de Lazzari, Fabrício Chiesa de Souza, Israel Cardoso, Jenifer Sifuentes, Julio C. Barreto, Karla Felssner, Laiz Fiorilli de Matos, Lorryny Galoro da Silva, Mariana Soares Peres, Pedro Gindri, Roman D. Castagnera, Sabrina M. Coneglian, Silvana Teixeira, Yasmin. Rosseto

Aos amigos de todas as horas: Ana Carolina Conti, Ana Carolina Monteiro, Ana Paula Silva Ton, Andréia Fróes Galuci, Daniel Nunes Gomes e Larissa Sadeck, Daniela Cristina Lino, Daniele Cristina da Silva Kazama e Ricardo Kazama, Fabiano Simioni e Cristiane, Karina Pehouskei Albuquerque, Luciana Maria Garcia de S. da Silva, Luciano Soares de Lima, Meiby Carneiro de Paula Leite e Laudi Cunha Leite, Paulo Levi, Moisés Calixto Junior, Roberto Haruyoshi, Sandra Galbeiro, Wallacy B. R. dos Santos e Rute Feiden, Walter Bumbieris Junior e Patrícia Bumbieris.

BIOGRAFIA

FERNANDA GRANZOTTO, filha de Julio Eugenio Granzotto e Dilma Dal Pasqual Granzotto, nasceu em Dois Vizinhos – Paraná, no dia 06 de junho de 1981.

Cursou o pré-escolar no Colégio Regina Mundi, em Dois Vizinhos, Paraná. Mudou-se para São Lourenço d’Oeste – Santa Catarina, onde fez o primeiro grau e parte do segundo grau na Escola São Francisco de Assis. Formou-se no “Terceirão” do Colégio Águia na cidade de Pato Branco – Paraná.

No ano de 2000, iniciou o Curso de Graduação em Zootecnia na Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, no campus da cidade de Marechal Cândido Rondon – Paraná. Em dezembro de 2004, cumpriu as exigências para obtenção do título de “ZOOTECNISTA” pela mesma universidade.

Em 2005, foi selecionada para cursar créditos junto ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, em nível de Mestrado, área de concentração: Produção Animal, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes. Em 17 de agosto de 2007, submeteu-se à banca examinadora para a defesa da Dissertação.

Em 2007, iniciou o Doutorado junto ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá na área de concentração de Produção Animal, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes. Em 20 de abril de 2010, submeteu-se à banca examinadora para qualificação, como exigência para obtenção do título de DOUTOR e em 22 de dezembro de 2010 submeteu-se à banca examinadora para a defesa da Tese.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
RESUMO.....	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO GERAL	5
USO ESTRATÉGICO DA SUPLEMENTAÇÃO	5
SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA.....	6
SUPLEMENTAÇÃO COM FÓSFORO	10
LITERATURA CITADA.....	15
OBJETIVOS GERAIS	19
CAPÍTULO I – SUPLEMENTOS PROTEICOS COM UREIA OU FARELO DE SOJA SOBRE O CONSUMO, FERMENTAÇÃO E CINÉTICA RUMINAL, DIGESTIBILIDADE APARENTE DOS NUTRIENTES E PARÂMETROS SANGUÍNEOS DE BOVINOS ALIMENTADOS COM FENO DE BAIXA QUALIDADE.....	20
RESUMO	20
ABSTRACT	21
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS.....	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÕES.....	48
LITERATURA CITADA	49
CAPÍTULO II – ABSORÇÃO APARENTE DE FÓSFORO NO TRATO DIGESTÓRIO DE BOVINOS CONSUMINDO FORRAGEM E RECEBENDO SUPLEMENTOS PROTEICOS COM DIFERENTES DOSES DE FÓSFORO....	53
RESUMO	53
ABSTRACT	54
INTRODUÇÃO.....	55
MATERIAL E MÉTODOS.....	57
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
CONCLUSÕES.....	76
LITERATURA CITADA	77

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Composição percentual e química dos suplementos	25
Tabela 2 – Consumo de matéria seca e de nutrientes em bovinos alimentados com feno de baixa qualidade com suplementação proteica.....	30
Tabela 3 – Fluxos omasal e fecal de MS, MO, PB, FDN e P.....	33
Tabela 4 – Digestão ruminal, intestinal e total e coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, PB e FDN	34
Tabela 5 – Desaparecimento ruminal, intestinal e total e absorção aparente para o fósforo.....	38
Tabela 6 – Equações de regressão ajustadas para N-NH ₃ em função dos tempos de coleta (P<0,05).	40
Tabela 7 – Concentração de N-NH ₃ (mg/100 mL) e pH ruminal.....	41
Tabela 8 – Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em µM/mL.....	43
Tabela 9 – Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (µM/mL) em função dos horários de coleta.....	43
Tabela 10 – Parâmetros da cinética ruminal.....	44
Tabela 11 – Concentração de ureia no soro (mg/dL), N-ureico (NUS), cálcio (Ca) e fósforo (P) no soro, em mg/dL e mM/L	46
Tabela 12 – Composição percentual e química dos suplementos.	58
Tabela 13 – Ingestão de MS, MO, PB, FDN, NDT , P e Ca	64
Tabela 14 – Fluxo omasal e fluxo fecal de MS, MO, PB, FDN, P e Ca	66
Tabela 15 – Digestão e coeficiente de digestibilidade da MS, MO, PB, FDN.....	67
Tabela 16 – Médias, equações de regressão, significância e coeficiente de determinação para desaparecimento e coeficiente de absorção aparente do P e do Ca (P<0,05).....	68
Tabela 17 – Concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (µM/mL) e relação entre acetato e propionato em função dos horários de coleta	72
Tabela 18 – Parâmetros da eficiência de síntese microbiana	73
Tabela 19 – Parâmetros da cinética ruminal.....	74
Tabela 20 – Parâmetros sanguíneos	74

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Digestão Ruminal e Intestinal da proteína.	36
Figura 2 – Cinética do P nas diferentes dietas.	39
Figura 3 – Variação do pH ruminal durante período de 24h após a primeira alimentação.	40
Figura 4 – Variação do N-NH ₃ ruminal durante período de 8h após a primeira alimentação.	41
Figura 5 – Comportamento do pH do rúmen em função da concentração de P nos suplementos.	70
Figura 6 – Comportamento da variação do N-NH ₃ ruminal durante período de 8h após a primeira alimentação.	71

RESUMO

O trabalho foi conduzido por meio de dois experimentos realizados na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá – UEM, no período de junho de 2008 a fevereiro de 2010. O experimento 1 foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito de suplementos proteicos com duas fontes de proteína em duas doses de fornecimento, sobre o consumo, a fermentação e a cinética ruminal, a digestibilidade aparente dos nutrientes e os parâmetros sanguíneos. Foram utilizados cinco bovinos da raça Nelore, castrados, canulados no rúmen com $366 \text{ kg} \pm 55 \text{ kg}$ de peso corporal (PC). O delineamento experimental utilizado foi quadrado latino 5×5 , e os animais foram distribuídos em cinco dietas experimentais à base de feno de braquiária (*Brachiaria humidicola* cv. Llanero) picado, suplementados ou não com duas doses e duas fontes de proteína. Os tratamentos foram: feno sem suplemento (FSS); feno + 1 g de suplemento contendo ureia/kg de peso corporal (1U); feno + 2 g de suplemento contendo ureia/kg de peso corporal (2U); feno + 1 g de suplemento contendo farelo de soja/kg de peso corporal (1FS); feno + suplementação contendo farelo de soja - 2 g de suplemento/kg (2FS). O uso de suplementos proteicos aumentou a ingestão, o fluxo omasal e fecal, a digestibilidade ruminal e total dos nutrientes, a concentração de N-ureico no soro, a concentração de N-NH₃ e a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta no rúmen. Além disso, aumentou a ingestão de P assim como o fluxo omasal e fecal desse nutriente e diminuiu a reciclagem de P via saliva no rúmen. O suplemento contendo farelo de soja apresentou maior fluxo omasal de PB, maior coeficiente de digestibilidade total da MS, MO, PB e FDN, maior coeficiente de digestibilidade intestinal da PB, além de maior taxa de desaparecimento e digestão ruminal. O suplemento com ureia produziu maior fluxo fecal de MO, PB e FDN além da maior taxa de diluição da dieta e da maior taxa de reciclagem. Entre as doses de

suplementação, melhores respostas foram encontradas com doses maiores de suplementação. O experimento 2 foi conduzido com o objetivo de avaliar a influência de doses crescentes de fósforo em suplementos proteicos para bovinos, sobre o consumo, a fermentação e a cinética ruminal, a eficiência de síntese microbiana, o desaparecimento e absorção aparente do P, a digestibilidade aparente dos demais nutrientes e os parâmetros sanguíneos. Foram utilizados cinco bovinos da raça Holandesa Preta e Branca, castrados, com $254 \text{ kg} \pm 22 \text{ kg}$ de peso corporal. Os animais foram distribuídos em cinco dietas experimentais à base de feno de braquiária (*Brachiaria humidicola* cv. Llanero) picado, suplementados com doses crescentes de P em delineamento experimental quadrado latino 5 x 5. Os tratamentos consistiram na utilização de suplementos contendo: 2,5 g de P/kg de peso corporal (2,5P); 5 g de P/kg de peso corporal (5P); 10 g de P/kg de peso corporal (10P); 15 g de P/kg de peso corporal (15P) e 20 g de P/kg de peso corporal (20P). O fornecimento de fósforo em doses crescentes aumentou linearmente a ingestão, os fluxos omasal e fecal, e a absorção aparente total de P e diminuiu linearmente a taxa de reciclagem no rúmen. Os coeficientes de digestibilidade aparente total da MS e FDN apresentaram resposta quadrática em relação à porcentagem de fósforo no suplemento e o pH teve resposta cúbica. Não houve efeito dos tratamentos sobre os parâmetros sanguíneos, a concentração de N-NH₃, os AGCC e a eficiência de síntese microbiana.

Palavras-chave: dióxido de titânio, fósforo, nitrogênio não-proteico, proteína verdadeira, suplementação

ABSTRACT

The study was conducted through two experiments carried out at the Experimental Farm of Iguatemi (FEI), belonging to the Universidade Estadual de Maringá - UEM, from June 2008 to February 2010. The first experiment was carried out to evaluate the effect of protein supplements with two protein sources at two doses of supply, on intake, ruminal fermentation and kinetics, nutrients apparent digestibility and blood parameters. Five Nelore steers, cannulated in the rumen with $366 \text{ kg} \pm 55 \text{ kg}$ body weight (BW) were used. The experimental design was a Latin square 5×5 , and the animals were allocated into five experimental diets based on hay (*Brachiaria humidicola* cv. Llanero) chopped, supplemented or not with two doses and two protein sources. The treatments were: hay without supplementation (FSS), hay + 1 g urea supplement/kg body weight (1U), hay + 2 g urea supplement/kg body weight (2U), hay + 1 g soybean meal supplement/kg body weight (1FS) hay + 2 g soybean meal supplement/kg body weight (2FS). The use of supplements increased intake, omasal and fecal flow, ruminal and nutrients total digestibility, serum concentration of urea nitrogen, concentration of N-NH_3 and total concentration of short chain fatty acids in rumen. The supplement containing soybean meal had the highest omasal flow of CP, increased total digestibility of DM, OM and NDF, increased intestinal digestibility of CP, and also had the highest rate of disappearance and digestion. The urea was responsible for the increased fecal flow of OM and NDF, the highest rate of dilution of the diet and increased recycling rate. Between doses of supplementation, higher responses were found with the highest doses at supplementation. The second experiment was conducted to evaluate the influence of increasing phosphorus concentration in protein supplements for cattle on intake, rumen fermentation and kinetics, efficiency of microbial synthesis, disappearance and apparent absorption of P, apparent digestibility of nutrients and

blood parameters. Five Holstein steers castrated with $254 \text{ kg} \pm 22 \text{ kg}$ body weight were used. The animals were allocated into five experimental diets based on hay (*Brachiaria humidicola* cv. Llanero) chopped, supplemented with increasing doses at P in experimental design 5 x 5 Latin square. The treatments consisted of the use of supplements containing: 2.5 g P/kg body weight (2.5 P), 5 g P/kg body weight (5P), 10 g P/kg body weight (10P), 15 g P/kg body weight (15P) and 20 g P/kg body weight (20P). The supply of phosphorus in increasing doses increased linearly intake, omasal and fecal flows and total apparent absorption of phosphorus and linearly decreased the rate of recycling in the rumen. The total apparent digestibility of DM and NDF showed a quadratic response in percentage of phosphorus in supplement and the pH was cubically. There was no treatment effect on blood parameters, the concentration of N-NH₃, SCFA and microbial efficiency.

Key words: titanium dioxide, rumen evacuation, phosphorus, nonprotein nitrogen, true protein, supplementation

INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, a produção de bovinos é dependente principalmente da produção e utilização de pastagens. A pastagem é considerada a principal, mais importante e mais econômica fonte de nutrientes para bovinos de corte, e deve atender às necessidades nutricionais dos animais fornecendo energia, proteínas, vitaminas e minerais em níveis adequados. Segundo Minson (1990), é a quantidade de alimento consumida espontaneamente pelos bovinos e, como consequência, de nutrientes, o fator mais importante para controlar a produção dos animais, uma vez que está intimamente relacionado ao desempenho animal.

O consumo voluntário é por definição, a quantidade máxima de matéria seca que um animal ingere espontaneamente, enquanto a capacidade de um alimento ser ingerido depende de vários fatores que interagem em diferentes situações de alimentação, comportamento animal e meio ambiente (Thiago & Gill, 1990). Um desses fatores a ser considerado é a sazonalidade na produção de forragens, pois ocorre grande produção no período das águas e deficiência pronunciada no período da seca. A sazonalidade de produção é talvez o principal fator que atinge de maneira significativa a produção animal, tornando-se necessária a suplementação de animais a pasto.

USO ESTRATÉGICO DA SUPLEMENTAÇÃO

Nos sistemas de produção de bovinos baseados em pastagens, frequentemente, há necessidade de suplementação de nutrientes a fim de obter melhoria de desempenho animal. Utilizada como complementação ao pasto, a suplementação pode aumentar a eficiência no uso dos recursos existentes na propriedade, que melhora o valor nutritivo da dieta total, a fim de contribuir para a melhoria dos índices zootécnicos e melhorar a

eficiência do sistema produtivo. A suplementação pode ter como objetivos, melhorar o consumo de energia e proteína, substituir parte do volumoso ou ainda estimular o consumo de volumosos de baixa qualidade.

Segundo Ospina et al. (2003), os principais efeitos da suplementação são observados na ingestão e na digestibilidade dos nutrientes. Esses benefícios ocorrem como resultado de alterações no ambiente ruminal, e na população de micro-organismos ruminais, já que afetam fatores determinantes da digestão ruminal, do fluxo da digesta para fora do rúmen e da disponibilidade de nutrientes para absorção no intestino.

Segundo Euclides & Medeiros (2005), no caso de animais que estão recebendo forragem “ad libitum”, ao fazer uso de suplementação, deve-se considerar alguns fatores que provocarão interferência na ingestão de nutrientes. A principal interferência que ocorre é a do efeito associativo, que produz mudanças na digestibilidade e/ou consumo da dieta basal (forragem). O efeito associativo pode ser de três tipos: substitutivo, aditivo ou suplementar e combinado.

Conforme citado por Coan et al. (2004), o efeito substitutivo é caracterizado pela diminuição do consumo de energia digestível oriunda da forragem, enquanto se observa aumento no consumo de suplemento. Assim, mantém constante o consumo total de energia digestível, indicando que o consumo do suplemento substituiu a do pasto. Quanto melhor for a qualidade da forragem, maior será o coeficiente de substituição pelo suplemento que pode ser calculado subtraindo-se a ingestão de MS dos animais não-suplementados (kg), da ingestão de MS dos animais suplementados (kg), e dividindo-se pela ingestão de MS do suplemento fornecido (kg).

Já o efeito aditivo ou suplementar refere-se ao aumento do consumo total de energia digestível em decorrência do incremento no consumo do suplemento. Neste caso, a ingestão de forragem tanto pode permanecer constante quanto ter efeito positivo, aumentando a ingestão.

Em relação ao efeito combinado, tanto o efeito de substituição quanto o efeito de adição estão presentes ocorrendo a combinação entre a queda no consumo da forragem juntamente com o aumento do consumo do suplemento.

SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA

O fator limitante para bovinos mantidos em pastagens de baixa qualidade, além da baixa concentração de energia, é a baixa concentração de amônia gerada no rúmen,

que é necessária para o aumento na digestibilidade da forragem por aumentar a eficiência microbiana ao fornecer substrato aos micro-organismos ruminais. Nesse sentido, a suplementação proteica visa melhorar a utilização de volumosos de baixa qualidade (menos de 7% de PB), estimulando a atividade microbiana ruminal pelo fornecimento de fontes de N rapidamente fermentáveis.

A suplementação proteica pode ser realizada em diferentes formas, desde a mais simples com a utilização de sal mineral adicionado de ureia, passando pelo sal proteinado de baixo consumo até as mais completas como é o caso dos suplementos proteicos de alto consumo. A rentabilidade da adoção desta tecnologia é dependente da escolha do suplemento a ser utilizado, o qual irá variar em função do desempenho a ser alcançado e do tipo de forragem utilizada. Por ser responsável por ganhos no desempenho animal e possibilitar a redução nos custos da alimentação, a suplementação com proteína tem sido muito pesquisada na nutrição de ruminantes. Segundo Hess et al. (1994), a mesma é associada ao aumento no consumo de matéria orgânica decorrente do aumento da taxa de passagem, aumento na concentração de nitrogênio amoniacal, aumento na produção de ácidos graxos de cadeia curta e a diminuição do pH ruminal.

As fontes de nitrogênio utilizadas na suplementação proteica podem variar quanto à sua solubilidade apresentada no rúmen e também quanto à sua taxa de degradação. A degradação da proteína no rúmen ocorre pela ação de enzimas (deaminases, peptidases e proteases) secretadas pelos micro-organismos ruminais que degradam a fração degradável da proteína dietética em peptídeos, aminoácidos e amônia utilizando-os para a síntese de proteína microbiana e multiplicação celular.

Quando a velocidade de degradação ruminal da proteína excede a velocidade de utilização dos compostos nitrogenados para a síntese de proteína microbiana, os peptídeos e aminoácidos provenientes da degradação ruminal da proteína não-incorporados nas células microbianas podem passar para o duodeno e serem absorvidos pelo ruminante. Já a maior parte da amônia não utilizada pelos animais para a síntese de proteína microbiana é absorvida pelas paredes do rúmen por difusão sempre na sua forma não-ionizada (NH_3) e então é transportada para o fígado pela veia porta sendo transformada em ureia. Parte da ureia que é produzida no fígado é excretada via urina, enquanto parte pode retornar para o rúmen por meio da saliva ou pela corrente sanguínea sendo então reciclada por difusão por meio da parede do rúmen. Neste caso, quantidades significativas de energia para a síntese e excreção de ureia são requeridas

tornando o processo oneroso uma vez que para cada mol de ureia produzida são gastos dois moles de ATP (Santos, 2006).

A degradabilidade das proteínas pode afetar o crescimento microbiano, uma vez que a maior degradabilidade ruminal promove maior crescimento microbiano (Russell et al., 1992; Christensen et al., 1993). Conforme Owens & Goetsch (1988), a eficiência de síntese microbiana pode ser reduzida quando não há proteína verdadeira na dieta. A síntese de proteína microbiana no rúmen é insuficiente para satisfazer as necessidades em proteína no caso de animais de alta produção. Assim, a inclusão de proteínas que escapam à degradação ruminal é necessária para maximizar a produção (Christensen et al., 1993).

Baseado na taxa de degradação, duas formas de proteína são necessárias para atender às exigências dos ruminantes: uma fonte de proteína degradável no rúmen ou PDR a qual tem a finalidade de atender às necessidades dos micro-organismos, aumentar a degradação da fibra e a produzir proteína microbiana e uma fonte de proteína não-degradável no rúmen (PNDR), mas digestível no intestino que tem a finalidade de atender às exigências dos animais.

A proteína microbiana é a maior e melhor fonte de proteína metabolizável para ruminantes mantidos em pastagem seguida da PNDR e proteína endógena. Para aumentar a produção de proteína microbiana, o suprimento de quantidades adequadas de PDR e PNDR é fundamental (NRC, 2001). Os micro-organismos do rúmen utilizam nitrogênio não-proteico (NNP) ou PDR como fonte de amônia (NH_3), e somente a partir desta sintetizam proteína para satisfazer suas próprias exigências. A composição em aminoácidos da proteína microbiana verdadeira digestível no intestino delgado atende quase que perfeitamente às exigências dos animais. Para maximizar a utilização de proteína pelos ruminantes, é necessário fornecer proteína que seja passível de degradação no rúmen além de uma fonte energética para que juntos favoreçam o crescimento microbiano e a degradação da fibra. A utilização de suplementos formulados a partir de proteína degradável no rúmen (suplementos proteicos) geralmente tem como consequência o aumento do consumo e da digestão das forrageiras de baixa qualidade, ao liberar amônia no fluido ruminal, estimular a síntese de proteína microbiana e diminuir o tempo de retenção da digesta no rúmen.

Ammermam et al. (1972), investigando a influência de nitrogênio suplementar na forma de proteínas naturais (soja e algodão) ou na forma de ureia e biureto combinado com uma fonte de energia quando os ovinos foram alimentados com feno de

baixa qualidade, observaram que a adição de nitrogênio suplementar com uma fonte de energia aumentou o consumo de feno e melhorou a digestibilidade aparente do nitrogênio.

Entre as fontes de nitrogênio mais utilizadas, estão o farelo de soja (fonte predominante em proteína verdadeira) e a ureia (fonte de nitrogênio não-proteico). Fontes de proteína verdadeira como o farelo de soja, que apresenta menor teor de proteína não-degradável no rúmen e elevado custo tem a vantagem da maioria de seus nutrientes servirem aos micro-organismos ruminais para a síntese de proteína microbiana. Já as fontes de nitrogênio não-proteico (NNP) como a ureia tem sido utilizada com o objetivo de aumentar a proteína degradável no rúmen em substituição parcial ou total às fontes de proteína verdadeira, diminuindo assim o custo da suplementação. Quanto à utilização parcial ou total de ureia nos suplementos, Koster et al. (1996) verificaram que a suplementação com até 75% do nitrogênio proveniente da ureia aumentou o consumo e a digestibilidade, porém níveis maiores de inclusão provocaram efeito contrário pela falta de aminoácidos, peptídeos e ácidos graxos necessários para o crescimento de células bacterianas.

Pires et al. (2004) substituíram o farelo de soja por ureia ou amireia em dietas de bovinos confinados e verificaram que o atendimento das exigências de proteína degradável no rúmen, via ureia ou amireia, proporcionou desempenhos melhores do que a utilização de farelo de soja. Já Silva et al. (2008), avaliando diferentes níveis de ureia em substituição ao farelo de soja em suplementos na seca, não observaram efeito dos diferentes níveis no ganho de peso dos bovinos.

Mallmann et al. (2006), avaliando o efeito da utilização de suplementos proteicos formulados com níveis crescentes de proteína degradável no rúmen, verificaram que a incorporação de doses crescentes de ureia à dieta aumentou o consumo até certo ponto, tornando evidente que o estímulo proporcionado pela suplementação de proteína degradável tem limites. Os autores afirmam que as limitações, provavelmente, são provenientes de características da forragem consumida (fermentabilidade e disponibilidade da proteína) e da necessidade de proteína pelo animal.

Fatores como a idade dos animais e o teor de energia e de proteína da dieta podem influenciar a utilização de fontes de NNP, no entanto, Russell et al. (1992) relataram que a suplementação com NNP em dietas com volumosos de baixa qualidade melhoram o consumo e a digestibilidade da forragem por suprirem a deficiência por

amônia ruminal. De acordo com Souza et al. (2002), a digestão da fibra é afetada pelo teor de proteína das dietas, principalmente no caso de dietas compostas de forragem de baixa qualidade, uma vez que a deficiência de proteína estaria limitando a atividade ruminal e afetando a ingestão e a digestibilidade dos nutrientes. Isso ocorre porque as exigências de proteína dos ruminantes são atendidas pelos aminoácidos provenientes da proteína microbiana e da proteína dietética não-degradada no rúmen.

SUPLEMENTAÇÃO COM FÓSFORO

No Brasil, com alta frequência, as pastagens apresentam níveis de P inferiores aos necessários para adequada nutrição dos ruminantes. Tal fato leva a baixos índices de produtividade e considerável prejuízo econômico. No sentido de corrigir essa deficiência e manter ou elevar os índices de produtividade, lança-se mão da suplementação com fósforo. Na maioria dos casos em que ocorre deficiência em P, o teor de proteína também pode estar deficiente, sendo necessária também a sua correção.

Segundo Minson (1990), há muitos estudos que mostram ausência de resposta a suplementação do P. São três possíveis razões para estes resultados negativos: a dieta pode conter P suficiente para atender às exigências do animal, o cálcio na dieta pode ser baixo, reduzindo assim a exigência de P dos animais, ou os animais podem ter reservas suficientes de P nos ossos e, portanto, ser capaz de compensar o baixo P na dieta.

Normalmente, as concentrações de fósforo adotadas em dietas de bovinos de corte seguem o NRC (2001), mas com a crescente preocupação em relação à sustentabilidade ambiental, tem-se questionado não somente o NRC (2001), mas também outros sistemas de nutrição, e muitos trabalhos têm sido realizados para rever as exigências desse elemento, pois o excesso de P pode ser tão problemático quanto sua falta, além de aumentar o custo de produção. No Brasil, há poucos trabalhos sobre a exigência de fósforo de bovinos em condições de pastagem e, portanto, tem-se deficiência em relação às recomendações de P,

O P é o segundo elemento mineral mais abundante no organismo animal, ficando atrás apenas do Ca. Está envolvido nas funções de crescimento e diferenciação celular por ser um dos componentes dos ácidos nucleicos, participa também do desenvolvimento e manutenção do tecido ósseo (Georgievskii, 1982). Está presente na formação de fosfolípidos sendo responsável pelo transporte de ácidos graxos afetando a permeabilidade celular. É um dos principais componentes de membranas plasmáticas

e participa da manutenção da pressão osmótica e equilíbrio ácido-básico sendo considerado um tampão. Também participa da síntese de proteínas (Ternouth, 1990) e como ATP e ADP está envolvido em processo de regulação de energia.

O P está envolvido no controle do apetite e na eficiência de utilização dos alimentos (Underwood, 1966) e sua deficiência provoca a diminuição da taxa de crescimento do animal (Kincaid et al., 1981). No entanto, apesar do conhecimento das várias funções atribuídas à presença do fósforo no organismo, alguns aspectos relativos ao seu metabolismo nos ruminantes ainda permanecem controversos, como é o caso da determinação da disponibilidade biológica e seu coeficiente de absorção em diferentes alimentos e situações. Ambos são importantes no conhecimento do aproveitamento do mineral fornecido na dieta e no cálculo das necessidades do animal (Bravo et al., 2003a, 2003b).

Para atender às necessidades de P do animal, deve-se fornecer P em quantidade suficiente e disponível. Existem divergências nos valores usados pelo NRC e pelo AFRC especialmente quanto ao coeficiente de absorção do P. O AFRC (1991) foi o primeiro sistema a propor valores diferentes para a disponibilidade do fósforo, dependendo do teor de concentrado da dieta, sendo 0,70 para dieta com alto concentrado e 0,58 para dietas com alto volumoso. Posteriormente, o NRC (2001) propôs valores específicos para forragens e concentrados, mas no dizer de Bravo et al. (2003), alimentos do mesmo grupo, como oleaginosas (com disponibilidade de 0,70 segundo o NRC 2001) podem ser muito diferentes em sua disponibilidade de P, o que os fez testar se valores diferentes de disponibilidade de P devem ser mantido e se a disponibilidade de 0,70 proposta pelo NRC (2001) era adequada. Os autores concluíram que valores de disponibilidade de P foram diferentes para diferentes oleaginosas testadas encontrando o valor proposto de 0,70 apenas para o farelo de soja entre as fontes testadas.

A quantidade de P absorvido no trato gastrointestinal depende além da fonte de P utilizada e disponibilidade do elemento nos alimentos, da exigência do animal, presença de Ca nos diferentes tecidos e da quantidade de P ingerida. O principal local de absorção do P no trato gastrointestinal é no intestino delgado (Hays e Swenson 1988), entre o duodeno e o íleo terminal caracterizados pelo baixo pH necessário para solubilização de precipitados como o de fosfato de cálcio por exemplo. Uma pequena proporção do fósforo total ocorre no intestino grosso.

A absorção de P em ruminantes é realizada por transporte passivo e está direta e positivamente relacionada com seu consumo (Braithwaite, 1985) aumentando com a elevação na concentração intestinal. Já o transporte ativo, é determinado por maior demanda apresentada pelo animal. Segundo Challa et al. (1989), enquanto a absorção de P aumenta com o aumento do consumo, a eficiência de absorção diminui com o mesmo. Segundo Challa & Braithwaite (1988), mais fósforo é absorvido pelo intestino com a suplementação de P já que mais P chega ao duodeno, porém, a eficiência líquida pode ser menor, pela maior quantidade de P sendo excretado nas fezes.

A homeostase de P em ruminantes é conseguida por meio do P secretado pela saliva (P endógeno) e pela excreção do excesso pelas fezes, de acordo com a demanda do animal (Scott et al., 1985). Há relação linear positiva entre o fósforo consumido e o total de fósforo excretado (Bravo et al., 2003), portanto o excesso de P nas fezes varia em função da quantidade de fósforo ingerido, da qualidade da dieta mas também em função do animal (Vitti, 2000).

Nas fezes, o fósforo fecal pode ser dividido em fósforo endógeno e exógeno. O fósforo fecal exógeno é o fósforo não-digerido dos alimentos. O fósforo endógeno atinge o conteúdo intestinal, como parte das secreções, como saliva, como componente de células ou fragmentos celulares descartados do revestimento intestinal, ou contidos em fagócitos.

A reciclagem de P endógeno por meio das secreções salivares no rúmen fornece a maior parte do P para os micro-organismos ruminais já que a secreção salivar de fósforo em ruminantes, geralmente excede a ingestão dietética de P. Quanto à absorção de P pelas paredes do rúmen-retículo, (Stevenson & Unsworth, 1978; Poppi & Ternouth, 1979; Scott & Buchan, 1987) esta não é significativa. Entretanto, Banks & Smith (1984) verificaram que a absorção do P pode ocorrer pelas paredes do omaso.

No rúmen, a deficiência de P pode afetar a digestibilidade ruminal da matéria orgânica e da parede celular e diminuir a produção de ácidos graxos. Sugere-se então, que a exigência de fósforo pelos micro-organismos ruminais, seja tão elevada quanto à do próprio animal.

Komisarczuk et al (1987), testando os efeitos da deficiência de fósforo na atividade microbiana do rúmen, verificaram diminuição da produção de ácidos graxos de cadeia curta totais, aumento do pH ruminal e da concentração de N-NH₃ com a diminuição do P no inóculo usado em Rusitec. Os mesmos autores concluíram que embora a deficiência de P tenha afetado a digestão da celulose, a síntese de proteína e a

utilização de amônia foram significativamente afetados o que confirma a importância do fósforo para o metabolismo microbiano.

Conforme citado por Souza (2004), o conteúdo de P na massa microbiana é de 2 a 6% na MS e a relação N:P de 8:1, havendo uma estimativa de 4 g de P/kg de matéria orgânica digestível, assumindo que 65% da matéria orgânica é fermentada no rúmen. No entanto, esses valores não são constantes e podem variar de acordo com a reciclagem de fósforo endógeno e a quantidade de saliva produzida pelo animal.

A excreção de P pela urina é muito pequena, chegando a menos de 1% e não contribuindo para a homeostase do P no organismo (Ternouth & Sevilla, 1990). Normalmente, as perdas de P urinárias não são relacionadas com a ingestão de P. Apenas quando a ingestão de P excede à demanda do animal e os valores de P sanguíneo ultrapassam 6 mg/dL é que ocorrem perdas significativas de P na urina, pela capacidade de reabsorção dos túbulos renais serem excedidas (Field et al., 1985). Abdelrahman (1998), Antunes (2006) e Borges et al. (2008) observaram correlações positivas entre a ingestão de fósforo e os teores de fósforo sérico

Bravo & Meschy (2003) observaram em vasta revisão, grande variação no comportamento do fósforo no rúmen a cada diferente alimento utilizado nas dietas dos ruminantes e atribuíram as diferenças encontradas na disponibilidade do fósforo ao ecossistema ruminal. Assim, a disponibilidade de fósforo na dieta e sua absorção devem ser conhecidas com precisão e adequadamente determinadas para que novas recomendações sejam feitas em busca da diminuição na ingestão de fósforo.

Wu et al (2000) e Wu (2003) sugeriram que a redução de 20% do fósforo fornecido na dieta não causa efeito no desempenho dos animais mas reduzem 25 a 30% e fósforo excretado nas fezes. Borges et al. (2008), avaliando níveis de P para ovinos, afirmaram que ingestões de P 25% menores do que as recomendadas pelo NRC (1985) foram suficientes para manter os níveis de fósforo na saliva, plasma, conteúdo ruminal, fezes e urina em padrões considerados ideais.

Souza et al. (2007), ao testar o efeito de níveis crescentes de fósforo (8, 12, 15 e 18 g/dia) em dietas de bubalinos alimentados com cana de açúcar, não observaram efeito dos diferentes níveis na digestibilidade dos nutrientes, no pH e concentração de amônia no líquido ruminal, na taxa de passagem de líquidos e sólidos assim como no volume ruminal. No entanto, a ingestão diária média de 15 g aparentemente promoveu melhores resultados que os demais níveis de ingestão testados.

Gartner et al. (1982), depois de induzir a deficiência de fósforo, passaram a suplementar vacas Hereford com 12 g de P/dia (0,09% de P na MS) e observaram significativo aumento no consumo de MS porém baixa digestibilidade aparente da proteína bruta e um ligeiro aumento na digestibilidade da parede celular. Já, Agarwala & Nath (1980) não observaram diferenças nas digestibilidades de nutrientes com dietas contendo níveis crescentes de fósforo (7 a 19 g/dia ou 0,10 a 0,28% na MS). Milton e Ternouth (1985) observaram redução de 5% no coeficiente de digestibilidade da FDN em ovinos com baixa concentração de P ruminal, mas não observaram diferenças na taxa de passagem da fase líquida e no volume ruminal.

LITERATURA CITADA

- AGARWALA, O. N.; NATO, K. Note on the effect of level and source of phosphorus supplements on feed intake, digestion of nutrients and energy utilization in buffalo bulls. **Indian Journal of Animal Science**, v.11, p.993-995, 1980.
- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL-AFRC. Technical committee on responses to nutrients. Report 6. A reappraisal of the calcium and phosphorous requirements of sheep and cattle. **Nutrition Abstract And Reviews**, v. 16, n.9, p. 576-612, 1991.
- ALBDELRAHMAN, M.M.; KINCAID, R.L.; ELZUBEIR, E.A. Mineral deficiencies in grazing dairy cattle in Kordofan and Darfur regions in Western Sudan. **Tropical Animal Health Production**, v.30, p.123-135. 1998.
- AMMERMAN, C. B.; VERDE, G. J.; MOORE, J. E. Biuret, Urea and Natural Proteins as Nitrogen Supplements for Low Quality Roughage for Sheep. **Journal of Animal Science**, v.35, p.121-127, 1972.
- ANTUNES, D.A. Phosphorus deficiency diagnosis in sheep using labeled phosphorus uptake by erythrocytes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.2, p.339-346, 2006.
- BANKS, J.N.; SMITH, R.H. Exchanger of major minerals in the stomach compartments of the ruminating calf. **Canadian of Journal Animal Science**, v.64 (supl.), p.215-216, 1984.
- BORGES, E. E. S.; SILVA FILHO, J. C.; ROQUE, N. C. et al. Dinâmica do fósforo em ovinos alimentados com dietas contendo diversos níveis deste mineral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.9, p.1679-1684, 2008.
- BRAITHWAITE, G.D. Phosphorus requirements of ewes in pregnancy and lactation. **Journal of Agricultural Science**, v.106, p.271-278, 1986.
- BRAVO, D.; MESCHY, F. Towards revised dietary phosphorus recommendation for ruminants. **Productions Animales**, v.16, p.19-26, 2003.
- BRAVO, D.; MESCHY, F.; BOGAERT, C. et al. Phosphorus availability of oilseed meals determined by the apparent faecal digestibility technique. **Animal Feed Science and Technology**, v.108, p.43-60, 2003.
- BRAVO, D.; SUVANT, D.; BOGAERT, C. et al. A bibliographic database for quantitative analysis of phosphorus flow in ruminants. **Reproduction Nutrition Development**, v.43, p.251-269, 2003.

- CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G. D. Phosphorus and calcium metabolism in growing calves with special emphasis on phosphorus homeostasis. 1. Studies of the effect of change in the dietary phosphorus intake on phosphorus and calcium metabolism. **Journal of Agricultural Science**. v.110, p.573-581, 1988.
- CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G. D.; DHANOA, M. S. Phosphorus homeostasis in growing calves. **Journal of Agricultural Science**. v. 112, p. 217-226, 1989.
- CHRISTENSEN, R.A.; CAMERON, M.R.; KLUSMEYER, T.H. et al. Influence of amount and degradability of dietary protein on production of milk components by lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.11, p.3497-3513, 1993.
- COAN, R. M.; REIS, R. A.; FREITAS, D.; BALSALOBRE, M. A. A. **Suplementação de bovinos em pastagens**. 1. ed. Jaboticabal: Funep, 2004.
- EUCLIDES, V.P.B.; MEDEIROS, S.R. Suplementação animal em pastagens e seu impacto na utilização da pastagem. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM. 22., 2005, Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2005. p.33-70.
- FIELD, A. C.; WOOLLIAMS, J. A.; DINGWALL, R. A. The effect of dietary intake of calcium and dry matter on the absorption and excretion of calcium and phosphorus by growing lambs. **The Journal of Agricultural Science**, v.105, p.237-243, 1985.
- GARTNER, J.W.; MURPHY, G.M.; HOEY, W.A. Effects of induced, subclinical phosphorus deficiency, on feed intake and growth of beef heifers. **Journal of Agricultural Science**, v.98, p.23-29, 1982.
- GEORGIEVSKII, V.I. The physiological role of macroelements. In: GEORGIEVSKII, V.I.; ANNENKOV, B.N.; SAMOKHIN, V.T. **Mineral nutrition of animals**. London: Buttenvorths, 1982. p.91-170.
- HAYS, V. W.; SWENSON, M.J. Minerais e ossos. In: SWENSON, M.J. (Ed). **DUKES/Fisiologia dos animais domésticos**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. P.397-427.
- HESS, B.W.; PARK, K.K.; KRYSL, L.J. et al. Supplemental protein for beef cattle grazing dormant intermediate wheatgrass pasture: effects on nutrient quality, forage intake, digesta kinetics, grazing behavior, ruminal fermentation, and digestion. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2113-2123, 1994.
- KINKAID, J. K.; HILLERS, J. K.; CRONRATH, J. D. Calcium and phosphorus supplementation of rations for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 64, p.754-758, 1981.
- KOMISARCZUK, S.; MERRY, R.J.; McALLAN, A. B. Effect of different levels of phosphorus on rumen microbial fermentation and synthesis determined using a continuous culture technique. **British Journal of Nutrition**, v.57, p.279-290, 1987.
- KOSTER, H. H., COCHRAN, R. C., TITGEMEYER, E. C., et al. Effect of increasing degradable intake protein on intake and digestion of low-quality, tallgrass-prairie forage by beef cows. **Journal of Animal Science**, v.74, p.2473-2481, 1996.
- LOUVANDINI, H.; VITTI, D. M. S. S. Cinética de fósforo com modelos matemáticos em ovinos adultos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.42, n.10, p.1467-1472, 2007 .

- MALLMANN, G. M.; PATINO, H. O.; SILVEIRA, A. L. F. et al. Consumo e digestibilidade de feno de baixa qualidade suplementado com nitrogênio não protéico em bovinos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.41, n.2, p.331-337, 2006.
- MILTON, J. T. B.; TERNOUTH, J. H. Phosphorus metabolism in ruminants. II. Effects of inorganic phosphorus concentration upon food intake and digestibility. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 36, p. 647-654, 1985.
- MINSON, D.J. Forage in ruminant nutrition. San Diego, Califórnia: Academic Press., 1990.483p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7 ed Washington , D.C.: National Academy Press, 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Sheep**. Washington , D.C.: National Academy Press, 1985. 99p.
- OSPINA, H.O.; MEDEIROS, F.S. Suplementação a pasto: uma alternativa para produção de novilho precoce. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DA CARNE BOVINA, 1., 2003, São Borja. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2003. p.83-115.
- OWENS, F. N., GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed). **The ruminant animal digestive physiology and metabolism**. New Jersey: Prentice Hall, 1988. p.145-171.
- PIRES, A. V.; OLIVEIRA JUNIOR, R. C.; FERNANDES, J. J. R. et al. Substituição do farelo de soja por uréia ou amiréia na dieta de bovinos de corte confinados. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.39, n.9, p.937-942, 2004.
- POPPI, D.P.; TERNOUTH, J.H. Secretion and absorption of phosphorus in the gastrointestinal tract of sheep fed on four diets. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.30, p.503-512, 1979.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G. et al. A net of carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.
- SANTOS, F. A. P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006, p.255-286.
- SCOTT, D. D.; WHITELAW, F. G.; BUCHAN, W. et al. The effect of variation in phosphorus intake on salivary phosphorus secretion, net intestinal phosphorus absorption and faecal endogenous phosphorus excretion in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v. 105, p.271-277, 1985.
- SCOTT, D.; BUCHAN, W. The effects of feeding either hay or grass diets on salivary phosphorus secretion, net intestinal phosphorus absorption and on the partition of phosphorus excretion between urine and faeces in the sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, v.22, n.3, p.331-338, 1987.
- SILVA, R.M.G.; CABRAL, L.S.; ABREU, J.G. et al. Níveis de uréia em suplementos múltiplos para bovinos de corte durante a época seca. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.3, p.543-553, 2008.
- SOUZA, M.A.; EZEQUIEL, J.M.B.; ROSSI JR., P. et al. Efeitos de fontes nitrogenadas com distintas degradabilidades sobre o aproveitamento da fibra, do nitrogênio e do

- amido em rações para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.5, p.2139-2148, 2002.
- SOUZA, N. H.; FRANZOLIN, R. SOARES, W. V. B. Efeitos das ingestões crescentes de fósforo em dietas à base de cana-de-açúcar sobre a digestibilidade e metabolismo ruminal em bubalinos. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.15, n.2, p.58-64, 2007.
- SOUZA, N.H. **Metabolismo ruminal e balanço de minerais em bubalinos com ingestões de diferentes níveis de fósforo**. 2004. 53p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- STEVENSON, M. H.; UNSWORTH, E. F. Studies on the absorption of calcium, phosphorus, magnesium, copper and zinc by sheep fed on roughage-cereal diets. **British Journal of Nutrition**, v. 40, p.491-496, 1978.
- TERNOUTH, J. H. Phosphorus and beef production in Northern Australia. 3. Phosphorus in cattle a review. *Tropical Grassland*, Brisbane, v. 24, p. 159-169, 1990.
- TERNOUTH, J.H.; SEVILLA, C.C. The effects of low levels of dietary phosphorus upon the dry matter intake and metabolism of lambs. **Australian Journal of Agriculture Resource**, v.41, p.175–184, 1990.
- THIAGO, L.R.S.; GILL, M. Consumo voluntário de forragens por ruminantes: mecanismo físico ou fisiológico? In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL, 7, 1990, Campinas,. **Anais...** Piracicaba, SP:FEALQ, 1990. p.77 – 107
- UNDERWOOD, E. J. The mineral nutrition of livestock. Farnham Royal: CABI, 1966. 237 p.
- VITTI, D.M.S.S.; KEBREAB, E.; ABDALLA, A.L. et al. Kinetic model of phosphorus metabolism in growing goats. **Journal of Animal Science**, v.78, n.10, p.2706-2716, 2000.
- WU, Z. People still are feeding too much phosphorus. **Hoard's Dairyman**, v.148, n.11, p.210, 2003.
- WU, Z.; SATTER L.D.; SOJO, R. Milk production, reproductive performance, and fecal excretion of phosphorus by dairy cows fed three amounts of phosphorus. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1028-1041, 2000.
- ZAHARI, W.M.; SCOTT, D.; LOVERIDGE, N. et al. The effect of high phosphorus intake on calcium and phosphorus retention and bone turnover in growing lambs. **Experimental Physiology**, v.79, p.175-181, 1994.

OBJETIVOS GERAIS

Os objetivos foram avaliar o uso de suplementos com diferentes fontes de nitrogênio em diferentes doses de fornecimento e diferentes níveis de fósforo na dieta de bovinos consumindo feno de baixa qualidade, e seus efeitos sobre o consumo, fermentação e cinética ruminal, eficiência de síntese de proteína microbiana, digestibilidade aparente dos nutrientes e parâmetros sanguíneos.

Capítulo I – Suplementos proteicos com ureia ou farelo de soja sobre o consumo, fermentação e cinética ruminal, digestibilidade aparente dos nutrientes e parâmetros sanguíneos de bovinos alimentados com feno de baixa qualidade

RESUMO: A pesquisa foi conduzida com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação proteica com duas fontes de nitrogênio (ureia e farelo de soja) em duas doses de suplementação sobre a fermentação e a cinética ruminal, os parâmetros sanguíneos de bovinos alimentados com feno de baixa qualidade, o consumo e a digestibilidade aparente dos nutrientes. Foram utilizados cinco bovinos, machos, castrados, da raça Nelore com $366 \text{ kg} \pm 55 \text{ kg}$ de peso corporal, com cânula ruminal. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5×5 , e os tratamentos consistiram na utilização ou não de suplementos com adição de duas fontes de nitrogênio em duas diferentes doses: feno sem suplemento (FSS); feno + 1 g de suplemento com ureia/kg PC (1U), feno + 2 g de suplemento com ureia/kg PC (2U), feno + 1 g de suplemento com farelo de soja/kg PC(1FS), feno + 2 g de suplemento com farelo de soja/kg PC (2FS). O uso de suplementos proteicos aumentou a ingestão, o fluxo omasal e fecal, a digestibilidade ruminal e total dos nutrientes, a concentração de N-ureico no soro, a concentração de N-NH₃ e a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta no rúmen. O suplemento contendo farelo de soja apresentou maior fluxo omasal de PB, maior coeficiente de digestibilidade total da MS, MO, PB e FDN, maior coeficiente de digestibilidade intestinal da PB, além de maior taxa de desaparecimento e digestão ruminal. Já a ureia foi responsável pelo maior fluxo fecal de MO, PB e FDN além da maior taxa de diluição da dieta e da maior taxa de reciclagem. Entre as doses de suplementação, melhores respostas foram encontradas com doses maiores de suplementação.

Palavras-chave: dióxido de titânio, fósforo, nitrogênio não-proteico, proteína verdadeira, suplementação

**Chapter I – Protein supplements with urea or soybean meal on intake,
fermentation and kinetics, apparent digestibility and blood parameters of cattle
fed low quality hay**

ABSTRACT: The research was carried out to evaluate the effect of protein supplemental and different nitrogen sources (urea or soybean meal) at two doses of supplementation on ruminal fermentation and kinetics, parameters blood of cattle fed with low quality hay, intake, and apparent digestibility of nutrients. Five steers Nellore with $366 \text{ kg} \pm 55 \text{ kg}$ body weight, cannulated in the rumen were used. The experimental design was a Latin square 5×5 , and the treatments were the use or not of protein supplements with or without addition of two nitrogen sources at different doses: hay without supplementation (HWS), hay + 1 g urea supplement/kg PC (1U), hay + 2 g urea supplement/kg PC (2U), hay + 1 g soybean meal supplement/kg PC (1SM), hay + 2 g soybean meal supplement/kg PC (2SM). The use of supplements increased intake, omasal and fecal flow, ruminal and total digestibility of nutrients, serum concentration of urea nitrogen, concentration of N-NH_3 and total concentration of short chain fatty acids in the rumen. The supplement containing soybean meal had the highest omasal flow of CP, increased total digestibility of DM, OM and NDF, increased intestinal digestibility of CP, and had the highest rate of disappearance and digestion. The urea was responsible for the increased fecal flow of OM and NDF, the highest rate of dilution of the diet and also increased recycling rate. Between doses of supplementation, higher responses were found with the highest doses at supplementation.

Key words: titanium dioxide, rumen evacuation, phosphorus, nonprotein nitrogen, true protein, supplementation

INTRODUÇÃO

Em condições de pastagem, a produção de bovinos tem para os produtores um grande desafio, vencer a produção sazonal das forragens. As forrageiras apresentam produção e valor nutricional variável durante o ciclo anual de produção (produção sazonal). Nos meses de maior precipitação e calor (período das águas), a disponibilidade de matéria seca é maior, com melhor valor nutricional das forrageiras. Na época de temperaturas mais amenas (período da seca), seu crescimento e valor nutricional são sensivelmente menores, há grande aumento no percentual de fibra não-digestível, queda no conteúdo de proteína e na digestibilidade da forragem, sendo que, nestas condições, o consumo voluntário é reduzido a níveis mínimos (Peruchena, 1999).

Somados aos outros fatores que interferem na cadeia produtiva, a produção sazonal e o baixo valor nutritivo das forrageiras, impedem o desenvolvimento contínuo e uniforme dos animais durante o ano, o que precisa ser corrigido ou amenizado. Numerosas pesquisas têm indicado que a suplementação proteica, em condições de pastagem de baixa qualidade, pode melhorar a produção de bovinos de corte (DelCurto et al., 1990), já que a proteína é o nutriente mais limitante nessas condições. Fatores como a degradabilidade da proteína no rúmen, a utilização de nitrogênio amoniacal pelos micro-organismos do rúmen, síntese de proteína microbiana, além da qualidade e quantidade da proteína precisam estar ajustados para o melhor atendimento nutricional e melhor desempenho.

A utilização de suplementos proteicos tem o objetivo de atender à deficiência de nitrogênio dos micro-organismos ruminais, para isso tem-se recomendado o uso de alimentos com fonte de proteína verdadeira, como o farelo de soja, ou fontes de nitrogênio não-proteico, como a ureia, provocando desse modo o aumento no consumo de matéria seca e, conseqüentemente, maior ingestão de energia.

O farelo de soja, que apresenta menor teor de proteína não-degradável no rúmen quando comparado à ureia e elevado custo, tem a vantagem da maioria de seus

nutrientes servirem aos micro-organismos ruminais para a síntese de proteína microbiana. Já a ureia tem sido utilizada para aumentar a proteína degradável no rúmen em substituição parcial ou total às fontes de proteína verdadeira, diminuindo assim o custo da suplementação uma vez que as fontes convencionais de proteína verdadeira concorrem com a alimentação humana, elevando o preço da dieta.

Koster et al. (1996) verificaram que a suplementação com até 75% do nitrogênio proveniente da ureia aumentou o consumo e a digestibilidade, porém níveis maiores de inclusão provocaram efeito contrário pela falta de aminoácidos, peptídeos e ácidos graxos necessários para o crescimento de células bacterianas. Na tentativa de diminuir o custo da suplementação, fontes de nitrogênio não-proteico (NNP) são cada vez mais usadas e, nesse sentido, a ureia é extremamente vantajosa, já que além de ter baixo custo é a fonte de NNP mais disponível.

Da mesma forma que o nitrogênio proveniente da ureia, o nitrogênio oriundo do farelo de soja, também pode causar prejuízos ou deixar de apresentar resultados positivos quando fora dos limites de requerimento. A deficiência pode responder negativamente pelo não-atendimento aos micro-organismos ruminais, já o excesso pode causar prejuízos pela toxidez na liberação de amônia o qual aumenta a excreção de ureia na urina, caracterizando o desperdício de proteína e assim, apesar de parecer benéfico pelo maior fornecimento de peptídeos, aminoácidos e amônia, o maior aporte de proteína no rúmen pode limitar o desempenho animal.

Desta forma, o experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito de suplementos proteicos com duas fontes de nitrogênio em duas doses de fornecimento, sobre o consumo, a fermentação e a cinética ruminal, a digestibilidade aparente dos nutrientes e os parâmetros sanguíneos em bovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Avaliação de Alimentos para Animais Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), localizada no distrito de Iguatemi, e as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá.

Foram utilizados cinco bovinos da raça Nelore canulados no rúmen, castrados, com $366 \text{ kg} \pm 55 \text{ kg}$ de peso corporal (PC). Os animais foram alojados em galpão de alvenaria, em baias individuais, com $8,75 \text{ m}^2$ ($2,5 \times 3,5 \text{ m}$), dotadas de dois comedouros em polietileno, um para fornecimento de feno e outro para o suplemento, e bebedouros automáticos.

Os animais foram alimentados com feno duas vezes ao dia, pela manhã (08h30min) e à tarde (16h30min), e com suplemento apenas antes do fornecimento do primeiro trato, recebendo água à vontade. As baias eram limpas diariamente e lavadas uma vez por semana. Os bebedouros eram lavados diariamente, assegurando assim, o fornecimento de água de boa qualidade. Os animais foram pesados no início de cada período experimental, com o objetivo de ajustar o fornecimento dos suplementos a cada período. Já o fornecimento do feno era ajustado diariamente pela pesagem das sobras no cocho, garantindo sempre 10% de sobras.

Os animais foram distribuídos em cinco dietas experimentais à base de feno de capim braquiária (*Brachiaria humidicola* cv. Llanero) picado, suplementados ou não com duas doses e duas fontes de proteína, em delineamento experimental em quadrado latino 5×5 . Os tratamentos foram: 1) feno sem suplementação proteica (FSS); 2) feno + 1 g de suplemento contendo ureia/kg de peso corporal (1U); 3) feno + 2 g de suplemento contendo ureia/kg de peso corporal (2U); 4) feno + 1 g de suplemento

contendo farelo de soja/kg de peso corporal (1FS); 5) feno + 2 g de suplemento contendo farelo de soja/kg de peso corporal (2FS). A concentração de fósforo nos suplementos foi diferente em função do fornecimento dos suplementos 1U e 1FS ter sido 50% inferior aos suplementos 2U e 2FS, e assim, os suplementos 2U e 2FS continham 50% da concentração de minerais dos suplementos 1U e 1FS. A concentração de fósforo no feno era de 0,13%. A composição em ingredientes dos suplementos e a composição bromatológica do feno e suplementos são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição percentual e química dos suplementos

Ingredientes	Suplementos				
	1U	2U	1FS	2FS	
Caulim	0,00	2,15	2,78	0,00	
Enxofre 70S	0,93	0,93	1,02	1,01	
Farelo de soja	0,00	0,00	91,62	89,55	
Fosfato bicálcico	5,04	2,01	3,02	0,00	
Milho grão	80,43	81,48	0,00	8,02	
Óxido de magnésio	1,16	1,15	1,29	1,28	
Mistura mineral	0,27	0,13	0,27	0,13	
Ureia	12,17	12,14	0,00	0,00	
Composição	Feno	1U	2U	1FS	2FS
MS	91,07	91,46	91,36	91,39	90,81
MO	94,34	79,34	80,38	84,95	90,95
PB	6,17	40,72	40,70	42,88	42,56
FDN	80,52	7,92	8,02	9,61	10,19
P	0,13	1,15	0,59	1,21	0,66

¹ A mistura mineral apresentou a seguinte composição: 3 ppm de Co; 280 ppm de Cu; 10 ppm de I; 400 ppm de Mn; 2 ppm de Se; 840 ppm de Zn; 0,8% de S; 0,8% de Mg e 2% de Na.

Os períodos experimentais tiveram a duração de 31 dias, com oito dias de coleta de amostras realizadas no período compreendido entre o 21^o e 31^o dias.

Com o objetivo de determinar a digestibilidade total e parcial da MS, MO, PB, FDN e o desaparecimento parcial e total de fósforo e cálcio foram coletadas amostras de digesta omasal (300-500 mL) por meio do orifício retículo omasal, e de fezes (aproximadamente 200 g) diretamente no reto. As amostras de digesta omasal e de fezes foram coletadas a partir do 21^o, por um período total de seis dias, em horários diferentes (07, 10, 13, 16, 19 e 22h), totalizando seis amostras de digesta omasal e seis amostras de fezes por animal/tratamento/período. A coleta de digesta omasal foi realizada por sucção com o auxílio de uma bomba de vácuo, segundo técnica descrita por Leão et al.

(2002). Para determinação do fluxo omasal e da produção fecal, a partir do 14^o dia de cada período experimental todos os animais receberam uma dose diária de 10 g de TiO₂ (dióxido de titânio) intraruminalmente, no horário do fornecimento do primeiro trato.

As amostras de digesta omasal e de fezes foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente etiquetados e congeladas (-20° C) para posterior processamento e análises. Posteriormente, estas foram pré-secas em estufa de circulação forçada de ar a 60°C por 72h, moídas individualmente em moinhos do tipo Willey, utilizando peneira com crivos de 1 mm, sempre misturadas em quantidades iguais e proporcionais com base no peso seco, para formar amostras compostas de digesta omasal e de fezes por animal/tratamento/período.

As sobras de alimento no comedouro foram recolhidas diariamente, pesadas e amostradas, sendo, então, congeladas para posteriores análises. Estas amostras passaram pelo mesmo procedimento descrito anteriormente para o preparo das amostras de digesta omasal e de fezes. As amostras do feno e do concentrado foram realizadas, semanalmente e, misturadas em amostras compostas, para cada período experimental.

As amostras dos alimentos utilizados nas dietas experimentais, das sobras no cocho, de digesta omasal e de fezes foram analisadas para teores de MS, MO, PB, EE e Ca (AOAC, 1995), FDN (Van Soest et al., 1991) e P (Fiske & Subbarow, 1925). Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram obtidos conforme recomendações de Sniffen et al. (1992).

Amostras de digesta omasal e de fezes foram analisadas para TiO₂ segundo Myers et. al. (2004). Foram pesados 0,5 g de amostras de fezes e omaso em duplicata em tubos Macro-Kjedahl de peso previamente conhecido. Amostras de material sem adição de titânio também foram pesadas para posterior correção da leitura da absorbância. Adicionaram-se 3,5 g de K₂SO₄ e 0,4 g de CuSO₄ em cada tubo, como solução catalisadora. Foram adicionados 15 mL de H₂SO₄ concentrado, e procedeu-se a digestão das amostras a 420°C por 2h. Após a digestão, os tubos foram retirados da chapa aquecedora e permaneceram em capela por aproximadamente 30 min para estabilizar com a temperatura ambiente. Posteriormente, em cada tubo, procedeu-se a inclusão de 10 mL de H₂O₂ esperando esfriar por mais 30 min. Logo após a estabilização da temperatura, o líquido digerido foi completado para 100 g usando água destilada. As amostras foram então homogeneizadas e filtradas em papel filtro Whatman 541 para remoção do precipitado e efetuou-se a leitura em espectrofotômetro a 410 nm. A curva padrão foi preparada e digerida da mesma forma que as amostras, adicionando-se aos

tubos 0, 2, 4, 6, 8 e 10 mg de TiO_2 . O tubo com 0 mg de TiO_2 foi utilizado para zerar o equipamento.

No 22º dia de cada período experimental, 4h após a alimentação da manhã, fora realizada uma coleta de sangue por punção da veia jugular, em tubos sem anticoagulante para obtenção do soro. O soro foi obtido por centrifugação a $2.500 \times g$ por 15 min em temperatura ambiente (24°C) e foi analisado fósforo inorgânico (Little et al., 1971). No soro e na urina foram determinadas as concentrações de ureia, segundo o método diacetil modificado (kits comerciais). A concentração de N ureico no soro (NUS) foi obtida por meio do produto da concentração da ureia pelo valor 0,466 correspondente ao teor de N na ureia.

Para determinar o pH e a concentração de amônia (N-NH_3) no líquido ruminal, foram coletadas amostras do fluido ruminal (cerca de 150 mL) no 24º e 25º dia, via cânula ruminal, nos tempos 0; 2; 4; 6, 8, 10, 12 e 24h para pH ruminal e 0; 2; 4; 6 e 8h para a concentração de amônia no líquido ruminal, em cada período experimental. O tempo zero correspondeu à amostra colhida imediatamente antes do fornecimento do feno e dos suplementos, e o tempo 8, imediatamente antes do segundo fornecimento de feno (16h). O pH foi medido imediatamente após a coleta e 50 mL de fluido ruminal foram acidificados com 1 mL de $\text{H}_2\text{SO}_4(1:1)$ e armazenados a -20°C , para posterior análise de amônia. A dosagem de amônia nas amostras de líquido ruminal foi determinada pela técnica de Fenner (1965) modificada por Vieira (1980).

Para determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), foram coletadas amostras de 50 mL de líquido ruminal, nos tempos 1; 2; 3 e 4h após a primeira alimentação do dia, e imediatamente congeladas para posterior análise. Após o total descongelamento, as amostras foram centrifugadas a $15.000 \times g$ (4°C), durante 50 min, analisadas de acordo com Campos et al. (2004), em cromatógrafo líquido-gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II GC), equipado com integrador (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett Packard 6890 Series Injector). O padrão interno utilizado foi o ácido 2-metilbutírico sendo acrescentado, em cada tubo para leitura em cromatógrafo, 100 μL do padrão interno, 800 μL da amostra e 200 μL de ácido fórmico. Uma mistura de ácidos graxos voláteis com concentração conhecida foi utilizada como padrão externo para a calibração do integrador.

Para determinação da cinética da fase líquida foi administrado no rúmen dos animais 30 g de Co-EDTA diluído em 500 mL de água destilada antes da primeira alimentação e infundido em dose única para a determinação da taxa de passagem de

líquidos (Udén et al., 1980). Foram coletados cerca de 50 mL de líquido ruminal antes da infusão e a cada 2h até completar 12h e uma última coleta às 24h após a administração do marcador. A taxa de passagem de líquido e as curvas de concentração ruminal do cobalto EDTA foram ajustadas ao modelo exponencial unicompartmental de Hungate (1966), citado por Colucci (1984): $Y_{co} = A.e^{(-kl.t)}$, em que Y_{co} = concentração do indicador no tempo t; A = concentração de equilíbrio do cobalto; kl = taxa de passagem ou de diluição do cobalto; e t = tempo de amostragem.

Os parâmetros da dinâmica da fase líquida foram calculados de acordo com Colucci et al. (1990) sendo: tempo de retenção no rúmen (h) = 1/ taxa de passagem de fluidos ($TpRet = 1/ klCo$ em %/h); volume de líquido ruminal (L) = quantidade de cobalto fornecida (mg) /A ($VR = Co/A$); taxa de fluxo ruminal (L/h) = taxa de passagem ou de diluição do cobalto multiplicado pelo volume ruminal ($kl_{co} \times VR$); taxa de reciclagem da fase líquida ruminal (nº de vezes/dia) = $24h/TpRet$, calculada conforme Maeng & Baldwin (1976)

Para determinação da cinética da fase sólida, além do Kp da fase líquida determinado pela administração do Co-EDTA, foi utilizada a técnica de esvaziamento ruminal baseada na técnica descrita por Rinne et al. (1997) e Khalili & Huhtanen (2002). Todos os animais tiveram o rúmen esvaziado manualmente duas vezes por período em dois horários distintos (7 e 11h) com pelo menos 48h de intervalo entre o primeiro e o segundo esvaziamento. Cada animal teve todo seu conteúdo transferido para tambores previamente forrados com tecido de algodão e tarados. Após o completo esvaziamento, os tambores foram pesados determinando assim o peso do conteúdo total do rúmen. Posteriormente, o material foi retirado dos tambores, foi prensado e foram efetuadas a separação e a pesagem das porções líquida e sólida, e determinou-se em seguida o percentual de sólido e líquido. Amostras de 200 mL de líquido ruminal foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos, devidamente etiquetados e congeladas (-20° C) para posterior processamento e análises. Da mesma forma, amostras de 2,5 kg representativas do conteúdo ruminal através do percentual de sólido e líquido determinado na prensagem também foram armazenadas. Imediatamente após a amostragem, o conteúdo restante, sólido mais líquido, foi devolvido para o rúmen do respectivo animal. Logo após a amostragem foi realizada a secagem e determinação do teor de MS de todas as amostras coletadas para a estimativa da taxa de passagem da fase sólida (Kps), taxa de desaparecimento (kt) e por diferença da taxa de digestão (Kd) já que ($Kt = Kp + Kd$).

O trabalho foi conduzido em delineamento experimental quadrado latino 5 x 5, onde foram avaliados cinco tratamentos. Os dados foram interpretados utilizando-se a metodologia de modelos mistos por meio do método de quadrados mínimos. O modelo utilizado considerou o efeito de animal, período e tratamento para cada variável. Também foi considerado efeito de horário de coleta e a interação tratamento x horário de coleta para as variáveis com amostras repetidas no tempo (pH, N-NH₃ e AGCC). Para estas variáveis também foram realizadas análises de regressão polinomial.

Os testes de hipótese para todas as variáveis testadas foram realizadas por meio de contrastes ortogonais sendo eles: 1= FSS x 1U, 2U, 1FS, 2FS; 2= 1U, 2U x 1FS, 2FS; 3= 1U x 2U; 4= 1FS x 2FS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inclusão de suplementos proteicos de baixo consumo à dieta de bovinos consumindo feno de baixa qualidade influenciou de forma positiva ($P<0,05$) o consumo de matéria seca e de nutrientes (Tabela 2).

Tabela 2 – Consumo de matéria seca e de nutrientes em bovinos alimentados com feno de baixa qualidade com suplementação proteica

	TRATAMENTOS					CV(%)	CONTRASTES			
	FSS	1U	2U	1FS	2FS		1	2	3	4
	Consumo (g/dia)									
MS – T	4203,8	5650,8	5936,5	5480,3	5781,1	3,97	***	-	*	*
MS – F	4203,8	5318,8	5277,0	5152,5	5166,9	5,43	***	-	-	-
PB	283,7	463,6	594,3	458,7	580,5	5,89	***	-	***	***
FDN	3698,8	4308,8	4301,8	4180,2	4222,8	3,74	***	-	-	-
NDT	2413,2	3490,2	3679,0	3351,4	3634,2	5,79	***	-	-	**
	Consumo (%PC)									
MS	1,21	1,57	1,65	1,55	1,68	5,87	***	-	-	**
FDN	0,97	1,19	1,20	1,18	1,23	6,27	***	-	-	-
NDT	0,69	0,97	1,02	0,94	1,06	6,26	***	-	-	**
	Consumo (g/kg ^{0,75})									
MS	52,07	68,08	71,83	66,93	72,11	5,61	***	-	-	**
FDN	41,93	51,94	52,09	51,08	52,72	5,99	***	-	-	-
NDT	29,81	42,01	44,43	40,78	45,40	5,96	***	-	-	**

MS – T = Matéria Seca total; MS – F = Matéria seca oriunda do feno; FSS=Feno sem suplementação; 1U= Suplementação com ureia em 1 g/kg; 2U= Suplementação com ureia em 2 g/kg; 1FS= Suplementação com farelo de soja em 1 g/kg; 2FS= Suplementação com farelo de soja em 2 g/kg. Contraste 1= FSS x 1U, 2U, 1FS, 2FS; 2= 1U, 2U x 1FS, 2FS; 3= 1U x2U; 4= 1FS x 2FS; *** = $P<0,001$; ** = $P<0,05$; * = $P<0,10$; - = não-significativa.

O consumo médio dos animais que foram alimentados com feno sem suplementação foi de 4203,8 g de MS/animal/dia, correspondente a 1,21% do PC (peso corporal), ou 52,1 g MS/kg de PC^{0,75}, sendo estes valores inferiores ($P<0,001$) aos apresentados por animais suplementados, que apresentaram média de 5228,8 g/MS/animal/dia na ingestão de feno e de 5712,2 g/MS/animal/dia, 1,61% do PC ou

69,7 g MS/kg de PC^{0,75} na ingestão da dieta total. A suplementação aumentou em 1.025 g/dia por dia o consumo de feno, o que corresponde a 24,3% de aumento no consumo de MS, independente da forma ou dose de proteína utilizada.

A utilização do feno de baixa qualidade, com alto teor de FDN (80,52%) e baixa proteína bruta (6,17%) limitou o consumo dos animais uma vez que a atividade ruminal foi comprometida e com ela o atendimento das necessidades de proteína que nos bovinos acontece pelo suprimento de aminoácidos oriundos da proteína microbiana e PNDR. Além da limitação nutricional, também pode ter ocorrido a limitação do consumo pelo efeito físico de distensão do trato provocado pelo feno de baixa qualidade hidratado pela alta salivacão a que provoca. Segundo Mertens (1994), quando o consumo de FDN é superior a 1,2% do PC ou 11 a 13 g/kg de PC, a ingestão é limitada pelo efeito físico de “enchimento” do rúmen. Neste caso, todos os animais que receberam suplementos sugerem a limitação pelo efeito físico de “enchimento” já que apresentaram valores próximos a 1,2% do PC e valores de 11,94; 12,00; 11,80; 12,27 g/kg de PC para o consumo de FDN nos suplementos 1U; 2U; 1FS e 2FS respectivamente. Exatamente pelo controle físico que provoca, uma vez que estão associadas às características da forragem e também a época do ano, Preston & Leng (1987) afirmam que o consumo voluntário de forrageiras tropicais pelos bovinos varia de 30 a 80 g/kg^{0,75} enquanto no caso de plantas de clima temperado esse valor pode chegar a 140 g/kg^{0,75}.

Assim como ocorreu com o consumo de MS, o consumo dos demais nutrientes, independente da unidade utilizada para expressá-los também foi significativamente inferior ($P < 0,001$) para os animais que não receberam suplemento. No caso dos animais suplementados, o atendimento dos níveis mínimos de N através da suplementação contribuiu para o aumento do consumo de MS e, como consequência, dos demais nutrientes, até atingir o limite físico do rúmen não importando a fonte de proteína utilizada na suplementação.

Suplementos proteicos aumentaram ($P < 0,001$) em 240,59 g/dia o consumo de PB e em 554,63 g o consumo de FDN. A suplementação melhorou ($P < 0,05$) o consumo de NDT em relação ao feno em 46,6%, elevando este valor de 2413,16 g/dia em animais alimentados exclusivamente com feno para 3538,70 g/dia nos animais suplementados, o que justifica a utilização de suplementos em condições de pastagem de baixa qualidade.

Entre as fontes de proteína utilizadas nos suplementos observa-se que tanto a ureia quanto o farelo de soja não apresentaram influência no consumo de nenhum dos

nutrientes testados. No entanto, entre as diferentes doses de fornecimento dos suplementos contendo ureia ou farelo de soja, constata-se a superioridade das maiores doses de cada fonte em alguns nutrientes.

Quando o suplemento contendo ureia foi fornecido em 2 g/kg de PC (2U), o consumo de MS do suplemento aumentou ($P<0,001$) de 332,0 g/dia para 659,5 g/dia se comparado a 1g/kg de PC (1U), já o maior fornecimento de suplemento contendo farelo de soja (2FS) aumentou o consumo de MS oriundo do suplemento de 327,7 g/dia para 614,23 g/dia ($P<0,001$) se comparado à menor dose (1FS). Em relação ao NDT, o maior fornecimento do suplemento contendo farelo de soja (2FS) apresentou efeito significativo ($P<0,05$) aumentando em 282,86 g/dia a ingestão de NDT/dia em comparação ao fornecimento de 1g/kg de PC (1FS).

Suplementos fornecidos em maiores dosagens independente da fonte de proteína utilizada elevaram ($P<0,001$) o consumo de proteína dos animais. Segundo Egan & Doyle (1985), são necessários 0,587 kg de PB/dia para animais semelhantes aos usados no presente trabalho, para melhorar a fermentação no rúmen e não prejudicar o consumo. Esta recomendação é muito próxima das quantidades de proteína ingeridas pelos animais que foram suplementados com 2U (594,3 g/dia) e 2FS (580,5 g/dia), o que sugere uma carência na ingestão de PB tanto no tratamento sem suplementação quanto nos tratamentos com doses menores de inclusão das fontes de proteína. Já o NRC (1996) estima a exigência de 684 g de PB/dia o que torna todos os tratamentos testados carentes em proteína.

Como visto, o suplemento (2U) contendo ureia apresentou-se superior ($P<0,001$) apenas para consumo de MS oriunda do suplemento e para o consumo de PB (em função da maior quantidade de proteína fornecida na maior quantidade de suplemento), enquanto a maior dose de suplemento contendo farelo de soja apresentou superioridade ($P<0,05$) para o consumo de MS oriunda do suplemento e MS total da dieta (tanto em %PC quanto em $\text{g/kg}^{0,75}$), PB (g/dia) além do NDT (g/dia, %PC e $\text{g/kg}^{0,75}$), o que seria mais oneroso, no entanto, mais interessante no sentido do atendimento nutricional.

A suplementação aumentou ($P<0,05$) o fluxo de MS para o omaso, de 2239,0 g para 2833,2 g e de 1732,1 g para 2105,5 g ($P<0,001$) o fluxo fecal (Tabela 3). Assim como o ocorrido com a MS, os demais nutrientes também foram influenciados pela suplementação, aumentando tanto o fluxo para o omaso quanto o fluxo fecal ($P<0,05$).

Nota-se que o fluxo de proteína para o omaso superou a ingestão de proteína indicando o maior aparecimento de ureia no rúmen pela reciclagem de N pela saliva nos animais que não receberam suplementação (Titgemeyer, 1997).

Tabela 3 – Fluxos omasal e fecal de MS, MO, PB, FDN e P

	TRATAMENTOS					CV(%)	CONTRASTES			
	FSS	1U	2U	1FS	2FS		1	2	3	4
Fluxo Omasal (g/dia)										
MS	2239,02	2759,19	3064,47	2748,92	2760,35	13,51	**	-	-	-
MO	1884,23	2316,93	2588,00	2296,09	2334,64	13,35	**	-	-	-
PB	295,14	338,40	393,11	377,69	387,14	9,85	**	**	-	-
FDN	1424,30	1756,65	1911,94	1726,63	1732,18	15,16	**	-	-	-
P	11,07	14,27	15,07	13,96	12,44	15,66	**	-	-	-
Fluxo Fecal (g/dia)										
MS	1732,12	2132,92	2296,95	1994,00	1998,35	3,97	***	-	*	*
MO	1586,16	1956,32	2115,26	1823,68	1832,09	11,93	**	*	-	-
PB	133,30	166,05	178,71	151,64	157,79	9,85	**	**	-	-
FDN	1293,51	1564,95	1707,40	1476,95	1477,25	13,01	**	*	-	-
P	4,73	7,04	6,42	6,42	6,35	13,32	**	-	-	-

FSS=Feno sem suplementação; 1U= Suplementação com ureia em 1 g/kg; 2U= Suplementação com ureia em 2 g/kg; 1FS= Suplementação com farelo de soja em 1 g/kg; 2FS= Suplementação com farelo de soja em 2 g/Kg. Contraste 1= FSS x 1U, 2U, 1FS, 2FS; 2= 1U, 2U x 1FS, 2FS; 3= 1U x 2U; 4= 1FS x 2FS; *** = P<0,001; ** = P<0,05; * = P<0,10; - = não-significativa.

Animais que receberam suplementos contendo ureia apresentaram um fluxo omasal de proteína (365,7 g/dia) inferior (P<0,05) àqueles que receberam suplementos contendo farelo de soja (382,4 g/dia). O contrário ocorreu em relação ao fluxo fecal, que foi maior (P<0,05) nos animais que receberam suplemento contendo ureia (172,4 g/dia) quando comparados àqueles que receberam suplementos contendo farelo de soja (154,7 g/dia). Animais suplementados com ureia ainda apresentaram (P<0,10) maior fluxo de MO (2035,8 g/dia vs. 1827,9 g/dia) e FDN (1636,2 g/dia vs. 1477,1 g/dia) para o intestino, se comparados aos animais que receberam suplementos contendo farelo de soja. Maiores doses de fornecimento de suplemento, independente da fonte de proteína utilizada, foram responsáveis por maior fluxo de MS chegando ao intestino (P<0,10). Com relação aos demais nutrientes, estes não foram influenciados pelas diferentes fontes de proteína, nem mesmo pelas suas diferentes doses de fornecimento (P>0,05).

Animais que foram suplementados apresentaram (P<0,05) maior digestão ruminal da matéria seca (2811 g/dia vs. 2273,3 g/dia) se comparados aos animais sem suplementação (Tabela 4). Animais suplementados apresentaram significativo aumento

($P < 0,05$) na digestão total da matéria seca (1083,2 g/dia) e no coeficiente de digestibilidade aparente total que aumentou de 58,33% para 63,05%.

Tabela 4 – Digestão ruminal, intestinal e total e coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, PB e FDN

	TRATAMENTOS					CV(%)	CONTRASTES			
	FSS	1U	2U	1FS	2FS		1	2	3	4
Matéria Seca (MS)										
DR	2273,27	2619,27	2872,03	2731,34	3020,79	11,40	**	-	-	-
CDR	49,55	50,70	48,44	49,64	52,52	11,53	-	-	-	-
DI	506,90	626,27	767,51	754,92	762,00	48,74	-	-	-	-
CDI	22,85	22,73	24,32	26,58	26,31	36,57	-	-	-	-
DT	2471,65	3310,81	3639,54	3486,26	3782,79	6,37	***	-	-	**
CDT	58,33	62,12	61,20	63,46	65,41	5,24	**	*	-	-
Matéria Orgânica (MO)										
DR	2081,73	2964,40	2920,58	2843,36	3098,62	10,85	**	-	-	-
CDR	50,98	55,74	53,12	55,12	57,32	9,01	-	-	-	-
DI	298,07	360,61	472,74	472,41	502,56	66,51	-	-	-	-
CDI	15,82	15,37	17,48	19,46	20,18	55,94	-	-	-	-
DT	2379,80	3325,01	3393,32	3315,77	3601,17	5,83	***	-	-	**
CDT	59,63	62,84	61,52	64,37	66,28	5,04	**	**	-	-
Proteína Bruta (PB)										
DR	-35,54	125,24	201,19	81,01	193,35	42,25	***	-	**	**
CDR	17,46	26,25	33,71	17,30	33,22	77,48	***	-	-	-
DI	161,84	172,36	214,40	226,06	229,35	23,85	*	-	-	-
CDI	54,83	51,12	56,61	59,73	57,92	9,93	-	**	-	-
DT	126,30	297,59	415,58	307,07	422,70	8,21	***	-	***	***
CDT	51,08	64,07	69,62	66,88	72,39	4,31	***	**	**	**
Fibra em Detergente Neutro (FDN)										
DR	2237,05	2334,80	2247,20	2291,58	2397,31	6,67	**	-	-	-
CDR	60,52	56,53	55,62	58,54	59,19	8,63	-	-	-	-
DI	208,78	242,81	285,25	347,27	333,83	63,50	-	-	-	-
CDI	14,63	13,36	13,68	18,11	17,46	48,70	-	-	*	*
DT	2306,58	2577,60	2416,39	2703,20	2745,55	6,30	***	-	-	-
CDT	61,38	63,48	60,20	65,76	66,07	4,62	*	**	-	-

DR = Digestão ruminal (g/dia); CDR = Coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (%); DI = Digestão Intestinal (g/dia); CDI = Coeficiente de digestibilidade aparente intestinal (%); DT = Digestão Total (g/dia); CDT = Coeficiente de digestibilidade aparente total (%); FSS=Feno sem suplementação; 1U= Suplementação com ureia em 1 g/kg; 2U= Suplementação com ureia em 2 g/kg; 1FS= Suplementação com farelo de soja em 1 g/kg; 2FS= Suplementação com farelo de soja em 2 g/kg. Contraste 1= FSS x 1U, 2U, 1FS, 2FS; 2= 1U, 2U x 1FS, 2FS; 3= 1U x2U; 4= 1FS x 2FS; *** = $P < 0,001$; ** = $P < 0,05$; * = $P < 0,10$; - = não-significativa.

Altos valores de digestibilidade foram encontrados para a MS, inclusive para os animais alimentados exclusivamente com feno. Neste caso, a baixa ingestão de MS provocada pela restrição natural a qual os animais foram submetidos (baixa qualidade

da forragem), parece ter aumentado a digestibilidade do mesmo, já que quando o consumo é baixo, a taxa de passagem diminui, ocorrendo maior retenção do alimento no rúmen resultando em aumento da digestibilidade pelo maior tempo que o alimento permaneceu no trato digestório em exposição à ação dos micro-organismos.

Animais que receberam suplementos contendo farelo de soja apresentaram ($P < 0,10$) maior coeficiente de digestibilidade aparente total da matéria seca (64,43%) que os animais que receberam suplementos contendo ureia (61,66%). Entre as doses de fornecimento, observa-se que os animais que receberam 2FS apresentaram maior ($P < 0,05$) digestão total da matéria seca que aqueles consumindo 1FS (3782,89 g/dia vs. 3486,16 g/dia).

Nos animais que foram suplementados houve aumento na digestão ruminal da matéria orgânica ($P < 0,05$) de 2081,73 g/dia para 2956,74 g/dia, e na digestão total ($P < 0,001$) de 2379,80 g/dia para 3408,8 g/dia de MO se comparados aos animais que foram alimentados apenas com feno. A suplementação ainda aumentou ($P < 0,05$) o coeficiente de digestibilidade aparente total da matéria orgânica de 59,63% para 63,75%. Quando comparadas as duas fontes utilizadas para suplementação, pode-se observar a superioridade ($P < 0,05$) do farelo de soja em relação à ureia quanto ao coeficiente de digestibilidade aparente total da MO que passou de 62,18% para 65,32%. Entre as doses de suplementos testados, observa-se que animais suplementados com 2FS apresentaram ($P < 0,05$) maior digestão total da matéria orgânica que animais suplementados com 1FS.

A suplementação proteica elevou ($P < 0,05$) de -35,54 g/dia para 150,20 g/dia a digestão ruminal da proteína e de 17,46% para 27,62% o seu coeficiente de digestibilidade aparente. O valor negativo encontrado na digestão ruminal é explicado pelo maior fluxo de proteína omasal do que a ingestão total de proteína nos animais que não receberam suplementação, o que provocou uma alta taxa de reciclagem de nitrogênio no rúmen via saliva, para melhorar o atendimento dos teores de nitrogênio necessários pelos micro-organismos ruminais, já que o feno utilizado no experimento continha apenas 6% de PB. Além da reciclagem de nitrogênio, a proteína microbiana e proteína endógena também contribuíram para o valor negativo de digestão ruminal da proteína.

Kennedy & Milligan (1980) verificaram que a reciclagem de nitrogênio para o rúmen foi positivamente correlacionada com a digestão aparente da matéria orgânica no rúmen, com a concentração de ureia plasmática, no entanto negativamente

correlacionada à concentração de amônia ruminal. Segundo, Siddons et al. (1985), Rémond et al. (1993) e Rennó et al. (2000), ocorre aumento de transferência de ureia para o rúmen quando há diminuição da concentração ruminal de amônia (neste caso muito baixo com valor de 2,57 mg de N-NH₃/ 100 mL de fluido ruminal, admitindo o baixo fornecimento de proteína aos animais sem suplementação); alta concentração de ureia sanguínea (o que não se confirma neste caso como pode ser visto na Tabela 11), alta atividade da urease (não avaliado neste experimento), ou baixo pH ruminal (que não foi o caso, já que todas as dietas eram baseadas em feno apresentando alto pH – Tabela 7).

Animais suplementados apresentaram ($P<0,10$) maior digestão intestinal da proteína passando de 161,84 g/dia nos animais que não receberam suplementação para 210,54 g/dia em animais suplementados. Nota-se em todos os tratamentos testados que a digestão intestinal da proteína é sempre superior à digestão ruminal ou pré-intestinal da proteína (Figura 1) o que é benéfico, já que não há absorção de proteína no rúmen e apenas perda de nitrogênio na forma de amônia não podendo, portanto, superar os valores de digestão intestinal.

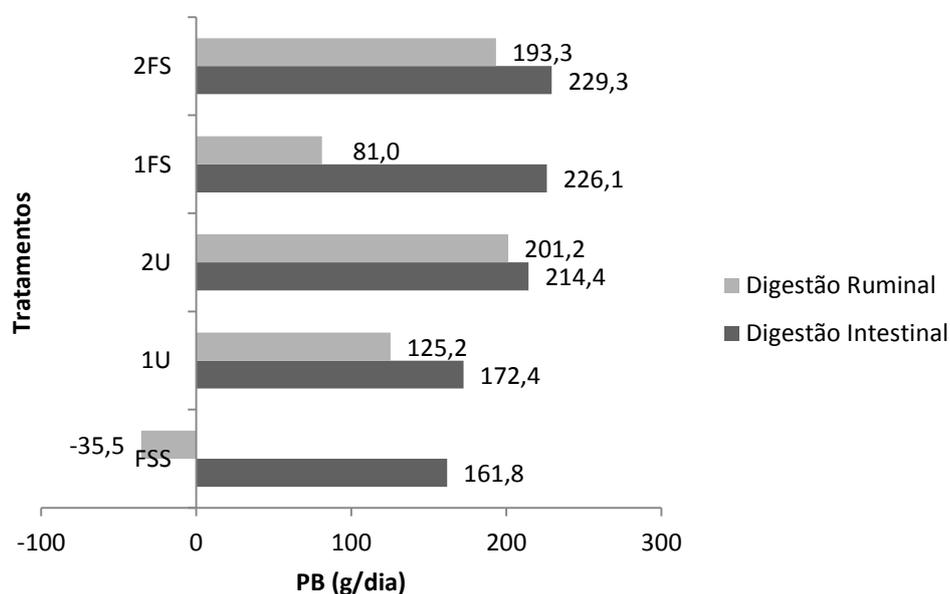


Figura 1 – Digestão Ruminal e Intestinal da proteína.

Animais suplementados também apresentaram maior digestão total da proteína ($P<0,001$) passando de 126,3 g/dia para 360,7 g/dia, além de apresentarem maior

coeficiente de digestibilidade aparente total da proteína ($P<0,001$) aumentando de 51,08% para 68,24% quando comparado aos animais que não receberam suplementação.

Entre as fontes de proteína testadas nos suplementos, observa-se maior coeficiente de digestibilidade aparente intestinal ($P<0,05$) em animais que receberam suplementos contendo farelo de soja (58,82%) em comparação à ureia (53,86%). Mesmo efeito também foi observado no coeficiente de digestibilidade aparente total da proteína passando de 66,84% nos animais que receberam suplementos contendo ureia para 69,35% nos animais que receberam suplementos contendo farelo de soja. Independente do tipo de proteína utilizada, animais que receberam maiores doses de suplementos (2U ou 2FS) apresentaram maior digestão ruminal da proteína ($P<0,05$), maior digestão total da proteína ($P<0,001$) e maior coeficiente de digestibilidade aparente total da proteína ($P<0,05$), quando comparados a animais que receberam suplementos em menores doses (1U ou 1FS).

Animais alimentados apenas com feno sem mineralização apresentaram ($P<0,05$) menor digestão ruminal da fibra em detergente neutro (2237,0 g de FDN/dia) que animais suplementados (2317,72 g de FDN/dia) em resposta ao menor teor proteico da dieta sem suplementação. Segundo McAllan et al (1988), o teor proteico da dieta, principalmente quando baseado em forragem de baixa qualidade, limita a atividade ruminal afetando a ingestão e a digestibilidade dos nutrientes. Segundo Pedreira & Berchielli (2006), a baixa concentração ou disponibilidade de certos minerais, principalmente o fósforo e o enxofre também pode deprimir as atividades microbianas relacionadas com a digestão da fibra da forragem e a síntese de proteína microbiana, o que poderia ter reduzido o suprimento de nutrientes para o animal e com isso prejudicado a digestão da fração fibrosa no caso dos animais que não receberam suplementação.

Os animais suplementados também apresentaram digestão total da FDN superior em 304,1 g de FDN/dia ($P<0,05$) passando de 2306,6 g/dia nos animais sem suplementação para 2610,7 g/dia nos animais suplementados. Os mesmos também apresentaram diferença significativa ($P<0,10$) no coeficiente de digestibilidade aparente total (61,38% para animais alimentados apenas com feno e 63,9% para animais suplementados). Entre as diferentes fontes de proteína testadas, observa-se ($P<0,05$) a superioridade do farelo de soja, que apresentou maior coeficiente de digestibilidade aparente total da FDN (65,9%) em relação à ureia (61,8%). Já entre as doses de

fornecimento observou-se ($P<0,10$) maior coeficiente de digestibilidade aparente intestinal da FDN quando suplementos 2U e 1FS foram fornecidos aos animais.

A utilização de suplementos de baixo consumo em bovinos alimentados com feno de baixa qualidade influenciou ($P<0,05$) o desaparecimento ruminal de P, fazendo com que o mesmo variasse de -103,36 g de P/dia em animais que não receberam suplemento para -28,50 g de P/dia para animais suplementados (Tabela 5). Valores negativos encontrados para o desaparecimento ruminal (Figura 2) e para o coeficiente de desaparecimento ruminal levam a entender que todos os animais tiveram reciclagem de P no rúmen pela saliva, no entanto essa taxa de reciclagem do P foi maior para animais não-suplementados já que os valores passaram a ser menos negativos à medida que o suplemento foi fornecido aos animais.

Tabela 5 – Desaparecimento ruminal, intestinal e total e absorção aparente para o fósforo

	TRATAMENTOS					CV(%)	CONTRASTES			
	FSS	1U	2U	1FS	2FS		1	2	3	4
DR	-103,36	-33,00	-37,93	-29,33	-13,75	63,91	**	-	-	-
AAR	-4,45	-3,41	-4,19	-3,16	-1,55	54,67	-	-	-	-
DI	5,99	7,23	8,66	7,54	6,09	28,26	-	-	-	-
AAI	60,14	50,24	54,09	56,13	47,46	15,28	-	-	-	-
DT	0,85	3,82	4,47	4,38	4,54	23,18	***	-	-	-
AAT	14,22	33,93	39,96	40,52	41,29	23,55	***	-	-	-

DR = Desaparecimento ruminal de fósforo (g/dia); AAR = Absorção aparente ruminal de fósforo (%); DI = Desaparecimento intestinal de fósforo (g/dia); AAI = Absorção aparente intestinal de fósforo (%); DT = Desaparecimento total de fósforo (g/dia); AAT = Absorção aparente total de fósforo (%); FSS=Feno sem suplementação; 1U= Suplementação com ureia em 1 g/kg; 2U= Suplementação com ureia em 2 g/kg; 1FS= Suplementação com farelo de soja em 1 g/kg; 2FS= Suplementação com farelo de soja em 2 g/kg. Contraste 1= FSS x 1U, 2U, 1FS, 2FS; 2= 1U, 2U x 1FS, 2FS; 3= 1U x 2U; 4= 1FS x 2FS; *** = $P<0,001$; ** = $P<0,05$; * = $P<0,10$; - = não-significativa.

O desaparecimento total de P e o seu coeficiente de absorção aparente total foram superiores ($P<0,001$) nos animais suplementados, passando o desaparecimento total de fósforo de 0,85g de P/dia (FSS) para 4,30 g de P/dia e o coeficiente de absorção aparente total de fósforo de 14,22% (FSS) para 38,92% nos animais suplementados. Fontes de proteína ou doses de suplemento não apresentaram influência sobre a cinética do fósforo no trato digestório ($P>0,10$). Vasconcelos (2008) também não encontrou efeito dos níveis crescentes de ureia sobre a absorção aparente de P ou sobre a retenção de P de bovinos em confinamento alimentados com dietas em três concentrações de PB (11,5; 13 e 14,5% de PB na MS) com três níveis de ureia (100, 50 e 0% de N suplementar na forma de ureia).

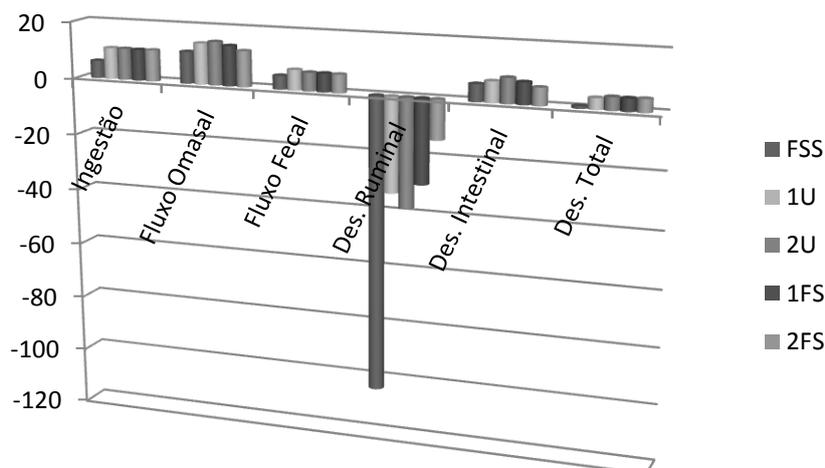


Figura 2 – Cinética do P nas diferentes dietas.

O uso ou não de suplementos contendo diferentes fontes de proteína em diferentes doses de fornecimento não influenciou o pH ruminal. No entanto, esse mesmo parâmetro apresentou efeito significativo ($P < 0,05$) demonstrando comportamento cúbico ($Y = 6,67861 + 0,03577X - 0,00509X^2 + 0,00015134X^3$) para os horários de coleta (Figura 3), mas não foi observada interação entre os horários de coleta e tratamentos testados.

Numericamente o que se percebe é uma variação muito pequena nos valores de pH em 24h e um comportamento atípico já que houve elevação do pH e a não-queda pela produção de ácidos, porém condizente com a forragem utilizada. Um fator que pode ter contribuído para a manutenção do pH nos tratamentos é a elevada taxa mastigatória que o feno de baixa qualidade pode ter provocado, aumentando consideravelmente a secreção salivar, ocasionando elevado tamponamento do rúmen pela presença do P salivar que diminui a acidez provocada pela formação de ácidos orgânicos resultantes do metabolismo de micro-organismos. Além disso, deve-se ressaltar que os suplementos utilizados eram de baixo consumo e nem sempre os animais ingeriam todo o suplemento antes da ingestão de feno (ingerindo durante todo o dia), o que sugere maior tamponamento do rúmen pela maior presença de ureia no rúmen sendo hidrolisada a carbonato de amônia, impossibilitando os picos de pH nas suplementações com ureia.

Os valores de pH ruminal durante o período experimental mantiveram-se entre 6,31 e 7,18 para todos os tratamentos, apresentando, portanto seu menor valor ainda

acima do valor considerado mínimo desejável (6,2), conforme Hoover (1986), Oskov (1988) e Van Soest (1994), que descrevem como ideal para promover a fermentação da fibra. Conforme valores de pH referenciados por Santos (2006), pode-se afirmar que o pH ruminal não provocou interferência na eficiência microbiana em nenhum dos tratamentos testados, já que bactérias fermentadoras de carboidratos fibrosos (CF) são sensíveis a valores de pH inferior a 6,0.

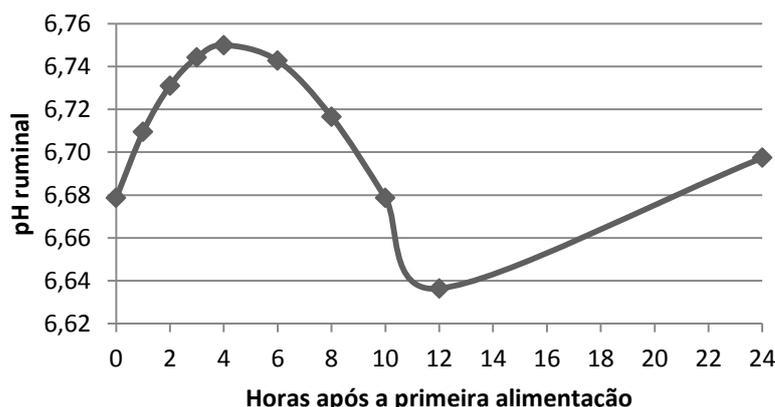


Figura 3 – Variação do pH ruminal durante período de 24h após a primeira alimentação.

Para a concentração de N-NH₃ no rúmen foi verificado efeito significativo da interação entre horário de coleta vs. tratamento (Tabela 6). Ocorreu também efeito de tratamento e de horário na variação de N-NH₃, com isso, pelo fato dos tratamentos serem qualitativos, foram determinadas equações de regressão para cada tratamento em função dos horários de coleta.

Tabela 6 – Equações de regressão ajustadas para N-NH₃ em função dos tempos de coleta (P<0,05).

Tratamento	Equação de Regressão	P	r ²
FSS	$Y = 2,26872 + 0,85325X - 0,2354X^2 + 0,01585X^3$	***	0,38
1U	$Y = 2,93417 + 3,85995X - 0,84123X^2 + 0,04982X^3$	***	0,48
2U	$Y = 3,48582 + 4,85932X - 1,00926X^2 + 0,0613X^3$	***	0,60
1FS	$Y = 2,67709 + 2,11029X - 0,48772X^2 + 0,02863X^3$	***	0,74
2FS	$Y = 4,09537 + 2,58424X - 0,60583X^2 + 0,03769X^3$	***	0,70

FSS=Feno sem suplementação; 1U= Suplementação com ureia em 1 g/kg; 2U= Suplementação com ureia em 2 g/kg; 1FS= Suplementação com farelo de soja em 1 g/kg; 2FS= Suplementação com farelo de soja em 2 g/kg; *** = P<0,001; ** = P<0,05; * = P<0,10; - = não-significativa.

As concentrações de N-NH₃ tiveram valores que variaram de 1,24 a 15,06 mg/100 mL de fluido ruminal. Segundo Sater & Styler (1974), a concentração mínima

de N-NH₃ para manter a fermentação adequada e ocorrer degradação da parte celular é de 5 mg/100 mL de fluido ruminal. Observa-se, na Figura 4, que os animais alimentados apenas com feno apresentaram valores de N-NH₃ praticamente constantes (média = 2,57 mg/100 mL de fluido ruminal) e abaixo do recomendado. Com relação à suplementação com 1FS, nota-se que apesar de apresentar média (3,99 mg/100 mL) abaixo do valor referenciado, conseguiu manter por pouco mais de 2h valores mínimos de N-NH₃ no rúmen. Isso ocorreu provavelmente porque a queda na concentração de N-NH₃ ruminal vai depender da taxa de degradação das proteínas e fermentação dos carboidratos no rúmen, uma vez que em baixas taxas de fermentação de carboidratos grande quantidade de N é perdida na forma de amônia.

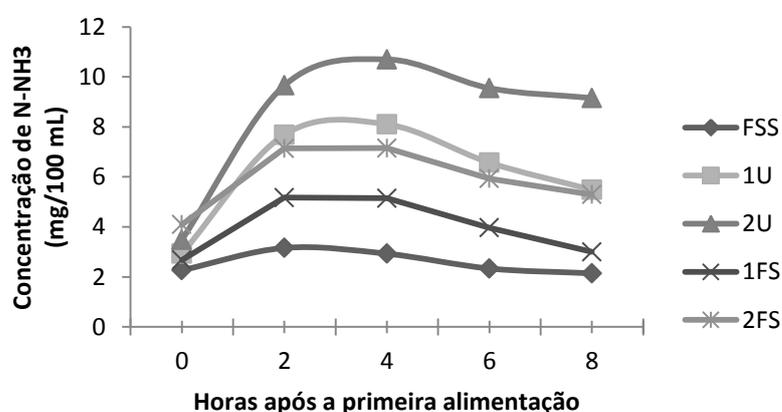


Figura 4 – Variação do N-NH₃ ruminal durante período de 8h após a primeira alimentação.

Na Tabela 7, pela análise de contrastes ortogonais, observa-se que as diferentes formas de suplementação aumentaram ($P < 0,001$) as concentrações de amônia no rúmen, o que reflete a disponibilidade e solubilidade do N, além da produção endógena de compostos nitrogenados, segundo Huntington & Archibeque (1999).

Tabela 7 – Concentração de N-NH₃ (mg/100 mL) e pH ruminal

	TRATAMENTOS					CV(%)	CONTRASTES			
	FSS	1U	2U	1FS	2FS		1	2	3	4
N-NH ₃	2,57	6,15	8,51	3,99	5,92	40,92	***	***	***	***
pH	6,70	6,74	6,74	6,74	6,68	2,29	-	**	-	-

FSS=Feno sem suplementação; 1U= Suplementação com ureia em 1 g/kg; 2U= Suplementação com ureia em 2 g/kg; 1FS= Suplementação com farelo de soja em 1 g/kg; 2FS= Suplementação com farelo de soja em 2 g/kg. Contraste 1= FSS x 1U, 2U, 1FS, 2FS; 2= 1U, 2U x 1FS, 2FS; 3= 1U x 2U; 4= 1FS x 2FS; *** = $P < 0,001$; ** = $P < 0,05$; * = $P < 0,10$; - = não-significativa.

Em média, a suplementação aumentou de 2,57 mg/100 mL de fluido ruminal para 6,14 mg/100 mL de fluido ruminal a concentração de amônia ruminal, deixando os valores de N-NH₃ em faixa de valores considerados mínimos para uma adequada fermentação ruminal uma vez que valores próximos ou acima de 6,2 mg/100 mL de fluido ruminal contribuem para a adesão dos micro-organismos no bolo alimentar e facilitam a colonização microbiana. Entre as fontes de proteína utilizadas, observa-se que animais que receberam suplementos contendo ureia apresentaram maior ($P<0,001$) produção de amônia (7,33 mg/100 mL) se comparados aos animais suplementados com farelo de soja (4,95 mg/100 mL). Já entre as doses de fornecimento, observa-se que animais que receberam maiores doses de suplemento, independente da fonte proteica (2U ou 2FS), apresentaram maiores concentrações de amônia no fluido ruminal ($P<0,001$).

A suplementação proteica bem como as diferentes doses de fornecimento não apresentou influência ($P>0,10$) sobre o pH ruminal. No entanto, observa-se ($P<0,05$) que animais suplementados com ureia tiveram pH ruminal mais elevado (6,74) que animais que receberam suplementos contendo farelo de soja (6,71), apesar de ambos apresentarem valores de pH elevados. Como a dieta basal em todos os tratamentos era composta de feno de baixa qualidade, simulando situação de pastejo, era esperado que a suplementação contendo farelo de soja (que apresenta naturalmente uma degradação mais lenta) proporcionasse maior sincronismo entre proteína e carboidratos disponibilizados pelos micro-organismos, com maior fermentação ruminal e menor pH ruminal que animais suplementados com ureia.

Em relação à produção de AGCC, observa-se que a suplementação aumentou ($P<0,05$) em média 3,49 $\mu\text{M}/\text{mL}$ a concentração de ácido acético (C2) no rúmen, passando de 61,58 $\mu\text{M}/\text{mL}$ para 65,07 $\mu\text{M}/\text{mL}$ (Tabela 8), aumentando também a concentração de ácido butírico (C4), de 9,17 $\mu\text{M}/\text{mL}$ para 9,23 $\mu\text{M}/\text{mL}$, e de ácido isovalérico (IC5). A concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCT) passou de 90,95 $\mu\text{M}/\text{mL}$ em animais alimentados apenas com feno para em média 94,65 $\mu\text{M}/\text{mL}$ em animais suplementados, enquanto a relação C2/C3 passou de 3,55 para 3,83 $\mu\text{M}/\text{mL}$, provavelmente pelo aumento na ingestão do feno produzido pelo uso dos suplementos.

Tabela 8 – Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em $\mu\text{M/mL}$

	TRATAMENTOS					CV(%)	CONTRASTES			
	FSS	1U	2U	1FS	2FS		1	2	3	4
C2	61,58	66,46	62,73	65,11	65,97	11,69	**	-	*	-
C3	17,38	16,78	16,74	17,22	17,57	9,78	-	**	-	-
IC4	0,80	0,71	0,71	0,82	0,95	24,86	-	***	-	***
C4	9,17	9,29	9,88	9,07	10,29	17,21	**	-	**	***
IC5	0,90	0,85	0,88	0,97	1,22	32,74	**	***	-	***
C5	1,11	0,95	1,06	1,07	1,27	30,66	-	**	-	**
AGCCTotal	90,95	95,04	92,01	94,26	97,27	10,13	**	-	-	-
C2/C3	3,55	3,98	3,76	3,78	3,79	11,14	**	-	*	-

C2 = Acetato; C3 = Propionato; IC4 = Isobutirato; C4 = Butirato; IC5 = Isovalerato; C5 = Valerato; AGCCT = ácidos graxos de cadeia curta total; C2/C3 = Relação acetato:propionato.

FSS=Feno sem suplementação; 1U= Suplementação com ureia em 1 g/kg; 2U= Suplementação com ureia em 2 g/kg; 1FS= Suplementação com farelo de soja em 1 g/kg; 2FS= Suplementação com farelo de soja em 2 g/kg. Contraste 1= FSS x 1U, 2U, 1FS, 2FS; 2= 1U, 2U x 1FS, 2FS; 3= 1U x 2U; 4= 1FS x 2FS; *** = $P < 0,001$; ** = $P < 0,05$; * = $P < 0,10$; - = não-significativa.

Suplementos contendo farelo de soja aumentaram as concentrações ($P < 0,05$) de C3, IC4, IC5 e C5 quando comparados com suplementos contendo ureia. Entre as doses de suplementação observa-se que animais suplementados com 2U diminuiram ($P < 0,10$) a concentração de C2 e a relação C2/C3, além de aumentar ($P < 0,05$) a concentração de C4. Já os animais que foram suplementados com 2FS aumentaram ($P < 0,001$) a concentração de IC4, C4 e IC5, além de aumentar ($P < 0,05$) a concentração de C5.

Na Tabela 9, encontram-se as equações de regressão ajustadas para cada ácido graxo de cadeia curta (AGCC) em função dos horários de coleta.

Tabela 9 – Concentração de ácidos graxos de cadeia curta ($\mu\text{M/mL}$) em função dos horários de coleta

Trat.	AGCC		Média	P	r^2
	Regressão				
C2	$Y = 68,59594 - 1,68960X$		64,37	**	0,06
C3	$Y = 18,6816 - 0,61830X$		17,14	***	0,18
IC4	$Y = 0,90313 - 0,04193X$		0,80	**	0,06
C4	$Y = 10,42556 - 0,35412X$		9,54	**	0,06
IC5	$Y = 1,18175 - 0,08733X$		0,96	**	0,10
C5	$Y = 2,16827 - 1,80591X + 0,88060X^2 - 0,12653X^3$		1,09	**	0,12
AGCCT	$Y = 100,96971 - 2,82614X$		93,90	***	0,11
C2:C3	$Y = 4,14640 - 0,43241X + 0,09418X^2$		3,77	**	0,06

C2 = Acetato; C3 = Propionato; IC4 = Isobutirato; C4 = Butirato; IC5 = Isovalerato; C5 = Valerato; AGCCT = ácidos graxos de cadeia curta total; C2/C3 = Relação acetato:propionato; *** = $P < 0,001$; ** = $P < 0,05$; * = $P < 0,10$; - = não-significativo.

Todos os ácidos graxos tiveram concentrações alteradas em função do tempo de coleta. C2, C3, IC4, C4, IC5 além de AGCCT apresentaram comportamento linear enquanto C5 apresentou comportamento cúbico em relação aos horários de coleta. A relação C2:C3 apresentou uma resposta quadrática.

A utilização de suplementos proteicos aumentou ($P < 0,05$) a taxa de diluição passando de 7,78 para 11,34%/h (Tabela 10) o que provavelmente maximizou a renovação microbiana e reduziu gastos com a manutenção dos micro-organismos. Desta forma, segundo Galyean & Owens (1991), a estratégia de suplementação protica em dietas com volumoso de baixa qualidade (baixo teor de PB e alto teor de fibra) melhorou a digestão e, por consequência, a taxa de passagem e a ingestão dos animais.

Tabela 10 – Parâmetros da cinética ruminal.

	TRATAMENTOS					CV(%)	CONTRASTES			
	FSS	1U	2U	1FS	2FS		1	2	3	4
Kpl (fase líquida)	0,078	0,121	0,136	0,101	0,095	26,49	**	**	-	-
VR	70,13	64,69	56,43	70,04	69,35	23,87	-	-	-	-
Tp Retenção	13,32	9,52	8,15	10,42	10,68	28,53	**	-	-	-
Tx Fluxo	5,29	7,47	7,25	6,75	6,54	18,02	**	-	-	-
Tx Reciclagem	1,87	2,92	3,27	2,41	2,29	32,44	*	*	-	-
Kps (fase sólida)	0,019	0,022	0,027	0,023	0,024	22,95	**	-	*	-
Kt	0,038	0,048	0,053	0,053	0,060	22,39	**	*	-	-
Kd	0,019	0,026	0,026	0,031	0,036	44,69	**	*	-	-

Kpl (fase líquida) = Taxa de passagem da fase líquida (/h); VR = Volume ruminal (L); Tp Retenção = Tempo de retenção (h); Tx Fluxo = Taxa de fluxo de líquidos (L/h); Tx Reciclagem = Taxa de reciclagem (vezes/d); Kps (fase sólida) = Taxa de passagem da fase sólida (/h); Kt = Taxa de desaparecimento (/h); Kd = Taxa de digestão (/h); FSS = Feno sem suplementação; 1U = Suplementação com ureia em 1 g/kg de PC; 2U = Suplementação com ureia em 2 g/kg de PC; 1FS = Suplementação com farelo de soja em 1 g/kg de PC; 2FS = Suplementação com farelo de soja em 2 g/kg de PC; Contraste 1 = FSS x 1U, 2U, 1FS, 2FS; 2 = 1U, 2U x 1FS, 2FS; 3 = 1U x 2U; 4 = 1FS x 2FS; *** = $P < 0,001$; ** = $P < 0,05$; * = $P < 0,10$; - = não-significativa.

O volume ruminal não foi alterado ($P > 0,10$) pelo uso de suplementos proteicos em dietas de baixa qualidade, no entanto, animais suplementados diminuíram ($P < 0,05$) o tempo de reciclagem da dieta no rúmen em média 3,63h, provavelmente pelo fato de ter ocorrido um aumento significativo na digestão ruminal da MS e dos demais nutrientes. Pode-se verificar uma relação inversa entre a taxa de diluição e o tempo de retenção, onde aumenta a taxa de diluição enquanto diminui o tempo de reciclagem da dieta. Segundo Evans (1981), a taxa de reciclagem eleva-se com o aumento na ingestão, o que está associado com um decréscimo no tempo de retenção das partículas no rúmen.

Animais suplementados tiveram aumento ($P<0,05$) no fluxo de líquidos de 5,29 para 7,00 L/h, além de aumentar ($P<0,10$) a taxa de reciclagem de 1,87 para 2,72 vezes/dia. A suplementação também produziu aumento na taxa de passagem da fase sólida (2,4 vs. 1,9%/h) e maior taxa de desaparecimento ruminal (5,3 vs. 3,8%/h), influenciados pela maior taxa de digestão apresentada (3,0 vs. 1,9%/h) quando comparado aos animais não-suplementados. Apesar do aumento na taxa de passagem da fase sólida no caso dos animais suplementados, a mesma ainda é considerada lenta, porém condizente com o tipo de dieta ofertado aos animais (volumoso de baixa qualidade).

Animais que receberam suplementos contendo ureia apresentaram maiores ($P<0,05$) taxas de diluição (12,85%/h) que aqueles suplementados com farelo de soja (9,80%/h), além de maiores ($P<0,10$) taxas de reciclagem no rúmen (3,09 vezes/dia vs. 2,35 vezes/dia). Por outro lado, esses últimos apresentaram ($P<0,10$) maiores taxas de desaparecimento ruminal (5,6 vs. 5,0%/h) e de digestão (3,3 vs. 2,6%/h).

Os animais suplementados tiveram a concentração de ureia no soro aumentada de 16,40 para 27,30 mg/dL ($P<0,001$), assim como a concentração de N-ureico que aumentou de 1,28 mmol/L nos animais alimentados apenas com feno para 2,13 mmol/L nos animais suplementados (Tabela 11). Com exceção dos tratamentos suplementados com 2U e 2FS, todas as doses podem ser consideradas normais para bovinos, segundo referência citada por Swenson & Reece (1996) que está na faixa de 10 a 30 mg/dL. Já segundo Kaneko et al. (1997), são considerados normais resultados que variam entre 17 e 45 mg/dL. Segundo Broderick (1995), altas concentrações de ureia no sangue estão relacionadas à ineficiência de utilização da proteína dietética, no entanto, ainda não há relatos de uma faixa de concentração de ureia sérica a partir da qual seja possível afirmar o nível limítrofe para a ineficiência de utilização da proteína ou mesmo para detectar uma condição nutricional inadequada. Apesar de os teores de proteína dos suplementos serem semelhantes entre as fontes, a medida que aumentou o fornecimento de nitrogênio de 1 g/kg de PC para 2 g/kg de PC, também aumentou a concentração de ureia e N-ureico no soro, não havendo diferença significativa entre as fontes (ureia ou farelo de soja). Isso comprova os relatos de Preston et al. (1965) e Roseler et al. (1993) que relacionaram positivamente a concentração de ureia sérica com a ingestão de nitrogênio.

Tabela 11 – Concentração de ureia no soro (mg/dL), N-ureico (NUS), cálcio (Ca) e fósforo (P) no soro, em mg/dL e mM/L

	TRATAMENTOS					CV(%)	CONTRASTES			
	FSS	1U	2U	1FS	2FS		1	2	3	4
Ureia (mg/dL)	16,40	23,60	31,20	23,60	30,80	29,77	***	-	**	**
N-Ureico (mg/dL)	7,66	11,03	14,58	11,03	14,39	29,77	***	-	**	**
N-Ureico (mmol/L)	1,28	1,84	2,43	1,84	2,40	29,77	***	-	**	**
Creatinina (mg/dL)	1,64	1,52	1,49	1,59	1,46	5,32	**	-	-	**
Creatinina (μmol/L)	144,62	134,37	131,36	140,73	129,42	5,32	**	-	-	**
Fósforo (mg/dL)	6,19	6,75	7,01	7,06	6,92	13,63	*	-	-	-
Fósforo (mmol/L)	2,00	2,18	2,26	2,28	2,24	13,63	*	-	-	-

FSS=Feno sem suplementação; 1U= Suplementação com ureia em 1 g/kg; 2U= Suplementação com ureia em 2 g/kg; 1FS= Suplementação com farelo de soja em 1 g/kg; 2FS= Suplementação com farelo de soja em 2 g/kg. Contraste 1= FSS x 1U, 2U, 1FS, 2FS; 2= 1U, 2U x 1FS, 2FS; 3= 1U x 2U; 4= 1FS x 2FS; *** = P<0,001; ** = P<0,05; * = P<0,10; - = não-significativa.

Apesar de não apresentar diferença entre as suplementações com diferentes fontes de nitrogênio, a concentração de N-ureico no soro aumentou significativamente com o aumento no fornecimento de proteína nos suplementos. Rennó et al (2008), ao trabalharem com níveis de ureia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos, verificaram aumento linear na concentração de N-ureico no soro em função da adição de ureia na ração. Segundo Harmeyer & Martens (1980), a concentração de N-ureico plasmático produzido pelo fígado é proporcional à quantidade de N-NH₃ produzido no rúmen

Os teores de creatinina no sangue, apesar de terem diminuído com a suplementação não estão associados à alimentação do animal e podem ser todos considerados normais, segundo Kaneko et al. (1997) que apresentam valores de referência entre 1 e 2 mg/dL. Segundo González et al. (2000), diferentemente de outras espécies, os bovinos com deficiência proteica não apresentam diminuição na creatinina plasmática, mas o seu teor pode ser usado para diferenciar aumentos na concentração de ureia por causas pré-renais (como a alimentação) ou causas renais. Quando a dosagem de ureia no sangue aumenta sem elevação da concentração de creatinina (situação encontrada neste experimento), pode-se concluir que a elevação da ureia certamente teve origem fisiológica pela maior ingestão de proteína e não em problemas renais.

A suplementação aumentou a concentração de fósforo no soro (P<0,10), pela maior ingestão desse mineral. Todas as dietas apresentaram eficiência na manutenção de P no sangue, mesmo a dieta sem suplementação, já que segundo Thompson Junior (1978), valores entre 4 e 9 mg/dL podem ser considerados normais. Segundo

Underwood (1981), concentrações abaixo de 4,5 mg de P/mL podem indicar deficiência, o que não ocorreu. Os valores encontrados poderiam indicar uma absorção de fósforo acima da exigência de manutenção, no entanto, os teores de P determinados no sangue são questionáveis, já que segundo Tosi (1999), sua determinação no soro ou plasma apresenta séria limitação, pois mesmo em deficiência os teores podem ser altos ou normais nesses fluídos em decorrência da mobilização óssea, sendo, portanto a biópsia do osso o material mais indicado para a avaliação do P.

CONCLUSÕES

A suplementação aumentou a ingestão da MS assim como dos demais nutrientes em função do fornecimento de N para crescimento microbiano, o que estimulou a fermentação ruminal e aumentou significativamente a digestibilidade. Em relação às fontes de nitrogênio avaliadas, observa-se melhor atendimento nutricional proporcionado pelo farelo de soja já que este apresentou melhor digestibilidade dos nutrientes. O farelo de soja aumentou a digestão ruminal, e a ureia proporcionou maior taxa de reciclagem. Nenhum efeito importante indicando alguma superioridade relacionada ao metabolismo do P foi encontrado ao comparar diferentes fontes de nitrogênio. Entre as doses de cada fonte testada, melhores respostas foram encontradas por suplementações com maiores doses.

LITERATURA CITADA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.
- CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G.. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2004. 135 p.
- BRODERICK, G.A. Use of milk urea as indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow. U.S. Dairy Forage Center 1995; Research Summaries. U. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 122p., 1995.
- DeLCURTO, T., COCHRAN, R.C., CORAH, L.R. et al.. Supplementation of dormant Tallgrass-Prarie forage: II. Performance and forage utilization characteristics in grazing beef cattle receiving supplements of different protein concentrations. **Journal of Animal Science**, v.68, n.2, p.532-542, 1990
- EGAN, J.K.; DOYLE, P.T. Effect of intraruminal infusion of urea on the response in voluntary feed intake by sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.36, n.3, p.483-495,1985.
- EVANS, E. An evaluation of the relationships between dietary parameters and rumen liquid turnover rate. **Canadian Journal of Animal Science**, v.61, n.1, p.91-96, 1981.
- FISKE, C. H., SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, v. 66, p. 375, 1925.
- GALYEAN, M.L., OWENS, F.N. Effects of diets composition and level of feed intake on site and extent of digestion in ruminants. In: TSUDA, T., SASAKI, Y., KAWASHIMA, R. (Eds.) **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. New York: Academic Press, 1991. p.483-514.
- GONZÁLEZ, F. H. D., CONCEIÇÃO, T. R. SIQUEIRA, A. J. S. et al. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte do Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, v.20, p.59-62, 2000.
- HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1707-1728, 1980.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved en ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.10, p.2755-2766, 1986.

- HUNTINGTON, G. B., ARCHIBEQUE, S. L. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. In: AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, 1999, Raleigh. **Proceedings...** Raleigh: American Society of Animal Science, 1999. p.01-11.
- KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. (Ed.) **Clinical biochemistry os domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 1997. 932p.
- KENNEDY, P.M., MILLIGAN, L.P. The degradation and utilization of endogenous urea in the gastrointestinal tract of ruminants: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, v.60, p.205-221, 1980.
- KHALILI, H.; HUHTANEN. Effect of casein infusion in the rumen, duodenum or both sites on factors affecting forage intake and performance of dairy cows fed red clover-grass silage. **Journal Dairy Science**, v.85, p.909-918, 2002.
- KOSTER, H. H., COCHRAN, R. C., TITGEMEYER, E. C., et al. Effect of increasing degradable intake protein on intake and digestion of low-quality, tallgrass-prairie forage by beef cows. *Journal of Animal Science*, v.74, p.2473-2481, 1996.
- LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. et al. Técnica de coleta de digesta omasal para estudos de digestão parcial em bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife, PE. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002 (CD-ROM).
- LITTLE, D.A., ROBINSON, P. J., PLAYNE, M.J. et al. Factors affecting blood inorganic phosphorus in cattle. **Australian Veterinary Journal**, v. 47, p. 153, 1971.
- McALLAN, A.B.; COCKBURN, J.E.; WILLIAMS, A.P. et al. The degradation of different protein supplements in the rumen of steers and the effects of these supplements on carbohydrate digestion. **British Journal of Nutrition**, v.60, n.3, p.669-682, 1988.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G.C.; COLLINS, M.; MERTEN, D.R. et al. (Eds.). **Forage quality evaluation and utilization**. Madison: America Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society America, 1994. p.450-493.
- MYERS, W.D., LUDDEN, P.A., NAYIGIHUGU, V., HESS, B.W., Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, p.179-183, 2004.
- ORSKOV, E.R. **Nutricion proteica de los ruminantes**. Zaragoza: Acribia, 1988. 178p.
- OWENS, F. N., GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed). **The ruminant animal digestive physiology and metabolism**. New Jersey: Prentice Hall, 1988. p.145-171.
- PEDREIRA, M.S., BERCHIELLI, T.T. Minerais. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006, p.333-350.
- PERUCHENA, C. O. Suplementación de bovinos para carne sobre pasturas tropicales, aspectos nutricionales, productivos y economicos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. **Palestras...** São Paulo: SBZ/Gnosis, [1999]. (CD-ROM).

- PRESTON, T. R.; LENG, R. A. Sulphur nutrition of ruminants. In: PRESTON, T. R.; LENG, R. A. (Eds.). **Matching ruminant production systems with available resources in the tropics and sub-tropics**. Armidale: Penambul Books, 1987. p. 46-47.
- PRESTON, R.L.; SCHNAKENBERG, D.D.; PFANDER, W.H. Protein utilization in ruminants. I. Blood urea nitrogen as affected by protein intake. **Journal of Nutrition**, v.68, p.281-288, 1965.
- RÉMOND, D., CHAISE, J.P., DERVAL, E. et al. Net transfer of urea and ammonia across the ruminal wall of sheep. **Journal of Animal Science**, v.47, n.3, p.2785-2792, 1993.
- RENNÓ, L. N., VALADARES FILHO, S. C., PAULINO, M. F. et al. Níveis de uréia na ração de quatro grupos genéticos: parâmetros ruminais, uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.556-562, 2008.
- RENNÓ, L. N., VALADARES, R. F. D., VALADARES, S. C. et al. Concentração Plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n.4, p.1235-1243, 2000.
- RINNE, M.; HUHTANEN, P.; JAAKKOLA, S. Grass maturity effects on cattle fed silage-based diets. 2. Cell wall digestibility, digestion and passage kinetics. **Animal Feed Science Technology**, v.67, p.19-35, 1997.
- ROSELER, D.K., FERGUSON, J.D., SNIFFEN, C.J. et al. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.76 n.2 p.525-534, 1993
- SANTOS, J.E.P Distúrbios metabólicos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006, p.423-496.
- SATTER, L.D., SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- SIDDONS, R.C., NOLAN, J.V., BEEVER, D.E. et al. Nitrogen digestion and metabolism in sheep consuming diets containing contrasting forms and levels of N. **British Journal of Nutrition**, v.54, n.1, p.175-187, 1985.
- SNIFFEN, C. J., O'CONNOR, VAN SOEST, P. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and Protein Availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1996. 856p
- THOMPSON JUNIOR, W. R. Phosphorus in animal nutrition. In: **PHOSPHORUS for agriculture: a situation analysis**. Atlanta: Potash/Phosphate Institute, 1978. p.126-158.
- TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal of Animal Science**, v.75, n.7, p.2235-2247, 1997.
- TOSI, H. Suplementação mineral em pastagens. In: PEIXOTO, A.M., MOURA, J.C., FARIA, V.P. Ed. **Revisada dos anais do 13 simpósio sobre manejo de pastagens**. Piracicaba: FUNEP, 1999. p.151-184.

- UDÉN, P., COLUCCI, P.E., VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta rate of passage studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture.**, v.31, n.6, p.625-632, 1980.
- UNDERWOOD, E.J. Sources of minerals. In: . **The mineral nutrition of livestock**. 2. ed. Famham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux. cap 2, p.9-19, 1981
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd. Ed. Ithaca, New York: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VASCONCELOS, J. T.; COLE, N. A. MCBRIDE, K. W. Effects of dietary crude protein and supplemental urea levels on nitrogen and phosphorus utilization by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.87, p. 1174-1183, 2008.
- VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. Viçosa, MG: UFV, 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1980.

Capítulo II – Absorção aparente de fósforo no trato digestório de bovinos consumindo forragem e recebendo suplementos proteicos com diferentes doses de fósforo

RESUMO: A pesquisa foi conduzida com o objetivo de a). avaliar o efeito da suplementação com doses crescentes de P sobre os parâmetros sanguíneos, parâmetros da fermentação ruminal, cinética ruminal e eficiência de síntese microbiana, e b). verificar os efeitos na ingestão e digestibilidade dos nutrientes. Foram utilizados cinco bovinos, machos, castrados, da raça Holandesa com 254 kg \pm 22 kg de peso corporal, e implantados com cânula ruminal. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5 x 5, e os tratamentos consistiram na utilização de suplementos contendo: 2,5 g de P/kg PC (2,5P); 5 g de P/kg PC (5P); 10 g de P/kg PC (10P); 15 g de P/kg PC (15P) e 20 g de P/kg PC (20P). O fornecimento de fósforo em doses crescentes aumentou linearmente a ingestão, os fluxos omasal e fecal, e a absorção aparente total de P e diminuiu linearmente a taxa de reciclagem no rúmen. Os coeficientes de digestibilidade aparente total da MS e FDN apresentaram resposta quadrática em relação à porcentagem de fósforo no suplemento e o pH teve resposta cúbica. Não houve efeito dos tratamentos sobre os parâmetros sanguíneos, a concentração de N-NH₃, os AGCC e a eficiência de síntese microbiana.

Palavras-chave: absorção de fósforo, dióxido de titânio, esvaziamento ruminal, fosfato bicálcico, suplementação

Chapter II – Apparent absorption of phosphorus in digestive tract of cattle fed hay and receiving protein supplement with different phosphorus levels.

ABSTRACT: The research was conducted to evaluate the effect of increasing concentrations of P on blood parameters, parameters of rumen fermentation, kinetics and efficiency of microbial synthesis. Also, checking the effects on intake and nutrients digestibility. Five steers Holstein 254 kg \pm 22 kg body weight, cannulated in the rumen were used. The experimental design was a Latin square 5 x 5, and the treatments consisted of the use of supplements containing: 2.5 g P/kg PC (2.5P), 5 g P/kg PC (5P), 10 g P/kg PC (10P), 15 g P/kg PC (15P) and 20 g P/kg PC (20P). The supply of phosphorus in increasing doses increased linearly intake, omasal and fecal flows and total apparent absorption of phosphorus and linearly decreased the recycling rate in the rumen. The total apparent digestibility of DM and NDF showed a quadratic response in percentage of phosphorus in the supplement and the pH was cubically. There was no treatment effect on blood parameters, the concentration of N-NH₃, SCFA and microbial efficiency.

Key words: absorption of phosphorus, titanium dioxide, rumen evacuation, calcium phosphate, supplementation

INTRODUÇÃO

A quantidade ingerida de um determinado elemento mineral é uma informação absolutamente necessária para os nutricionistas, mas ainda não é suficiente, pois somente a parte realmente absorvida fica à disposição do animal para satisfazer as exigências do organismo, objetivo final da nutrição animal.

A utilização dos minerais pelo animal a exemplo do P depende de pelo menos dois processos: a solubilização ou liberação do elemento presente no alimento e a absorção do elemento liberado na luz do trato digestório. Para atender às necessidades dos ruminantes, deve-se fornecer P aos ruminantes em quantidade suficiente e disponível, uma vez que o P absorvido no trato gastrintestinal depende além da fonte de P utilizada e disponibilidade do elemento nos alimentos, da exigência do animal, presença de Ca nos diferentes tecidos e da quantidade de P ingerido. Os principais sistemas de nutrição propõem valores de disponibilidade de fósforo nos alimentos como sendo constantes, e isto não é realidade. Uma primeira tentativa de dar valores de disponibilidade específicos para forragens e concentrados foi feita pelo NRC (2001), no entanto, o banco de dados ainda é pequeno. Quando se refere a forrageiras, tais dados são ainda mais escassos, e para forrageiras tropicais praticamente inexistentes.

O conhecimento mais detalhado das concentrações de fósforo nos diferentes alimentos e da qualidade do fósforo são duas informações fundamentais para melhorar as técnicas de suplementação e de redução do impacto ambiental (Bravo et al., 2003). As diferenças entre concentrados e forragens e, entre o local e a extensão da digestão dos minerais sugerem que as abordagens sobre a disponibilidade mineral devem ser feitas cuidadosamente. Forragens que apresentam baixa digestibilidade da matéria seca não possuem necessariamente, baixa disponibilidade dos minerais. Além disso, não apenas as características de cada alimento são importantes, mas também outros fatores,

como a dieta total, interação entre nutrientes, e manejo alimentar. No entanto, estas informações são escassas.

Atualmente, há grande preocupação em relação aos diferentes sistemas de produção e seus impactos sobre o ambiente, e isto tem levado pesquisadores a investigar a possibilidade de reduzir a quantidade de fósforo fornecida a bovinos de corte (Hulery et al., 1998; Erickson et al., 1999) e a vacas leiteiras (Wu & Satter, 2000). As questões ambientais ligadas à produção animal têm levado cientistas do mundo todo a rever alguns conceitos, e no caso de ruminantes a preocupação deve ser grande, pois 60% do fósforo lançado no meio ambiente por dejetos animais são provenientes dos animais de produção (Tamminga, 1992). No entanto, para a redução substancial no fornecimento de P deve-se conhecer de forma mais detalhada as exigências animais e a disponibilidade do fósforo presente nos alimentos utilizados. Dessa forma, obter-se-ia não apenas ganhos econômicos, como também, redução significativa no impacto ambiental causado pelo excessivo uso de P, principalmente em confinamentos e granjas leiteiras.

Esta pesquisa foi realizada com o objetivo de estudar a influência de doses crescentes de fósforo em suplementos proteicos para bovinos sobre o consumo, a fermentação e a cinética ruminal, a eficiência de síntese microbiana, o desaparecimento e absorção aparente do P, a digestibilidade aparente dos demais nutrientes e os parâmetros sanguíneos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Avaliação de Alimentos para Animais Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), localizada no distrito de Iguatemi, e as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá.

Foram utilizados cinco bovinos da raça Holandesa Preta e Branca, castrados, canulados no rúmen com $254 \text{ kg} \pm 22 \text{ kg}$ de peso corporal (PC). Os animais foram alojados em galpões de alvenaria, em baias individuais, com $8,75 \text{ m}^2$ ($2,5 \times 3,5 \text{ m}$), dotadas de dois comedouros em polietileno um para fornecimento de feno e outro para suplemento, além de bebedouros automáticos.

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, pela manhã (08h30min) e à tarde (16h30min) e receberam água à vontade e foi mantido um manejo higiênico/sanitário rigoroso das instalações. As baias eram limpas diariamente e lavadas uma vez por semana. Os bebedouros eram lavados diariamente, assegurando assim, o fornecimento de água de boa qualidade. Os animais foram pesados no início de cada período experimental, com o objetivo de ajustar o fornecimento dos suplementos.

Os animais foram distribuídos em cinco dietas experimentais à base de feno de capim braquiária picado (*Brachiaria humidicola* cv. Llanero) *ad libitum* suplementados com diferentes níveis de fósforo, em delineamento experimental em quadrado latino 5×5 . Os suplementos foram: Suplemento com 2,5 g de P/kg (2,5P); Suplemento com 5 g de P/kg (5P); Suplemento com 10 g de P/kg (10P); Suplemento com 15 g de P/kg (15P); Suplemento com 20 g de P/kg (20P). Em todos os casos os suplementos foram fornecidos em 1 g/kg de peso corporal. A composição dos suplementos é mostrada na Tabela 12.

Tabela 12 – Composição percentual e química dos suplementos.

Ingredientes	Suplementos					
	2,5P	5P	10P	15P	20P	
Carbonato de Cálcio	4,42	3,63	2,17	0,77	0,00	
Enxofre 70S	1,23	1,23	1,22	1,22	1,23	
Farelo de Soja	6,66	6,18	6,18	6,39	6,71	
Fosf. Bicálcico	0,17	1,48	4,02	6,54	9,17	
Milho grão	71,76	71,71	70,57	69,23	67,02	
Óxido de magnésio	0,70	0,69	0,69	0,69	0,69	
Mistura Mineral	0,36	0,36	0,36	0,37	0,36	
Uréia	9,89	9,96	9,97	9,97	9,99	
Sal comum	4,80	4,81	4,81	4,82	4,82	
Composição	Feno	2,5P	5P	10P	15P	20P
MS	91,07	91,53	91,57	91,68	91,79	91,98
MO	94,34	76,94	76,44	75,32	74,19	72,30
PB	6,17	36,45	36,41	36,34	36,35	36,37
FDN	80,52	8,00	7,93	7,82	7,71	7,54
Ca	0,17	1,75	1,75	1,81	1,89	2,23
P	0,13	0,26	0,49	0,97	1,43	1,91
Ca:P	1,31:1	6,73:1	3,57:1	1,86:1	1,32:1	1,17:1

¹ A mistura mineral apresentou a seguinte composição: 3 ppm de Co, 280 ppm de Cu, 10 ppm de I, 400 ppm de Mn, 2 ppm de Se, 840 ppm de Zn, 0,8% de S, 0,8% de Mg e 2% de Na.

Os períodos experimentais tiveram a duração de 29 dias, com oito dias de coleta de amostras realizada no período compreendido entre o 21^o e 29^o dias.

Com o objetivo de determinar a digestibilidade total e parcial da MS, MO, PB, FDN e o desaparecimento parcial e total de fósforo e cálcio foram coletadas amostras de digesta omasal (300-500 mL) por meio do orifício retículo omasal e de fezes (200 g) diretamente no reto. As amostras de digesta omasal e de fezes foram coletadas a partir do 21^o dia, por um período total de seis dias, em horários diferentes (07, 10, 13, 16, 19 e 22h), totalizando seis amostras de digesta omasal e seis amostras de fezes por animal/tratamento/período. A coleta de digesta omasal foi realizada por sucção, segundo técnica descrita por Leão et al. (2002). Para determinação do fluxo omasal e da produção fecal, a partir do 14^o dia de cada período experimental todos os animais receberam uma dose diária de 10 g de TiO₂ (dióxido de titânio) intraruminalmente no horário da primeira refeição do dia. As amostras de digesta omasal e de fezes foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente etiquetados e congeladas (-20^o C) para posterior processamento e análises.

As amostras de digesta omasal e de fezes foram pré-secas em estufa de circulação forçada de ar a 60^oC por 72h, moídas individualmente em moinhos do tipo Willey,

utilizando peneira com crivos de 1 mm, sempre misturadas em quantidades iguais, com base no peso seco, para formar amostras compostas de digesta omasal e de fezes por animal/tratamento/período.

As sobras de alimento no comedouro foram recolhidas diariamente, pesadas e amostradas, sendo, então, congeladas para posteriores análises. Estas amostras sofreram o mesmo procedimento descrito anteriormente para o preparo das amostras de digesta omasal e de fezes. As amostras do feno e do concentrado foram realizadas, semanalmente e, misturadas em amostras compostas, para cada período experimental.

As amostras dos alimentos utilizados nas dietas experimentais, das sobras no cocho, de digesta omasal e de fezes foram analisadas para teores de MS, MO, PB, EE e Ca (AOAC, 1995), FDN (Van Soest et al., 1991) e P (Fiske & Subbarow, 1925). Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram obtidos conforme Sniffen et al. (1992).

As amostras de digesta omasal e de fezes foram analisadas para TiO_2 segundo Myers et. al. (2004). Foram pesados 0,5 g de amostras de fezes e omaso em duplicata em tubos Macro-Kjedahl de peso previamente conhecido. Amostras de material sem adição de titânio (feno) também foram pesadas para posterior correção da curva. Foram adicionados 3,5 g de K_2SO_4 e 0,4 g de CuSO_4 em cada tubo, como solução catalisadora. Foram adicionados 15 mL de H_2SO_4 concentrado, e procedeu-se a digestão das amostras a 420°C por 2h. Após a digestão, os tubos foram retirados da chapa aquecedora e permaneceram em capela por aproximadamente 30 min para estabilizar com a temperatura ambiente. Posteriormente, em cada tubo, procedeu-se a inclusão de 10 mL de H_2O_2 esperando esfriar por mais 30 min. Logo após a estabilização da temperatura, o líquido digerido foi completado para 100 g usando água destilada. As amostras foram então homogeneizadas e filtradas em papel filtro Whatman 541 para remoção do precipitado e efetuou-se a leitura em espectrofotômetro a 410 nm. A curva padrão foi preparada e digerida da mesma forma que as amostras, adicionando-se aos tubos 0, 2, 4, 6, 8 e 10 mg de TiO_2 . O tubo 0 mg de TiO_2 foi utilizado para zerar o equipamento.

No 22º dia de cada período experimental, 4h após a alimentação da manhã, foi realizada coleta de sangue por meio de punção da veia jugular, em tubos sem anticoagulante para coleta de soro. O soro foi obtido por centrifugação a $2.500 \times g$ por 15 min em temperatura ambiente (24°C), e foram analisados fósforo inorgânico (Little et al., 1971) e cálcio (colorimétrico, kits comerciais – Analisa, Cálcio PP). No soro e na urina foram determinadas as concentrações de ureia, segundo o método diacetil

modificado (kits comerciais). A concentração de N ureico no soro (NUS) foi obtida por meio do produto da concentração da ureia pelo valor 0,466 correspondente ao teor de N na ureia.

Para determinar o pH e a concentração de amônia (N-NH₃) no líquido ruminal, foram coletadas amostras do fluído ruminal (cerca de 150 mL) no 24^o e 25^o dia, via cânula ruminal, nos tempos 0; 2; 4; 6, 8, 10, 12 e 24h para pH ruminal e 0; 2; 4; 6 e 8h para a concentração de amônia no líquido ruminal, em cada período experimental. O tempo zero correspondeu à amostra colhida imediatamente antes do fornecimento do feno e dos suplementos, e o tempo 8, imediatamente antes do segundo fornecimento de feno (16h). O pH foi medido imediatamente após a coleta e 50 mL de fluído ruminal foram acidificados com 1 mL de H₂SO₄(1:1) e armazenados a -20°C, para posterior análise de amônia. A dosagem de amônia nas amostras de líquido ruminal foi determinada pela técnica de Fenner (1965) modificada por Vieira (1980).

Para determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), foram coletadas amostras de 50 mL de líquido ruminal, nos tempos 1; 2; 3 e 4h após a primeira alimentação do dia, e imediatamente congeladas para posterior análise. Após o total descongelamento, as amostras foram centrifugadas a 15.000 x g (4°C), durante 50 min, e analisadas de acordo com Campos et al. (2004) em cromatógrafo líquido-gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II GC), equipado com integrador (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett Packard 6890 Series Injector). O padrão interno utilizado foi o ácido 2-metilbutírico sendo acrescentado, em cada tubo para leitura em cromatógrafo, 100 µL do padrão interno, 800 µL da amostra e 200 µL de ácido fórmico. Uma mistura de ácidos graxos voláteis com concentração conhecida foi utilizada como padrão externo para a calibração do integrador.

A cinética da fase líquida foi determinada administrando no rúmen dos animais cerca de 30 g de Co-EDTA diluído em 500 mL de água destilada antes da primeira alimentação e infundido em dose única para a determinação da taxa de passagem de líquidos (Uden *et al.*, 1980). Foram coletados cerca de 50 mL de líquido ruminal antes da infusão e a cada 2h até completar 12h e uma última coleta às 24h após a administração do marcador. A taxa de passagem de líquido e as curvas de concentração ruminal do cobalto EDTA foram ajustadas ao modelo exponencial unicompartmental de Hungate (1966), citado por Colucci (1984): $Y_{co} = A.e^{(-k_1.t)}$, em que Y_{co} = concentração do indicador no tempo t; A = concentração de equilíbrio do cobalto; k_1 = taxa de passagem ou de diluição do cobalto; e t = tempo de amostragem.

Os parâmetros da dinâmica da fase líquida foram calculados de acordo com Colucci et al. (1990): tempo de retenção no rúmen (h) = 1/ taxa de passagem de fluidos (TR = 1/ klCo em %/h); volume de líquido ruminal (L) = quantidade de cobalto fornecida (mg) /A (VR = Co/A); taxa de fluxo ruminal (L/h) = taxa de passagem ou de diluição do cobalto multiplicado pelo volume ruminal (kl_{co} × VR); taxa de reciclagem da fase líquida ruminal (nº de vezes/dia) = 24h/Tp Ret calculada, conforme Maeng & Baldwin (1976)

Para determinação da cinética da fase sólida, além do Kp da fase líquida determinado pela administração do Co-EDTA, foi utilizada a técnica de esvaziamento ruminal baseada na técnica descrita por Rinne et al. (1997) e Khalili & Huhtanen (2002). Todos os animais tiveram o rúmen esvaziado manualmente duas vezes por período em dois horários distintos (7 e 11h) com pelo menos 48h de intervalo entre o primeiro e o segundo esvaziamento. Cada animal teve todo seu conteúdo transferido para tambores previamente forrados com tecido de algodão e de peso conhecido. Após o completo esvaziamento, os tambores foram pesados para determinar o peso do conteúdo total do rúmen. Posteriormente, o material foi retirado dos tambores, foi prensado e efetuou-se a separação e a pesagem das porções líquida e sólida, para determinar, em seguida, o percentual de sólido e líquido. Amostras de 200 mL de líquido ruminal foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos, devidamente etiquetados e congeladas (-20°C) para posterior processamento e análises. Da mesma forma, amostras de 2,5 kg representativas do conteúdo ruminal por meio do percentual de sólido e líquido determinado na prensagem também foram armazenadas. Imediatamente após a amostragem, o conteúdo restante (sólido + líquido) foi devolvido para o rúmen do respectivo animal que passaram a ter novamente livre acesso à água e a alimentos. Logo após a amostragem foi realizada a secagem e determinação do teor de MS de todas as amostras coletadas para a determinação da taxa de passagem da fase sólida (Kps), taxa de desaparecimento (kt) e por diferença da taxa de digestão (Kd) já que (Kt = Kp + Kd).

Amostras “spot” de urina foram coletadas aproximadamente 4h após a alimentação (período em que a concentração plasmática e urinária dos derivados de purinas já alcançou um platô), durante a micção espontânea, em dois dias alternados de cada período experimental. Imediatamente após cada coleta, as amostras foram homogêneas, filtradas e alíquotas de 15 mL de urina foram diluídas em 135 mL de H₂SO₄ a 0,036 N (1:9). Após serem diluídas e acidificadas, foi medido o pH de cada amostra e realizado ajuste para valores inferiores a 3, evitando assim a destruição

bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Em seguida, as amostras armazenadas em tubos de plástico foram congeladas a -20°C para posteriores análises de creatinina, alantoína e ácido úrico.

A concentração de creatinina na urina foi determinada pelo método de ponto final utilizando-se picrato e acidificante (kits comerciais). As análises de alantoína foram realizadas pelo método colorimétrico de Fujihara et al. (1987), descrito por Chen & Gomes (1992) que se baseia na hidrólise alcalina a 100°C da alantoína a ácido alantoico, que, posteriormente é convertido em ureia e ácido glioxílico em solução ácida. Este por sua vez reage com hidrocloreto de fenilhidrazina, para produzir fenilhidrazona do ácido. Este produto forma um cromógeno instável, com ferricianeto de potássio, que foi dosado colorimetricamente a 522nm. As análises de ácido úrico foram determinadas por kits comerciais em que o ácido úrico é oxidado pela uricase em alantoína, CO_2 e H_2O . Por meio de uma reação oxidativa, catalisada pela peroxidase, o peróxido de hidrogênio formado reage como diclorofenolsulfonato e 4-aminoantipirina, produzindo uma antipirilquinonimina de cor vermelha. A absorbância do complexo formado, medida em 520nm, foi considerada diretamente proporcional à concentração de ácido úrico da amostra.

A excreção total dos derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina, expressas em mmol/dia, obtidas pelo produto entre a concentração das mesmas na urina pelo volume urinário. O volume diário de urina produzido por cada animal por sua vez, foi estimado multiplicando-se o respectivo peso corporal pela excreção média diária de creatinina de 27,78 mg/kg de PC/dia encontrado por Rennó et al. (2003) em animais de mesmo padrão dos utilizados no experimento e dividindo-se esse produto pela concentração de creatinina (mg/L) de cada amostra “spot” de urina.

As purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia), foram calculadas a partir da excreção de derivados de purina (Y, mmol/dia) por intermédio da equação $Y = 0,85X + 0,385 \text{ PC}^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina (Chen & Gomes, 1992) e $0,385 \text{ PC}^{0,75}$, a excreção de purinas de origem endógena para gado Europeu.

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados (Y, gN/dia) foi calculado segundo Chen & Gomes (1992), em função das purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia), utilizando-se a equação: $Y = (70X) / (0,83 \times 0,116 \times 1000)$, em que 70 é o conteúdo de N

nas purinas (mgN/mmol); 0,83 é a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116 a relação N purina : N total nas bactérias.

O trabalho foi conduzido em delineamento experimental quadrado latino 5 x 5, onde foram avaliados cinco tratamentos. Os dados foram interpretados utilizando-se a metodologia de modelos mistos por meio do método de quadrados mínimos. O modelo utilizado considerou o efeito de tratamento para cada variável, além do horário de coleta e a interação tratamento x horário de coleta para as variáveis com amostras repetidas no tempo (pH, N-NH₃ e AGCC). Foi realizada análise de regressão linear simples com efeito polinomial para tratamento e regressão linear múltipla com efeito polinomial para tratamento e horário de coleta quando tais efeitos foram significativos.

Para alguns parâmetros avaliados foram estimadas correlações de Pearson.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porcentagem de P nos suplementos não influenciou ($P>0,05$) o consumo de MS, PB, FDN, NDT e Ca (Tabela 13), mas aumentou ($P<0,001$) linearmente o consumo de P. A manutenção no consumo de MS com aumento apenas no consumo de P indica que não houve deficiência severa de P nas dietas testadas, já que segundo Ternouth (1990), em caso de deficiência ocorre redução no consumo de MS pela redução expressiva na atividade microbiana do rúmen.

Tabela 13 – Ingestão de MS, MO, PB, FDN, NDT , P e Ca

	Médias					Equação de Regressão	S	r ²
	2,5P	5P	10P	15P	20P			
	Consumo (g/dia)							
MS	5393,72	5832,79	5513,12	5679,57	5366,03	Y=5545,56	-	0,00
PB	405,91	414,98	413,70	425,64	404,64	Y=417,5662553	-	0,00
FDN	4168,41	4511,90	4262,48	4392,29	4143,46	Y=4286,7	-	0,00
NDT	3208,99	3289,99	3305,01	3431,66	3147,63	Y =3276,65	-	0,00
P	6,83	7,96	8,68	10,08	10,81	Y=6,4758+0,23824x	**	0,63
Ca	12,97	13,26	13,38	13,93	14,06	Y=13,71119	-	0,00
	Consumo (%PC)							
MS	2,04	2,04	2,07	2,07	2,02	Y = 2,0494604	-	0,00
FDN	1,58	1,58	1,60	1,60	1,56	Y = 1,5840697	-	0,00
NDT	1,22	1,21	1,24	1,25	1,18	Y = 1,2202281	-	0,00
	Consumo (g/kg ^{0,75})							
MS	82,07	82,80	83,64	84,31	81,31	Y = 82,8255745	-	0,00
FDN	63,44	64,00	64,67	65,19	62,79	Y = 64,0173964	-	0,00
NDT	48,92	49,13	50,09	50,09	47,63	Y = 49,3325649	-	0,00

2.5P=Suplemento com 2,5 g de P/kg; 5P= Suplemento com 5 g de P/kg; 10P= Suplemento com 10 g de P/kg; 15P= Suplemento com 15 g de P/kg; 20P= Suplemento com 20 g de P/kg; S = Significância; ** = $P<0,001$; * = $P<0,05$; - = não-significativo.

O mesmo efeito também foi encontrado por Portilho et al. (2006) e Borges et al. (2008), ambos trabalham com diversos níveis de fósforo para ovinos da raça Santa Inês, assim como Valk et al. (2002) trabalham com vacas em lactação. Souza et al. (2007), trabalhando com níveis crescentes de fósforo em dietas à base de cana-de-açúcar para bubalinos, também não observaram diferença significativa no consumo de MS, mas justificam o fato de os animais não terem ingerido diariamente nível limítrofe para a exigência de fósforo em búfalos machos adultos em manutenção (7 g/animal/dia).

A elevada proporção de feno de baixa qualidade ofertado aos animais, com alto teor de FDN (80,52%) e baixa proteína bruta (6,17%), que apesar de ter sido fornecido “ad libitum”, provocou restrição aos animais, tanto física quanto nutricional, é um dos motivos de não ter sido observado aumento no consumo de MS com o aumento dos níveis de P suplementar. Segundo Mertens (1994), quando o consumo de FDN é superior a 1,2% do PC (neste caso, 1,58% do PC), a ingestão é limitada pelo efeito físico de “enchimento” do rúmen.

Apesar de o fosfato bicálcico ter sido a fonte de P usada no suplemento, tendo contribuído com os teores de Ca, a suplementação com níveis crescentes de P não aumentaram ($P > 0,05$) o consumo de Ca. A quantidade de P fornecido nas dietas experimentais aumentou com os diferentes suplementos sem aumentar proporcionalmente os níveis de Ca, o que fez com que as relações de Ca:P dos suplementos fossem distintas. Segundo McDowell (1992), os bovinos toleram grandes variações na relação Ca:P (1:1 a 7:1), desde que as quantidades de P fornecidas na dieta sejam adequadas. Vale ressaltar aqui o foco principal do trabalho que foi o metabolismo relacionado ao fósforo, restando ao cálcio apenas a observação de seus efeitos relacionados à suplementação com níveis crescentes de fósforo.

Quantidades crescentes de P suplementar não influenciaram o fluxo de MS, MO, PB, FDN e Ca ($P > 0,05$), mas aumentaram linearmente a excreção omasal e fecal de P (Tabela 14) demonstrando que estes fluxos refletem o consumo do elemento, assim como concluído por Bueno & Vitti (1999) ao testar níveis crescentes de P para caprinos.

Tabela 14 – Fluxo omasal e fluxo fecal de MS, MO, PB, FDN, P e Ca

	Médias					Equação de Regressão	S	r ²
	2,5P	5P	10P	15P	20P			
Fluxo Omasal (g/dia)								
MS	2784,20	3003,68	2969,86	3022,35	3172,08	Y = 2981,96	-	0,00
MO	2383,45	2457,20	2505,11	2523,00	2549,64	Y = 2483,68	-	0,00
PB	342,19	375,09	380,73	400,93	388,55	Y = 377,4962042	-	0,00
FDN	1794,80	1797,16	1809,25	1826,49	1840,61	Y = 1813,66	-	0,00
P	11,58	12,27	14,70	14,29	14,53	Y = 11,68722+0,17014x	*	0,16
Ca	11,12	11,59	11,29	12,09	12,87	Y = 12,12561	-	0,00
Fluxo Fecal (g/dia)								
MS	2126,72	2035,76	2148,20	2174,08	2155,01	Y = 2131,79	-	0,00
MO	1953,59	1992,39	1966,26	1996,61	1974,49	Y = 1976,67	-	0,00
PB	168,12	173,25	166,50	169,89	168,66	Y = 169,2843575	-	0,00
FDN	1585,72	1611,50	1594,78	1601,49	1603,45	Y = 1599,39	-	0,00
P	5,56	5,75	6,18	7,15	7,43	Y = 5,20434+0,11515x	*	0,17
Ca	11,21	11,67	11,01	11,23	11,94	Y = 11,26793	-	0,00

2.5P=Suplemento com 2,5 g de P/kg; 5P= Suplemento com 5 g de P/kg; 10P= Suplemento com 10 g de P/kg; 15P= Suplemento com 15 g de P/kg; 20P= Suplemento com 20 g de P/kg; S = Significância; ** = P<0,001; * = P<0,05; - = não-significativo.

Ao correlacionar (Pearson) o P consumido e o P fecal comprovou-se o efeito no fluxo fecal ($r=0,65$; $P<0,05$) em função da maior ingestão de P nos suplementos, confirmando os achados de Bueno & Vitti (1999) e Bravo et al. (2003), já que as fezes são a principal rota de excreção de fósforo nos ruminantes, aumentando a excreção fecal com o aumento no P consumido. Scott et al (1985), Challa & Braithwaite (1988), Bravo et al (2003), Antunes (2006) e Borges et al (2008) também observaram relação positiva entre o fósforo consumido e o fósforo total excretado. A correlação entre o P consumido e o P omasal também foi positiva ($r=0,52$; $P<0,05$), o que pode ser consequência de outra alta correlação (não demonstrada aqui) entre o P consumido e o P ruminal, já que o que resta do atendimento aos micro-organismos do rúmen, chega ao omaso.

A porcentagem de P nos suplementos não influenciou ($P>0,05$) a digestão ruminal, intestinal e total além de não influenciar os coeficientes de digestibilidade aparente ruminal e intestinal da MS (Tabela 15). No entanto, o coeficiente de digestibilidade aparente total (CDAT) da MS apresentou efeito quadrático ($P<0,05$) com maior CDAT da MS (62,40%) no consumo de 10,95 g de P/kg. Bass et al. (1980), ao trabalharem com vacas de corte em lactação ingerindo de 5,9 a 11,9 g/dia, também observaram mesmo efeito no coeficiente de digestibilidade da MS que variou de 33% a 51%, respectivamente.

Tabela 15 – Digestão e coeficiente de digestibilidade da MS, MO, PB, FDN

	Médias					Equação de Regressão	S r ²
	2,5P	5P	10P	15P	20P		
MS							
DR	2609,52	2632,75	2543,26	2657,22	2334,79	Y=2555,51	- 0,00
CDR	48,36	47,13	45,53	46,26	44,89	Y=46,50	- 0,00
DI	750,49	718,01	740,85	848,27	768,24	Y=766,81	- 0,00
CDI	23,19	24,33	27,66	27,64	25,24	Y=25,74	- 0,00
DT	3267,01	3601,73	3364,92	3505,49	3211,02	Y=3381,21	- 0,00
CDT	59,68	60,45	62,98	62,27	58,83	Y=57,77505+0,85192x-0,03889x ²	* 0,45
MO							
DR	2687,06	2733,63	2674,11	2809,97	2483,55	Y=2677,66	- 0,00
CDR	52,95	52,04	51,10	52,18	47,84	Y=51,36	- 0,00
DI	429,86	583,92	471,23	526,39	575,16	Y=516,42	- 0,00
CDI	17,44	23,46	21,47	20,09	19,73	Y=20,34	- 0,00
DT	3116,92	3436,29	3212,96	3336,36	3058,71	Y=3223,75	- 0,00
CDT	60,51	61,40	58,44	62,25	59,81	Y=60,71	- 0,00
PB							
DR	63,72	39,89	32,97	24,71	16,09	Y=31,10	- 0,00
CDR	15,30	9,28	7,58	5,74	3,35	Y=12,97243-0,50434x	* 0,20
DI	174,08	201,83	214,22	231,04	219,89	Y=208,21	- 0,00
CDI	50,65	53,69	56,35	57,27	56,38	Y=54,87	- 0,00
DT	237,80	241,73	247,19	255,75	235,98	Y=244,47	- 0,00
CDT	58,28	58,21	59,67	59,73	58,36	Y= 58,57	- 0,00
FDN							
DR	2373,62	2472,06	2453,23	2565,79	2302,85	Y=2433,51	- 0,00
CDR	56,94	57,28	56,84	57,77	55,48	Y=56,86	- 0,00
DI	263,97	277,47	214,47	289,78	237,16	Y=253,78	- 0,00
CDI	13,92	15,17	11,90	14,80	10,36	Y=13,17	- 0,00
DT	2479,58	2858,54	2667,70	2790,80	2540,01	2667,17	- 0,00
CDT	60,95	62,03	64,86	63,18	60,40	Y=59,67341+0,94926x-0,04667x ²	* 0,34

DR = Digestibilidade Ruminal (g/dia); CDR = Coef. de digestibilidade aparente ruminal (%); DI = Digestibilidade Intestinal (g/dia); CDI = Coef. de digestibilidade aparente intestinal (%); DT = Digestibilidade Total (g/dia); CDT = Coef. de digestibilidade aparente total (%); 2,5P=Suplemento com 2,5 g de P/kg; 5P= Suplemento com 5 g de P/kg; 10P= Suplemento com 10 g de P/kg; 15P= Suplemento com 15 g de P/kg; 20P= Suplemento com 20 g de P/kg; S = Significância ; ** = P<0,001; * = P<0,05; - = não-significativo.

O aumento na concentração de fósforo dos suplementos não influenciou (P>0,05) a digestão da matéria orgânica no trato gastrointestinal. No entanto, diminuiu linearmente (P<0,05) o coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR) da proteína, com o maior coeficiente de digestibilidade (15,30%) com 2,5 g de P/kg (2,5P). Mesmo efeito foi encontrado por Gartner et al (1982) em vacas Hereford com significativo decréscimo no coeficiente de digestibilidade da proteína ao consumirem de 6,7 a 18,6 g de P/dia.

O aumento na concentração de fósforo dos suplementos ainda influenciou (P<0,05), de forma quadrática, o coeficiente de digestibilidade aparente total da FDN. O maior coeficiente de digestibilidade aparente total para a fração FDN foi encontrado

com 10,17 g de P/kg com coeficiente de 64,50%. Segundo Komisarczuk et al (1987), a deficiência de P afeta a digestão da celulose no rúmen, a síntese de proteína e utilização de amônia, o que confirma a importância do P para a digestão desta fração, se os demais nutrientes forem devidamente supridos.

O aumento na concentração de fósforo dos suplementos não influenciou ($P>0,05$) o desaparecimento ruminal do P (Tabela 16), mas aumentou linearmente a absorção aparente ruminal.

Tabela 16 – Médias, equações de regressão, significância e coeficiente de determinação para desaparecimento e coeficiente de absorção aparente do P e do Ca ($P<0,05$)

	Médias					Equação de Regressão	S	r ²
	2,5P	5P	10P	15P	20P			
Fósforo								
DR	-4,76	-4,71	-5,35	-4,20	-3,73	Y= - 4,70373	-	0,00
AAR	-69,07	-61,07	-60,87	-41,01	-35,14	Y= -76,6816+2,01857x	*	0,38
DI	5,44	6,51	7,93	7,14	7,10	Y= 7,08535	-	0,00
AAI	52,03	54,18	58,18	47,02	48,84	Y= 51,28657	-	0,00
DT	1,27	1,80	2,50	2,58	3,37	Y=1,11057+0,11298x	*	0,47
AAT	18,58	24,24	29,49	24,10	32,26	Y=25,77347	-	0,00
Cálcio								
DR	1,85	1,67	2,08	1,85	1,93	Y=1,58558	-	0,00
AAR	14,79	11,73	16,03	11,91	13,77	Y= 11,10907	-	0,00
DI	0,46	0,82	0,78	0,86	1,40	Y= 0,85768	-	0,00
AAI	3,89	6,82	6,25	6,96	10,31	Y= 6,88711	-	0,00
DT	1,76	1,59	2,37	2,70	2,84	Y= 2,44326	-	0,00
AAT	13,67	11,95	17,29	18,51	20,13	Y= 17,50414	-	0,00

DR = Desaparecimento ruminal (g/dia); AAR = Absorção aparente ruminal (%); DI = Digestão intestinal (g/dia); AAI = Absorção aparente intestinal; DT = Digestão total (g/dia); AAT = Absorção aparente total (%); 2.5P=Suplemento com 2,5 g de P/kg; 5P= Suplemento com 5 g de P/kg; 10P= Suplemento com 10 g de P/kg; 15P= Suplemento com 15 g de P/kg; 20P= Suplemento com 20 g de P/kg; S = Significância; ** = $P<0,001$; * = $P<0,05$; - = não-significativo.

Valores negativos de desaparecimento e absorção ruminal de P, também encontrados por Branco et al. (2000) indicam alta taxa de reciclagem de P através da saliva, como fonte adicional de P para os micro-organismos ruminais. Souza et al. (2009) relacionaram a ocorrência de reciclagem de P no rúmen a situações de baixa ingestão de fósforo (8 g/animal/dia para bubalinos adultos alimentados com 85% de cana-de-açúcar), em que o hospedeiro estaria mobilizando fósforo dos ossos para a saliva. O fósforo do fluido ruminal é positivamente correlacionado com o P sérico (Tomas et al. 1967), e a saliva dos ruminantes pode contribuir em determinadas

situações com 77% do P no rúmen (Cohen, 1980) já que quanto menor a qualidade da forragem, maior é a taxa de ruminação e maior a salivação e incorporação de P. Segundo Underwood (1981), a mobilização de P nos ruminantes chega a ser mais importante que o P dietético dependendo das condições de produção e saúde dos animais.

A concentração de P nos suplementos também não influenciou ($P>0,05$) o desaparecimento intestinal e na absorção aparente de P, mas apresentou efeito linear positivo ($P<0,05$) no desaparecimento total de P. Hay & Swenson (1988) afirmam que fatores como pH intestinal, relação Ca:P, níveis dietéticos de Ca e P, presença da vitamina D, gordura, fitatos e oxalatos (Minson, 1990), além de outros minerais como magnésio e alumínio, podem influenciar ou até mesmo determinar a absorção do P. Segundo Alcade et al (2004), o sinergismo entre o cálcio e o fósforo é um dos principais fatores que determinam a absorção de fósforo no intestino delgado dos ruminantes.

A concentração de fósforo nos suplementos não influenciou ($P>0,05$) o desaparecimento e a absorção aparente do Ca no trato gastrintestinal, apesar do Ca e do P serem regulados por mecanismos biológicos e físico-químicos idênticos. Segundo Minson (1990), os ruminantes absorvem do trato digestório apenas a quantidade de Ca que realmente precisam. O mesmo autor ainda afirma que a disponibilidade do Ca nos alimentos é dependente da necessidade do animal e é raramente limitado pelas características da forragem, com exceção de quando os níveis de oxalato na forragem são altos. Neste sentido, os teores de Ca da dieta parecem não ter influenciado o metabolismo do P, nem mesmo terem sido influenciados pelos níveis de fósforo suplementar.

O pH do rúmen respondeu cubicamente aos níveis de fósforo dos suplementos ($Y = 6,41581+0,11857X-0,01184X^2+0,00033924X^3$) como pode ser visto na Figura 5. Além disso, também foi verificado efeito cúbico do horário de coleta nos valores de pH ruminal ($Y = 6,74080+0,03444X-0,00690X^2+0,00022577X^3$). Não houve ($>0,05$) interação tratamento X horário de coleta em relação ao pH do rúmen.

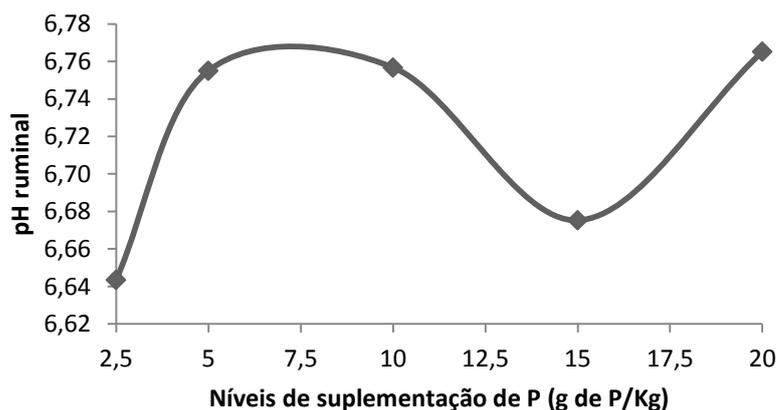


Figura 5 – Comportamento do pH do rúmen em função da concentração de P nos suplementos

Apesar do comportamento cúbico, a variação nos valores de pH ruminal foi pequena, e para todos os suplementos, o pH do rúmen foi superior a 6,5; ou seja, dentro da faixa de 6,0 - 6,5 reportados por Beaver & Siddons (1986) como referência para animais em pastejo.

Considerando todos os períodos experimentais, com coletas realizadas durante 24h, constatou-se que o pH ruminal manteve-se entre 6,20 e 7,17; tendo portanto, seu menor valor de pH igual a 6,2 considerado mínimo desejável, conforme Hoover (1986), Oskov (1988) e Van Soest (1994) para promover a fermentação da fibra e não prejudicar o processo de adesão dos micro-organismos e colonização microbiana. Um fator que pode ter contribuído para a manutenção do pH é a elevada taxa mastigatória que o feno de baixa qualidade pode ter provocado, (aumentando consideravelmente a secreção salivar e favorecendo o tamponamento do rúmen pela presença do P salivar o que diminui a acidez provocada pela formação de ácidos orgânicos resultantes do metabolismo de micro-organismos). Outro fator que pode ter contribuído é o fato da ingestão de suplemento observada durante o experimento não ter sido sempre de forma total antes da ingestão de feno, o que sugere maior tamponamento do rúmen pela maior presença de ureia no rúmen sendo hidrolisada a carbonato de amônia, impossibilitando os picos de pH. Além disso, os suplementos utilizados neste experimento são suplementos de baixo consumo (1 g de suplemento/kg de PC) o que tende a não provocar alteração ou quando provocar de pequena magnitude.

Os diferentes níveis de suplementação de P não apresentaram influência ($P > 0,05$) sobre a concentração de $N-NH_3$ no rúmen, mas, esta variável apresentou comportamento cúbico ($Y = 2,29011 + 6,00061X - 1,6533X^2 + 0,11477X^3$) em relação aos

horários de coleta ($P < 0,05$). Morris et al. (1965), ao analisar os índices de eficiência de fermentação ruminal em ovinos suplementados com 0; 3 e 6 g de N e 0, 2 e 2,65 g de P, verificaram que assim como o pH e os AGCC, a concentração de amônia ruminal também não foi afetada.

As concentrações de $N-NH_3$ variaram de 1,24 a 13,51 mg/100mL de fluido ruminal. Analisando o comportamento das curvas (Figura 6), pode-se observar que o pico de produção de amônia, como esperado, ocorreu entre 2 e 3h após a alimentação, já que todos os suplementos apresentavam a inclusão de ureia (fonte exclusiva de nitrogênio não-proteico).

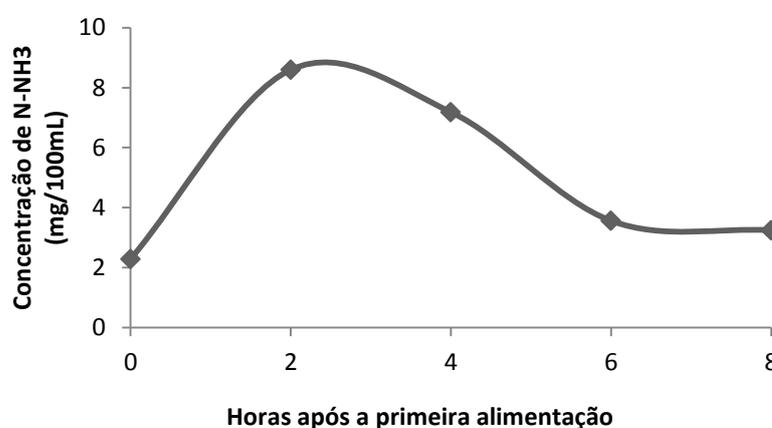


Figura 6 – Comportamento da variação do $N-NH_3$ ruminal durante período de 8h após a primeira alimentação

Segundo Sater & Styler (1974), a concentração mínima de amônia para manter a fermentação adequada e ocorrer degradação da parede celular é de 5 mg/100 mL de fluido ruminal. Nota-se valores abaixo do referenciado antes da primeira alimentação (2,29 mg/100mL de fluido ruminal), no entanto conseguiram manter por mais de 3h valores mínimos de $N-NH_3$ no rúmen provavelmente porque a queda na concentração de $N-NH_3$ ruminal depende da taxa de degradação das proteínas e de fermentação dos carboidratos no rúmen, uma vez que quando a taxa de degradação das proteínas excede a taxa de fermentação dos carboidratos, grande quantidade de N é perdido na forma de amônia.

Komisarczuk et al (1987) avaliaram o efeito de diferentes níveis de P sobre a fermentação ruminal “in vitro”, utilizando fluido ruminal de ovinos, e verificaram maior pH, maior produção de amônia ruminal e menor produção de ácidos graxos de cadeia

curta quando os níveis de fósforo no fluido eram deficientes, o que leva a crer que os níveis de P testados neste experimento foram todos satisfatórios.

A concentração de fósforo nos suplementos não influenciou ($P>0,05$) a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), assim como também não foi encontrado efeito ($P>0,05$) da interação entre tratamento e horário de coleta, mas houve efeito ($P<0,05$) do horário de coleta (Tabela 17). Pode-se concluir, portanto, que todos os suplementos atenderam às exigências mínimas de fósforo das bactérias celulolíticas, uma vez que segundo Komisarczuk et al (1987) e Barcellos (1998) em caso de deficiência de fósforo, menor produção de ácidos graxos de cadeia curta é observada.

Tabela 17 – Concentrações de ácidos graxos de cadeia curta ($\mu\text{M}/\text{mL}$) e relação entre acetato e propionato em função dos horários de coleta

	Médias				Equação de Regressão	S	r^2
	1h	2h	3h	4h			
C2	64,02	61,99	53,06	54,88	$Y = 67,20587 - 3,39350x$	**	0,14
C3	16,98	15,95	14,67	14,79	$Y = 18,05563 - 0,92318x$	**	0,20
IC4	0,63	0,59	0,51	0,52	$Y = 0,68454 - 0,04654x$	**	0,19
C4	9,01	8,62	8,02	8,21	$Y = 9,43147 - 0,36674x$	*	0,10
IC5	0,98	0,65	0,56	0,56	$Y = 1,08070 - 0,15341x$	*	0,06
C5	0,74	0,81	0,83	0,84	$Y = 0,70477 + 0,03844x$	*	0,05
AGCCT	92,35	88,61	77,64	79,81	$Y = 97,16299 - 4,84492x$	**	0,17
C2:C3	3,79	3,92	3,60	3,72	$Y = 3,74$	-	0,00

C2 = Acetato; C3 = Propionato; IC4 = Isobutirato; C4 = Butirato; IC5 = Isovalerato; C5 = Valerato; AGCCT = ácidos graxos de cadeia curta total; C2/C3 = Relação acetato:propionato. 1h = 1h após a alimentação; 2h = 2h após a alimentação; 3h = 3h após a alimentação; 4h = 4h após a alimentação; S = Significância; ** = $P<0,001$; * = $P<0,05$; - = não-significativo.

Os ácidos graxos (C2, C3, IC4, C4, IC5 e AGCCT) apresentaram resposta linear negativa ($P<0,05$) em relação aos horários de coleta, diminuindo a produção com o passar do tempo. Já, a dosagem de C5 apresentou efeito inverso, com comportamento linear positivo, aumentando com o passar da hora. A relação entre C2 e C3 não foi influenciada pelos horários de coleta.

As quantidades crescentes de P suplementar não influenciaram os parâmetros utilizados para a quantificação da eficiência microbiana (Tabela 18). A excreção de creatinina na urina não foi influenciada ($P>0,05$) pela concentração de P dos suplementos uma vez que é uma constante, variando apenas em função do peso corporal dos animais, o que permitiu sua utilização para a determinação do volume urinário e a estimativa dos derivativos de purinas pela coleta de urina “spot”. Assim como a

excreção de creatinina, o volume de urina produzida também não foi influenciado ($P>0,05$) pelos níveis de P encontrando-se dentro de valores regulares de produção de urina (5 a 20 L) conforme recomendado pelo IAEA (1997).

Tabela 18 – Parâmetros da eficiência de síntese microbiana

	Médias					Equação de Regressão	S	r ²
	2,5P	5P	10P	15P	20P			
EC	66,20	83,50	71,50	80,40	80,70	Y = 76,46	-	0,00
VU	12,60	9,51	11,31	9,63	9,85	Y = 10,58	-	0,00
ALA	84,62	85,01	81,92	92,45	79,20	Y = 84,64	-	0,00
ALA (%PUT)	87,18	88,18	87,39	89,37	89,47	Y = 88,32	-	0,00
AcU	11,07	11,35	11,77	10,82	9,43	Y = 10,89	-	0,00
PUT	95,69	96,36	93,69	103,27	88,63	Y = 95,53	-	0,00
PUab	83,00	83,40	80,46	91,25	74,59	Y = 82,54	-	0,00
Nmic	60,34	60,63	58,49	66,34	54,23	Y = 60,01	-	0,00
EF	118,15	114,57	111,11	119,98	109,82	Y = 114,73	-	0,00

EC = Excreção de Creatinina (mg/L); VUL = Volume de Urina Produzido; ALA (mmol/d) = Alantoína (mmol/d); ALA (%PUT) = Alantoína (% das Purinas totais); AcU (mmol/d) = Ácido Úrico (mmol/d); AcU (%PUT) = Ácido Úrico (% das Purinas Totais); PUT (mmol/d) = Purinas totais (mmol/d); Nmic (g/dia) = Nitrogenio microbiano (g/dia); EF = Eficiência microbiana (gPbmic/KgNDT); 2.5P=Suplemento com 2,5 g de P/kg; 5P= Suplemento com 5 g de P/kg; 10P= Suplemento com 10 g de P/kg; 15P= Suplemento com 15 g de P/kg; 20P= Suplemento com 20 g de P/kg; S = Significância; *** = $P<0,001$; ** = $P<0,05$; * = $P<0,10$; - = não-significativo.

A proporção de alantoína em relação aos derivados de purinas totais obtidos (88,32%) encontrou-se próxima aos valores referenciados por Verbic et al. (1990) de 85%, Chen & Gomes (1992) de 80 a 85%, Leão et al. (2004) de 87,90%, Rennó et al. (2008) com valor observado de 91,70% e estimado de 91,93%.

Apesar de também não apresentar diferença significativa ($P>0,05$), é importante destacar que a eficiência de síntese microbiana nos tratamentos experimentais (114,73 g de PBmic/kg de NDT) foi inferior ao considerado pelo NRC (2001) que é de 130 g de PBmic/kg de NDT.

A suplementação com quantidades crescentes de P não apresentou influência ($P>0,05$; Tabela 19) sobre a taxa de passagem da fase líquida (/h), sobre o tempo de retenção no rúmen (horas), fluxo de líquidos no rúmen (L/hora) ou sobre a taxa de reciclagem ruminal (vezes/dia), taxa de desaparecimento ruminal (/h) e sobre a taxa de digestão (/h) ($P>0,05$).

Tabela 19 – Parâmetros da cinética ruminal

	Médias					Equação de Regressão	S	r ²
	2,5P	5P	10P	15P	20P			
Kpl (fase líquida)	0,115	0,109	0,123	0,104	0,109	Y = 0,11194	-	0,00
VR	59,38	68,85	69,23	77,38	81,49	Y = 59,64673+1,11814x	*	0,25
Tp Retenção.	8,94	9,38	8,73	10,22	10,58	Y = 9,59866	-	0,00
Tx Fluxo	6,68	7,52	8,38	7,87	8,52	Y = 7,84252	-	0,00
Tx Reciclagem	2,78	2,62	2,95	2,49	2,62	Y = 2,68657	-	0,00
Kps (fase sólida)	0,033	0,027	0,023	0,022	0,023	Y = 0,03032-0,00046457x	*	0,34
Kt	0,056	0,048	0,049	0,049	0,051	Y = 0,05046	-	0,00
Kd	0,023	0,021	0,026	0,027	0,028	Y = 0,02517	-	0,00

Kpl (fase líquida) = Taxa de passagem da fase líquida (/h); VR = Volume ruminal (L); Tp Retenção = Tempo de retenção (h); Tx Fluxo = Taxa de fluxo de líquidos (L/h); Tx Reciclagem = Taxa de reciclagem (vezes/d); Kps (fase sólida) = Taxa de passagem da fase sólida (/h); Kt = Taxa de desaparecimento (/h); Kd = Taxa de digestão (/h); 2,5P=Suplemento com 2,5 g de P/kg; 5P= Suplemento com 5 g de P/kg; 10P= Suplemento com 10 g de P/kg; 15P= Suplemento com 15 g de P/kg; 20P= Suplemento com 20 g de P/kg; S = Significância; ** = P<0,001; * = P<0,05; - = não-significativo.

A concentração crescente de P nos suplementos produziu aumento linear (P<0,05) no volume ruminal, um resultado difícil de ser explicado pelas avaliações feitas no experimento. Com o aumento da concentração de fósforo nos suplementos houve redução linear (P<0,05) na taxa de passagem da fase sólida e aumento na digestibilidade potencial. Verifica-se que apesar da alta taxa de passagem da fase líquida (11%/h), a baixa taxa de passagem da fase sólida (2%/h) demonstra claramente o tipo de dieta utilizada (feno de baixa qualidade).

A concentração de P nos suplementos não alterou (P>0,05) os parâmetros sanguíneos analisados (Tabela 20).

Tabela 20 – Parâmetros sanguíneos

	Médias					Equação de Regressão	S	r ²
	2,5P	5P	10P	15P	20P			
Ureia (mg/dL)	20,20	18,80	20,60	18,60	19,20	Y = 19,48	-	0,00
N-Ureico (mg/dL)	9,44	8,79	9,63	8,69	8,97	Y = 9,10	-	0,00
N-Ureico (mmol/L)	1,58	1,47	1,61	1,45	1,50	Y = 1,52	-	0,00
Creatinina (mg/dL)	1,13	1,11	1,11	1,11	1,11	Y = 1,12	-	0,00
Creatinina (µmol/L)	100,07	98,30	98,30	98,30	97,95	Y = 98,58	-	0,00
Cálcio (mg/dL)	7,76	7,80	7,78	7,74	7,62	Y = 7,74	-	0,00
Cálcio (mmol/L)	1,94	1,95	1,95	1,94	1,91	Y = 1,94	-	0,00
Fósforo (mg/dL)	5,80	5,96	6,51	7,37	6,72	Y = 6,47	-	0,00
Fósforo (mmol/L)	1,87	1,92	2,10	2,38	2,17	Y = 2,09	-	0,00

2,5P=Suplemento com 2,5 g de P/kg; 5P= Suplemento com 5 g de P/kg; 10P= Suplemento com 10 g de P/kg; 15P= Suplemento com 15 g de P/kg; 20P= Suplemento com 20 g de P/kg; S = Significância; ** = P<0,001; * = P<0,05; - = não-significativo.

A ureia medida no soro (19,48 mg/dL), que demonstra o estado proteico dos animais em curto prazo, pode ser considerada normal já que segundo Swenson & Reece (1996) valores entre 10 e 30 mg/dL e segundo Kaneko et al. (1997) valores de até 45 mg/dL são considerados normais.

As concentrações de creatinina e de ureia no soro podem ser considerados normais segundo Kaneko et al. (1997). Segundo González et al. (2000) diferentemente de outras espécies, os bovinos com deficiência proteica não apresentam diminuição na creatinina plasmática, mas a sua concentração pode ser usada para diferenciar aumentos na concentração de ureia por causas pré-renais (como a alimentação) ou causas renais. Quando a dosagem de ureia no sangue aumenta, o que não foi verificado no presente experimento, sem aumento na concentração de creatinina, pode-se concluir que a elevação da ureia certamente teve origem fisiológica na maior ingestão de proteína e não em problemas renais.

O cálcio no soro é dependente do consumo deste nutriente, absorção de Ca intestinal, da reabsorção de Ca do tecido ósseo e do filtrado glomerular, e não pela concentração de P na dieta, o que foi confirmado no presente experimento. No entanto, a concentração (7,74 mg/dL) esteve pouco abaixo do considerado satisfatório, que é de 8,5 a 11,5 mg/dL (Santos, 2006), para a manutenção de processos de comunicação celular ordenada tanto entre células quanto dentro da mesma célula.

Conforme recomendações de Thompson Jr. (1978), os níveis de fósforo sérico encontrados no experimento podem ser considerados dentro dos limites normais já que os valores de referência deste autor situam-se entre 4 e 9 mg/dL. Utilizando esta referência para a avaliação dos níveis de P testados, sugere-se que todos os níveis de fósforo suplementar foram igualmente utilizados. No entanto, estudos demonstram que quando a concentração sanguínea de fósforo ultrapassa 6 mg/dL (como foi o caso), a capacidade de reabsorção dos túbulos renais é excedida, havendo perda significativa de P via urina. Pela concentração de fósforo no sangue pode-se concluir que todos os suplementos forneceram quantidades adequadas de fósforo. Os valores encontrados poderiam indicar absorção de fósforo dietético acima da exigência de manutenção, no entanto, os teores de P determinados no sangue são questionáveis, já que segundo Tosi (1999), sua determinação no soro ou plasma apresenta séria limitação, pois mesmo em deficiência os teores podem ser altos ou normais nesses fluídos em decorrência da mobilização óssea, sendo portanto a biópsia do osso o material mais indicado para a avaliação do P.

CONCLUSÕES

Baixas concentrações de fósforo na dieta dos bovinos promoveram alta reciclagem de fósforo no rúmen, com absorção aparente ruminal negativa para o fósforo. O aumento na concentração de fósforo nos suplementos promoveu aumento na ingestão e nos fluxos omasal e fecal do fósforo, na absorção aparente ruminal, e no desaparecimento total de P. A suplementação com fósforo para bovinos alimentados com feno de baixa qualidade em nível de 10 g de P/kg de suplemento, apresentou maior coeficiente de digestibilidade aparente total da FDN, maiores concentrações de nitrogênio amoniacal, manteve o pH ruminal e apresentou concentrações de ácidos graxos de cadeia curta considerados normais sem influenciar os parâmetros da cinética ruminal e eficiência de síntese microbiana.

LITERATURA CITADA

- ALCADE, C. D.; RAIMUNDO, P. C.; GARCIA, J. et al. Comportamento das concentrações de cálcio e fósforo no trato digestório. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2004]. (CD-ROM).
- ANTUNES, D.A. Phosphorus deficiency diagnosis in sheep using labeled phosphorus uptake by erythrocytes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.2, p.339-346, 2006.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.
- BARBOSA, A. M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.870-877, 2006.
- BARCELLOS, J.O.J. O papel de fósforo na nutrição de bovinos de corte. In: DIAZ GONZALEZ, F.H.; OSPINA, H.; BARCELLOS, J.O.J. (Eds.) **Nutrição mineral em ruminantes**. 2.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1998. p.23-72.
- BASS, J. M. The effects of supplementary phosphorus on the voluntary consumption and digestibility of low phosphorus straw-based diet given to beef cows during pregnancy and early lactation. **Journal of Agricultural Science**, v.97, p.365-372, 1981.
- BEEVER, D. E., SIDDON, R.C. Digestion and metabolism in the grazing ruminant. In MILLIGAN, L.P., GROVUM, W.L., DOBSON, A. (Eds.) **Control of digestion and metabolism in ruminants**. Englewood. Cliffs, N.J: Prentice-Hall, 1986. p.479-497.
- BORGES, E. E. S.; FILHO, J. C. S.; ROQUE, N. C. et al. Dinâmica do fósforo em ovinos alimentados com dietas contendo diversos níveis deste mineral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n.9, p.1679-1684, 2008.
- BRANCO, A. F.; MAIA, F. J. GUIMARÃES, K. C. et al. Efeito do período experimental na absorção aparente de macronutrientes minerais em bovinos alimentados com dois níveis de volumoso. **Acta Scientiarum**, v. 22, n.3, p.779-785, 2000.

- BRAVO, D., SAUVANT, D., BOGAERT, C., MESCHY, F. II. Quantitative aspects of phosphorus absorption in ruminants. **Reproduction Nutrition Development**, 43: 271-284, 2003.
- BUENO, M. S.; VITTI, D. M. S. S. Phosphorus levels for goats: endogenous fecal loss and net requirement for maintenance. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 34, n. 4, p.675-681, 1999.
- CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G.. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2004. 135 p.
- CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G.D. Phosphorus and calcium metabolism in growing calves with special emphasis on homeostasis. 1. Studies of the effects of changes in the dietary phosphorus intake and calcium metabolism. **Journal of Agricultural Science**, v.110, n.3, p.573-581, 1988.
- CHEN X.B., GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details**. Bucksburn: Rowett Research Institute/ International Feed Research Unit, 1992. 21p. (Occasional publication).
- COHEN R. D. H. Phosphorus in rangeland ruminant nutrition: a review. **Livestock Production Science**, v.7, p.25-37, 1980
- ERICKSON, G. E.; KLOPFENSTEIN, T. J.; MILTON, C. T. Effect of Dietary Phosphorus on Finishing Steer Performance, Bone Status, and Carcass Maturity, **Journal of Animal Science**, v.77 p.2832-2836,1999
- FISKE, C. H., SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, v. 66, p. 375, 1925.
- GARTNER, J.W.; MURPHY, G. M.;HOEY, W. A. Effects of induced, subclinical phosphorus deficiency, on feed intake and growth of beef heifers. **Journal of Agricultural Science**, v.98, p.23-29, 1982.
- GONZÁLEZ, F. H. D., CONCEIÇÃO, T. R. SIQUEIRA, A. J. S. et al. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte do Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, v.20, p.59-62, 2000.
- HAYS, V. W.; SWENSON, M. J. Minerais e ossos. In: SWENSON, M. J. (Ed). **DUKES/Fisiologia dos animais domesticos**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p.397-427.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved en ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.10, p.2755-2766, 1986.
- HULERY, L.A., STANTON, T.L., SCHUTZ, D. The effects of supplementing different levels of phosphorus and copper in beef finishing diets. **Journal of Animal Science**, v. 81 (Supl. 1), p. 326, 1998.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY – IAEA. **Estimation of rumen microbial protein production from purine derivatives in urine**. Viena, 1997. 49p.
- KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. (Ed.) **Clinical biochemistry os domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 1997. 932p.

- KHALILI, H.; HUHTANEN. Effect of casein infusion in the rumen, duodenum or both sites on factors affecting forage intake and performance of dairy cows fed red clover-grass silage. **Journal Dairy Science**, v.85, p. 909-918, 2002.
- KOMISARCZUK, S.; MERRY, R.J.; McALLAN, A.B. Effect of different levels of phosphorus on rumen microbial fermentation and synthesis determined using a continuous culture technique. **British Journal of Nutrition**, v.57, p.279-290, 1987
- LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. et al. Técnica de coleta de digesta omasal para estudos de digestão parcial em bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife, PE. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002 (CD-ROM).
- LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; RENNÓ, L.N. et al. Consumos e digestibilidades totais e parciais de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e extrato etéreo em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1604-1615, 2004.
- LITTLE, D.A.; ROBINSON, P. J.; PLAYNE, M.J. et al. Factors affecting blood inorganic phosphorus in cattle. **Australian Veterinary Journal**, v. 47, p. 153, 1971.
- McDOWELL, L. R. **Minerals in Animal and Human Nutrition**. Academic Press, San Diego, CA. 1992. 524p.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G.C.; COLLINS, M.; MERTEN, D.R. et al. (Eds.). **Forage quality evaluation and utilization**. Madison: America Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society America, 1994. p.450-493.
- MINSON, D.J. **Forage in ruminant nutrition**. San Diego, Califórnia: Academic Press., 1990.483p.
- MORRIS, J. G.; HARRIS, L. E.; BUTCHER, J. E. et al. Indices of efficiency of rumen fermentation of sheep grazing desert range forage as influenced by supplemental of nitrogen and phosphorus. *Journal of animal science*, v.24, p.1152-1158, 1965.
- MYERS, W.D., LUDDEN, P.A., NAYIGIHUGU, V., HESS, B.W., Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, p.179-183, 2004.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7 ed Washington , D.C.: National Academy Press, 2001.
- ORSKOV, E.R. **Nutricion proteica de los ruminantes**. Zaragoza: Acribia, 1988. 178p.
- PORTILHO, F.P.; VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L. et al. Minimum phosphorus requirement for Santa Inês lambs reared under tropical conditions. **Small ruminant Research**, v.63, p.170-176. 2006.
- RENNÓ, L. N.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F. et al. Níveis de uréia na ração de quatro grupos genéticos: parâmetros ruminais, uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.556-562, 2008.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In:

- REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. (CD-ROM).
- RINNE, M.; HUHTANEN, P.; JAAKKOLA, S. Grass maturity effects on cattle fed silage-based diets. 2. Cell wall digestibility, digestion and passage kinetics. **Animal Feed Science Technology**, v.67, p.19-35, 1997.
- SANTOS, J.E.P Distúrbios metabólicos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006, p.423-496.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- SCOTT, D.; WHITELAW, F.G.; BUCHAN, W. et al. The effect of variation in phosphorus intake on salivary phosphorus secretion, net intestinal phosphorus absorption and faecal endogenous phosphorus excretion in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.105, p.271-277, 1985.
- SNIFFEN, C. J., O'CONNOR, VAN SOEST, P. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and Protein Availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- SOUZA, N. H.; FRANZOLIN, R. SOARES, W. V. B. Efeitos das ingestões crescentes de fósforo em dietas à base de cana-de-açúcar sobre a digestibilidade e metabolismo ruminal em bubalinos. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.15, n.2, p.58-64, 2007.
- SOUZA, N. H.; FRANZOLIN, R. SOARES, W. V. B. Metabolismo mineral em bubalinos com ingestões de diferentes níveis de fósforo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.6, p.1149-1154, 2009.
- SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1996. 856p
- TAMMINGA, S. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p.345-357, 1992.
- TERNOUTH, J.H. Phosphorus and beef production in Northern Australia. 3. Phosphorus in cattle a review. **Tropical Grassland**, v.24, n.3, p.159-169, 1990.
- THOMPSON JUNIOR, W. R. Phosphorus in animal nutrition. In: **Phosphorus for agriculture: a situation analysis**. Atlanta: Potash/Phosphate Institute, 1978. p.126-158.
- TOMAS, F. M.; MOIR, R. J.; SOMERS, M. Phosphorus turnover in sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 18, n. 4, p. 635-645, 1967.
- TOSI, H. Suplementação mineral em pastagens. In: PEIXOTO, A.M., MOURA, J.C., FARIA, V.P. Ed. **Revisada dos anais do 13 simpósio sobre manejo de pastagens**. Piracicaba: FUNEP, 1999. p.151-184.
- UDÉN, P., COLUCCI, P.E., VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta rate of passage studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.31, n.6, p.625-632, 1980.
- UNDERWOOD, E.J. Sources of minerals. In: **The mineral nutrition of livestock**. 2. ed. Famham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux, cap 2, p.9-19, 1981

- VALK, H.; SEBEK, L. B. J.; BEYNEN, A. C. Influence of phosphorus intake on excretion and blood plasma and saliva concentrations of phosphorus in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2642-2649, 2002.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd. Ed. Ithaca, New York: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agriculture. Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.
- VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. Viçosa, MG: UFV, 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- WU, Z.; SATTER L.D.; SOJO, R. Milk production, reproductive performance, and fecal excretion of phosphorus by dairy cows fed three amounts of phosphorus. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1028-1041, 2000.