

## Casca de Algodão em Substituição Parcial à Silagem de Capim-Elefante para Novilhos. 2. Parâmetros Ruminais e Séricos, Produção Microbiana e Excreção Urinária de Compostos Nitrogenados<sup>1</sup>

Mario Luiz Chizzotti<sup>2</sup>, Sebastião de Campos Valadares Filho<sup>3</sup>, Maria Ignês Leão<sup>3</sup>, Rilene Ferreira Diniz Valadares<sup>4</sup>, Fernanda Helena Martins Chizzotti<sup>5</sup>, Karla Alves Magalhães<sup>5</sup>, Marcos Inácio Marcondes<sup>6</sup>

**RESUMO** - Quatro novilhos holandeses fistulados no rúmen, com peso médio de 259 kg, foram distribuídos em um quadrado latino 4 x 4 para se avaliar o efeito dos níveis de casca de algodão na dieta de novilhos sobre a concentração de nitrogênio uréico no soro (NUS) e de amônia no rúmen, o pH ruminal, a excreção urinária de uréia e derivados de purinas e a produção de proteína microbiana estimada pelo método das bases purinas omasais e da excreção de derivados de purinas na urina. As dietas experimentais continham na base da matéria seca: 0, 10, 20 e 30% de casca de algodão peletizada, em substituição à silagem de capim-elefante, sendo a dieta total constituída de 60% de volumoso. Não houve efeito dos diferentes tratamentos sobre o pH e as concentrações de amônia no rúmen. A concentração de NUS e a excreção de uréia (em mg/kgPV) diminuíram, enquanto a excreção de derivados de purinas na urina e a síntese de proteína microbiana no rúmen aumentaram linearmente com a inclusão da casca de algodão nas dietas. A estimativa da síntese de proteína microbiana não diferiu entre as metodologias das bases purínicas omasais e dos derivados de purina na urina. A casca de algodão mostrou-se um bom volumoso alternativo, podendo ser fornecida até o nível de 30% na MS total na dieta de novilhos de origem leiteira.

Palavras-chave: bases purinas, coleta omasal, derivados de purinas, nitrogênio uréico no soro, subproduto, volumoso

## Partial Replacement of Elephantgrass Silage with Cottonseed Hulls. 2. Ruminant and Serum Metabolites, Microbial Protein Synthesis, and Urinary Excretion of Nitrogenous Compounds in Steers

**ABSTRACT** - Four ruminally cannulated Holstein steers averaging 259 kg of body weight were assigned to a 4x4 Latin square to study the effects of replacing elephantgrass silage with cottonseed hulls on serum urea nitrogen (SUN), ruminal metabolism, urinary excretion of nitrogenous compounds, and microbial protein synthesis measured by omasal purine bases or by urinary excretion of purine derivatives. Treatments (60% of forage) contained on DM basis: 0, 10, 20 or 30% of cottonseed hulls that partially replaced elephantgrass silage in the diet. No significant differences in ruminal pH and concentration of ruminal ammonia were observed by increasing cottonseed hulls from 0 to 30% of the diet DM. However, concentration of both SUN and urinary excretion of urea (mg/kg of BW) decreased linearly whereas the opposite was observed for urinary excretion of purine derivatives and microbial protein synthesis when elephantgrass silage was partially replaced with cottonseed hulls in the diet. Microbial protein synthesis did not differ significantly either measured by omasal purine bases or estimated by urinary excretion of purine derivatives. It can be concluded that cottonseed hulls is a good forage alternative to elephantgrass silage and may supply up to 30% of the total DM in diets of dairy steers.

Key Words: by-product, omasal collection, purine basis, purine derivatives, roughage, serum urea nitrogen

### Introdução

A pecuária bovina assume grande importância para a economia nacional, por gerar empregos, participar consideravelmente do produto interno bruto e contribuir na balança comercial brasileira. Além disso, a carne bovina constitui uma das prin-

cipais fontes de proteína de origem animal na dieta da população do país.

A estabilização da inflação nacional inseriu a pecuária de corte no mundo dos negócios, diminuindo o valor da reserva de capital do rebanho e aumentando a importância do desfrute econômico (Pineda & Rocha, 2002). Dessa forma, o baixo rendimento

<sup>1</sup> Parte da tese de Mestrado do primeiro autor, parcialmente financiado pela Bünge Alimentos S.A.

<sup>2</sup> Zootecnista, MS, Doutorando em Zootecnia – UFV (mariochizzotti@bol.com.br).

<sup>3</sup> Professor Titular do Departamento de Zootecnia – UFV (scvfilho@ufv.br; mileao@ufv.br).

<sup>4</sup> Professora Adjunta do Departamento de Medicina Veterinária – UFV (rilene@ufv.br).

<sup>5</sup> Doutoranda em Zootecnia - UFV.

<sup>6</sup> Mestrando em Zootecnia - UFV.

zootécnico da pecuária de corte, em muitos sistemas de exploração, tem sido expressivamente alterado pela intensificação da produção e utilização do confinamento como estratégia gerencial e alimentar.

A cultura do algodão tem grande importância nacional por fornecer matéria-prima para o setor têxtil, farmacêutico, hospitalar, pecuário e alimentício. O produto principal da cotonicultura é a fibra do algodão, mas do algodão em pluma aproveita-se praticamente tudo. Estima-se que a safra de 2003/2004 produzirá em torno de 1,85 milhões de toneladas de caroço de algodão (Conab, 2004) que pode ser utilizado na alimentação animal ou ser beneficiado, produzindo óleo, farelo e a casca de algodão. Diversas pesquisas têm sido realizadas para determinação da forma de utilização do caroço e do farelo de algodão, porém são escassos os relatos na literatura nacional sobre a utilização da casca de algodão.

A casca de algodão compreende a camada externa do caroço de algodão com algum línter aderido separado durante o beneficiamento, visando à produção de óleo. Este subproduto apresenta alto teor de fibra, o que o torna pouco atraente na alimentação de monogástricos e interessante como alimento volumoso alternativo para ruminantes.

As exigências dietéticas de proteína metabolizável para ruminantes são atendidas mediante a absorção no intestino delgado da proteína microbiana e da proteína dietética não-degradada no rúmen digestíveis. A proteína microbiana pode suprir, aproximadamente, 50 a 100% da proteína metabolizável exigida para bovinos de corte (NRC, 1996), sendo considerada fonte de boa qualidade quanto à sua digestibilidade intestinal (em torno de 80%) e ao seu perfil em aminoácidos, que é semelhante ao dos tecidos (Schwab, 1996, citado por Valadares Filho & Cabral, 2002). Diante destas qualidades, tem sido objetivo da nutrição de ruminantes maximizar o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado. Para isso, é necessário melhor entendimento do processo de conversão dos nutrientes dietéticos em proteína microbiana. Entre os fatores que afetam a síntese de proteína microbiana, a disponibilidade e a sincronização entre energia e compostos nitrogenados no rúmen têm sido reconhecidas como as mais importantes (Russell et al., 1992). Considerando-se que as proteínas são rápida e extensivamente degradadas no rúmen, provavelmente a taxa na qual a energia é disponibilizada seja o fator mais limitante à síntese de

proteína microbiana, uma vez que os carboidratos fibrosos apresentam lenta taxa de digestão (Valadares Filho & Cabral, 2002).

Em razão da importância da proteína microbiana para o metabolismo protéico dos ruminantes, a quantificação do seu fluxo sob diferentes condições dietéticas e fisiológicas é fundamental para o atendimento das exigências de aminoácidos. Com este propósito, vários indicadores microbianos (bases purinas, ácido 2,6 diaminopimélico-DAPA,  $^{35}\text{S}$  e  $^{15}\text{N}$ ) têm sido utilizados, cada um com suas vantagens e limitações. Broderick & Merchen (1992) afirmaram que nenhum indicador é totalmente adequado e, conseqüentemente, as estimativas obtidas são relativas e não-absolutas. Estes autores recomendaram a utilização de bases purinas e  $^{15}\text{N}$ , mas alertaram sobre a diferença no enriquecimento com  $^{15}\text{N}$  e na relação purinas:N entre bactérias e protozoários. Entretanto, de um modo geral, estes métodos são laboriosos e requerem animais fistulados e a estimativa do fluxo abomasal. Atualmente, o conforto animal tem recebido destaque na comunidade mundial, havendo crescente interesse na substituição das implantações cirúrgicas de fistulas, em diferentes partes do trato gastrintestinal, por tecnologias não-invasivas para a condução de experimentos. Outras vantagens de técnicas não-invasivas são: a eliminação de possíveis efeitos não atribuídos ao tratamento, decorrentes do desconforto ou de infecções pela presença das fistulas, e a possibilidade de utilizá-las a campo.

O uso dos derivados de purinas (DP) como indicador metabólico para estimar a síntese microbiana no rúmen foi primeiramente proposto por Blaxter & Martin em 1962, citados por Fujihara et al. (1987). Este método assume que o fluxo duodenal de ácido nucléico é essencialmente de origem microbiana e, após digestão intestinal das bases purinas (adenina e guanina) microbianas, elas são catabolizadas e excretadas proporcionalmente à quantidade absorvida. A alantoína é o DP mais abundante, sendo o ácido úrico, a xantina e a hipoxantina os demais componentes denominados coletivamente DP. Em bovinos, em decorrência da alta atividade da enzima xantina oxidase, que converte xantina e hipoxantina em ácido úrico, a excreção de alantoína e ácido úrico constitui cerca de 98% dos derivados urinários de purinas. Portanto, a contribuição da xantina e hipoxantina são irrisórias na determinação da excreção total dos DP (Rennó et al., 2000). Diversos autores (Chen et al.,

1990; Balcells et al., 1991; Giesecke et al., 1994; Orellana Boero et al., 2001; Gonzalez-Ronquillo et al., 2003) confirmaram a relação entre o fluxo duodenal de bases purinas e a excreção urinária de DP. Assim, o fluxo de N microbiano pode ser calculado a partir da quantidade de purinas absorvidas, que são estimadas a partir da excreção urinária dos DP (Chen & Gomes, 1992).

O pH e as disponibilidades ruminais de nitrogênio e energia são fatores determinantes sobre o crescimento microbiano (Clark et al., 1992). A concentração de amônia no rúmen é uma função de suas taxas relativas de entrada e remoção (Nolan, 1993), sendo verificada alta correlação entre a concentração de amônia ruminal e a concentração de uréia plasmática. A concentração de uréia plasmática é proporcional à excreção urinária de compostos nitrogenados e, portanto, é utilizada como indicador do *status* protéico em comparações de dietas.

Este trabalho foi realizado objetivando-se avaliar, em novilhos de origem leiteira, o efeito da inclusão da casca de algodão, na dieta, em substituição parcial à silagem de capim-elefante sobre o pH e a concentração de amônia no rúmen, a excreção de uréia na urina e a estimativa da síntese de proteína microbiana obtida pelos derivados de purinas urinários ou das bases purinas no omaso.

### Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do

Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, sendo a fase de campo realizada entre julho e setembro de 2002. A cidade de Viçosa está localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais e tem como coordenadas geográficas de posição 20°45'20" de latitude sul e 45°52'40" de longitude oeste de Greenwich e altitude de 657m. A temperatura média e a precipitação pluviométrica observadas nos anos de 2000 e 2001 foram de, respectivamente, 20°C e 1217,9 mm e 20,7°C e 1148 mm (Universidade Federal de Viçosa, 2002).

Foram utilizados quatro novilhos não-castrados, com grau de sangue predominantemente Holandês, fistulados no rúmen, segundo as técnicas descritas por Leão & Coelho da Silva (1980). Os animais foram pesados no início e no final de cada período experimental, apresentando peso médio de 259 kg. Os animais foram mantidos em regime de confinamento, alojados em baias individuais cobertas, com piso de concreto revestido de borracha, de 9 m<sup>2</sup> de área (3 x 3 m), dotadas de comedouros e bebedouros individuais.

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4 x 4, sendo quatro animais, quatro períodos experimentais e quatro tratamentos.

A alimentação foi fornecida uma vez ao dia, na forma de ração completa, à vontade, permitindo sobras de no máximo 5%, sempre às 7 h. Os quatro tratamentos constituíram dietas com níveis crescentes de casca de algodão peletizada (0, 10, 20 e 30%), em substituição (na base da matéria seca) à silagem de

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes nas dietas experimentais, na base da matéria seca, para os níveis de casca de algodão na dieta

Table 1 - Ingredient composition (%) of the experimental diets on dry matter basis

Ingrediente (%) <i>Ingredient</i>	Nível de casca de algodão (%) <i>Cottonseed hulls levels (%)</i>			
	0	10	20	30
Silagem de capim-elefante ( <i>Elephantgrass silage</i> )	60,00	50,00	40,00	30,00
Casca de algodão ( <i>Cottonseed hulls</i> )	-	10,00	20,00	30,00
Grão de sorgo ( <i>Sorghum grain</i> )	32,49	32,65	32,76	32,87
Farelo de soja ( <i>Soybean meal</i> )	4,50	4,50	4,50	4,50
Uréia ( <i>Urea</i> )	1,95	1,80	1,70	1,60
Sulfato de amônia ( <i>Ammonium sulfate</i> )	0,19	0,18	0,17	0,16
Sal (NaCl) ( <i>Salt</i> )	0,25	0,25	0,25	0,25
Fosfato bicálcico ( <i>Dicalcium phosphate</i> )	0,10	0,10	0,10	0,10
Calcário ( <i>Limestone</i> )	0,50	0,10	0,10	0,10
Premix mineral <sup>1</sup> ( <i>Mineral mixture</i> )	0,02	0,02	0,02	0,02

<sup>1</sup> Composição: sulfato de cobalto, 1,82%; sulfato de cobre, 22,69%; iodato de potássio, 0,45%; selenito de sódio, 0,09%; sulfato de zinco, 74,95%.

<sup>1</sup> Composition: cobalt sulfate, 1.82%; cupric sulfate, 22.69%; potassium iodide, 0.45%; sodium selenate, 0.09%; zinc sulfate, 74.95%.

capim-elefante como volumoso, sendo a dieta total constituída de 60% de volumoso, na base da matéria seca. As dietas foram balanceadas de acordo com o NRC (1996) para conterem em torno de 13% de PB.

A proporção dos ingredientes nas dietas experimentais encontra-se na Tabela 1; a composição bromatológica dos ingredientes, na Tabela 2; e a composição média das dietas experimentais, na Tabela 3.

Os períodos experimentais tiveram duração de 13 dias – seis para adaptação às dietas e sete para as coletas.

As coletas de digesta de omaso foram realizadas em intervalos de 52 horas, iniciando-se às 8 h do dia 1 e terminando às 16 h do dia 5 do período de coleta, sendo feitas por sucção do conteúdo omasal, segundo técnica descrita por Leão et al. (2002). As amostras de digesta omasal foram pré-secas em estufa de ventilação forçada, a 65°C por 72 horas, processadas em moinho de facas com peneira de crivos de 1 mm, sendo, então, elaborada uma amostra composta por animal e período, com base no peso seco de cada subamostra.

Quatro horas após o fornecimento da ração, no dia 4 de cada período experimental, realizou-se a coleta de sangue, via punção da veia jugular, utilizando-se tubo

de ensaio contendo gel separador e acelerador de coagulação. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 5.000 rpm por 15 minutos para separação do soro, que foi em seguida armazenado a -15°C, para posterior análise de uréia.

No dia 6 dos períodos experimentais, foram realizadas coletas totais de urina durante 24 horas, utilizando-se funis coletores acoplados aos animais. Os funis eram dotados de mangueiras de polietileno, que conduziam a urina até galões plásticos contendo 500 mL de solução de ácido sulfúrico a 20% para evitar a perda de nitrogênio. Após a coleta, foi determinado o peso total excretado, considerando-se a densidade da urina de um quilo por litro. Posteriormente, o conteúdo do galão foi homogeneizado e então coletaram-se amostras de 10 mL, que foram diluídas com 40 mL de ácido sulfúrico 0,036N, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purina urinários e precipitação do ácido úrico. Outra amostra de urina foi coletada sem proceder à diluição para determinação da uréia. Devidamente identificadas, as amostras foram armazenadas a -15°C, para posteriores análises laboratoriais.

Tabela 2 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp), carboidratos não-fibrosos (CNF), fibra em detergente ácido (FDA), lignina e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Table 2 - Contents of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent insoluble nitrogen (NDIN), acid detergent insoluble nitrogen (ADIN), ether extract (EE), neutral detergent fiber corrected to ash and protein (NDFcp), neutral detergent fiber (NDF), corrected nonfiber carbohydrates (NFCcp), nonfiber carbohydrates (NFC), acid detergent fiber (ADF), lignin and indigestible acid detergent fiber (iADF) of ingredients of the experimental diets

Itens	Ingrediente			
	Ingredient			
	Silagem de capim-elefante <i>Elephantgrass silage</i>	Casca de algodão <i>Cottonseed hulls</i>	Grão de sorgo <i>Sorghum grain</i>	Farelo de soja <i>Soybean meal</i>
MS (%) (DM)	25,64	87,40	88,72	90,64
MO <sup>1</sup> (OM)	90,98	97,16	98,29	93,13
PB <sup>1</sup> (CP)	4,32	8,08	9,88	45,10
NIDN <sup>2</sup> (NDIN)	29,82	19,99	26,79 <sup>3</sup>	5,75 <sup>3</sup>
NIDA <sup>2</sup> (ADIN)	21,60	9,73	23,66 <sup>3</sup>	2,77 <sup>3</sup>
EE <sup>1</sup>	1,65	2,93	4,05	2,29
FDNcp <sup>1</sup> (NDFcp)	74,07	74,78	8,68	13,76
FDN <sup>1</sup> (NDF)	77,68	78,99	9,94	15,08
CNFcp <sup>1</sup> (NFCcp)	10,94	11,37	75,68	31,98
CNF <sup>1</sup> (NFC)	14,55	15,58	76,94	33,30
FDA <sup>1</sup> (ADF)	52,01	61,70	5,95	13,27
Lignina <sup>1</sup> (Lignin)	10,53	11,54	1,81	2,52
FDAi <sup>1</sup> (iADF)	29,78	30,98	1,05	0,66

<sup>1</sup> % MS; <sup>2</sup> % do N total; <sup>3</sup> Valadares Filho et al. (2002b).

<sup>1</sup> % of DM; <sup>2</sup> % of total N; <sup>3</sup> Valadares Filho et al. (2002b).

Tabela 3 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp) e lignina, das dietas experimentais, em % da matéria seca

Table 3 - Contents of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber corrected to ash and protein (NDFap), corrected nonfiber carbohydrates (NFCap) and lignin of experimental diets on dry matter basis

Itens Items	Nível de casca de algodão (%) Cottonseed hulls level (%)			
	0	10	20	30
MS (%)	49,65	55,72	61,89	68,26
DM (%)				
MO	93,04	93,82	94,37	94,99
OM				
PB	13,27	13,24	13,35	13,46
CP				
EE	2,41	2,55	2,68	2,81
FDNcp	47,88	47,97	48,05	48,13
NDFap				
CNFcp	29,48	30,06	30,29	30,59
NFCap				
Lignina	7,02	7,12	7,23	7,33
Lignin				

No dia 7 do período de coleta, foi realizada a coleta de digesta ruminal, anteriormente à alimentação, para isolamento de bactérias conforme técnica sugerida por Cecava et al. (1990). No mesmo dia, realizou-se a coleta das amostras de líquido ruminal, imediatamente antes e quatro horas após a alimentação, procedendo-se à filtragem em gaze, para determinação do pH. Posteriormente, amostras de 50 mL foram acondicionadas em recipientes plásticos contendo 1 mL de solução de ácido sulfúrico 50%, e armazenadas em congelador, para posterior determinação do N-NH<sub>3</sub>.

A fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), utilizada como indicador interno, foi determinada nas amostras de alimentos, digesta omasal e sobras por meio da incubação ruminal (144 horas) de 0,5 g de amostra em sacos Ankom (*filter bags* F57), que, posteriormente, foram lavados em água, fervidos em detergente ácido por 1 hora, lavados em água destilada e em acetona e secos em estufa a 65°C por 72 horas, conforme proposto por Cochran et al. (1986). Para quantificação de microrganismos na digesta omasal, foram utilizadas as bases purinas, cuja determinação seguiu a técnica descrita por Ushida et al. (1985). O fluxo de N microbiano na digesta omasal foi calculado utilizando-se a relação N purina:N total obtida no experimento.

Nas amostras de urina diluída, foram realizadas as análises dos derivados de purinas (alantoína e ácido úrico) pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção de derivados de purinas (DP) na urina em 24 horas foi calculada multiplicando-se o volume urinário em 24 horas pela concentração dos DP na amostra de urina da coleta total.

As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por intermédio da equação:

$$DP = 0,85 * Pabs + 0,385 * PV^{0,75},$$

em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e 0,385 PV<sup>0,75</sup>, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic et al., 1990).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (Nmic, g N/dia) foi calculado em função das purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação:

$$Nmic = (70 * Pabs) / (0,83 * 0,116 * 1000),$$

em que 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol); 0,83, a digestibilidade das purinas microbianas; e 0,116, a relação N purina:N total dos microrganismos ruminais (Chen & Gomes, 1992). O método das bases purinas no omaso foi comparado aos derivados de purina na urina para quantificação da produção microbiana no rúmen.

No soro e na urina, foram determinadas as concentrações de uréia, segundo o método diacetil modificado (kits comerciais).

A concentração de N uréia no soro (NUS) foi obtida pelo produto da concentração da uréia sérica, multiplicado por 0,466, correspondente ao teor de N na uréia.

As concentrações de N-NH<sub>3</sub> nas amostras do líquido ruminal foram determinadas mediante destilação com hidróxido de potássio 2N, conforme técnica de Fenner (1965), adaptada por Vieira (1980).

Os dados foram avaliados por meio de análises de variância e regressão do tipo polinomial. A determinação da produção de proteína microbiana, obtida pelo método das bases purinas omasais, foi comparada pelo teste t a 5% de probabilidade com o método dos derivados urinários de purinas. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG (UFV, 1998). Os coeficientes de variação apresentados são relativos aos dados.

## Resultados e Discussão

Na Tabela 4 são apresentadas as médias do pH e da concentração de N amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) do fluido ruminal coletado imediatamente antes e quatro horas após a alimentação. Os valores de pH, que variaram de 6,60 a 7,22, não diferiram entre os tratamentos. Coelho da Silva & Leão (1979) citaram que valores de pH inferiores a 6,0 podem acarretar diminuição da atividade das bactérias fibrolíticas, reduzindo, conseqüentemente, a degradação da fibra.

As concentrações de N-NH<sub>3</sub> foram suficientes para suportar o crescimento bacteriano, conforme valor mínimo citado pelo NRC (1989) de 5 mg N-NH<sub>3</sub>/dL. A concentração de N-NH<sub>3</sub> é conseqüência do equilíbrio entre sua produção, absorção e utilização pelos microrganismos. Apesar de estatisticamente similares, notam-se diferenças numéricas entre os tratamentos, possivelmente devido aos menores teores de uréia nas dietas contendo maiores teores de casca de algodão (Tabela 1). Kropp et al. (1977) encontraram valores de N-NH<sub>3</sub> ruminais de 12,4 mg/dL em amostras colhidas 30 minutos após o fornecimento de dieta contendo 75% de casca de algodão e 1,5% de uréia.

As excreções diárias de uréia e as concentrações de N uréico no soro estão apresentadas na Tabela 5. A excreção de uréia em função do peso do animal comportou-se de maneira similar à concentração de NUS, confirmando a afirmação de Harmeyer & Martens (1980) de que a quantidade de uréia excretada na urina é diretamente proporcional à sua concentração no soro. Embora não tenham sido significativamente diferentes, as concentrações de N-NH<sub>3</sub> no rúmen foram numericamente inferiores nos animais dos tratamentos com maiores níveis de casca de

algodão (Tabela 4), coincidindo com a menor concentração de NUS.

De modo a formular dietas com teores de PB semelhantes, a medida que os teores de casca de algodão aumentaram, os de uréia diminuíram (Tabela 1), conseqüentemente, foram observadas concentrações de amônia no fluido ruminal numericamente inferiores nas dietas contendo mais casca de algodão. Dessa forma, a difusão da amônia pelo epitélio ruminal e, conseqüentemente, a concentração plasmática e a excreção urinária de uréia apresentaram comportamento linear decrescente, em função dos níveis de casca de algodão nas dietas. Além disso, segundo Gonda et al. (1996), aumento na síntese de proteína microbiana aumentaria a eficiência de utilização do N-NH<sub>3</sub> pelos microrganismos ruminais, o que diminuiria os níveis de uréia no fluido corporal. Os resultados obtidos corroboram os encontrados por Magalhães (2003), que encontrou efeito linear decrescente da concentração de NUS e da excreção de uréia em relação ao peso vivo em função dos níveis de casca de algodão nas dietas.

Na Tabela 6 são apresentadas as médias dos compostos nitrogenados microbianos, da proteína microbiana e da eficiência de síntese microbiana, calculadas pelo método das bases purinas no omaso ou estimada pelos derivados urinários de purinas. A relação N-RNA:N-total dos microrganismos não foi afetada pelos níveis de casca de algodão, apresentando média de 0,153 (dados não apresentados).

Não foram detectadas diferenças entre as duas metodologias de coleta. Utilizando 116 observações em 24 bovinos não-castrados fistulados no rúmen, abomaso e íleo, em cinco experimentos, Rennó et al.

Tabela 4 - Médias, equações de regressão (equações) e coeficiente de variação (CV) do pH e da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>, mg/dL) no fluido ruminal coletado antes (0h) ou quatro horas após o fornecimento da dieta (4h), em função dos níveis de casca de algodão na dieta

Table 4 - Means, regression equations (equations) and coefficients of variation (CV) for ruminal pH and for concentrations of ruminal ammonia nitrogen (NH<sub>3</sub>-N, mg/dL) before feeding (0h) and four hours after feeding (4h) according to different dietary levels of cottonseed hulls levels

Itens Items	Nível de casca de algodão (%) Cottonseed hulls level (%)				Equações	CV (%)
	0	10	20	30		
pH 0h	7,22	7,20	7,10	7,07	Ŷ = 7,15	3,11
pH 4h	6,85	6,85	6,75	6,60	Ŷ = 6,76	3,16
N-NH <sub>3</sub> 0h	11,32	8,57	7,31	6,37	Ŷ = 8,39	35,04
N-NH <sub>3</sub> 4h	38,36	42,33	40,66	36,48	Ŷ = 39,46	18,90

Tabela 5 - Médias, equações de regressão (equações), coeficientes de variação dos dados (CV) e de determinação ( $R^2$ ) para N-uréia sérica (NUS) e excreções diárias de uréia (EU), em função dos níveis de casca de algodão (CA) na dietaTable 5 - Means, regression equations (equations), coefficients of variation and determination (CV and  $R^2$ ) for serum urea N (SUN) and daily urea excretion (UE) according to different dietary levels of cottonseed hulls (CA)

Itens Items	Nível de casca de algodão (%) Cottonseed hulls level (%)				Equações	CV (%)	$r^2$
	0	10	20	30			
NUS (mg/dL) SUN (mg/dL)	19,20	18,25	17,30	15,48	$\hat{Y} = 19,3747 - 0,3231 * CA$	11,57	0,32
EU (mg/kg PV) UE (mg/kg of BW)	578,23	570,07	474,43	441,11	$\hat{Y} = 592,012 - 5,0699 * CA$	13,93	0,39
EU (g/dia) UE (g/day)	114,73	134,86	111,17	113,61	$\hat{Y} = 118,59$	43,49	-

(2000) verificaram que a produção de proteína microbiana obtida pelos DP na urina ou pelas bases purinas no abomaso não diferiu. Esses autores concluíram que o método de excreção urinária de DP pode ser utilizado para se estimar a produção de proteína microbiana.

Constam na Tabela 7 as médias, os coeficientes de variação e as equações de regressão obtidas para as excreções urinárias de alantoína, ácido úrico e purinas totais, purinas microbianas absorvidas, compostos nitrogenados microbianos e eficiência microbiana, em função dos níveis de casca de algodão nas rações. Verificou-se comportamento linear para a excreção urinária de alantoína e derivados de purinas, assim como para as purinas absorvidas e produção de proteína microbiana, o que coincide com o comportamento verificado para os consumos de MS, de NDT e de carboidratos degradados no rúmen, que também aumentaram nos tratamentos com maiores níveis de casca de algodão (Chizzotti et al., 2005).

Aumento no consumo (Chizzotti et al., 2005) elevou a quantidade de nutrientes disponíveis à fermentação ruminal, permitindo maior crescimento microbiano. Além disso, a elevação no consumo de MS pode ter aumentado a taxa de passagem da digesta ruminal e, conseqüentemente, o arraste de microrganismos. Com o menor tempo de permanência no rúmen, a idade média dos microrganismos diminuiu, ocorrendo redução nas exigências de manutenção, menores taxa de predação e morte microbiana (Van Soest, 1994), reduzindo a reciclagem de energia e N, disponibilizando ainda mais nutrientes para o crescimento microbiano. Além disso, os animais que consumiram maiores proporções de silagem de capim-elefante ingeriram maior quantidade de compostos

Tabela 6 - Médias e probabilidades (P) para os compostos nitrogenados microbianos (Nmic) e PB microbiana (PBmic), em g/dia, e eficiência de síntese microbiana (Efic), em g de PB microbiana por quilo de NDT consumido, obtidas pelas bases purinas omasais ou estimadas pelos derivados urinários de purinas

Itens Items	Média Mean		P
	Bases purinas no omaso Omasum purine bases	Derivados de purinas urinários Urinary purine derivatives	
	Nmic micN	81,60	
PBmic micCP	510,00	565,16	ns
Efic Efic	119,40	128,44	ns

ns – não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.  
ns – not significant at 5% of probability (t test).

oriundos da fermentação no silo que podem causar inibição do desenvolvimento microbiano.

Magalhães (2003), trabalhando com níveis similares de casca de algodão, não encontrou diferenças significativas na produção de proteína microbiana estimada pela excreção dos derivados de purina urinários em amostra de urina *spot*, porém observou diferenças numéricas nas produções de PBmic para os tratamentos contendo 0, 10 e 20% de casca (650,11, 727,93 e 760,48 g de PBmic/dia, respectivamente). Apesar de não terem sido detectadas diferenças significativas para as concentrações de N-NH<sub>3</sub>

Tabela 7 - Médias, equações de regressão (equações) e coeficientes de variação (CV) e determinação ( $R^2$ ) para as excreções urinárias de alantóina (ALA), ácido úrico (AcU) e derivados de purinas totais (DP), purinas microbianas absorvidas (Pabs), compostos nitrogenado microbianos (Nmic), proteína bruta microbiana (PBmic) e eficiência microbiana (Efic), em função dos níveis de casca de algodão (CA) nas dietas

Table 7 - Means, regression equations (equations), coefficients of variation and determination (CV and  $R^2$ ) to urinary excretions of allantoin (ALLA), uric acid (UAc) and purine derivatives (PD), microbial purines absorbed (Pabs), microbial nitrogen (micN), microbial crude protein (mCP) and microbial efficiency (Efic) according to different dietary levels of cottonseed hulls (CA)

Itens Items	Nível de casca de algodão (%) Cottonseed hulls level (%)				Equações	$r^2$	CV (%)
	0	10	20	30			
ALA <sup>1</sup> (ALLA)	90,05	122,70	127,28	146,66	$\hat{Y} = 1,7441*CA + 95,5118$	0,25	27,37
AcU <sup>1</sup> (UAc)	7,52	8,95	8,77	10,25	$\hat{Y} = 8,87$		46,43
DP <sup>1</sup> (PD)	97,57	131,64	136,06	156,91	$\hat{Y} = 1,8242*CA + 103,183$	0,25	27,30
Pabs <sup>1</sup> (Pabs)	85,60	125,71	130,94	155,25	$\hat{Y} = 2,1418*CA + 92,2486$	0,25	33,10
Nmic <sup>2</sup> (micN)	62,23	91,40	95,20	112,87	$\hat{Y} = 1,5572*CA + 67,069$	0,25	33,10
PBmic <sup>2</sup> (mCP)	388,97	571,23	595,00	705,46	$\hat{Y} = 9,7324*CA + 419,181$	0,25	33,10
Efic <sup>3</sup> (Efic)	105,19	133,05	132,70	142,84	$\hat{Y} = 128,44$		29,31
Efic <sup>4</sup> (Efic)	237,74	306,19	272,57	269,09	$\hat{Y} = 271,40$		33,65
Efic <sup>5</sup> (Efic)	299,94	369,40	317,54	322,61	$\hat{Y} = 327,37$		30,65

<sup>1</sup> mmol/dia; <sup>2</sup> g/dia; <sup>3</sup> g PBmic/kg de NDT consumido; <sup>4</sup> g MSmic/kg de MO degradada no rúmen consumida; <sup>5</sup> g MSmic/kg de carboidrato degradado no rúmen consumido.

Expressed as: <sup>1</sup> mmol/day; <sup>2</sup> g/day; <sup>3</sup> g micCP/kg of ingested TDN; <sup>4</sup> g micDM /kg of ingested ruminally degraded OM; <sup>5</sup> g micDM/kg of ingested ruminally degraded carbohydrate.

ruminal, foram observadas menores concentrações de amônia nos tratamentos contendo maiores proporções de casca (Tabela 4), o que indicaria maior assimilação de amônia pelas bactérias e, conseqüentemente, maior produção microbiana.

A eficiência de síntese microbiana não foi influenciada pelos teores de casca de algodão na dieta, apresentando valor médio de 128,44 g PBmic/kg NDT consumido, sendo próximo ao proposto pelo NRC (2001), de 130 g PBmic/kg NDT, e àquele estimado por Magalhães (2003), de 128,72 g PBmic/kg NDT. Quando expressa em g de MS microbiana por kg de carboidrato degradado no rúmen, a eficiência média foi inferior à eficiência máxima considerada pelo CNCPS, de 400 gMSmic/kg CHO<sub>dr</sub>, descrita por Russell et al. (1992).

### Conclusões

A casca de algodão mostrou-se um bom volumoso alternativo, podendo ser fornecida até o nível de 30% na MS total, pois promoveu adequado crescimento microbiano e aproveitamento do N dietético.

### Literatura Citada

BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; CASTRILLO, C. et al. Urinary excretion of allantoin and allantoin precursors by sheep after different rates of purine infusion into the duodenum. *Journal of Agricultural Science*, v.116, p.309-317, 1991.

BRODERICK, G.A.; MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. *Journal of Dairy Science*, v.75, p.2618-2632, 1992.

CECAVA, M.J.; MERCHEN, N.R.; GAY, L.C. et al. Composition of ruminal bacteria harvest from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. *Journal of Dairy Science*, v.73, p.2480-2488, 1990.

CHEN, X.B.; DeB HOVELL, F.D.; ØRSKOV, F.R. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants: Effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. *British Journal of Nutrition*, v.63, p.131-142, 1990.

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 (Occasional publication). INTERNATIONAL FEED RESOURCES UNIT. Bucksburnd: Rowett Research Institute, 1992. 21p.

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M.I. et al. Casca de algodão em substituição parcial à silagem de capim-elefante para novilhos. 1. Consumo, degradabilidade e digestibilidade total e parcial. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.6, p.2092-2102, 2005.

CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.75, p.2304-2323, 1992.

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

COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. *Fundamentos de nutrição dos ruminantes*. Piracicaba: Livrocere, 1979. 380p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB Disponível em: [www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br) Acessado em: 20/01/2004.

FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives

- in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, p.7-12, 1987.
- GIESECKE, D.; EHRENTREICH, L.; STANGASSINGER, M. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.2376-2381, 1994.
- GONDA, H.L.; EMANUELSON, M.; MURPHY, M. The effect of roughage to concentrate ratio in the diet on nitrogen and purine metabolism in dairy cows. **Animal Feed Science Technology**, v.64, p.27-42, 1996.
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A. et al. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1282-1291, 2003.
- HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1707-1728, 1980.
- KROPP, J.R.; JOHNSON, R.R.; MALES, J.R. et al. Microbial protein synthesis with low quality roughage rations: Level and source of nitrogen. **Journal of Animal Science**, v.46, p.844-854, 1977.
- LEÃO, M.I.; COELHO DA SILVA, J.F. Técnicas de fistulação de abomaso em bezerros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 1., REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 17., 1980, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1980. p.37.
- 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. **Anais...** Recife, 2002. CD-ROM. Nutrição de Ruminantes.
- MAGALHÃES, K.A. **Níveis de uréia ou casca de algodão na alimentação de novilhos de origem leiteira em confinamento**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 90p. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 1989. 158p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 381p.
- NOLAN, J.V. Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.47, p.227-246, 1993.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. et al. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- PINEDA, N.R.; ROCHA, J.C.M. Estratégias de marketing e alianças mercadológicas na cadeia produtiva da carne bovina. In: SIMCORTE – SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 3., 2002, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. p.1-22.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1223-1234, 2000.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa: 2002. n. p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, MG: 1998. 150p. (Manual do usuário).
- USHIDA, K.; LASSALAS, B.; JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry. Influence of sample treatment and preservation. **Reproduction, Nutrition and Development**, v.25, 1037-1046, 1985.
- VALADARES FILHO, S.C.; CABRAL, L.S. Aplicação dos princípios de nutrição de ruminantes em regiões tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.
- VALADARES FILHO, S.C.; ROCHA JR., V.R.; CAPPELLE, E.R. **Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos. CQBAL 2.0**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa/ Suprema Gráfica Ltda, 2002. 297p.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. London: Constock Publishing Associates, 1994. 476p.
- 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 Agricultural Science**, v.114, p.243-248, 1990.
- VIEIRA, P. F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.

Recebido em: 20/09/04

Aceito em: 08/06/05