

## Síntese Microbiana, pH e Concentração de Amônia Ruminal e Balanço de Compostos Nitrogenados, em Novilhos F<sub>1</sub> Limousin x Nelore<sup>1</sup>

Rodrigo Carvalho Cardoso<sup>2</sup>, Sebastião de Campos Valadares Filho<sup>3</sup>, José Fernando Coelho da Silva<sup>4</sup>, Mário Fonseca Paulino<sup>3</sup>, Rilene Ferreira Diniz Valadares<sup>5</sup>, Paulo Roberto Cecon<sup>6</sup>, Marco Antônio Lana Costa<sup>7</sup>, Rodrigo Vidal de Oliveira<sup>8</sup>

**RESUMO** - Os objetivos do experimento foram determinar os efeitos de cinco níveis de concentrados na dieta sobre a eficiência de síntese microbiana, as concentrações de amônia e os valores de pH ruminal, o balanço de compostos nitrogenados e a taxa de passagem da digesta pelo rúmen de novilhos F<sub>1</sub> Limousin x Nelore. Utilizaram-se cinco animais fistulados no rúmen, abomaso e íleo, com peso médio de 279 kg, distribuídos em quadrado latino 5 x 5, alimentados à vontade com feno de capim-*coastcross* e porcentagens de 25,0; 37,5; 50,0; 62,5; e 75,0% de concentrado. Amostras de líquido de rúmen para determinação de amônia e pH foram obtidas antes e 2, 4, 6 e 8 horas após o arraçoamento dos animais. As bases purinas foram o indicador microbiano utilizado e as bactérias do rúmen foram isoladas por centrifugação diferencial. A taxa de passagem foi obtida com infusão de dose única de 20 g de óxido crômico e os tempos avaliados foram imediatamente antes da infusão do indicador e 3, 6, 9, 12, 24, 36 e 48 horas após. O fluxo de nitrogênio bacteriano (Nbact) no abomaso e a eficiência microbiana em relação aos carboidratos degradados no rúmen (CHODR) não foram influenciados pelos níveis de concentrado, observando-se valores médios de 85,69 g Nbact/dia, 41,09 g Nbact/kgCHODR e 472,44 g MSbact/kgCHODR. As concentrações máximas de amônia de 17,56 mg/100mL de fluido ruminal ocorreram 2,77 horas após a alimentação. O pH do rúmen diminuiu linearmente com os níveis de concentrados e foi influenciado de forma quadrática pelo tempo de coleta. Foram observadas taxas de passagem da digesta ruminal de 0,059; 0,053; 0,073; 0,068; e 0,041.h<sup>-1</sup>, para os respectivos níveis de 25,0; 37,5; 50,0; 62,5; e 75,0% de concentrado. O aumento do concentrado na dieta não alterou o crescimento microbiano no rúmen.

Palavras-chave: amônia, eficiência microbiana, níveis de concentrado, pH, taxa de passagem

## Microbial Synthesis, pH and Ruminal Ammonia Concentration and Nitrogenous Compounds Balance, in F1 Limousin x Nellore Bulls

**ABSTRACT** - The objectives of this work were to evaluate the effects of five dietary concentrate levels (25,0; 37,5; 50,0; 62,5 and 75,0%) on the efficiency of microbial synthesis, the ruminal ammonia concentrations and pH, nitrogenous compounds balance, and the digest passage rate. Five rumen, abomasum and ileum fistulated F<sub>1</sub> Limousin x Nellore bulls, with an average initial body weight of 279 kg, were used in a 5 x 5 Latin square design. Ruminal liquid samples were obtained before and 2; 4; 6 and 8 hours after feeding to determine the ammonia and pH of the rumen. The bases purines were used as microbial indicator, and ruminal bacteria were isolated by differential centrifugation. The passage rate was obtained by infusion of an unique chromium oxide dose of 20 g and the times were evaluated before and 3; 6; 9; 12; 24; 36 and 48 hours after the indicator infusion. The abomasum Nbact flow and the microbial efficiency in relation to the degradable carbohydrates in the rumen (CHODR) were not influenced by the dietary concentrate levels, with average values of 85,69 g Nbact/day, 41,09 g Nbact/kgCHODR and 472,44 g DMbact/kgCHODR. The maximum ammonia concentration of 17,56 mg/100mL of ruminal fluid was observed 2,77 hours after feeding. Ruminal pH linearly decreased as the concentrate level increased and was in a quadratic way influenced by the collection time. Ruminal digesta passage rate of 0,059; 0,053; 0,073; 0,068 and 0,041.h<sup>-1</sup>, for the respective levels of 25,0; 37,5; 50,0; 62,5 and 75,0% of concentrate levels were observed. The increasing dietary concentrate did not change the microbial growth in the rumen.

Key Words: microbial efficiency, pH, ammonia, concentrate level, passage rate

<sup>1</sup> Parte da Tese apresentada à UFV, para obtenção do título "Magister Scientiae".

<sup>2</sup> Estudante de Doutorado da UFLA.

<sup>3</sup> Professor da UFV.

<sup>4</sup> Professor da UENF. Campos dos Goytacazes, RJ.

<sup>5</sup> Estudante de Graduação/UFV.

<sup>6</sup> Estudante de Mestrado/UFV.

## Introdução

As exigências protéicas de ruminantes são atendidas mediante absorção intestinal de aminoácidos. As principais fontes de aminoácidos são a proteína microbiana, que supre acima de 50% dos aminoácidos absorvidos, e a proteína não-degradada no rúmen digestível no intestino delgado (PNDRdigestível) (SNIFFEN e ROBINSON, 1987; MERCHEN e BOURQUIN, 1994; e VALADARES FILHO, 1997).

Pesquisas sobre nutrição de ruminantes têm verificado a importância da população microbiana para a digestão de carboidratos, além de suprir os requerimentos protéicos do animal. Em ruminantes, o fluxo de compostos nitrogenados não-amoniacais (NNA) para o ID é constituído de proteína microbiana (40 a 80%), proteína dietética que escapa à fermentação ruminal e NNA da descamação de células epiteliais e de secreção abomasal (SNIFFEN e ROBINSON, 1987).

Considerando-se que os sistemas americanos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC, 1985) e britânico (AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC, 1993) recomendam a utilização da proteína metabolizável - soma da proteína microbiana digestível com a PNDR digestível no ID - para atender aos requerimentos protéicos dos animais, deve-se conhecer a quantidade de proteína microbiana sintetizada diariamente, sua digestibilidade intestinal e, também, da proteína dietética não-degradada no rúmen.

Conforme CLARK et al. (1992), para que a PNDR complemente a proteína microbiana, a composição da bactéria que passa para o ID deve ser determinada. Esses autores, sumarizando vários trabalhos, observaram diferenças na composição química de bactérias de 60,8 a 92,2%, média 77,5% para MO; 4,8 a 10,6%, média 7,7% para N-Total; e 0,61 a 2,13%, média 1,06% para N-purina. O sistema CNPCS, citado por RUSSELL et al. (1992), admite que as bactérias são constituídas de 10,0% de N, 12% de extrato etéreo e 4,4% de cinzas.

Para calcular a quantidade de proteína microbiana que chega ao ID, é necessário conhecer a eficiência de síntese de proteína microbiana (VALADARES FILHO, 1995), que tem sido expressa sob diferentes formas: o NRC (1996) expressa em função dos nutrientes digestíveis totais e estima o valor de 13,0 g de proteína bruta microbiana por 100 g de NDT; o AFRC (1993) a considera em função da energia metabolizável fermentada no rúmen, 9 a 11 g PB microbiana por megajoule de EM fermentada no

rúmen; e o CNPCS a expressa com base na degradação de carboidratos no rúmen, 400 g MS microbiana por kg de carboidratos degradados no rúmen (RUSSELL et al., 1992).

Embora vários dados de eficiência sejam expressos com base do NDT ou da MODR, é preciso observar que a maioria dos microrganismos é incapaz de crescer somente com proteínas e lipídeos, como fonte de energia, sendo os carboidratos a principal fonte (RUSSELL et al., 1992). Ainda, o uso de eficiência estática, pelo NRC (1985), ignora os requerimentos de energia de manutenção dos microrganismos ruminais.

A quantidade de compostos nitrogenados (N) que chega no ID pode ser medida por vários métodos. VALADARES FILHO et al. (1990), ao compararem o método direto (fluxo de NNA) do ácido 2,6-diaminopimélico (DAPA) e das bases purinas, concluíram que o método das bases purinas, descrito por ZINN e OWENS (1982), e modificado por USHIDA et al. (1985), foi adequado para estimar a síntese microbiana. BRODERICK e MERCHEN (1992) também recomendaram as bases purinas, afirmando que nenhum indicador microbiano é totalmente adequado, portanto, as estimativas são relativas, e não absolutas.

LING e BUTTERY (1978) criticaram a técnica das bases purinas, pelo uso comum da relação N-RNA:N-total de bactérias, para se estimar o N microbiano no abomaso que contém bactérias e protozoários, o que pode subestimar a produção microbiana, já que a relação N-RNA:N-total de protozoários é menor à de bactérias.

A concentração mínima de N-NH<sub>3</sub> necessária para se manter máxima taxa de crescimento microbiano varia em função da fermentabilidade da dieta. SATTER e SLYTER (1974) e PRESTON (1986) revelaram que concentrações de amônia inferiores a 5,0 mg de N-NH<sub>3</sub>/100mL de fluido ruminal limitam a atividade de bactérias celulolíticas do rúmen, diminuindo a síntese microbiana. Normalmente, a concentração de amônia ruminal varia com o tempo decorrido da alimentação, o local de amostragem no rúmen, o balanço entre proteína e energia na dieta, solubilidade e o nível de proteína da ração (EARDMAN et al., 1986).

Nível de consumo, tempo após a alimentação e natureza da dieta têm efeito direto sobre o pH do rúmen. A manutenção do pH dentro de limites fisiológicos relaciona-se à capacidade de produção de agentes tamponantes (sais de carbonatos) e à constante remoção de ácidos graxos voláteis (absorção no rúmen) (VAN SOEST, 1994). O pH e a taxa de

passagem são os modificadores químicos e físicos mais importantes da fermentação ruminal e influenciam diretamente o fluxo de N para o duodeno e a eficiência de síntese microbiana.

O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito de cinco níveis de concentrado nas rações sobre a eficiência de síntese microbiana, o pH e as concentrações ruminais de amônia, a taxa de passagem e o balanço de compostos nitrogenados em novilhos F1 Limousin x Nelore.

### Material e Métodos

O local do experimento, os animais, os constituintes e a composição das rações, o manejo adotado, o delineamento experimental e a determinação do fluxo de MS abomasal foram descritos por CARDOSO (2000).

Cada período experimental constou de 10 dias para adaptação dos animais à dieta, quatro dias para coletas de fezes e digestas de abomaso e fêo, um dia para coleta de urina, dois dias para coleta de conteúdo ruminal, para determinar a taxa de passagem, sendo que, no segundo dia, também, se realizou coleta de líquido ruminal para determinação de pH do rúmen e das concentrações de compostos nitrogenados amoniacais, e o último dia, destinado à coleta de material para isolamento de bactérias ruminais.

Para as coletas de urina, feitas em 24 horas em cada período experimental (VALADARES et al., 1997c), foram utilizados funis coletores fixados por alças de borracha ao dorso dos animais. A urina foi conduzida em mangueiras de borracha até baldes plásticos contendo 200 mL de solução de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a 10%. Após pesagem e homogeneização da urina, foram retiradas amostras de aproximadamente 100 mL, que, após identificação, foram armazenadas a  $-5^\circ C$ , para posterior quantificação de compostos nitrogenados.

Para determinação do pH do líquido ruminal e da concentração de  $N-NH_3$ , amostras de líquido ruminal foram coletadas diretamente via fístulas ruminais imediatamente antes da alimentação, referindo-se aos tempos 0 e 2, 4, 6 e 8 horas após. O pH foi medido logo após a coleta, em peagâmetro digital. Para se medir a concentração de  $N-NH_3$ , aproximadamente 50 mL de líquido ruminal foram amostrados para cada tempo de coleta e acidificados com 1 mL de ácido sulfúrico 1:1, sendo posteriormente armazenados a  $-5^\circ C$ . No final do experimento, as amostras foram descongeladas e filtradas e a

concentração de  $N-NH_3$  foi obtida após destilação com KOH 2N, segundo técnica de Fenner (1965), adaptada por VIEIRA (1980).

A quantificação do fluxo de nitrogênio não-amoniacal (NNA) no abomaso e fêo foi obtida pela diferença entre o nitrogênio total (N-Total) e o  $N-NH_3$ . A concentração de  $N-NH_3$  foi dosada em amostras *in natura* das digestas de abomaso e fêo, obtidas após centrifugação do material a 1500 rpm.

Para determinação da taxa de passagem, utilizou-se o modelo unicompartmental, no qual o óxido crômico foi utilizado como indicador e aplicado em dose única de 20 g via fistula ruminal. Realizaram-se amostragens de conteúdo do rúmen imediatamente antes da aplicação do óxido crômico e 3, 6, 9, 12, 24, 36 e 48 horas após. As amostras foram colocadas dentro de sacos plásticos identificados e armazenados a  $-15^\circ C$ . Ao final do experimento, estas amostras foram descongeladas à temperatura ambiente e, em seguida, pré-secas em estufa ventilada a  $65^\circ C$ , durante 72 horas, moídas em moinho com peneira de 1 mm de porosidade e armazenadas em vidros, até a determinação de matéria seca definitiva e cromo, conforme técnica descrita por SILVA (1990).

A taxa de passagem (k) foi obtida utilizando-se o modelo  $Y = ae^{-kt}$ , em que "Y" é a concentração do indicador no tempo "t" e "a", a concentração inicial do indicador.

No último dia de cada período experimental, aproximadamente 2 kg de digesta ruminal foram coletados de cada animal para o isolamento de bactérias, segundo metodologia descrita por CECAVA et al. (1990). As bases purinas foram o indicador microbiano, usado para se determinarem as bactérias na digesta ruminal e abomasal, adotando-se técnica descrita por USHIDA et al. (1985).

A quantidade de compostos bacterianos que chegaram no abomaso foi calculada pelo fluxo de N-RNA presente no abomaso dividido pela relação N-RNA:N-total das bactérias isoladas no rúmen. O fluxo de MS bacteriana no abomaso foi quantificado pela relação entre o N bacteriano no abomaso e a porcentagem de N na MS microbiana.

Para as análises estatísticas do pH e das concentrações de  $N-NH_3$  ruminal, adotou-se o delineamento em blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas, no qual as parcelas correponderam aos níveis de concentrado e as subparcelas, aos tempos de coleta. As demais análises químicas e estatísticas foram feitas conforme descrito por CARDOSO (2000).

## Resultados e Discussão

Os valores médios diários de consumo de compostos nitrogenados (N); fluxos de N-total, N amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e N não-amoniacal (NNA) no abomaso e íleo; N bacteriano no abomaso (Nbact); excreções fecais e urinárias de N (N-fecal, N-urinário); e balanço de N (BN) encontram-se na Tabela 1.

Não foi observada diferença na ingestão de N, ao se variarem os níveis de concentrado nas rações, sendo encontrados valores médios de 96,60 g/dia e 1,25 g/kg<sup>0,75</sup>. Este comportamento pode ser atribuído à ausência de efeito dos níveis de concentrado sobre o consumo de MS (CARDOSO, 1999) e também ao fato de as rações terem sido balanceadas para conterem, aproximadamente, 12% PB.

Não houve efeito dos níveis de concentrados nas rações sobre os fluxos de N-Total, N-NH<sub>3</sub>, NNA e NMic no abomaso, sendo obtidos valores médios de 106,40; 5,42; 100,98; e 85,69 g/dia, respectivamente. O fluxo de N bacteriano representou 84,86% do fluxo médio de NNA para o abomaso.

Clark et al. (1992), citados em DIAS (1999), concluíram que incrementos no consumo de MS e PB proporcionaram maior escape de N dietético, N bacteriano e PNDR para o abomaso, em função de aumento nas taxas de passagem e diluição. DIAS (1999), apesar de ter encontrado aumento no consumo de MS, ao se elevar a porcentagem de concentrado nas rações, não observou variação no fluxo de N bacteriano para o abomaso, que foi, em média, de 58,98 g/dia. MERCHEN et al. (1988), STOKES et

Tabela 1 - Média, regressão e coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) e variação (CV%) para os compostos nitrogenados (N) ingeridos, presentes no abomaso e no íleo, excretados nas fezes e na urina, e o balanço de compostos nitrogenados (BN), em função dos níveis de concentrado na ração (X)

Table 1 - Mean, regression and coefficient of determination (r<sup>2</sup>) and variation (CV%) for the ingested nitrogen compounds (N), present in the abomasum and ileum, excreted in the feces and urine, and the nitrogen compounds balance (NB), on the dietary concentrate levels (X)

Ítem	Nível de concentrado Concentrate levels					Regressão Regression	R <sup>2</sup>	CV%
	25,0	37,5	50,0	62,5	75,0			
N ingerido Ingested N								
g/dia	87,80	94,00	96,80	97,60	106,80	$\hat{y} = 96,60$		14,53
g/kg <sup>0,75</sup>	1,14	1,21	1,27	1,29	1,35	$\hat{y} = 1,25$		13,38
N abomaso (g/dia) N abomasum								
Total	92,24	110,08	108,19	112,32	109,18	$\hat{y} = 106,40$		35,03
N-NH <sub>3</sub>	5,02	5,41	5,20	5,49	6,00	$\hat{y} = 5,42$		29,33
NNA	87,22	104,68	103,00	106,83	103,18	$\hat{y} = 100,98$		35,85
Nbact	62,48	92,27	87,62	93,38	92,68	$\hat{y} = 85,69$		34,27
N íleo (g/dia) N ileum								
Total	28,24	28,48	32,27	34,72	25,01	$\hat{y} = 29,74$		21,43
N-NH <sub>3</sub>	1,96	2,01	2,10	1,40	1,49	$\hat{y} = 1,79$		25,02
NNA	26,27	26,46	30,17	33,32	23,52	$\hat{y} = 27,95$		22,97
N fezes N feces								
g/dia	36,60	43,80	38,40	41,40	33,20	$\hat{y} = 19,9604 + 0,9504x - 0,0102**X^2$	0,65	10,36
g/kg <sup>0,75</sup>	0,48	0,56	0,50	0,55	0,42	$\hat{y} = 0,2571 + 0,0126x - 0,0001**X^2$	0,68	10,05
N urina N urine								
g/dia	34,15	37,26	36,48	26,88	42,78	$\hat{y} = 35,51$		30,51
g/kg <sup>0,75</sup>	0,44	0,48	0,48	0,37	0,53	$\hat{y} = 0,46$		27,87
BN NB								
g/dia	17,05	12,94	21,92	29,32	30,82	$\hat{y} = 4,8406 + 0,3514*X$	0,81	65,58
g/kg <sup>0,75</sup>	0,22	0,17	0,29	0,38	0,40	$\hat{y} = 0,0625 + 0,0046*X$	0,84	66,76

\* e \*\* Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

\* and \*\* Significant at 5 and 1% of probability, respectively, by t test.

al. (1991) e HENNING et al. (1993) também verificaram baixa correlação entre os níveis de concentrados nas rações e o fluxo de N<sub>bact</sub> no abomaso.

Valores de fluxo de N bacteriano, expressos em porcentagem do fluxo duodenal de NNA, variaram de 71,63 a 89,82%; o menor valor encontrado neste experimento está próximo de 73,6%, observado por KLUSMEYER et al. (1990), porém superior aos 48,4 e 52,8% relatados por BERCHIELLI et al. (1995) e 58,11 e 65,11% verificados por DIAS (1999).

Não houve efeito dos níveis de concentrado das dietas em relação aos fluxos de N-Total, N-NH<sub>3</sub> e NNA no íleo. Os dados médios encontrados foram de 29,74; 1,79; e 27,95 g/dia, respectivamente.

Foi verificado comportamento quadrático para a excreção fecal de N. Os valores máximos de 42,10 g/dia e 0,54 g/kg<sup>0,75</sup> foram estimados nos níveis de 46,59 e 45,00% de concentrado, respectivamente.

A excreção de N na urina foi, em média, de 35,51 g/dia e 0,46 g/kg<sup>0,75</sup>. Possivelmente, a excreção de nitrogênio na urina não variou, em consequência de o consumo de PB não ter sido alterado. Conforme VAN SOEST (1994), a excreção de N na urina foi maior, devido aos maiores níveis de PB na ração e à maior ingestão de N pelo animal.

A retenção de N, independente do modo como foi expressa, aumentou linearmente com os níveis de concentrado nas rações. O comportamento linear observado neste experimento concorda com o encontrado por VALADARES et al. (1997a) e DIAS (1999). O balanço de nitrogênio (BN) foi positivo em todos os níveis de concentrado das rações experimentais, o que indica adequado balanceamento de

proteína e energia nas dietas e ausência de mobilização de reservas corporais, mesmo quando a ração continha maior proporção de volumoso.

A composição das bactérias ruminais consta da Tabela 2. O teor médio de MS das bactérias foi 92,63%, estando de acordo com a revisão de dados da literatura, 89,2%, relatada por VALADARES FILHO (1995). Os teores de MO variaram de 89,95 a 92,65%, com média de 91,07%, que também está próxima à relatada por CARVALHO et al. (1997a), 92,92; LADEIRA (1998), 92,76; e DIAS (1999), 93,13% MO, porém superior à descrita por CLARK et al. (1992), 77,5% MO, e à observada na revisão de VALADARES FILHO (1995), 84,6% MO. Os teores de N-total das bactérias variaram de 8,10 a 9,42%, com média igual a 8,72%. CARVALHO et al. (1997a) e DIAS (1999) encontraram valores semelhantes, 8,04 e 8,53%, respectivamente, porém os valores revisados por CLARK et al. (1992) e VALADARES FILHO (1995), respectivamente, 7,7 e 7,1% N-Total, foram ligeiramente inferiores. A relação N-RNA:N-total média de 10,39% foi adotada para calcular a produção bacteriana em todos os tratamentos. Esta média está próxima à sugerida por CHEN e GOMES (1992), 11,6%, apesar de ser relativamente inferior à descrita pelo NRC (1988), CLARK et al. (1992) e VALADARES FILHO (1995), 15,0; 13,7; e 17,6%, respectivamente.

A variação observada em relação aos percentuais de CHO nas bactérias, 27,92 a 32,38%, com média igual a 29,95%, é relativamente baixa, quando comparada aos resultados de 18,65; 18,11; 32,64; 33,38; e 43,61%, com média de 29,28, encontrados por

Tabela 2 - Valor médio de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), carboidratos totais (CHO), extrato etéreo (EE), N do ácido ribonucléico (N-RNA) e relação N-RNA:N-total das bactérias isoladas do rúmen, em função dos níveis de concentrado da ração

Table 2 - Average values of dry matter (DM), organic matter, total carbohydrates (CHO), ether extract (EE), N of ribonucleic acid (N-RNA) and N-RNA: total N ratio of bacteria isolated in the rumen, on the dietary concentrate levels

Ítem	Nível de concentrado					Média Mean
	Concentrate level					
	25,0	37,5	50,0	62,5	75,0	
MS	93,23	91,25	92,28	94,00	92,38	92,63
DM						
MO	89,95	90,06	91,33	91,35	92,65	91,07
OM						
CHO	29,27	27,92	31,21	28,46	32,38	29,85
EE	1,80	4,13	6,69	11,41	9,65	6,74
N-Total	9,42	9,28	8,55	8,24	8,10	8,72
N-RNA	1,53	0,83	0,91	0,71	0,61	0,92
N-RNA:N-Total	16,24	8,94	10,64	8,62	7,53	10,39

DIAS (1999), para as rações com 25,0; 37,5; 50,0; 62,5; e 75,0% de concentrado, respectivamente. A pequena variação observada nos teores de CHO das bactérias indica que não houve contaminação, por amido, deste material isolado no rúmen.

As quantidades de MODR, CHODR e MSbact aumentaram linearmente com os níveis de concentrado das rações (Tabela 3). LADEIRA (1998) e DIAS (1999) observaram comportamento semelhante em relação à quantidade de MODR e CHODR. CARVALHO et al. (1997a) não encontraram efeito de níveis de concentrado nas rações sobre as quantidades de MODR e CHODR, que foram, em média, 1,58 e 1,47 kg/dia, respectivamente. O efeito linear positivo verificado para MS bacteriana, em função dos níveis de concentrados, pode estar associado à adequada quantidade de proteína e energia disponível no rúmen, para o crescimento microbiano, e também ao fato de as condições ideais à fermentação ruminal terem sido mantidas mesmo em níveis mais elevados de concentrado nas rações.

A eficiência microbiana expressa de diferentes formas não foi influenciada pelos níveis de concentrados. Segundo OLDHAM (1984), existe maior eficiência de crescimento microbiano em níveis de consumo alimentar mais elevados, devido à maior taxa de remoção de microrganismos do rúmen e, conseqüentemente, à maior síntese bacteriana, quando os animais recebem essas dietas. CARDOSO (1999)

não verificou diferença na ingestão de MS entre os cinco níveis de concentrado das rações experimentais, que possivelmente explica a ausência de efeito dos níveis de concentrado sobre a eficiência de síntese microbiana.

O valor médio de 41,70g Nmic/kgMODR foi 30,31% superior ao apresentado pelo ARC (1984), 32 g Nmic/kgMODR. Já VALADARES et al. (1997b), trabalhando com novilhos zebus alimentados com 55% de feno de capim-elefante e 45% de concentrado, encontraram valor médio de 36,9 g Nmic/kgMODR e DIAS (1999) encontrou valor de 35,17 g Nmic/kgMODR, trabalhando com os mesmos animais e níveis de concentrado nas rações deste experimento.

A eficiência média, em g Nmic/kgCHODR, foi de 41,09. Revisando dados de trabalhos brasileiros, VALADARES FILHO (1995) verificou variação na eficiência microbiana de 25,65 a 36,5 g Nmic/kgCHODR e valor médio de 33,4 g Nmic/kgCHODR.

A eficiência microbiana expressa em g MSmic/kgCHODR, encontrada neste experimento, igual a 472,44, encontra-se próxima à média de observações descritas por VALADARES FILHO (1995), 483,59 g MSmic/kgCHODR, porém ainda é superior à citada pelo CNCPS (RUSSELL et al., 1992), 400g MSmic/kgCHODR. O elevado valor para a eficiência de síntese microbiana, em função do CHODR, pode ser atribuído a valores de cinzas das bactérias isoladas no

Tabela 3 - Média, regressão e coeficientes de determinação ( $r^2$ ) e variação (CV%), para a matéria orgânica degradada no rúmen (MODR), carboidratos totais degradados no rúmen (CHODR), matéria seca bacteriana (MSbact) presente no abomaso e eficiência microbiana, expressa em g Nmic/kg MODR (1), g Nmic/kg CHODR (2), g MSmic/kg CHODR (3) e g PBmic/100 g NDT (4), em função dos níveis de concentrado na ração (X)

Table 3 - Mean, regression and coefficients of determination ( $r^2$ ) and variation (CV%), for the organic matter degraded in the rumen (OMDR), total carbohydrates degraded in the rumen (CNHODR), bacteria dry matter (DMBACT) present in the abomasum and microbial efficiency, express in g Nmic/kg OMDR (1), g Nmic/kg CHODR (2), g DMmic/kg CHODR (3) and CPmic/100 g NDT (4), on the dietary concentrate levels (X)

Item	Nível de concentrado Concentrate levels					Regressão Regression	R <sup>2</sup>	CV%
	25,0	37,5	50,0	62,5	75,0			
MODR <sup>1</sup>	1,69	1,86	2,20	2,44	2,41	$\hat{y} = 1,3260 + 0,0158 * X$	0,91	30,30
CHODR <sup>1</sup>	1,84	1,94	2,00	2,56	2,47	$\hat{y} = 1,4053 + 0,0149 * X$	0,81	31,24
MSbact <sup>2</sup>	663,22	994,00	1024,94	1133,71	1144,31	$\hat{y} = 577,2610 + 8,3673 * X$	0,78	35,80
1	38,13	50,64	41,21	38,48	40,06	$\hat{y} = 41,70$		26,62
2	34,47	48,36	47,77	36,59	38,26	$\hat{y} = 41,09$		30,09
3	365,86	520,97	558,82	444,21	472,34	$\hat{y} = 472,44$		31,03
4	15,91	19,30	15,54	15,27	14,08	$\hat{y} = 16,02$		19,86

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

<sup>1</sup> kg/dia.

<sup>2</sup> g/dia.

\* Significant at 5% of probability by t test.

<sup>1</sup> kg/day.

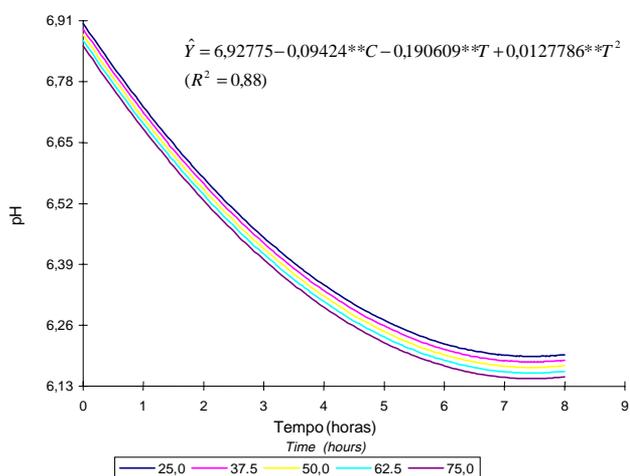
<sup>2</sup> g/day.

rúmen relativamente altos, que superestimam a produção de MS bacteriana e, conseqüentemente, a eficiência microbiana. Quando expressa na forma utilizada pelo NRC (1996), ou seja, em função da concentração de NDT, a eficiência microbiana média encontrada neste trabalho foi igual a 16,02 g PBmic/100 gNDT, enquanto o sistema considera valor fixo de 13 g PBmic/100gNDT.

SNIFFEN e ROBISON (1987) verificaram crescimento microbiano máximo em dietas com aproximadamente 70% de volumoso, atribuindo esses resultados às melhores condições de pH e aos melhores meios para colonização.

Os valores de pH estimados sob efeito de rações e tempos de coleta após alimentação (0, 2, 4, 6 e 8 horas) variaram de 5,76 a 6,83, equivalentes a valores citados por OWENS e GOETSCH (1988), que encontraram valores de pH de 6,5 a 5,5 em rações contendo acima de 70% de alimentos concentrados na MS.

A Figura 1 ilustra as estimativas do pH do fluido ruminal, em função dos tempos de coletas de amostras, para os cinco níveis de concentrado das rações. O modelo que melhor se ajustou para o pH ruminal ( $\hat{Y}_{pH}$ ) foi:  $\hat{Y}_{pH} = 7,00997 - 0,007156 \cdot C - 0,190609 \cdot T + 0,0127786 \cdot T^2$  ( $R^2 = 0,88$ ), em que "C" corresponde ao nível de concentrado da dieta e "T", ao tempo de coleta após o fornecimento da ração para o animal. Estimou-se pH mínimo de 6,12; 6,03; 5,94; 5,85; e 5,76 para as respectivas rações com 25,0; 37,5; 50,0; 62,5; e 75,0% de concentrados, às 7,46 horas após alimen-



\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

\*\* Significant at 1% of probability by t test.

Figura 1 - Estimativa do pH do líquido ruminal ( $\hat{Y}$ ), em função dos tempos (T) de coleta para os respectivos níveis de concentrados (C) na ração.

Figure 1 - Estimate of ruminal pH on the collection times (T) for the respective dietary concentrate (C) levels.

tação. VALADARES et al. (1997b), ao variarem o nível de PB na ração de novilhos zebus (7 a 14,5% de PB), encontraram pH mínimo de 6,30, às 9,59 horas após a alimentação e com 14,5% PB na ração.

O menor valor de pH estimado com 75% de concentrado, às 7,46 horas após alimentação, de 5,76, não foi suficientemente baixo para comprometer a eficiência de síntese microbiana e a digestibilidade ruminal da FDN. Contudo, HOOVER (1986) revelou redução na síntese bacteriana e na digestibilidade ruminal de FDN, quando o pH foi inferior a 6,2.

O modelo que melhor se ajustou para a concentração de N-NH<sub>3</sub>, expressa em mg N-NH<sub>3</sub>/100 mL de líquido ruminal, foi  $\hat{Y}_{NH_3} = 13,9218 + 2,62904 \cdot T - 0,474914 \cdot T^2$  ( $R^2 = 0,47$ ), em que "T" representa o tempo após alimentação (Figura 2).

As concentrações de N-NH<sub>3</sub> ruminal não foram alteradas pelos níveis de concentrado nas rações, uma vez que todas as dietas apresentaram quantidades semelhantes de PB, com média de 11,63% PB na MS da ração (CARDOSO, 1999). VALADARES et al. (1997b) e DIAS (1999) encontraram resposta linear para concentração de N-NH<sub>3</sub>, com o nível de concentrado, possivelmente devido à elevação nos teores de PB das rações. Já CARVALHO et al. (1997b) observaram redução na concentração de N-NH<sub>3</sub> ruminal, com o aumento dos níveis de concentrados das rações, decorrente da maior disponibilidade de energia no rúmen, quando se elevou a quantidade de concentrado da dieta.

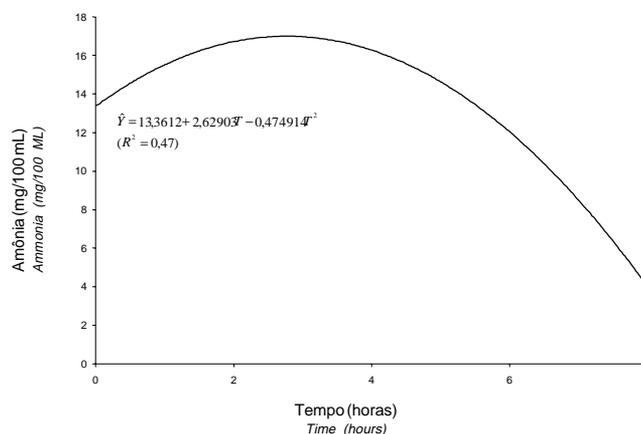


Figura 2 - Estimativas de concentrações de amônia do líquido ruminal, em função dos tempos (T) de coleta.

Figure 2 - Estimates of ruminal ammonia concentrations, on the collection times (T).

A concentração máxima de amônia de 17,56 mg/100 mL foi estimada às 2,77 horas após a alimentação, apresentando-se próxima à relatada por CARVALHO et al. (1997b), LADEIRA (1997) e DIAS (1999), que encontraram máxima concentração de amônia entre 2,90 e 3,19 horas após o arraçoamento dos animais.

Os valores encontrados para as concentrações de amônia neste trabalho foram superiores a 3,3 e 8,0 mg/100 mL de fluido ruminal, sugerido por HOOVER (1986), para se ter máxima síntese microbiana e digestão da MO no rúmen, respectivamente.

As taxas de passagem da digesta ruminal foram 0,059; 0,053; 0,073; 0,068; e 0,041.h<sup>-1</sup>, respectivamente, quando os animais receberam rações com 25,0; 37,5; 50,0; 62,5; e 75,0% de concentrado. Estes valores foram, em média, de 0,059.h<sup>-1</sup>, que se encontram próximos ao valor de 0,05.h<sup>-1</sup>, citado pelo ARC (1984) como ótimo para animais em crescimento. Os valores também são semelhantes aos 0,065; 0,081; 0,064; 0,049; e 0,046.h<sup>-1</sup>, média de 0,061.h<sup>-1</sup>, encontrados por DIAS (1999), que trabalhou com os mesmos níveis de concentrado nas rações de novilhos F1 Limousin x Nelore. Entretanto, CARVALHO et al. (1997b) verificaram taxa de passagem média de 0,035.h<sup>-1</sup> e valores de 0,035; 0,036; 0,038; 0,033; e 0,035.h<sup>-1</sup>, respectivamente, para as rações com níveis de 20,0; 32,5; 45,0; 57,5; e 70,0% concentrado, adicionado ao feno de capim-elefante.

### Conclusões

A eficiência de síntese microbiana, expressa em g Nmic/kgMODR, g Nmic/kgCHODR, g MSmic/kgCHODR e g PBmic/100gNDT, não foi influenciada pelos níveis de concentrado das rações, observando-se valores médios de 41,70; 41,09; 472,44; e 16,02, respectivamente.

Os valores mínimos de pH estimados às 7,46 horas após a alimentação foram de 6,12; 6,03; 5,94; 5,85; e 5,76, para os níveis de 25,0; 37,5; 50,0; 62,5; e 75,0% de concentrado, respectivamente.

Estimou-se o valor máximo de 17,56 mg/100 mL, para a concentração de amônia ruminal, às 2,77 horas após a alimentação.

A adição de concentrado nas rações proporcionou aumento na retenção de compostos nitrogenados para os animais.

### Referências Bibliográficas

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. 1993. *Energy and protein requirements of ruminants*. Wallingford, UK. CAB International 159p.

- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC. 1984. *Report of the protein group of the Agricultural Research Council Working party, on the nutrient requirement of ruminants*. London. Commonwealth Agricultural Bureaux. 45p.
- BERCHIELLI, T.T., RODRIGUEZ, N.M., GONÇALVES, L.C. et al. 1995. Fluxo de nitrogênio duodenal e degradabilidade ruminal do nitrogênio da dieta estimado por meio de três marcadores microbianos. *R. Bras. Zootec.*, 24(5):810-819.
- BRODERICK, G.A., MERCHEN, N.R. 1992. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. *J. Dairy Sci.*, 75(9):2618-1632.
- CARDOSO, R.C. 2000. Consumo e digestibilidade aparente em dietas com diferentes proporções de volumoso e concentrado. *Rev. bras. zootec.*, 29(6):1832-1843.
- CARVALHO, A.U., VALADARES FILHO, S.C., COELHO DA SILVA, J.F. et al. 1997a. Níveis de concentrado em dietas de zebuínos. 3. Eficiência microbiana e população de protozoários ruminais. *R. Bras. Zootec.*, 26(5):1007-1015.
- CARVALHO, A.U., VALADARES FILHO, S.C., COELHO DA SILVA, J.F. et al. 1997b. Níveis de concentrado em dietas de zebuínos. 4. Concentrações ruminais de amônia e pH, taxa de passagem da digesta ruminal e degradação in situ dos alimentos. *R. Bras. Zootec.*, 26(5):1016-1024.
- CECAVA, M.J., MERCHEN, N.R., GAY, L.C. et al. 1990. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency and isolation techniques. *J. Dairy Sci.*, 73(9):2480-2488.
- CHEN, X.B., GOMES, M.J. 1992. *Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - na overview of the technical details*. Occasional publication. Bucksburnd Aberdeen. Ed. Rowett Research Institute, 21p.
- CLARK, J.H., KLUSMEYER, T.H., CAMERON, M.R. 1992. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 75(8):2304-2323.
- DIAS, H.L.C. *Consumo, digestibilidades aparentes totais e parciais de dietas contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos F1 Limousin x Nelore*. Viçosa, MG: UFV, 1999, 76p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- EARDMAN, R.A., PROCTOR, G.H., VANDERSALL, J.H. 1986. Effect of rumen ammonia concentration on "in situ" rate and extent of digestion of foodstuffs. *J. Dairy Sci.*, 29(9):2312-2320.
- HENNING, P.H., STERN, D.G., MEISSNER, H.H. 1993. Effect of synchronization of energy and nitrogen supply on ruminal characteristics and microbial growth. *J. Anim. Sci.*, 71(9):2516-2528.
- HOOVER, W.H. 1986. Chemical factories involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy Sci.*, 29(10):2755-1766.
- KLUSMEYER, T.H., McCARTHY, R.D., CLARK, J.H. 1990. Effects of source and amount of protein on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 73(12):3526-3537.
- LADEIRA, M.M. *Consumo e digestibilidades aparentes totais e parciais de dietas contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos Nelore*. Viçosa MG: UFV, 1998. 71p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- LING, J.R., BUTTERY, P.J. 1978. The simultaneous use of ribonucleic acid, 35S, 2,6-diaminopimelic acid and 2-aminoethylphosphonic acid as markers of microbial nitrogen entering the duodenum of sheep. *Br. J. Nutr.*, 39(1):165-179.
- MERCHEN, N.R. 1988. Digestion, absorption and excretion in ruminants. In: CHURCH, D.C.(Ed.) *The ruminant animal*

1852 *Rev. bras. zootec.*

- digestive physiology and metabolism*. New Jersey: Prentice Hall, p.172-201.
- MERCHEN, N.R., BOURQUIN, L.D. Processes of digestion and factors influencing digestion of forage-based diets by ruminants. In: FAHEY JR, G.C. (Ed.) Forage quality, evaluation and utilization. NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY, EVALUATION, AND UTILIZATION, 1994. *Proceedings...* University of Nebraska, Lincoln, 1994. p.564-612.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1985. *Ruminant nitrogen usage*. Washington D.C. 158p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1988. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 6.ed. Washington D.C. 158p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1996. *Nutrient requirements of beef cattle*. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy. 242p.
- OLDHAM, J.D. 1984. Protein - energy interrelationships in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 67(5):1090-1114.
- OWENS, F.N., GOETSCH, A.L. 1988. Ruminal fermentation. In: GHURCH, D.C. (Ed.) *The ruminant animal digestive physiology and nutrition*. Englewood cliffs. O & Books Inc. p.146-171.
- PRESTON, T.R. 1986. *Better utilization of crop residues and by products in animal feeding: research guidelines 2. A practical manual for research workers*. S.1. Food and Agriculture Organization of the United States Nations. 154p.
- RUSSELL, J.B., O'CONNOR, J.D., FOX, D.G. et al. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.*, 70(11):3551-3561.
- SATTER, L.D., SLYTER, L.L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. *Br. J. Nutr.*, 32(2):199-208.
- SILVA, D.J. 1990. *Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos)*. Viçosa: UFV, Impr. Univ. 165p.
- SNIFFEN, C.J., ROBINSON, P.H. 1987. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. *J. Dairy Sci.*, 70(1):425-441.
- STOKES, S.R., HOOVER, W.H., MILLER, T.K. et al. 1991. Ruminal digestion and microbial utilization of diets varying in type of carbohydrate and protein. *J. Dairy Sci.*, 74(3):871-881.
- USHIDA, K., LASSALA, B., JOUANY, J.P. 1985. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry. Influence of sample treatment and preservation. *Reprod. Nutr. Develop.*, 25(6):1037-1046.
- VALADARES FILHO, S.C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em bovinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES. 1995, Viçosa. *Anais...* Viçosa: DZO/UFV, 1995. p.355-388.
- VALADARES FILHO, S.C., COELHO DA SILVA, J.F., LEÃO, M.I. et al. 1990. Eficiência de síntese microbiana em novilhos holandeses, nelores e búfalos mestiços, obtida por diferentes métodos. *R. Bras. Zootec.*, 19(5):424-430.
- VALADARES FILHO, S.C., Digestão pós-ruminal de proteína e exigências de aminoácidos para ruminantes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras. *Anais...* Lavras: UFLA - FAEPE, Lavras, 1997. p.87-110.
- VALADARES, R.F.D., GONÇALVES, L.C., SAMPAIO, I.B. et al. 1997a. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 2. Consumo, digestibilidades e balanço de compostos nitrogenados. *R. Bras. Zootec.*, 26(6):1259-1263.
- VALADARES, R.F.D., GONÇALVES, L.C., SAMPAIO, I.B. et al. 1997b. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 3. pH, amônia e eficiência microbiana. *R. Bras. Zootec.*, 26(6):1264-69.
- VALADARES, R.F.D., GONÇALVES, L.C., SAMPAIO, I.B. et al. 1997c. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. *R. Bras. Zootec.*, 26(6):1279-1282.
- VAN SOEST, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminants*. 2.ed., Ithaca: Cornell University. 476p.
- VIEIRA, P.F. *Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em rações para ruminantes*. Viçosa MG: UFV, 1980. 98p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.

**Recebido em:** 13/07/99

**Aceito em:** 05/07/00