



## Parâmetros ruminais e síntese de proteína metabolizável em bovinos de corte sob suplementação com proteinados contendo diversos níveis de proteína bruta<sup>1</sup>

Luiz Orcirio Fialho de Oliveira<sup>2</sup>, Eloisa de Oliveira Simões Saliba<sup>3</sup>, Iran Borges<sup>3</sup>, Lucio Carlos Gonçalves<sup>3</sup>, Maria Paula Ferreira Fialho<sup>4</sup>, Paula de Almeida Barbosa Miranda<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Projeto financiado pelo CNPq.

<sup>2</sup> Doutorando em Ciência Animal - UFMG.

<sup>3</sup> Departamento de Zootecnia - UFMG.

<sup>4</sup> Mestranda em Zootecnia - UFMG.

**RESUMO** - Avaliaram-se os efeitos dos níveis de nitrogênio de suplementos proteicos sobre as concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e ácidos graxos voláteis (AGV) e o pH em bovinos de corte em pastagem de capim-marandu (*Brachiaria brizantha*, cv. Marandu). Foram realizadas estimativas da síntese microbiana, do aporte de proteína não-degradável no rúmen (PNDR) e proteína endógena e das suas contribuições no *pool* de proteína metabolizável (PM). Quatro bovinos Nelore com 395 ± 9 kg, fistulados no rúmen, foram utilizados nas medidas dos parâmetros ruminais e nas avaliações da degradabilidade, da cinética ruminal e das estimativas de síntese microbiana em um delineamento quadrado latino 4 × 4. Suplementos com 30, 40 ou 50% de proteína bruta (PB) foram fornecidos na quantidade de 400 g/animal.dia para comparação a um grupo controle, sem suplementação proteica. Os animais foram mantidos em pastagens de *Brachiaria brizantha*, cv. Marandu, distribuídos em quatro piquetes com área de 1,0 ha cada, com oferta do suplemento e retirada das sobras, realizada diariamente. As concentrações de N-NH<sub>3</sub> nos animais que receberam o suplemento com 50% PB foram superiores às observadas naqueles sob suplementação com 40% PB e no grupo controle, mas foram semelhantes às observadas no grupo sob suplementação com 30% PB. As concentrações de AGV no grupo sob suplementação com 30% PB foram superiores às observadas no grupo controle e semelhantes às obtidas com suplementação com 40 e 50% PB. O pH não diferiu entre os grupos. A estimativa de oferta de proteína microbiana e de PNDR foi maior para os animais sob suplementação com proteína em relação à observada no grupo controle.

Palavras-chave: proteína degradável, síntese microbiana, suplementação proteica

## Ruminal fermentation characteristics and protein fraction effects on metabolizable protein synthesis of beef cattle fed different levels of crude protein

**ABSTRACT** - The effects of nitrogen levels of protein supplements were evaluated on the concentrations of ammoniacal nitrogen (N-NH<sub>3</sub>), volatile fatty acids (VFA's) concentrations and pH in beef cattle grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. The microbial protein synthesis, ruminal undegradable protein (RUP) and endogenous crude protein (ECP) and their contributions to the pool of metabolizable protein (MP). Four Nelore steer, 395 ± 9 kg, fitted with ruminal cannulas, were used to evaluate ruminal parameters, degradability, ruminal kinetics and microbial synthesis in a 4 × 4 Latin square design. The animals were supplied with 400g/head/day of supplements containing 30, 40, and 50% crude protein (CP) for comparison with a control group without protein supplementation (C). The animals grazed *Brachiaria brizantha* cv Marandu, distributed in four one-hectare paddocks where the supplements were offered and the orts removed daily. The N-NH<sub>3</sub> levels in the animals that received 50% CP were higher than those observed in animals receiving 40% CP and C, but were similar to the levels observed in the animals supplemented with 30% CP. The VFA concentrations in the group supplemented with 30% PB were higher than the control treatment (C) and similar to those obtained with 40 and 50% CP supplementation. The pH did not differ among the groups. The microbial synthesis and RUP were greater for the animals that received protein supplementation compared to the control treatment.

Key Words: degradable protein, microbial synthesis, protein supplementation

## Introdução

Níveis de proteína bruta (PB) inferiores a 7% em dietas para bovinos não permitem manter o teor de 8 mg/dL de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) no líquido ruminal, necessário para manutenção do crescimento das bactérias celulolíticas (Egan & Doyle, 1985).

Estudos com bovinos em pasto de baixo valor nutricional comprovam efeitos positivos da suplementação proteica sobre o consumo, a digestibilidade e o ganho de peso (Paulino et al., 2001; Beauty et al., 1994; Hess et al., 1994; Freeman et al., 1992), como aumentos no consumo e no desempenho dos animais (Oliveira et al., 2004). A oferta de proteína para bovinos em pasto aumenta as concentrações de N-NH<sub>3</sub> (Volden, 1999) e, de acordo com Satter & Rofler (1975), 60 a 80% do nitrogênio (N) incorporado à massa microbiana é originado do N-NH<sub>3</sub>.

A síntese de proteína microbiana no rúmen pode aumentar com a oferta de fontes de nitrogênio solúveis e de carboidratos rapidamente fermentáveis, melhorando o aporte de proteína microbiana no intestino delgado (Hennessy & Williamson, 1990). Entretanto, suplementos proteicos contendo elevada concentração de nitrogênio não-proteico podem liberar níveis excessivos de amônia no rúmen (Krysl et al., 1989; Hess et al., 1994; Toppo et al., 1997), promovendo diferencial entre as ofertas de nitrogênio e carbono aos microrganismos ruminais. A sincronização entre a disponibilidade de energia com o nitrogênio dietético é o fator mais importante para a eficiência de utilização do nitrogênio pelos microrganismos do rúmen (Rihani et al., 1993).

A fração de proteína microbiana sintetizada no rúmen (PMR), associada às frações da proteína não-degradada no rúmen (PNDR) e da proteína endógena (PE), representa o volume potencial de proteína metabolizável (PM) que passa para o intestino delgado (NRC, 2001), enquanto a proteína metabolizável no rúmen (PMR) é a principal fonte de aminoácidos para o intestino delgado e a proteína degradável no rúmen (PDR) provém de peptídeos, aminoácidos livres e amônia para a síntese proteica dos microrganismos do rúmen. Estima-se que, para cada quilograma de NDT, são produzidos 130 gramas de PMR (NRC, 1996).

Tanto a deficiência como a oferta excessiva de nitrogênio podem prejudicar a síntese de PMR, reduzindo significativamente o volume de proteína metabolizável. Neste trabalho objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação com proteína bruta (PB) sobre os volumes de proteína microbiana sintetizada no rúmen e de proteína não-

degradável no rúmen e suas respectivas contribuições para o *pool* de proteína metabolizável.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Rancho Alegre, localizada em Campo Grande (Mato Grosso do Sul) em uma área de 4 hectares de capim-marandu (*Brachiaria brizantha*, cv. Marandu) dividida em quatro piquetes uniformes, no período de 22 de abril a 30 de novembro de 2002.

Durante o período experimental, registrou-se o seguinte volume de chuvas: abril, 18 mm; maio, 69 mm; junho, 0 mm; julho, 91 mm; agosto, 34 mm; setembro, 44 mm; outubro, 75 mm; e novembro, 84 mm.

Foram preparados quatro animais da raça Nelore com peso vivo médio de 395 kg, canulados no rúmen, para avaliação dos parâmetros ruminais de N-NH<sub>3</sub>, AGV, pH, cinética ruminal, degradabilidade e síntese proteica.

Os animais foram mantidos em pastagens de *Brachiaria brizantha*, cv. Marandu, distribuídos em quatro piquetes de 1,0 hectare, com suplementação na quantidade de 400 g/animal.dia. Os suplementos continham 30, 40 ou 50% de PB (Tabela 1) e 100 g de suplemento mineral, no caso dos animais do grupo controle. A retirada e a pesagem das sobras foram feitas diariamente.

Para a colheita da forragem pelo método de extrusa, foram utilizados dois animais fistulados no esôfago, segundo metodologia descrita por Cook et al. (1958). A colheita foi realizada com auxílio de sacolas de fundo telado, para evitar acúmulo de saliva, afiveladas por cintas ao pescoço e ao dorso dos animais. As amostras de extrusa foram conservadas em isopor com gelo e armazenadas em câmara fria a -17 °C. Posteriormente

Tabela 1 - Composição dos suplementos proteicos utilizados no experimento

Ingrediente (%)	Nível de proteína bruta no suplemento (%)		
	30	40	50
Milho	28,00	17,00	5,00
Farelo de soja	15,00	15,00	15,00
Ureia extrusada <sup>1</sup>	21,00	32,00	44,00
Fosfato bicálcico	10,00	10,00	10,00
Carbonato de cálcio	2,00	1,75	1,50
Enxofre ventilado	0,00	0,25	0,50
Núcleo Premix <sup>2</sup>	4,00	4,00	4,00
Sal branco	20,00	20,00	20,00

<sup>1</sup> Ureia extrusada, níveis de garantia: 100% equivalente proteico e 50% NDT;

<sup>2</sup> Núcleo Premix, níveis de garantia por kg do produto: S = 165 g; Mg = 120 g; Zn = 28.000 mg; Mn = 9.600 mg; Fe = 11.000 mg; Co = 1.000 mg; I = 800 mg; Cu = 12.500 mg; Se = 125 mg.

foram secas em estufa ventilada a 55 °C por 48 horas e processadas em moinho do tipo *Willey* com peneira de 2 mm para análises químicas.

A proteína bruta foi dividida nas frações A, B e C (NRC, 1996), de acordo com sua degradabilidade, pelo modelo da degradação ruminal *in situ* (Orskov et al., 1980). A fração A, representada pela proteína que escapa rapidamente dos sacos de náilon e considerada nitrogênio não-proteico (NNP), foi determinada pela diferença entre o teor de PB na matéria original e no resíduo após imersão e retirada imediata no rúmen; a fração C, considerada proteína não-degradável no rúmen (PNDR), foi calculada pela diferença entre a PB na matéria original e no resíduo após o término da degradação; e a fração B, considerada proteína degradável no rúmen (PDR), foi calculada nos diversos tempos, sujeitando-se aos efeitos das taxas de passagem.

Assumiram-se os valores de 80, 64 e 40% para o potencial de transformação em proteína metabolizável, da proteína não-degradável no rúmen, da proteína metabolizável no rúmen e da proteína endógena, respectivamente, resultado do produto entre a digestibilidade intestinal e a concentração de proteína verdadeira das respectivas frações (NRC, 1996).

Foram utilizados oito períodos de 28 dias: 14 dias de adaptação e 14 dias de colheita (5 para digestibilidade, 5 para cinética e parâmetros ruminais e 4 dias de intervalos entre colheitas).

Os suplementos proteicos foram oferecidos diariamente às 6 h e seu consumo gradativo ao longo do dia, e constante durante todo o período experimental, visto sua prévia adaptação. Amostras de líquido ruminal foram colhidas imediatamente antes (0 horas) e após o fornecimento dos suplementos, nos seguintes tempos: 3, 6, 9, 12, 18 e 24 horas. Realizou-se imediatamente após a colheita a leitura do pH em potenciômetro digital de bolso (Q 400 BI, Quimis, SP/Brasil).

O líquido ruminal foi filtrado em camadas duplas de gaze, retirando-se de cada horário e tratamento duas alíquotas. Uma alíquota de 50 mL do líquido ruminal foi acidificada com 1 mL de ácido sulfúrico 1:1, para análises do N-NH<sub>3</sub>, e em outra alíquota de 4 mL foi adicionado 1 mL de ácido metafósfórico 25% para análise dos níveis de AGV.

A concentração de N-NH<sub>3</sub> foi determinada por destilação com óxido de magnésio, utilizando-se ácido bórico como solução receptora e ácido clorídrico 0,01N na titulação (AOAC International, Cuniff, 1995). Procedeu-se à centrifugação em centrífuga Sorvall RC-5B - Refrigerated

Superspeed Centrifuge (Du Pont Instruments®) a 5.000 g por 20 minutos a 4 °C, no líquido ruminal, a fim de se analisar os níveis de ácidos graxos voláteis.

As concentrações de acetato, propionato e butirato foram analisadas por cromatografia gasosa (Erwin et al., 1961) em aparelho Shimadzu®, modelo Gás Chromatograph GC - 17 A, usando coluna capilar com fase estacionária NUCOL.

As amostras de extrusa foram secas em estufa ventilada a 55 °C por 48 horas e processadas em moinho do tipo *Willey* em peneira de 1 mm. Posteriormente procederam-se às análises de cada amostra para determinação dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB), matéria mineral (MM), extrato não-nitrogenado (ENN), cálcio e fósforo, segundo AOAC International (Cuniff, 1995).

A determinação dos teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foi realizada pelo método descrito por Robertson & Van Soest (1981). Nas amostras do capim e dos suplementos, determinaram-se, além das concentrações de PB, a fração nitrogenada insolúvel em detergente neutro (NIDN) e a fração nitrogenada insolúvel em detergente ácido (NIDA), conforme recomendação de Valadares Filho (2000).

Para estimativa da produção fecal, utilizou-se o óxido crômico como indicador externo, fornecido diariamente às 15 h, em dose única de 10 g, conforme equação proposta por Saliba (1998). O consumo de matéria seca foi calculado a partir da digestibilidade *in vitro* e da quantidade de fezes excretada, a partir da fórmula abaixo:

Consumo de MS = [(PF - PFS) / (1 - DIVMS)] + CMSS, em que: PF = produção fecal diária (kg/dia); PFS = contribuição do suplemento na massa fecal; DMS = digestibilidade *in vitro* da MS; e CMSS = consumo de matéria seca do suplemento.

O modelo matemático utilizado para análise de variância foi:

$Y_{ijkl} = \mu + A_i + T_j + P_k + H_l + DH_{jl} + E_{ijkl}$ , em que:  $Y_{ij}$  = variável observada no animal;  $\mu$  = média geral;  $A_i$  = efeito do animal  $i$ ;  $T_j$  = efeito da dieta  $j$ ;  $P_k$  = efeito do período  $k$ ;  $H_l$  = efeito do horário  $l$ ;  $TH_{jl}$  = interação tratamento  $\times$  horário;  $E_{ijkl}$  = erro aleatório.

O delineamento estatístico aplicado foi um quadrado latino (4 dietas  $\times$  4 animais) repetido no tempo (8 períodos) e considerando os 7 horários como parcelas subdivididas. Os resultados foram comparados pelo teste SNK usando-se o modelo linear do procedimento PROC GLM do SAS (1985).

## Resultados e Discussão

A concentração de  $N-NH_3$  no líquido ruminal foi influenciada pela suplementação proteica (Tabela 2). A concentração de  $N-NH_3$  dos animais que receberam o suplemento com 50% de PB foi similar à daqueles que receberam o suplemento com 30% de PB ( $P>0,05$ ) e superior à daqueles sob suplementação com 40% de PB ( $P<0,05$ ) e à dos animais controle, sem suplementação.

As concentrações de  $N-NH_3$  no rúmen estão associadas à velocidade de introdução e liberação das fontes nitrogenadas no rúmen, bem como à sua assimilação em proteínas microbianas, o que é resultado da sincronia de demais nutrientes que compõem as estruturas celulares dos microrganismos. A complexidade desses fatores, associada ao comportamento de alimentação a pasto (pastejo, ruminação e ócio) e às diferenças na composição dos suplementos, provocou respostas específicas como observadas no comportamento da concentração do  $N-NH_3$ .

O consumo de MS em % do peso vivo (PV) foi maior nos animais que receberam o suplemento com 30% PB (Tabela 3). Como a quantidade de suplemento foi a mesma para todos os grupos, o aumento no consumo de MS foi ocasionado pela maior ingestão de forragem. Em virtude do horário do segundo pico de concentração de nitrogênio na suplementação com 30% PB (na coleta de

12 horas), possivelmente houve novo período de pastejo nesse intervalo de coletas, correspondente aos horários de 15 h às 18 h.

As maiores concentrações de  $N-NH_3$  foram observadas 3 horas após a suplementação, no caso dos animais que receberam o suplemento com 50 e 40% de PB, e 6 horas após alimentação naqueles que receberam o suplemento com 30% de PB (Figura 1), enquanto nos animais controle, sem suplementação, permaneceram praticamente constantes. Essa resposta pode estar relacionada às solubilidades das fontes de proteínas, pois a oferta de proteína de origem vegetal foi semelhante (Tabela 4) nos níveis de suplementação com 30% (9,64), 40% (9,64) e 50% de PB (9,33), entretanto a oferta de proteína via NNP de origem química foi 1,53 (118,37/77,37) e 2,12 (163,72/77,37) vezes maior nos lotes com 40 e com 50% de PB em relação àqueles sob suplementação com 30% de PB, respectivamente, o mesmo observado para a PDR.

Quando a quantidade de carboidratos fermentáveis em relação à PDR não é suficiente, aminoácidos podem ser usados como fonte de energia (Russel et al., 1992). Dessa forma, pode ter sido utilizada uma fração maior da proteína de origem vegetal durante as primeiras 3 horas na

Tabela 2 - Concentração de nitrogênio amoniacal ( $N-NH_3$ ) no líquido ruminal após alimentação em bovinos de corte sob suplementação proteica

Tempo após a alimentação	Nível de proteína bruta no suplemento, %			
	Controle	30	40	50
0 hora	4,481	5,955	5,206	5,527
3 horas	6,595	10,686	10,945	18,675
6 horas	6,814	11,516	8,436	13,801
9 horas	5,299	8,592	8,052	11,334
12 horas	5,952	10,146	5,980	6,327
18 horas	5,124	6,779	4,906	7,841
24 horas	7,689	5,014	4,477	5,930
Média	5,933c	8,384ab	6,857bc	9,919a

a Médias com letras iguais na mesma linha não diferem ( $P>0,05$ ) pelo teste SNK.

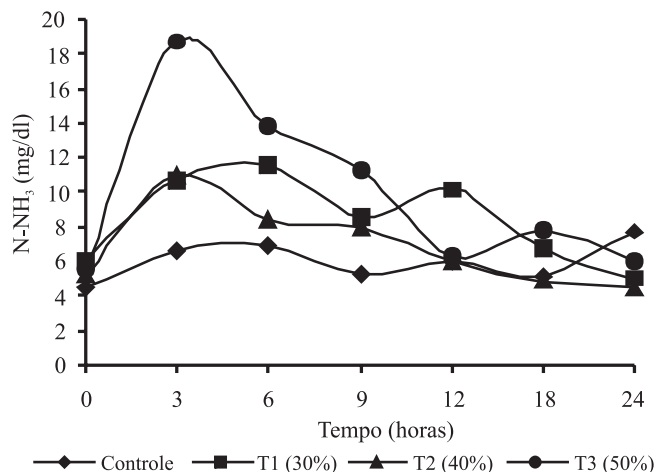


Figura 1 - Concentrações de  $N-NH_3$  (mg/dL) no líquido ruminal.

Tabela 3 - Médias do consumo diário de matéria seca e de proteína bruta em cada nível de suplementação

Nível de proteína bruta (%)	Controle	Nível de PB nos suplementos (%)			DPM	CV (%)
	0	30	40	50		
Consumo de matéria seca						
kg/dia	6,31c	7,97a	7,60ab	7,34b	0,822	7,968
% peso vivo (PV)	1,87c	2,11a	2,03b	2,00b	0,110	7,648
(g/kg <sup>0,75</sup> )	80,08c	93,05a	89,41b	87,64b	5,825	3,409
Consumo de proteína bruta						
kg/dia	0,374c	0,483b	0,533a	0,498b	0,05	5,887
g/kg PV	1,11d	1,28c	1,43a	1,36b	0,04	7,602

Tabela 4 - Composição química e nutricional estimada dos suplementos proteinados<sup>1</sup> e oferta de proteína via nitrogênio não-proteico (NNP) de origem química e de proteína de origem vegetal

Nutriente	Nível de proteína bruta no suplemento		
	30%	40%	50%
Matéria seca (MS) (%)	92,24	92,52	93,05
Proteína bruta (PB) (%)	29,21	39,49	50,38
Proteína degradável no rúmen (PDR) (%)	23,45	33,64	44,72
Proteína via NNP de origem química (PNNPQ) (%)	19,57	29,85	41,05
Proteína via NNP de origem química (% da PDR)	83,45	88,73	91,79
Proteína de origem vegetal (POV) (%)	9,64	9,64	9,33
Proteína de origem vegetal (% da PDR)	16,55	11,27	8,21
Carboidratos não-fibrosos (%)	29,63	27,26	24,84
Oferta de proteína via NNPQ (g/animal.dia)	77,37	118,37	163,72
Oferta de proteína de origem vegetal (g/animal.dia)	38,11	38,11	37,20
Oferta de CNF (g/animal.dia)	117,15	108,10	99,07
Relações entre a oferta de PNNPQ e POV (g)	2,03:1,00	3,09:1,00	4,40:1,00
Relações entre a oferta de PNNPQ e CNF (g)	0,66:1,00	1,09:1,00	1,65:1,00
Relações entre a oferta de POV e CNF (g)	0,32:1,00	0,35:1,00	0,37:1,00
Relações entre PDR e CNF	0,79:1,00	1,45:1,00	1,80:1,00

<sup>1</sup> Calculado segundo Valadares Filho (2000).

suplementação com 40% em relação à com 30% de PB, o que justifica as diferenças nas concentrações desses carboidratos 6 horas após a suplementação.

As relações entre ofertas de proteína e de carboidratos não-fibrosos são informações importantes para a sincronia entre nitrogênio e carboidratos. Em virtude de sua alta solubilidade, as fontes químicas de nitrogênio não-proteico podem desencadear a liberação de níveis inadequados de amônia no rúmen, o que pode reduzir a atividade microbiana ruminal (Arelovich et al., 2000).

Os níveis de N-NH<sub>3</sub> relacionam-se diretamente com a oferta de PB (Freeman et al., 1992; Hélène & Flipot, 1992; Rihany et al., 1993; Huntington et al., 1996; Thivierge et al., 2002) e indiretamente com a de carboidratos não-fibrosos (Pordomingo et al., 1991; Hess et al., 1994). Nas primeiras 12 horas após a suplementação (durante o dia), observou-se relativa semelhança nas concentrações de N-NH<sub>3</sub> no líquido ruminal nas curvas dos animais sem suplementação com os que receberam 30% de PB, bem como nas curvas dos animais que receberam os suplementos com 40 e 50% de PB (Figura 1).

No grupo controle e nos animais que receberam o suplemento com 30% PB, ocorreu um pico às 6 horas (meio dia) e outro às 12 horas após alimentação (às 18 h), enquanto naqueles que receberam os suplementos com 40 e 50% PB, observaram-se um pico às 3 horas e relativa manutenção das concentrações no intervalo entre 6 e 9 horas após a suplementação. Diferentemente da suplementação com elevados níveis de PB, a suplementação com proteinados neste estudo (0,1% do peso vivo) visa melhorar o consumo de forragens secas e de baixa digestibilidade e a manutenção do comportamento de pastejo e de ruminação dos animais

a pasto. A semelhança entre as curvas pode estar associada a esse comportamento, pois, durante o período de ruminação, um novo aporte de N-NH<sub>3</sub> chega ao rúmen via saliva.

Após 18 horas da oferta do suplemento, entre a meia noite e às 6 h do dia seguinte, a concentração de amônia dos animais sob suplementação (30, 40 e 50% PB) continuou em redução, comportamento diferente do observado nos animais sem suplementação proteica (C), nos quais a amônia ruminal aumentou de 5,124 para 7,689 mg/dL.

A suplementação proteica (30, 40 e 50%) promoveu redução do pH (P<0,05) (Figura 2), como observado por outros autores (Freeman et al., 1992; Manterola et al., 2001; Vásquez, 2002).

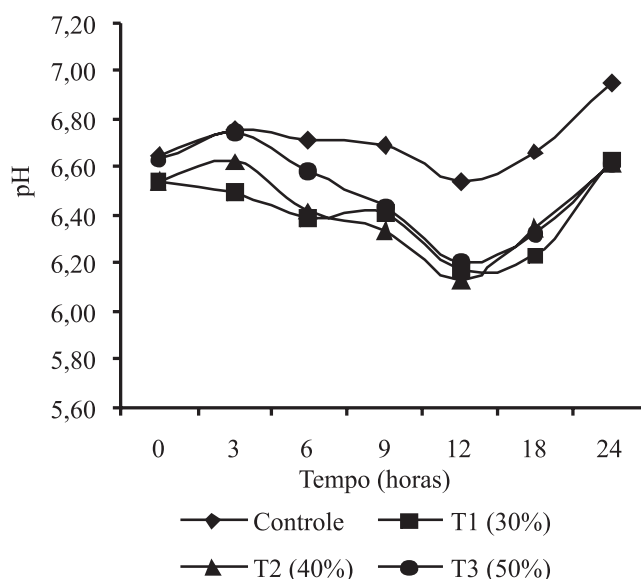


Figura 2 - Valores de pH no líquido ruminal.

Os valores médios do pH ruminal neste experimento permaneceram próximos da faixa ideal para otimização da digestão da fibra e do crescimento das populações das bactérias celulolíticas, que, segundo Mertens (1979) e Orskov (1982), é de 6,5 a 6,8.

O maior pH foi observado às 9 horas da manhã, que correspondeu ao tempo de 3 horas após a oferta dos suplementos. De 3 horas até 12 horas, ou seja, às 18 horas do dia, observou-se queda constante do pH, passando a subir a partir deste horário até às 24 horas. A alta concentração de amônia nas primeiras 3 horas após a suplementação (Figura 1) pode ter influenciado na elevação do pH neste intervalo. Arelovich et al. (2000) observaram resposta semelhante na curva do pH ao testarem a influência dos níveis de zinco no fluido ruminal sobre a hidrólise da ureia à amônia, a qual possui um ponto isoelétrico (pK) de 9,3 e age como base neutralizante do pH.

A concentração de 20% de sal branco nos suplementos pode ter determinado consumo intercalado do suplemento ao longo do dia, provocando esse comportamento de redução gradual do pH. Apesar da igualdade na produção de AGV ( $P>0,05$ ) entre os lotes sob suplementação com proteína (30, 40 e 50%), o nível de 30% de PB promoveu maior produção de AGV ( $P<0,05$ ) em comparação ao lote de animais controle, sem suplementação (0%) (Tabela 5).

Manella et al. (2003), estudando a suplementação proteica de bezerras desmamadas, observaram aumento nas concentrações de ácidos graxos voláteis nos animais que receberam suplementação proteica durante todo o ano em relação a animais sem suplementação proteica; com acesso ao banco de leguminosa; e com suplementação proteica apenas na seca. Esses resultados foram justificados pelos maiores níveis de  $N-NH_3$  (Driedger & Loerch, 1999) e pela maior ingestão de matéria seca (Olson et al., 1999).

As concentrações de ácidos graxos voláteis neste estudo (9,05 mMol%) (Tabela 5) são semelhantes aos

valores citados em outros trabalhos (Freeman et al., 1992; Toppo et al., 1997; Arelovich et al., 2000; Vásquez, 2002) e diferentes das encontradas por Hess et al. (1994), de 13,2 mMol%. Em animais a pasto, a produção desses ácidos graxos e suas concentrações no líquido ruminal são influenciadas pelos teores de FDN da forragem, assim como pela rotina de pastejo e ruminação dos animais (Hess et al., 1994), o que pode explicar as diferenças entre os trabalhos.

A produção de ácidos graxos voláteis em bovinos sob suplementação com proteína (600 g com 43% de PB ou 1.200 g com 22% de PB) não difere da produção em animais alimentados com forragem de baixo valor nutricional (Freeman et al., 1992). Apesar do aumento na digestibilidade da FDN, esses efeitos podem estar relacionados ao nível de suplementação e à composição dos suplementos (farelo de algodão, milho e caroço de algodão).

A suplementação proteico-energética pode provocar alteração no perfil de AGV, conforme relato de vários autores. Avaliando o uso de suplementação proteica em blocos contendo ureia, melaço e sais minerais, Srinivas & Gupta (1997) observaram diferenças na produção de acetato, bem como nas relações acetato:propionato, e que os animais sem suplementação (recebendo forragem apenas) mantiveram níveis superiores de acetato no fluido ruminal. Esse efeito era esperado, em virtude da maior ingestão de carboidratos solúveis via suplemento.

Krysl et al. (1989) registraram diferenças na concentração de ácidos graxos voláteis apenas no intervalo de 1 hora após a oferta do suplemento (10,08 mMol% para o lote controle; 10,80 mMol% para a suplementação com farelo de soja e 10,07 mMol% para o sorgo), o mesmo observado por Freeman et al. (1992) nos animais que receberam suplemento com 43% de PB. Neste estudo, observou-se um pico 9 horas após a suplementação nos animais controle e naqueles que receberam suplemento

Tabela 5 - Concentrações de AGV (mMol%) e relações acetato:propionato no líquido ruminal de bovinos a pasto sob suplementação com proteína

Horário	Nível de proteína bruta no suplemento (%)							
	Ácidos graxos voláteis (mMol%)				Acetato:propionato			
	Controle	30	40	50	Controle	30	40	50
0	7,71b	10,57a	7,78b	9,04a	3,97a	2,55b	3,29a	3,07a
3	7,47b	9,70a	9,22a	8,25b	2,65a	2,78a	3,00a	3,38a
6	7,13c	10,08a	8,61b	7,13c	3,20a	2,72a	2,91a	3,48a
9	10,45b	8,77c	13,31a	11,50ab	3,19ab	4,03a	3,22ab	2,83b
12	9,24ab	10,75a	9,05ab	9,62a	3,23a	2,66a	3,16a	2,27b
18	7,74c	9,71b	11,79a	9,01b	3,15a	2,48a	3,00a	3,13a
24	8,55a	8,25a	5,50b	7,53ab	3,23a	3,41a	3,06a	3,76a
Média	8,33b	9,69a	9,32ab	8,87ab	3,23a	2,95a	3,09a	3,13a

<sup>a</sup> Médias com letras iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo teste SNK ( $P>0,05$ ).

com 50% PB (às 15 h) (Figura 3) e 12 horas após em 30% PB (às 18 h). A suplementação com 40% de PB apresentou dois picos de concentração de AGV: o primeiro 9 horas e o segundo 18 horas após alimentação. Não é possível explicar as razões dessa diferença, já que o manejo dos animais durante a rotina experimental foi semelhante entre os grupos e o consumo dos suplementos ocorreu rapidamente.

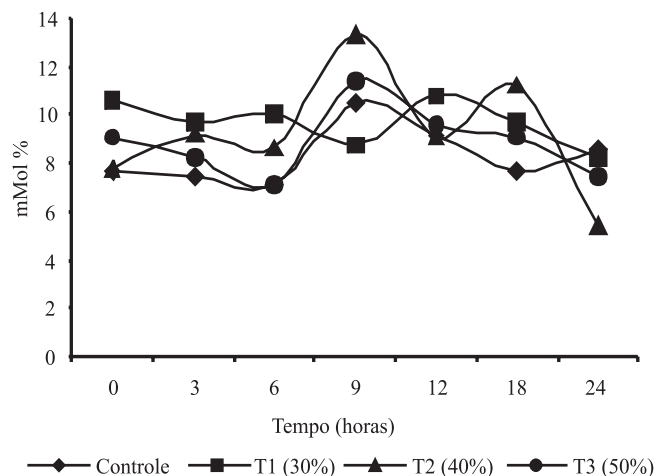


Figura 3 - Concentrações de AGV (mMol%).

O valor médio das relações entre as concentrações de acetato e propionato foi de 3,1 e não houve diferenças ( $P>0,05$ ) entre os grupos. Esse valor aproximou-se da relação de 3,29 observada por Vázquez (2002), mas ficou distante da relação de 3,99 encontrada por Arelovich et al. (2000).

As concentrações de AGV no líquido ruminal apresentaram maiores variações no intervalo de 0 a 6 horas após a oferta (Tabela 6) e a concentração média de acetato neste intervalo para P30 foi superior ( $P<0,05$ ) à observada nos animais controle, mas não houve diferenças ( $P>0,05$ ) entre as médias de propionato e butirato neste intervalo.

Os valores de acetato foram maiores ( $P<0,05$ ) nos animais sob suplementação com proteína (30, 40 e 50% de PB) em relação aos do grupo controle, nos intervalos de 0 a 6 e de 12 a 18 horas após a oferta do suplemento. O aumento nas concentrações de acetato (Tabela 6) esteve diretamente relacionado ao volume de digestão das fibras e ao aumento no consumo de forragem (Tabela 3).

A resposta apresentada nos parâmetros ruminais é resultado da suplementação proteica em animais consumindo forragem de baixo valor nutricional (PB<7,0%, FDN=80,23% e FDA=43,90%) (Tabela 7).

Tabela 6 - Concentrações de ácidos graxos voláteis (mMol%) no líquido ruminal de bovinos a pasto sob suplementação com proteinados

Horário	Nível de proteína bruta no suplemento											
	Acetato (mMol%)				Propionato (mMol%)				Butirato (mMol%)			
	Controle	30	40	50	Controle	30	40	50	Controle	30	40	50
0 às 6 h	5,23b	7,14a	5,93ab	5,77ab	1,60a	2,17a	1,93a	1,77a	0,59a	0,81a	0,66a	0,59a
6 às 12h	6,30a	6,98a	7,23a	6,37a	1,93a	2,07a	2,30a	2,33a	0,68a	0,82a	0,80a	0,70a
12 às 18 h	5,40b	6,65a	7,80a	6,30a	1,70b	2,20a	2,60a	2,00a	0,64a	0,86a	1,38a	0,75a
18 às 24 h	6,00a	5,78a	3,80b	5,50a	1,90a	1,80a	1,20a	1,50a	0,68a	0,67a	0,43c	0,53b
Média	5,85a	6,77a	6,45a	6,18a	1,83a	2,12a	2,09a	2,04a	0,65b	0,80a	0,79a	0,66b

a Médias com letras iguais na mesma linha não diferem ( $P>0,05$ ) pelo teste SNK.

Tabela 7 - Composição nutricional da forragem colhida pelo método da extrusa

Nutriente	Mês					
	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
Matéria seca (%)	31,27	33,18	35,19	32,78	26,57	26,70
Proteína bruta (% MS)	6,38	5,00	4,93	5,37	6,41	6,64
Extrato etéreo (%MS)	2,58	2,14	2,09	1,89	2,26	2,34
Cinzas (%MS)	6,95	4,36	4,73	5,97	5,75	5,04
Fibra em detergente neutro (%MS)	78,30	82,31	80,13	80,75	80,11	79,77
Fibra em detergente ácido (%MS)	42,27	46,42	43,92	45,86	42,14	42,78
NIDN <sup>1</sup> (%MS)	0,41	0,37	0,34	0,39	0,47	0,40
NIDA <sup>2</sup> (%MS)	0,37	0,28	0,21	0,24	0,31	0,28
PIDA <sup>3</sup> (%MS)	2,31	1,75	1,31	1,50	1,93	1,75
PIDA (% da PB)	36,25	35,00	26,62	27,93	30,22	26,35
Lignina (%MS)	5,45	5,95	5,60	6,06	4,89	4,95
FDN <sub>cp</sub> (%MS)	75,74	80,00	78,00	78,31	77,06	77,27
CNF <sup>4</sup> (%MS)	8,35	8,50	10,25	8,46	8,52	6,31
NDT <sup>5</sup> (%MS)	51,78	52,71	52,40	51,78	52,43	50,04

<sup>1</sup> NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro (%MS).

<sup>2</sup> NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido (%MS).

<sup>3</sup> PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido (NIDA × 6,25).

<sup>4</sup> CNF = 100 - (%FDN<sub>cp</sub> + %PB + %EE + %Cinzas) (Weiss, 1999).

<sup>5</sup> NDT = PBD + CNFD + FDND + (EED × 2,25).

A fração proteica da forragem ligada à FDA (NIDA) variou de 1,31 (agosto) a 2,31 (junho), representando 26,62 e 36,25% da proteína bruta da forragem, respectivamente. O sistema de partições da proteína bruta de Cornell (Cornell Net Carbohydrate Protein System – CNCPS) classifica em frações A, B e C, conforme a taxa e extensão de degradação, de modo que C é a fração não-degradável e quimicamente correspondente ao nitrogênio ligado à lignina e aos compostos de *Maillard* (Sniffen et al., 1992).

Não houve diferenças na oferta de PNDR ( $P>0,05$ ) entre os animais sob suplementação com proteína (Tabela 8).

Apesar de receber menor oferta de PNDR oriunda do suplemento, os animais sob suplementação com 30% de PB apresentaram maior consumo de forragem ( $P<0,05$ ) em comparação àqueles com 50% e esse maior consumo foi suficiente para nivelar o aporte da PNDR com as suplementações de 40 e 50% de PB. Relações mais adequadas entre fontes de nitrogênio e carboidratos podem, além de reduzir as perdas energéticas, aumentar o consumo de matéria seca (Oldham, 1984).

O consumo diário de proteína metabolizável por nível de suplementação variou de 387 a 468 g/animal (Tabela 7). Como era esperado, o consumo de proteína metabolizável foi maior ( $P<0,05$ ) entre os animais que receberam suplementação (30, 40 e 50% PB), porém uma parcela significativa dessa diferença foi ocasionada pelo aumento do consumo da forragem, promovido pela ação indireta do suplemento sobre a digestibilidade da forragem.

De acordo com o NRC (1996), as exigências de proteína metabolizável são de 307 g para manutenção e 157 g para ganhos de 0,5 kg/animal.dia, totalizando 464 g/dia para animais da raça Nelore com PV de 350 kg. Os animais sob suplementação apresentaram ganhos de peso de aproxima-

damente 0,4 kg/dia, compatíveis com os consumos de proteína metabolizável observados neste estudo (média de 447 g/dia).

A síntese de proteína microbiana no rúmen foi maior nos animais sob suplementação ( $P<0,05$ ). Entre esses animais, a maior síntese foi obtida com o nível de 30% de PB em comparação ao de 50% PB ( $P<0,05$ ), porém ambos não se diferiram da suplementação com 40% de PB ( $P>0,05$ ). Os dados de eficiência de síntese microbiana comprovaram que o aproveitamento da PDR atingiu os níveis de 98, 86 e 82% em 30, 40 e 50% PB, respectivamente.

Os microrganismos que degradam fibras requerem preferencialmente amônia como fonte de nitrogênio (Church, 1988), e a velocidade de oferta desta fonte de nitrogênio está diretamente associada à origem alimentar da PDR. A quantidade de PB microbiana sintetizada varia com a disponibilidade de nitrogênio liberado e da energia disponível para sua síntese (Minson, 1990). Melhor aproveitamento da PDR é resultado da associação harmoniosa entre os fatores nutricionais, inclusive de carboidratos prontamente fermentáveis, requeridos pela composição microbiana.

A estimativa da eficiência de síntese microbiana a partir da oferta de PDR permite questionar o uso da equação aplicada pelo NRC (1996) ( $PMR = NDT \times 0,13$ ) para todas as forragens no nível I do modelo (dietas com mais de 40% de forragem), em decorrência dos altos índices de aproveitamento registrados. Nesse contexto, diferentes estimativas ou ajustes do NDT de um alimento podem levar a interpretações equivocadas da eficiência de síntese microbiana.

Os resultados da eficiência de síntese microbiana (Tabela 8) observados neste estudo (11,5; 9,8; 8,6 e 8,2%

Tabela 8 - Consumo estimado de nutrientes conforme o NRC (1996)

Consumo	Nível de proteína bruta no suplemento (%)			
	Controle	30	40	50
Matéria seca (g/dia)	6310c	7970a	7600ab	7340b
Proteína bruta (g/dia)	365b	545a	561a	585a
NDT (g/dia)	2405	3065	2741	2675
PDR <sup>2</sup> (g/dia)	328c	474b	487a	505a
PMR <sup>3</sup> (g/dia)	378c	463a	421ab	412b
Eficiência de síntese <sup>4</sup> (%)	115	98	86	82
PNDR <sup>5</sup> (g/dia)	143a	166a	166a	168a
Proteína endógena <sup>6</sup> (g/dia)	75b	94a	90a	87a
PM da fração PNDR <sup>7</sup> (g/dia)	115	133	133	134
PM da fração PMR <sup>8</sup> (g/dia)	242	297	270	264
PM da fração PE <sup>9</sup> (g/dia)	30	38	36	35
PM total (g/dia)	387b	468a	439 a	433a
Taxa de passagem (Kp) (%/hora)	0,024	0,026	0,026	0,025
Taxa de degradação (Kd) (%/hora)	0,035	0,041	0,04	0,039

<sup>a</sup> Médias com letras iguais na mesma linha não diferem ( $P>0,05$ ) pelo teste SNK.

<sup>2</sup> PDR = A + B [kd/(kd+kp)]; <sup>3</sup> PMR = NDT × 0,13; <sup>4</sup> Eficiência de síntese = (PMR/PDR) × 100;

<sup>5</sup> PNDR = C + B [kp/(kd+kp)]; <sup>6</sup> PE = (1,9 × Consumo MS) × 6,25; <sup>7</sup> PM da fração PNDR = PNDR × 0,8; <sup>8</sup> PM da fração PMR = PMR × 0,64; <sup>9</sup> PM da fração PE = PE × 0,4



para os animais controle e aqueles sob suplementação com 30, 40 e 50% de PB, respectivamente) foram menores que a recomendação do NRC (1996), de 13%. Forragens de baixa digestibilidade levam a menores taxas de passagem, o que requer mais energia para manutenção dos microrganismos, reduzindo a eficiência de síntese de proteína microbiana (Russel et al., 1992).

### Conclusões

A suplementação proteica aumenta o volume de proteína microbiana sintetizada no rúmen, entretanto as concentrações de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal aumentam apenas nas suplementações com 30 e 50% de proteína bruta. A quantidade de proteína não-degradável no rúmen consumida é semelhante entre os animais sob suplementação e maior nos animais controle. A suplementação não influencia o pH nem as concentrações de ácidos graxos voláteis, e o consumo estimado de proteína metabolizável é compatível com as exigências propostas pelo National Research Council.

### Literatura Citada

- ARELOVICH, H.M.; OWENS, F.N.; HORN, G.W. et al. Effects of supplemental zinc and manganese on ruminal fermentation, forage intake, and digestion by cattle fed prairie hay and urea. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2972-2979, 2000.
- BEAUTY, J.L.; COCHRAN R.C.; LINTZENICH, B.A. et al. Effect of frequency of supplementation and protein concentration in supplements on performance and digestion characteristics of beef cattle consuming low-quality forages. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2475-2486, 1994.
- CHURCH, D.C. **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Waveland Press, 1988. 563p.
- COOK, C.W.; THORNE, J.L.; BLAKE, J.T. et al. Use of an esophageal fistula cannula forage for collecting forage samples by grazing sheep. **Journal of Animal Science**, v.17, n.1, p.189-193, 1958.
- CUNNIFF, P. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995, v.1. 1141p.
- DRIEDGER, L.J.; LOERCH, S.C. Effects of protein and source on nutrient digestibility by mature steers limit-fed high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.77, p.960-966, 1999.
- 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**, v.36, n.3, p.483-495, 1985.
- ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid gás chromatography. **Journal of Dairy Science**, v.44, p.1768-1771, 1961.
- FREEMAN, A.S.; GALYEAN, M.L.; CATON, J.S. Effects of supplemental protein percentage and feeding level on intake, ruminal fermentation, and digesta passage in beef steers fed prairie hay. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1562-1572, 1992.
- HÉLÈNE, V.P.; FLIPOT, P.M. Feed utilization of beef steers fed grass as hay or silage with or without nitrogen supplementation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.876-884, 1992.
- HENNESSY, D.W.; WILLIAMSON, P.J. Feed intake and liveweight of cattle on subtropical native pasture hays. II.\* The effect of urea and maize flour, or protected-casein. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.41, p.1179-1185, 1990.
- HESS, B.W.; PARK, K.K.; KRYSL, L.J. et al. Supplemental protein for beef cattle grazing dormant intermediate wheat grass 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.
- HUNTINGTON, G.B.; ZETINA, E.J.; WHITT, J.M. et al. Effects of dietary concentrate level on nutrient absorption, liver metabolism, and urea kinetics of beef steers fed isonitrogenous and isoenergetic diets. **Journal of Animal Science**, v.74, p.908-916, 1996.
- KRYSL, L.J.; JUDKINS, M.B.; BOHMAN, V.R. Influence of ruminal or duodenal soybean oil infusion on intake, ruminal fermentation, site and extent of digestion, and microbial protein synthesis in beef heifers consuming grass hay. **Journal of Animal Science**, v.69, p.2585-2590, 1991.
- MANELLA, M.Q.; LOURENÇO, A.J.; LEME, P.R. Recria de bovinos Nelore em pastos de *Brachiaria brizantha* com suplementação proteica ou acesso a banco de proteína de *Leucaena leucocephala*. Características de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.4, p.1002-1012, 2003.
- MANTEROLA, H.B.; CERDA, D.A.; MIRA, J.J. Protein degradability of soybean meal coated with different lipid substances and its effects on ruminal parameters when included in steer rations. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, p.249-257, 2001.
- MERTENS, D.R.; ELY, L.O. A dynamic model of fiber digestion and passage in the ruminant for evaluating forage quality. **Journal of Animal Science**, v.49, n.4, p.1085-1095, 1979.
- MINSON, D.J. **Forage in ruminant nutrition**. San Diego: Academic Press, 1990. 483p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 1996, p.3-39.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 362p.
- OLDHAM, J.D. Protein-energy interrelationships in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.1090-1114, 1984.
- OLIVEIRA, L.O.F.; SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Consumo e digestibilidade de novilhos Nelore sob pastagem suplementados com misturas múltiplas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.1, p.61-68, 2004.
- OLSON, K.C.; COCHRAN, R.C.; JONES, T.J. et al. Effects of ruminal administration of degradable intake protein and starch on utilization of low quality warm season grass hay by beef steers. **Journal of Animal Science**, v.77, p.1016-1025, 1999.
- ORSKOV, E.R.; DEBHOVELL, F.D.; MOULD, F. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. **Producción Animal Tropical**, v.5, p.213-233, 1980.
- ORSKOV, E.R. **Protein nutrition in ruminants**. London: Academic Press, 1982. 155p.
- PAULINO M.F.; DETMAN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T. Suplementos múltiplos para recria e engorda de bovinos em pastejo. In: BITTENCOURT, A.; FERREIRA, C.C.B.; FIGUEIREDO, F.C. (Eds.). **Simpósio de produção de gado de corte**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. p.187-232.
- PORDOMINGO, A.J.; WALLACE, J.D.; FREEMAN, A.S. et al. Supplemental corn grain for steers grazing native rangeland during summer. **Journal of Animal Science**, v.69, p.1678-1687, 1991.
- RIHANI, N.; GARRET, W.N.; ZINN, R.A. Influence of level of urea and method of supplementation on characteristics of

- digestion of higher-fiber diets by sheep. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1656-1665, 1993.
- ROBERTSON, J.B.; VAN SOEST, P.J. The detergent system of analysis and its application to human foods. In: JAMES, W.P.T.; THEANDER, O. (Eds.). **The analysis of dietary fiber in food**. New York: Marcel Dekker, 1981. p.123-158.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.
- SALIBA, E.O.S. **Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e soja expostas a degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais**. 1998. 252f. Tese (Livre Docência) - Universidade Federal de Minas Gerais/Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 1998.
- SATTER, L.D.; ROFFLER E.D. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.1219-1224, 1975.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II Carbohydrate and proteins availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- SRINIVAS, B.; GUPTA, B.N. Rumen fermentation, bacterial and total volatile fatty acid (TVFA) production rates in cattle fed on urea-molasses-mineral block licks supplement. **Animal Feed Science Technology**, v.65, p.275-286, 1997.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS. **SAS® User guide: statistics**. 5.ed. Cary: SAS Institute Inc., 1985. 956p.
- THIVIERGE, M.C.; BERNIER, J.F.; LAPIERRE, H. Effects of supplemental protein and energy and feeding frequency on the performance of lactating dairy cows fed a protein-deficient diet. **Canadian Journal of Animal Science**, v.82, p.225-231, 2002.
- TOPPO, S.; VERMA. A.K.; DASS, R.S. et al. Nutrient utilization and rumen fermentation pattern in crossbred cattle fed different planes of nutrition supplemented with urea molasses mineral block. **Animal Feed Science Technology**, v.64, p.101-112, 1997.
- VALADARES FILHO, S.C. Nutrição e avaliação de alimentos e tabelas de composição de alimentos para bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: SBZ, 2000. p.267-337.
- VÁSQUEZ, E.F.A. **Suplementação com carboidratos não estruturais para novilhas mestiças holandês-zebu em pastagem de "Panicum maximum cv Mombaça"**. 2002. 113f. Tese (Docência-livre) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.
- VOLDEN, H. Effects of level of feeding and ruminally undegraded protein on ruminal bacterial protein synthesis, escape of dietary protein, intestinal amino acid profile, and performance of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.77, p.1905-1918, 1999.
- WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1999. p.176-185.