EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DA PROTEÍNA DO FARELO
DE ALGODÃO POR URÉIA SOBRE ALGUNS PARÂMETROS
FERMENTATIVOS EM LÍQUIDO RUMINAL DE
BUBALINOS EM CRESCIMENTO

CLAUDINEI PARRE
Engenheiro Agrônomo

Aprovado em: 12 de maio de 1989

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Antonio Carlos Silveira	- FMVZ/UNESP
Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos	- ESALQ/USP
Prof. Dr. Raul Machado Neto	- ESALQ/USP

Prof. Dr. Antonio Carlos Silveira
Orientador

P239e

Parre, Claudinei

Efeito da substituição da proteína do farelo de algodão por ureia sobre alguns parâmetros fermentativos em líquido ruminal de bubalinos em crescimento. Piracicaba, 1989. 75p.

Diss. (Mestre) - ESALQ

Bibliografia.

1. Bubalinos - Crescimento 2. Bubalinos-
Nutrição 3. Proteína do farelo de algodão
na nutrição animal 4. Rúmen - Parâmetros
fermentativos 5. Ureia na nutrição animal
I. Escola Superior de Agricultura Luiz de
Queiroz, Piracicaba

CDD 636.293

Aos meus pais Brasília Parré
e Arlete de Oliveira Parré por terem me dado a
vida, educação e amor.

OFEREÇO

À Maria Fernanda Martins, com meu profundo
carinho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Silveira pela orientação, incentivo e principalmente amizade.

Aos colegas , Luiz Roberto Furnan, Mario De Beni Arrigoni, Luiz Edivaldo Pezzato, Nabor Veiga, Otávia Elisa Nogueira Mendes Lavezzo e Paulo Roberto Curi pela colaboração.

Ao Dino Potiens Filho, Antonio Garcia Monteiro, José Luiz Barbosa de Souza, Eliane Rodrigues, Arlindo Braga, Celso Paulo Martin e Jaime Figueira, pela colaboração.

Ao Departamento de Produção e Exploração Animal e à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, pelas facilidades concedidas.

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

Àqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	vi
RESUMO.....	viii
SUMMARY.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Utilização da uréia pelos microrganismos ruminais.....	4
2.2. Influência da uréia em alguns parâmetros fermentativos do líquido ruminal.....	9
2.3. Tempo de amostragem.....	20
2.4. Métodos de coleta e animais utilizados.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5. CONCLUSÕES.....	61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

LISTAS DE FIGURAS

Figura	Página
1. Níveis médios de nitrogênio amoniacal em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	35
2. Níveis médios de nitrogênio amoniacal em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	36
3. Níveis médios de pH em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	40
4. Níveis médios de pH em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	41
5. Níveis médios de ácido graxos voláteis totais em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais...	44
6. Níveis médios de ácido graxos voláteis totais em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	45
7. Níveis médios de ácido acético em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	48
8. Níveis médios de ácido acético em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	49

9. Níveis médios de ácido propiônico em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	51
10. Níveis médios de ácido propiônico em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	52
11. Níveis médios de ácido butírico em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	54
12. Níveis médios de ácido butírico em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1. Composição centesimal das dietas experimentais fornecidas a cada lote.....	25
2. Valores médios da concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dl) no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.....	31
3. Resumo da análise de variância do perfil das médias de concentração de nitrogênio amoniacal, referentes à Tabela 2.....	31
4. Valores médios de pH no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.....	37
5. Resumo da análise de variância do perfil das médias de pH, referentes à Tabela 4.....	37
6. Valores médios da concentração de ácidos graxos voláteis totais (mMD) no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.....	43
7. Resumo da análise de variância do perfil da concentração de ácidos graxos voláteis totais (mMD) referentes à Tabela 6.....	43
8. Valores médios da concentração de ácido acético (mMD) no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.....	47

9. Resumo da análise de variância do perfil da concentração de ácido acético (mMD, referente à Tabela 8.....	47
10. Valores médios da concentração de ácido propiônico (mMD no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.....	50
11. Resumo da análise de variância do perfil da concentração de ácido propiônico (mMD referente à Tabela 10.....	50
12. Valores médios de concentração de ácido butírico (mMD no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.....	53
13. Resumo da análise de variância do perfil da concentração de ácido butírico (mMD, referentes à Tabela 12.....	53

EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DA PROTEÍNA DO FARELO
DE ALGODÃO POR URÉIA SOBRE ALGUNS PARÂMETROS
FERMENTATIVOS EM LÍQUIDO RUMINAL DE
BUBALINOS EM CRESCIMENTO

Autor: CLAUDINEI PARRÉ

Orientador: PROF. DR. ANTONIO CARLOS SILVEIRA

RESUMO

Com o objetivo de estudar o efeito da substituição parcial da proteína do farelo de algodão por uréia sobre os parâmetros fermentativos ruminais, 20 búfalos machos em crescimento, com 12 meses de idade e 218 ± 18 kg de peso vivo médio foram uniformemente distribuídos em dois tratamentos, que constaram de duas dietas distintas: Dieta A: a fonte de proteína era o farelo de algodão e Dieta B: o farelo de algodão foi parcialmente substituído pela uréia, ambas com níveis de 16,5% de PB e 68% de NDT. Após 28 dias de período de adaptação, o líquido ruminal foi amostrado por meio de sonda esofagiana, nos tempos 0, 1, 3 e 6 horas após a ingestão de alimentos. No líquido ruminal amostrado, foram mensurados os valores de pH, nitrogênio amoniacal (mg/dl, N-NH₃) e ácidos graxos voláteis (mM, AGV).

Os resultados mostraram valores de pH superiores ($P < 0,05$), em todos os tempos de amostragem para a dieta A (7,35; 7,14; 6,79 e 6,88) em relação à dieta B

(6,79; 6,61; 6,29 e 6,80). As concentrações mais elevadas de N-NH₃ foram registradas uma hora após a ingestão de alimentos para a dieta B (9,36; 34,23; 18,44 e 6,11 mg/dl) e entre 1 a 3 horas para a dieta A (14,61; 23,10; 18,17 e 9,13 mg/dl), indicando uma rápida degradação da uréia no rúmen.

Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) entre as concentrações de AGV no líquido ruminal, onde a dieta composta somente por farelo de algodão apresentou maiores teores de ácidos graxos voláteis totais, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico, nos tempos 0, 1, 3 e 6 horas após a ingestão de alimentos.

Ambas as dietas provavelmente possibilitaram condições adequadas para o desenvolvimento dos microrganismos ruminais. A dieta com farelo de algodão apresentou padrões de fermentação superiores em relação às concentrações de AGV, caracterizando uma atividade microbiana mais constante no rúmen.

EFFECT OF PARTIAL SUBSTITUTION OF COTTONSEED MEAL PROTEIN
BY UREA ON SOME FERMENTATION PARAMETERS IN
RUMINAL LIQUOR OF GROWING BUFFALOES

Author: CLAUDINEI PARRE

Adviser: PROF. DR. ANTONIO CARLOS SILVEIRA

SUMMARY

In order to study the effect of partial substitution of cottonseed meal protein by urea on some fermentation ruminal parameters, 20 male growing buffaloes, 12 months of age and 218 ± 18 kg of live weight, were provided with two diets: a) protein from cottonseed meal and b) protein from cottonseed meal was replaced by 1% of urea, both with 16,5% of crude protein and 68% of TDN. After an adaptation period of 28 days, the ruminal liquor was collected by esophagian tube at 0, 1, 3 and 6 hours after feeding. The following parameters were measured: pH, ammonia nitrogen concentration (mg/dl, $N-NH_3$) and volatile fatty acids levels (VFA, mM).

The results showed higher pH values ($P < .05$) at all sampling times for the diet with urea (7.35; 7.14; 6.79 and 6.68) compared to the diet with cottonseed meal (6.79; 6.61; 6.29 and 6.30). The peaks of $N-NH_3$ concentration occurred 1 hour after feed intake for the diet with urea

(9.36; 34.23; 18.44 and 6.11 mg/dl) and within 1-3 hours for the diet with cottonseed meal only (14.61; 23.10; 18.18 and 9.13 mg/dl), indicating a fast urea degradation in the rumen.

There were differences ($P < .05$) between the VFA concentration in the ruminal liquor, with the cottonseed diet showing higher levels of total VFA and acetic, propionic and butyric acids at 0, 1, 3 and 6 hours after feeding, when compared with the diet with urea.

Both diets probably provided suitable conditions for the ruminal microorganisms development. The diet with cottonseed meal only, showed higher fermentation patterns mainly those related to the VFA concentrations, indicating a normal microorganisms activity in the rumen.

1. INTRODUÇÃO

Recentes estudos publicados pela FAO mostraram que na maior parte dos países em desenvolvimento, o consumo de carne e leite vem aumentando a uma razão de 6 a 7% ao ano e se prevê que esta elevada taxa continuará até o ano 2000. Para tornar isto possível, a produção de alimentos de origem animal deverá aumentar rapidamente significando que, ao final do século, a produção animal combinada de carne, e leite e ovos deverá ser igual aproximadamente a 2,4 vezes a dos níveis atuais.

Afim de suprir esta impressionante demanda, torna-se necessário rever os sistemas de produção zootécnica, buscando-se maior produção por animal e maior produção por área.

Entretanto, para atingir tais objetivos haverá necessidade de avaliar os múltiplos recursos ainda disponíveis na natureza, que permitam a obtenção e

utilização de novas fontes de alimento para o rebanho, como é o caso da uréia.

Apesar de ter sido sintetizada pela primeira vez no século passado, a uréia começou a ser incluída em rações para animais apenas no final do mesmo, despertando maior interesse há aproximadamente 50 anos, quando os processos ligados à estreita simbiose entre ruminantes e os microrganismos do rúmem, passaram a ser melhor conhecidos. Os resultados dos estudos a respeito começaram a ser então utilizados para fins práticos de arraçamento, visando substituição parcial das proteínas naturais dos alimentos por nitrogênio não protéico, com vistas à maior economicidade da ração.

Na avaliação correta de uma dieta afim de promover um aumento na produtividade animal, além dos estudos de qualidade da dieta e desempenho animal, torna-se desejável a mensuração dos parâmetros de fermentação ruminal como nitrogênio amoniacal, pH e ácidos graxos voláteis.

Ao mesmo tempo, será necessário promover importantes alterações na composição dos rebanhos que formam a população de animais explorados economicamente pelo homem. Neste sentido, os bubalinos se enquadram perfeitamente por serem considerados como animais de grande futuro na produção de carne e leite e, de grande adaptabilidade aos mais variados sistemas produtivos.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar

os efeitos da substituição parcial do farelo de algodão, ingrediente tradicionalmente empregado na alimentação dos ruminantes, pela uréia nos parâmetros fermentativos do líquido ruminal de bubalinos em fase de crescimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Utilização da uréia pelos microrganismos ruminais

A uréia alimentar ao chegar no rúmen é imediatamente hidrolisada pela urease bacteriana em amônia, gás carbônico e água, que será posteriormente incorporada à proteína microbiana, envolvendo reações de desaminação e transaminação, com produção de aminoácidos e cetoácidos no líquido ruminal (VAN der HORST, 1961).

Segundo BURCHALL *et alii* (1964), a presença de cofatores como NAD e NADP, associados à enzima desidrogenase glutâmica nos microrganismos ruminais, seria a base da fixação da amônia.

Todavia, como a velocidade em que a uréia é degradada à amônia no rúmen é quatro vezes maior do que a capacidade de incorporação da mesma por parte dos microrganismos (BLOOMFIELD, 1960), a eficiência do processo

fica sob a influência de diversos fatores como a disponibilidade de carboidratos, proteínas, minerais e outros.

A qualidade e quantidade dos carboidratos, que compõem as rações, são muito importantes na incorporação da amônia, pois os mesmos fornecem energia e esqueleto carbônico aos microrganismos ruminais, determinando a velocidade de formação da proteína microbiana.

McLAREN *et alii* (1965) observaram que o fornecimento de 100 kcal de carboidratos facilmente fermentecíveis, corresponde a um incremento de 21% na retenção de nitrogênio e, segundo os mesmos autores, seria necessário 1 kg de carboidratos fermentecíveis para o aproveitamento de 100 g de uréia fornecida. Entretanto, os carboidratos diferem amplamente nesta função, sendo o amido o mais efetivo deles, enquanto que a celulose a menos eficiente de todos. O amido é o mais eficiente por ser desdobrado no rúmen com a mesma velocidade em que a uréia hidrolisa-se em amônia, permitindo assim a maior incorporação desta na proteína microbiana. Os açúcares e a celulose são inferiores ao amido como substrato, porque os primeiros desaparecem muito rapidamente, e a segunda é transformada muito lentamente, não garantindo um suplemento adequado de energia para a realização da síntese da proteína microbiana.

MOTT *et alii* (1967), utilizando três fontes de

energia como suplementação da uréia: celulose (pasto), melaço e milho, num período de 112 dias, constataram um ganho de peso de novilhas da ordem de -7,5; 23 e 27 kg respectivamente, demonstrando a maior eficiência do amido como substrato para o aproveitamento da uréia.

VAN SOEST (1982) observou que a quantidade de amônia que pode ser incorporada na proteína microbiana, depende da quantidade de energia fermentecível da ração. Desta forma, PIDGEN (1971) sugeriu que 1% de nitrogênio na dieta era suficiente para utilização de forragens contendo menos de 50% de energia digestível (ED), mas que 1,5% eram necessários para forragem apresentando maior concentração energética e que, 2,0% deveriam estar presentes em dietas ricas em amido.

Estas afirmativas foram confirmadas por JORDAM & SWANSSON (1979) que observaram maiores consumos, coeficientes de digestibilidade e produção leiteira, quando a uréia foi utilizada em dietas com silagem de milho, com o objetivo de elevar o teor de nitrogênio (N) de 1,5 para 2,0%. Portanto, e segundo HUBER (1984), cada ração possui um teto de digestibilidade relacionado diretamente com a concentração de energia digestível acima do qual a uréia adicionada não traz benefícios. Entretanto, fatores como: pH, nitrogênio disponível, velocidade de passagem e outros parâmetros ruminais poderiam afetar este teto de digestibilidade.

Assim como a digestibilidade dos carboidratos influi na síntese da proteína microbiana, SCOTT *et alii* (1976) constataram que o nitrogênio da uréia deve representar uma alta porcentagem do nitrogênio total do alimento, para melhorar o seu aproveitamento pelos microrganismos. Estes pesquisadores observaram que quando uma ração se mostra com teores de proteína bruta (PB) acima de 18%, os microrganismos deixam de aproveitar o nitrogênio solúvel da uréia. Outros pesquisadores como SATTER & SLYTER (1974) e ROFLER & SATTER (1975) chamam a atenção para as limitações na utilização da uréia quando a porcentagem de proteína da ração excede a 13%, uma vez que, provas "in vitro" evidenciam a incapacidade de bactérias em utilizarem amônia com eficiência quando as concentrações excederam 5 a 8 mg/100 ml e, portanto, sua utilização é mais recomendada como complementação aos alimentos de baixa qualidade.

Por outro lado, a presença de certa quantidade de proteína verdadeira, seja de origem animal ou vegetal, torna-se indispensável para a melhor utilização do nitrogênio não protéico (NNP). Isto porque BRYANT (1961) evidenciou que nem todas as bactérias ruminais podem se desenvolver somente às custas de amônia, necessitando para isto, de outras formas de nitrogênio, como peptídeos ou aminoácidos, provenientes da proteína verdadeira. O mesmo autor, em estudo de bactérias ruminais, observou que das 44 bactérias isoladas, 80% poderiam crescer com amônia como

fonte exclusiva de nitrogênio, 26% não cresciam quando a amônia não estava presente e 55% delas poderiam utilizar-se da amônia como do nitrogênio amínico.

Assim, ainda que se aceite que os microrganismos possam sintetizar aminoácidos a partir do NNP, McLAREN *et alii* (1965) observaram uma retenção de 15% a mais de nitrogênio, em rações a base de uréia, quando se adicionam à mesma metionina, triptofano ou ambos. OLTJEN (1969) constatou que a substituição completa da proteína por NNP, em dietas para ruminantes, pode reduzir até 35% o crescimento das bactérias e a retenção de nitrogênio, em virtude da baixa síntese de aminoácidos essenciais.

Também deve-se acrescentar que a adição de certos aminoácidos através das proteínas pré-formadas, em complementação à uréia na dieta de ruminantes, além de suprir as necessidades em aminoácidos das próprias bactérias, os aminoácidos leucina, isoleucina e valina quando desaminados, serão fonte de energia através de seus isoácidos correspondentes, para que os microrganismos celulolíticos possam digerir mais eficientemente a celulose (HUNGATE, 1966).

Assim como os nutrientes discutidos anteriormente, os minerais exercem marcada influência na utilização do NNP pelos microrganismos ruminais. Desta forma JONES *et alii* (1964) observaram que a atividade ureolítica é positivamente influenciada pela presença dos minerais

manganês, magnésio, cálcio, estrôncio e bário e, negativamente, pelo sódio, potássio, cobalto, cobre, ferro e zinco. HUNGATE (1966) ressalta que dentre os elementos minerais, o fósforo, enxofre, magnésio e manganês são requeridos em maiores quantidades que os usuais para uma ótima utilização da uréia. Especificamente, o enxofre tem sua importância relacionada à formação dos aminoácidos sulfurados (metionina e cistina) que são limitantes na síntese de proteínas microbianas. Para tanto, recomenda-se uma relação de nitrogênio:enxofre (N:S) da ordem de 10 a 15:1, em dietas contendo nitrogênio não protéico.

2.2. Influência da uréia em alguns parâmetros fermentativos do líquido ruminal

As características anatômicas do aparelho digestivo dos ruminantes, com seus compartimentos destinados ao armazenamento temporário dos alimentos, permite, graças aos mecanismos fisiológicos de manutenção de temperatura, osmolaridade e anaerobiose, a existência de uma população microbiana que desenvolve intenso processo fermentativo, o qual se denomina fermentação pré-gástrica. Tal processo apresenta a característica de continuidade, uma vez que ocorre a entrada constante de substrato com remoção dos produtos de fermentação através de eructação ou pela absorção na parede ruminal. Além disto, no processo de

ruminação, uma grande quantidade de saliva é adicionada com seus constituintes minerais, que conferem uma ação tamponante bastante eficaz, a qual confere estabilidade ao pH permitindo a sobrevivência dos microrganismos.

Deste modo, os alimentos ingeridos se submetem a uma profunda transformação no rúmen, realizada pelos microrganismos que beneficiam o hospedeiro através de compostos de alta energia e proteínas de alto valor biológico, mesmo quando se utiliza como substrato alimentos grosseiros ricos em fibra e nitrogênio não protéico (Mc NAUGHT *et alii*, 1954).

Entretanto, esta condição de equilíbrio existente no rúmen é extremamente influenciada pela dieta, que proporciona alterações notadamente nos parâmetros pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis, como indicam os trabalhos de BALCH & ROWLAND (1957); BATH & ROOK (1963, 1965); ROFFER & SATTER (1975) e LAVEZZO (1986).

É sobejamente conhecido que a ração ideal para a máxima utilização do nitrogênio deveria conter proteína de elevada digestibilidade e de baixa solubilidade no rúmen, uma vez que elevados teores de amônia são indicativos de baixa utilização de nitrogênio pelo ruminante.

Assim, SATTER & SLYTER (1974) determinaram com culturas microbianas "in vitro", que a síntese de proteína microbiana se estabiliza quando a concentração de nitrogênio amoniacal ultrapassa a 5 mg/100 ml de líquido

ruminal. Posteriormente, ROFFLER & SATTER (1975) efetuaram 35 ensaios experimentais com animais, utilizando sonda esofágica e, variando o nível protéico com fontes exclusivas de proteínas naturais, também concluíram que o máximo crescimento microbiano ocorre quando a concentração de nitrogênio amoniacal atinge 5 mg/100 ml de líquido ruminal, o que equivaleria a uma ração com 13% de proteína bruta. Baseados nestes experimentos, os autores concluíram que a prática de elevar o nível protéico acima de 12 a 13% de proteína bruta com a adição de nitrogênio não protéico, além de não trazer benefícios ao crescimento bacteriano, não acarreta vantagens no binômio custo/benefício.

Entretanto, trabalhos de MEHZES *et alii* (1977) e EDWARDS & BARTLEY (1979) sugerem que sob certas condições o nível de 5 mg de nitrogênio amoniacal para cada 100 ml de líquido ruminal pode ser muito baixo para o máximo crescimento microbiano.

Tal fato pode ser confirmado por KANG-MEZNARICH & BRODERICK (1980), que determinando o volume fisiológico do rúmen, a velocidade de passagem e o crescimento microbiano através dos marcadores ^{35}S e ácido diaminopimélico (DAP), observaram que o máximo crescimento microbiano ocorre quando a concentração de nitrogênio amoniacal se encontra na faixa de 3,3 a 8,5 mg/100 ml de líquido ruminal. Os mesmos autores concluíram também que, a eficiência da produção da proteína microbiana diminui à

medida que as taxas de nitrogênio amoniacal se tornaram excessivamente altas.

Não obstante as considerações supra mencionadas, deve-se salientar que o aproveitamento do nitrogênio amoniacal está diretamente relacionado à disponibilidade de energia da dieta. Assim, segundo PIDGEN (1971), forragens com menos de 50% de NDT tem potencial energético para aproveitamento de até 1% do nitrogênio da dieta, enquanto que, aquelas com mais de 50% aproveitariam até 1,5%. E, somente dietas ricas em amido possibilitariam a utilização de níveis de 2% de nitrogênio.

Os ácidos graxos voláteis são a principal fonte de energia para os ruminantes, sendo produzidos no rúmen, a partir da fermentação dos carboidratos, em especial da celulose, através de enzimas produzidas pelos microrganismos ruminais. Os carboidratos que se degradarem no rúmen irão produzir os ácidos graxos voláteis e gases. Os ácidos graxos voláteis, além de fornecerem energia ao animal, também estimulam o crescimento das papilas ruminais, sendo também, em parte, utilizados pelos próprios microrganismos para a síntese de seus polissacarídeos celulares (PONTES, 1981).

Tanto a concentração dos ácidos graxos voláteis do rúmen, quanto a proporção entre os mesmos, estão sujeitos a inúmeras variações.

Desta forma, a quantidade da dieta, o tamanho

da partícula e o consumo alimentar são importantes fatores que afetam a fermentação no rúmen (ORSKOV *et alii*, 1968). Assim, MURDOCK & HODEISON (1979) verificaram que a medida que diminuía o tamanho das partículas de feno ou se adicionava silagem de milho ao mesmo, ocorria uma diminuição na proporção entre os ácidos acético e propiônico (C_2/C_3) da ordem de 3,83 para o feno em rama; 3,68 para o feno moído + 10% de silagem de milho e 2,83 para feno moído + 20% de silagem de milho.

PONTES (1981) afirmou ser reconhecida a tendência de um aumento na concentração de ácido acético e diminuição na concentração dos ácidos propiônico e butírico à medida que se aumentava o teor de fibra da ração. Para volumosos (forragens) a relação ácido acético/propiônico é normalmente maior que 3,0. McDONALD *et alii* (1975) observaram que os concentrados modificam a fisiologia ruminal, em especial, quando presentes em alta quantidade e com mudanças bruscas na dieta. Desta forma, aumentando-se os carboidratos solúveis da ração, as proporções dos ácidos graxos voláteis são alteradas, aumentando o ácido propiônico e diminuindo o ácido acético, acarretando uma diminuição do pH a valores abaixo de 6,0, devido, em parte, à menor ensalivação proporcionada pelo menor tempo de ruminação.

RUNSEY *et alii* (1970) comparando dietas de volumoso e concentrado, observaram que à medida que elevava-se o consumo de matéria seca de 0,5 para 2,0% do

peso vivo, correspondia a um aumento nos ácidos graxos voláteis totais, diminuição da relação acético/propiónico e do pH. Estes autores observaram nas dietas de volumoso e de concentrado, oscilações do índice pH de 6,9 para 6,5 e de 6,2 para 5,7, respectivamente; e um aumento de 115,9 a 183,6 mM/litro, para a concentração de ácidos graxos voláteis, bem como uma redução da relação acético/propiónico de 5,1 a 4,4 e de 2,3 a 1,2. Semelhante tendência foi obtida por SINGH & GUPTA (1986), trabalhando com diferentes níveis de nitrogênio protéico em dieta para bubalinos.

Com relação ao ácido acético, KOLB (1984) afirmou existir uma relação linear entre a proporção molar deste ácido graxo volátil com o teor de fibra da ração, quando este valor foi superior a 15%. MACHADO (1983) observou uma maior proporção molar de ácido acético com ração contendo farelo de algodão em relação à dieta com levedura, em razão do maior teor de fibra da primeira.

Segundo PONTES (1981), o pH normal no rúmen é de 6,0 a 6,5, mantendo-se estável pela composição e frequência do alimento fornecido. O pH ótimo para digestão da celulose é 6,5, enquanto que, para a digestão do amido é abaixo de 6,0. ANNISAN, & LEWIS (1966) relataram que com a diminuição da taxa de fibra da ração e, portanto, com o aumento dos carboidratos solúveis, altera-se a proporção dos ácidos graxos voláteis. Ocorre diminuição na concentração do ácido acético e aumento na concentração do ácido propiónico

e, modificações irregulares na concentração do ácido butírico. A isto, acompanha-se uma diminuição na ensalivação, conseqüentemente na atividade tamponante e, como resultado desta cadeia de fatores, o pH cai a níveis próximos de 5,0. Nestas condições, o pH torna-se muito instável provocando a morte das colônias de microrganismos, sobretudo de protozoários ciliados.

A influência do pH nos parâmetros ruminais foi determinada por ERFLE *et alii* (1982), trabalhando com rúmen artificial. Estes autores observaram que uma diminuição do pH de 7,0 para 5,0, acarretou um decréscimo na concentração de ácidos graxos voláteis de 80 para 50 mM/dia, com diminuição na taxa de produção de ácido propiônico e diminuição de ácido butírico. A relação acético/propiônico de 4,3 em pH 7,0, passou para 0,9 em pH 5,0. Finalmente, o N-NH₃ variou de 4 a 6 mM em pH 6,0 e 7,0 e 0,2 mM em pH 5,0 e 5,5.

As principais bactérias produtoras de ácido propiônico fazem sua síntese através do lactato e requerem um pH ótimo de 6,0 segundo ANNISON & LEWIS (1966) e BALCH & ROWLAN (1957). Entretanto, SATTER *et alii* (1974), estudando "in vitro" a degradação da celulose e hemicelulose, observaram que houve produção de ácido propiônico pela via do succinato.

BATH & ROOK (1963) observaram, por outro lado, que o tipo e a quantidade da proteína podem afetar a

concentração dos ácidos graxos voláteis, aumentando a proporção de ácido butírico. Além disso, segundo os mesmos autores, a utilização de sacarose como fonte de carboidrato prontamente disponível produz aumentos similares nos ácidos propiônico e butírico.

O aumento de ácido butírico no líquido ruminal pode ser atribuído a uma maior proporção do ácido acético, pois, trabalhos experimentais mostram que 40 a 80% do ácido butírico formado no rúmen é consequência da atuação de microrganismos que transformam dois moles de ácido acético em um mol de ácido butírico (CHURCH, 1979).

GRIFFITHS & BATH (1973) relataram que em dietas com predominância de volumosos, mesmo que se adicione suplementos protéicos de origem vegetal ou sob a forma de NNP, não acarretam abaixamento do pH para valores menores do que 6,0, concluindo que as dietas com predominância de forragens devem apresentar pH próximo da neutralidade.

A frequência alimentar também exerce pequena influência no pH. BATH & ROOK (1963) observaram que aumentando-se o número de refeições de uma para quatro vezes ao dia, a variação no pH foi de 6,52 a 6,33. Da mesma forma, PUTNAN *et alii* (1966) observaram pequenas alterações no índice pH à medida que se elevava o consumo alimentar de 0,8 a 1,4% para 2,0 e 2,6% do peso vivo.

SATTER & BAUNGARDT (1962) verificaram uma maior flutuação nas taxas de ácidos graxos voláteis totais,

N-NH₃ e pH, quando aumentaram a frequência de alimentação de duas para oito vezes ao dia.

Além dos carboidratos, as proteínas e aminoácidos também se constituem em fontes de ácidos graxos voláteis, notadamente os de cadeia ramificada, como o são o isobutírico, 2-metil-butírico, isovalérico e isocapróico; os quais têm seus níveis aumentados a partir do ataque microbiano de proteínas no rúmen (EL SHAZLY, 1952).

HUNGATE (1966) observou que o aminoácido prolina pode ser reduzido a ácido n-valérico, considerado um dos fatores de crescimento para algumas colonias de bactérias celulolíticas, importante fator para animais alimentados com dietas a base de volumosos.

A digestibilidade da proteína no líquido ruminal é diretamente proporcional a sua solubilidade. Assim sendo, as proteínas de origem vegetal, por liberarem a amônia mais lentamente, além de produzirem os isoácidos que são utilizados como fonte de energia para os microrganismos, parecem ser mais eficientemente utilizadas para a síntese de proteína microbiana do que as fontes de nitrogênio não protéico de rápida degradabilidade.

Isto pode ser comprovado pelos trabalhos de AHRAR & SCHINGOETHE (1979), que observaram baixas taxas de uréia no plasma de ruminantes alimentados com proteínas de baixa solubilidade, concluindo que a amônia liberada no rúmen foi utilizada mais eficientemente.

Por outro lado, a degradação da uréia no rúmen, por ser muito intensa, favorece uma elevação do pH pela liberação da amônia. AZIZ & MIR (1986), trabalhando com bubalinos, determinaram elevações nas taxas de N-NH₃ (19,8 para 24,12 mM/l) e no índice pH (6,9 para 7,0) quando a fonte protéica era a uréia. Este fato aumenta a permeabilidade do epitélio ruminal e, conseqüentemente a passagem da amônia para a corrente circulatória, principalmente quando o pH ruminal estiver acima de 7,5 (BLOOMFIELD, 1963). Todavia esta absorção é muito lenta quando o pH estiver abaixo de 6,7 (SMITH, 1975). O desaparecimento da amônia em pH inferior a 7,0 deve ser considerado como reflexo de sua utilização pelos microrganismos ruminais (NOLAN *et alii*, 1973).

KAPOOR *et alii* (1987), comparando a produção de ácidos graxos voláteis no rúmen de bubalinos alimentados com uma dieta basal e suplementadas com melaço-uréia, observaram nesta última uma redução significativa na produção de ácidos graxos voláteis totais, que foi atribuída à qualidade da proteína; bem como um aumento significativo na produção de ácido propiônico e redução na produção de ácido acético, em virtude da maior disponibilidade da açúcares fermentecíveis pela adição do melaço.

MAHADEVAN *et alii* (1982), comparando uma dieta padrão (concentrado + feno de alfafa) com outra a base de silagem de milho com uréia, ambas com aproximadamente 16% de

PB, observaram que na dieta contendo uréia ocorreram as maiores taxas de produção e utilização do $N-NH_3$, evidenciadas pela maior taxa de desaparecimento de amônia, a qual foi coincidente com os períodos de maior produção de ácidos graxos voláteis, indicando uma maior utilização de amônia pelas bactérias. Os mesmos autores observaram uma alta correlação negativa entre concentração de ácidos graxos voláteis e pH, da ordem de $r = -0,86$ a $-0,94$.

PANT & ROY (1970) comparando alguns parâmetros do líquido ruminal de bubalinos e zebuínos, coletados mediante sonda esofagiana em diferentes horários após a alimentação, observaram um decréscimo do nitrogênio solúvel e $N-NH_3$, após duas horas, em ambas as espécies, embora estes valores tenham sido superiores nos bubalinos. STEWART *et alii* (1958) estudando dietas de feno de alfafa com ou sem suplementação de uréia concluíram que as taxas de produção de ácidos graxos voláteis eram máximas dentro das duas primeiras horas após a alimentação e que após cada alimentação ocorreram quedas no pH e, a uréia não estimulou marcadamente a produção de ácidos graxos voláteis.

FREITAG *et alii* (1968), estudando dietas com alto e baixo níveis de proteína (11 e 7%) e utilizando como fonte protéica farelo de soja ou uréia observaram, através da coleta do líquido ruminal com sonda esofágica, a inexistência de diferenças significativas para os parâmetros ácidos graxos voláteis totais, ácido propiônico, ácido

acético e butírico, entre níveis protéicos e fontes de proteínas.

PANDE & SHUKLA (1981), trabalhando com três dietas e dois níveis de proteína sendo uma delas com 20% de substituição da proteína por uréia, observaram em amostras do líquido ruminal de búfalos colhidas através de sonda esofágica, que o índice pH e o N-NH₃ foram estatisticamente superiores para o tratamento contendo uréia, enquanto que, os ácidos graxos totais apresentaram um comportamento inverso.

2.3. Tempos de amostragem

Em recente revisão sobre as curvas de AGV, N-NH₃ e índice pH, LAVEZZO (1986) relatou oscilações cíclicas nestes parâmetros, com a ocorrência de picos até 8 horas após a ingestão de alimentos, confirmando assim as observações de McDONALD (1952); SCHAADT & JOHNSON (1969); MAHADEVAN *et alii* (1982) e LANGAR *et alii* (1984).

Assim, com relação aos ácidos graxos voláteis, LAVEZZO (1986) observou que 1 a 2 horas após a ingestão do alimento ocorria o pico máximo de produção dos mesmos. Por outro lado, dietas ricas em volumosos, em virtude de uma degradação mais lenta, podem apresentar um pico de produção dos AGVs mais tardiamente (HUNGATE, 1966). Em dietas suplementadas com uréia, PANDE & SHUKLA (1981) relataram um

pico de produção dos AGVs 3 horas após a alimentação.

A elevação da concentração de amônia também ocorre logo após a ingestão dos alimentos, alcançando um máximo de 2 a 4 horas (LAVEZZO, 1986). Estes resultados estão um pouco acima dos observados por PANDE & SHUKLA (1981) e KOLB (1984), que constataram a máxima produção 1 a 2 horas após a alimentação. Deve-se ressaltar entretanto, que os picos de máxima produção de $N-NH_3$ estão relacionados com a solubilidade da fonte nitrogenada, sendo mais rápida para as fontes de nitrogênio não protéico e mais lentas para as fontes de proteínas verdadeiras (BUCHANAM-SMITH & YAO, 1978 e PANDE & SHUKLA, 1981).

Em relação ao índice pH, ocorrem valores mais baixos usualmente 1 a 2 horas após a ingestão do alimento (LAVEZZO, 1986) ou 2 a 4 horas segundo BALCH & ROWLAND (1957) e PANDE & SHUKLA (1981), conforme a qualidade e quantidade da ração.

A variação no índice pH está relacionada às mudanças nas concentrações de AGVs, bem como pela quantidade de saliva produzida, ou seja, pela taxa de diluição ruminal (SINGH & SUD, 1981).

2.4. Métodos de coleta e animais utilizados

Na obtenção de amostras do líquido ruminal visando o estudo dos parâmetros ruminiais, dois métodos têm

sido preconizados, ou seja, via fístula ruminal ou via sonda esofágica. Ambos os métodos de coleta apresentam vantagens e desvantagens. Assim sendo, o método de coleta por sonda esofágica tende a ser um tanto insatisfatório para determinar a magnitude dos parâmetros de fermentação mensurados, conforme demonstrou LAVEZZO (1986), que observou valores maiores no pH, e menores para N-NH₃ e AGV totais, quando da coleta de amostras por este método.

Entretanto, a sonda esofágica tem sido largamente utilizada para a retirada do líquido ruminal em animais intactos, com resultados satisfatórios como concluiu RHODES (1961), que detectou maior sensibilidade na coleta via sonda, quando mensurou a relação ácido acético/propiónico em animais submetidos a diferentes dietas. Analisando o mesmo parâmetro, RAUN & BURROUGHS (1962) observaram bastante sensibilidade neste método e concluíram que os valores do pH e AGVs obtidos eram muito semelhantes, não induzindo a erros nas mensurações quando compararam os dois métodos de coleta.

Além disto, o método de coleta via sonda tem sido bastante recomendado para se ter uma indicação de como se comportam as dietas com respeito ao padrão de fermentação ruminal, como demonstraram os trabalhos de RAUN *et alii* (1962); FREITAG *et alii* (1968); RUNSEY *et alii* (1970) e PANDE & SHUKLA (1981).

Existem na literatura variações no tocante aos

dados referentes aos parâmetros de fermentação ruminal entre animais, devido às diferenças anatomo-fisiológicas, mesmo fornecendo-se uma mesma dieta (GRIFFITHS & BATH, 1973). Neste sentido, PATHAK *et alii* (1973), comparando alguns parâmetros ruminais como pH, AGVs totais, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e N-NH₃ para dietas contendo melaço-uréia, não observaram diferenças estatisticamente significativas entre bubalinos e zebuínos. Por outro lado, LANGAR *et alii* (1984) observaram diferenças significativas entre bubalinos e zebuínos para parâmetros fermentativos como AGV totais e N-NH₃, concluindo que os búfalos são mais eficientes na utilização da uréia.

ICHHPONANI & SIDHU (1965) mostraram que as concentrações de AGVs no rúmen de búfalos eram significativamente maiores do que de zebuínos, quando submetidos à mesma dieta. Aos mesmos resultados chegaram ICHHPONANI *et alii* (1968). PANT & ROY (1969), investigando a flora e fauna ruminal de bubalinos e zebuínos, observaram marcadas diferenças quanto à concentração de bactérias, mas não quanto a de protozoários ciliados.

COCKRILL (1974) afirmou que existem variações anatômicas, fisiológicas e histológicas, bem como na população microbiana do rúmen entre bubalinos e bovinos, as quais seriam responsáveis pela maior eficiência no aproveitamento das frações fibrosas das dietas pelos búfalos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho experimental foi conduzido junto ao Núcleo de Bubalinos mantido pelo Convênio FINEP-UNESP-FMVZ da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção, Estação Experimental Lageado, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu.

Foram utilizados 20 búfalos machos em fase de crescimento, com idade média de 12 meses e peso vivo médio de 218 ± 18 kg. Os animais foram divididos em dois lotes de 10 animais cada, de maneira a torná-los o mais uniforme possível quanto ao peso médio e ao aspecto geral dos mesmos, em relação à altura, comprimento e cobertura muscular. Ambos os lotes foram submetidos a um período preliminar de 28 dias de arraçãoamento para a adaptação às respectivas dietas.

As dietas experimentais foram fornecidas uma vez por dia, pela manhã, com sua composição constituída em volumoso à base de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.,

2-13-248) colhida e picada diariamente e um concentrado à base de rolão de milho (*Zea mays*, L., 1-28-233) ao qual era adicionado farelo de algodão (5-01-625) e uréia (5-05-070), com a substituição de 15% da proteína da dieta por uréia, conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Composição centesimal das dietas experimentais fornecidas a cada lote.

Alimentos	Dietas (%)	
	A	B
Rolão de Milho	60	70
Farelo de Algodão	40	29
Uréia	-	1
Cana de açúcar	ad libitum	ad libitum

A = ração em que a principal fonte protéica era o farelo de algodão

B = ração em que a fonte protéica foi parcialmente substituída por uréia

Através da análise bromatológica das rações, realizada no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, revelou-se teores de 16,4 e 16,7% de proteína bruta para as rações A e B, respectivamente. Os nutrientes digestíveis totais (NDTD) calculados de acordo com as tabelas de composição do NRC (1984) indicou valores de 68 e 67% para as mesmas.

Todos os animais tinham acesso à água e sal mineralizado "ad libitum".

Nos períodos de coleta, na quantidade de uma coleta/animal/dia em cada tempo de amostragem, as rações eram fornecidas na quantidade de 3 kg/cabeça/dia, misturadas à cana-de-açúcar numa quantidade tal que os animais a ingerissem em um tempo médio de 30 minutos.

As coletas de líquido ruminal foram feitas em cada animal individualmente, através de sonda esofagiana, nos tempos 0, 1, 3 e 6 horas após a alimentação.

A amostragem do líquido ruminal via sonda esofagiana seguiu a técnica descrita por HOFIREK (1970), que constava de um tubo de borracha flexível de 0,8 cm de diâmetro interno, o qual era introduzido no rúmen através do esôfago, tendo como guia um tubo flexível formado por espirais de aço inoxidável de aproximadamente 1,70 m de comprimento. No momento da extração do líquido ruminal, utilizou-se um vácuo de aproximadamente $1,05 \text{ kgf/cm}^2$. O líquido tinha a sua primeira porção descartada, sendo o restante colocado em recipiente de plástico e encaminhado para as determinações de nitrogênio amoniacal (N-NH_3), pH e ácidos graxos voláteis (AGV).

As mensurações de pH foram feitas imediatamente após a coleta das amostras de líquido ruminal, em becker de vidro, através de um potenciômetro marca Micronal B-221, devidamente calibrado.

Para a mensuração das concentrações de N-NH_3 no líquido ruminal, as amostras eram filtradas através de

pano de queijo. Do filtrado, tomava-se uma alíquota de 6 ml a qual era transferida para outro frasco contendo 3 ml de H_2SO_4 1 N, fechado, e mantido sob congelamento à -15°C . Para a determinação analítica a amostra era descongelada e após agitação, retirava-se 3 ml da mistura líquido ruminal + H_2SO_4 1 N, que era transferida para um tubo de ensaio ao qual era adicionado 1 ml de tungstato de sódio 10%, seguindo-se então a marcha analítica indicada por KULASEK (1972) e adaptada por FOLDAGER (1977). As determinações foram feitas em triplicata, utilizando-se de brancos e comparadas com a curva padrão, obtida através do uso de uma solução de sulfato de amônia, na diluição de 1 mg/ml. As leituras de absorbância foram feitas a 640 nm, em espectrofotômetro marca Spectronic 20.

Para as mensurações de ácidos graxos voláteis (AGV) no líquido ruminal, após as amostras coletadas serem filtradas, eram retirados do filtrado 3 ml os quais eram transferidos para frascos com tampa, contendo 3 ml de ácido metafosfórico 6%. Estes recipientes eram então mantidos sob refrigeração em 4°C até a centrifugação a 3000 rpm por 15 minutos. Os AGV foram determinados segundo a técnica descrita por ERWIN *et alii* (1961), através de aparelho de cromatografia gasosa de Marca CG, modelo 370, equipado com coluna Chromosorb 101, pela comparação dos gráficos obtidos para as amostras com os obtidos para uma solução padrão, descrita pelo método acima citado.

Para a análise estatística dos dois tratamentos compreendidos por um conjunto de 10 animais cada e avaliados em quatro tempos ($t_1 = 0$, $t_2 = 1$, $t_3 = 3$ e $t_4 = 6$ horas) após a ingestão, utilizou-se a Análise de Perfil (MORRISON, 1967). Este método estatístico leva em consideração a estrutura de dependência das medidas efetuadas ao longo do tempo, no mesmo conjunto de animais. Em todas as hipóteses testadas, as estatísticas calculadas (F ou t) foram ditas significativas quanto $P < 0,05$, onde P é o nível de significância associado à estatística calculada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas tabelas apresentadas neste capítulo, os dados se referem aos valores médios dos resultados obtidos para as diferentes variáveis estudadas. São apresentadas também informações relativas à análise estatística, caracterizando os efeitos significativos ($P < 0,05$) obtidos através da análise de variância e dos testes de comparação de médias (Teste "t") entre os grupos independentes.

Na Tabela 2 são apresentados os valores médios da concentração de $N-NH_3$ (mg/dl) no líquido ruminal de bubalinos, arraçoados com duas dietas experimentais e com amostragens realizadas às 0, 1, 3 e 6 horas após a alimentação, cujos valores estão ilustrados nas Figuras 1 e 2. Na Tabela 3 encontra-se a análise de variância referente a Tabela 2.

Os dados médios de concentração de $N-NH_3$ observados na Tabela 2, mostram que existiu uma interação

significativa ($P < 0,01$) entre os tratamentos e os tempos experimentais, indicando que os perfis dos dois grupos de animais não são similares, demonstrando a ocorrência de diferentes taxas de produção e/ou absorção de $N-NH_3$ no rúmen entre as duas dietas utilizadas. Assim, as concentrações de amônia são bastante variáveis em ambas as dietas e nos diferentes tempos de coleta, sendo que estes fatores refletem as diferenças existentes entre as dietas no tocante a solubilidade, taxa de hidrólise, bem como a presença de carboidratos fermentecíveis e outras.

A Tabela 2 indica ainda que houve uma semelhança entre as rações com relação à produção média de $N-NH_3$, com os valores de 17,03 mg/dl para a dieta com farelo de algodão e 16,25 mg/dl para a dieta com uréia. Estes resultados indicam que ambas as dietas experimentais forneceram igualmente $N-NH_3$ para o desenvolvimento bacteriano (ANNISON & LEWIS, 1966), no período estudado.

Desta forma, pode-se observar que, independentemente das fontes protéicas utilizadas, as concentrações médias de $N-NH_3$ no líquido ruminal tendem a ser semelhantes quando se utilizam dietas isoprotéicas, como observaram PANDE & SHUKLA (1981) trabalhando com proteína verdadeira e uréia, obtendo valores de 25,04 e 27,71 mg%, respectivamente e por LAVEZZO (1986) que observou valores de 10,25 e 10,28 mg/dl, respectivamente para as dietas com levedura alcoólica e farelo de algodão.

Tabela 2. Valores médios da concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dl) no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.

Dietas	nº de Anim.	Tempos de Amostragem (horas)			Média
		0	1	3	
Uréia	10	9,36±1,02 ^{aB}	34,23±6,65 ^{aD}	18,44±4,32 ^{aC}	6,11±2,23 ^{aA} 17,03 NS
Farelo de Algodão	10	14,61±2,59 ^{bB}	23,10±4,93 ^{bC}	18,17±3,33 ^{aC}	9,13±3,93 ^{bB} 16,25 NS
Média		11,99	28,66	18,30	7,62

Letra minúscula = comparação de médias nas colunas

Letra maiúscula = comparação de médias nas linhas

Letras diferentes = indicam que as médias diferem entre si (P<0,05)

Tabela 3. Resumo da análise de variância do perfil das médias de concentração de nitrogênio amoniacal, referentes à Tabela 2.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Tratamentos (T)	1	12,3242
Tempos (t)	3	1668,3800**
Interação (T x t)	3	264,0670**
Indivíduo dentro T	18	33,2357
Resíduo	54	10,0552
Total	79	

No presente trabalho, as concentrações médias de 17,03 e 16,25 mg/dl obtidas com dietas contendo em média 16,5 de PB e 68% NDT, estão bastante próximas às apresentadas por SATTER & ROFFLER (1976), que estimaram a concentração média de amônia a partir dos níveis de proteína e energia da ração.

Os valores médios da concentração de N-NH₃ no presente trabalho foram de 11,99; 28,66; 18,30 e 7,62 (mg/dl) respectivamente, para os tempos 0, 1, 3 e 6 horas após a alimentação, independente da fonte de nitrogênio, observando-se que as maiores médias de produção de N-NH₃ ocorreram 1 hora após a ingestão do alimento.

No tocante à dieta contendo uréia, que apresentou os valores de 9,36; 34,23; 18,44 e 6,11 mg/dl nos tempos 0, 1, 3 e 6 respectivamente, detectou-se diferenças estatisticamente significativas entre estes valores ($P < 0,05$), com maior produção de N-NH₃ 1 hora após a alimentação. Da mesma forma, os valores de N-NH₃ para a dieta contendo farelo de algodão foram de 14,61; 23,10; 18,17 e 9,13 mg/dl respectivamente para os tempos 0, 1, 3 e 6 horas, cuja análise de variância detectou diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) entre os mesmos, com exceção entre os valores referentes aos tempos 1 e 3 horas após a alimentação, onde ocorreram os valores mais elevados de produção.

Estes comportamentos encontram suporte na

literatura, uma vez que PANDE & SHUKLA (1981), amostrando via sonda esofágica o líquido ruminal de bubalinos arraçoados com dietas com ou sem uréia, obtiveram picos de concentração de $N-NH_3$ em 1 a 2 horas após o fornecimento das dietas, respectivamente. Estes dados também estão sustentados na afirmação de BUCHANAM-SMITH & YAO (1978), os quais relacionaram a concentração de $N-NH_3$ à solubilidade da fonte de nitrogênio, afirmando serem as proteínas verdadeiras de mais lenta degradação e as fontes de NNP de mais rápida.

No tempo $t = 0$ hora, observou-se as médias de 9,36 e 14,61 mg/dl para as dietas com uréia e farelo de algodão, respectivamente. Esta diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) deve-se à baixa degradabilidade de proteína verdadeira no rúmen, fornecendo substrato nitrogenado residual aos microrganismos ruminais, antes mesmo do período de alimentação.

No presente trabalho, a não existência de diferenças estatísticas ($P < 0,05$) entre os tempos 1 e 3 horas de amostragem, para a dieta formulada com farelo de algodão, indica que o pico de concentração de $N-NH_3$ ocorreu entre 1 e 3 horas, como ficou consubstanciado por LAVEZZO (1986), que também trabalhando com farelo de algodão, encontrou o pico de produção de $N-NH_3$ de 2 a 4 horas após a ingestão.

As Figuras 1 e 2 mostram o comportamento das

concentrações de N-NH₃ nos diferentes tempos, onde os valores mais elevados foram registrados entre 1 e 3 horas. Mostra ainda que as concentrações de N-NH₃ em ambas as dietas apresentaram valores altos, acima do nível de 5 mg/dl, defendido por SATTER & SLYTER (1974) e ROFFLER & SATTER (1975), como sendo o ideal para o máximo crescimento bacteriano. Isto indica que os microrganismos ruminais foram supridos com quantidades de N-NH₃ acima da necessária, no período estudado. Entretanto, se considerarmos o nível de 8,5 mg/dl, preconizado como ótimo por KANG-MEZNARICH & BRODERICK (1981), poderíamos observar que no presente trabalho, 6 horas após a alimentação, a dieta suplementada com uréia estaria com uma concentração de N-NH₃ inferior, ao passo que a dieta com farelo de algodão ainda estaria ligeiramente superior. E ainda, relativamente inferior aos dados obtidos por MEHREZ *et alii* (1977), que indicam 23,5 mg/dl de líquido ruminal como sendo a concentração mínima de N-NH₃, para a máxima taxa de fermentação.

Figura 1. Níveis médios de nitrogênio amoniacal em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais

Figura 2. Níveis médios de nitrogênio amoniacal em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais

Tabela 4. Valores médios de pH no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.

Dietas	nº de Anim.	Tempos de Amostragem (horas)				Média
		0	1	3	6	
Uréia	10	7,35±0,15 ^{aA}	7,14±0,22 ^{aB}	6,79±0,18 ^{aC}	6,68±0,17 ^{aC}	6,99 ^a
Farelo de Algodão	10	6,79±0,16 ^{bA}	6,61±0,17 ^{bB}	6,29±0,31 ^{bC}	6,30±0,19 ^{bC}	6,50 ^b
Média		7,07 ^A	6,88 ^B	6,54 ^C	6,49 ^C	

Letra minúscula = comparação de médias nas colunas

Letra maiúscula = comparação de médias nas linhas

Letras diferentes = indicam que as médias diferem entre si (P<0,05)

Tabela 5. Resumo da análise de variância do perfil das médias de pH, referentes à Tabela 4.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Tratamentos (T)	1	4,8508**
Tempos (t)	3	1,5302**
Interação (T x t)	3	0,0314
Indivíduo dentro T	18	0,0607
Resíduo	54	0,0349
Total	79	

Este excesso de $N-NH_3$ no líquido ruminal deve-se em parte ao alto teor de proteína das dietas experimentais, balanceadas para 16,5% de PB e, também aos baixos valores médios do pH obtidos, de 6,99 e 6,50, respectivamente, para as dietas com uréia e farelo de algodão, pois a absorção de amônia para a corrente circulatória é rápida somente quando o pH for superior a 7,5 (BLOOMFIELD, 1963), e muito lenta quando este índice estiver abaixo de 6,7 (SMITH, 1975).

As altas concentrações de $N-NH_3$ registradas nesta pesquisa, indicam que o nível de 16,5% de PB das dietas experimentais esteve acima das necessidades dos microrganismos do rúmen de bubalinos em fase de crescimento.

Na Tabela 4 são apresentados os valores médios do pH no líquido ruminal de bubalinos arraçoados com duas dietas experimentais e com amostragens realizadas 0, 1, 3 e 6 horas após a alimentação, cujos valores estão ilustrados nas Figuras 3 e 4. Na Tabela 5 encontra-se a análise de variância referente à Tabela 4.

A análise estatística dos resultados não revelou haver interação entre as duas dietas ($P > 0,10$) indicando que os perfis são similares, ou seja, para ambas as dietas, os valores de pH se comportaram de maneira semelhante ao longo do tempo.

Os valores médios de pH registrados na Tabela 4, mostram haver diferenças estatisticamente significativas

($P < 0,05$) entre as dietas com uréia e farelo de algodão, cujos valores foram de 6,99 e 6,50 respectivamente, independente do tempo da amostragem e, analisando as diferenças entre os tratamentos, observa-se que em todos os tempos experimentais houve uma superioridade significativa ($P < 0,01$) para a dieta contendo uréia, o que pode ser atribuído às baixas concentrações de ácido orgânico devido à rápida degradabilidade da uréia no rúmen, com menor disponibilidade de substrato nitrogenado residual, mesmo considerando-se $t = 0$.

Os valores médios do índice pH obtido nesta pesquisa (6,99 e 6,50), ainda que ligeiramente inferiores, apresentaram uma mesma tendência que os obtidos por PANDE & SHUKLA (1981) que verificaram os índices de 7,13 e 6,98, respectivamente, para dietas com uréia e proteína verdadeira. A mesma tendência também foi observada por METHA & SINGHAL (1984) que obtiveram valores médios de pH de 6,74 e 6,84 com dietas com farelo de oleaginosa e uréia, respectivamente. Da mesma forma AZIZ & MIR (1986) substituindo parcialmente a fonte protéica do farelo de algodão por uréia em dietas para bubalinos, observaram uma elevação no pH de 6,9 para 7,0.

Figura 3. Níveis médios de pH em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais

Figura 4. Níveis médios de pH em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais

Os maiores índices obtidos nestes trabalhos quando da utilização da uréia, foram atribuídos à maior concentração ruminal de N-NH₃. Entretanto, a presente pesquisa não permitiu detectar diferenças significativas neste parâmetro (Tabela 2), ainda que houvesse ocorrido uma leve tendência a uma maior concentração de N-NH₃ na dieta contendo a uréia. Assim sendo, as variações ocorridas no pH poderiam ser atribuídas a certos fatores não controlados na presente pesquisa, como tempo de ruminação, tamanho de partícula e fibrosidade da dieta, conforme indicação de McDONALD *et alii* (1975), ANNISON & LEWIS (1966) e PONTES (1981).

Considerando a Tabela 4 e as Figuras 2 e 3, verifica-se que o pH apresentou variações decrescentes e estatisticamente significativas ($P < 0,05$) para os três primeiros tempos, sendo os dois últimos semelhantes, com os valores médios de 7,07; 6,88; 6,54 e 6,49, respectivamente, para os tempos de amostragem 0, 1, 3 e 6.

Os valores mais baixos de pH registrados ocorreram 3 horas após a alimentação ($P < 0,05$) à semelhança dos resultados de PANDE & SHUKLA (1981), que trabalhando com bubalinos observaram reduções no pH de 2 a 3 horas após a ingestão de alimentos. Por outro lado, os valores mais altos de pH ($P < 0,05$) foram observados no tempo 0, correspondente ao jejum, fato este também observado por KOLB (1984) e LAVEZZO (1986).

Tabela 6. Valores médios da concentração de ácidos graxos voláteis totais (mM) no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.

Dietas	nº de Anim.	Tempos de Amostragem (horas)				Média
		0	1	3	6	
Uréia	10	36,56±3,23 ^{aA}	46,12±3,92 ^{aB}	56,34±7,51 ^{aC}	58,84±10,65 ^{aC}	49,43 ^a
Farelo de Algodão	10	54,54±10,40 ^{bA}	72,42±7,74 ^{bB}	71,71±13,45 ^{bB}	68,11±7,73 ^{bB}	66,70 ^b
Média		45,55 ^A	59,27 ^B	64,03 ^B	63,37 ^B	

Letra minúscula = comparação de médias nas colunas

Letra maiúscula = comparação de médias nas linhas

Letras diferentes = indicam que as médias diferem entre si (P<0,05)

Tabela 7. Resumo da análise de variância do perfil da concentração de ácidos graxos voláteis totais (mM) referentes à Tabela 6.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Tratamentos (T)	1	5898,2500**
Tempos (t)	3	1483,9900**
Interação (T x t)	3	225,8020**
Indivíduo dentro T	18	117,2570
Resíduo	54	61,7477
Total	79

Figura 5. Níveis médios de ácido graxos voláteis em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais

Figura 6. Níveis médios de ácido graxos voláteis em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais

Os valores mais baixos no pH normalmente indicam concentrações mais altas nos ácidos orgânicos. Tal fato parece ter ocorrido na presente pesquisa pois, independente das dietas, a maior produção de ácido propiônico ($P < 0,05$) ocorreu coincidentemente 3 horas após a alimentação. Por outro lado, o maior índice pH ($P < 0,05$) observado no tempo 0 (jejum), poderia ser atribuído às baixas concentrações de ácidos orgânicos, associados ao efeito tamponante da saliva (PONTES, 1981).

Nas tabelas 6, 8, 10 e 12 são apresentados os valores médios das concentrações molares dos ácidos graxos voláteis totais, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico respectivamente, cujos valores estão ilustrados nas Figuras 5 e 6; 7 e 8; 9 e 10; 11 e 12. Nas Tabelas 7, 9, 11 e 13 encontram-se as análises de variância referentes às Tabelas 6, 8, 10 e 12.

Tabela 8. Valores médios da concentração de ácido acético (mMD no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.

Dietas	nº de Anim.	Tempos de Amostragem (horas)				Média
		0	1	3	6	
Uréia	10	26,52±2,47 ^{aA}	32,45±6,29 ^{aB}	36,82±6,53 ^{aB}	38,19±7,20 ^{aB}	33,50 ^a
Farelo de Algodão	10	38,66±8,91 ^{bA}	51,78±6,25 ^{bB}	47,13±10,52 ^{bB}	45,95±6,72 ^{bB}	45,88 ^b
Média		32,59 ^A	42,11 ^B	41,98 ^B	42,07 ^B	

Letra minúscula = comparação de médias nas colunas

Letra maiúscula = comparação de médias nas linhas

Letras diferentes = indicam que as médias diferem entre si ($P < 0,05$)

Tabela 9. Resumo da análise de variância do perfil da concentração de ácido acético (mMD), referente à Tabela 8.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Tratamentos (T)	1	2706,4400**
Tempos (t)	3	508,0050**
Interação (T x t)	3	65,0052
Indivíduo dentro T	18	97,0113
Resíduo	54	36,8646
Total	79

Figura 7. Níveis médios de ácido acético em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.

Figura 8. Níveis médios de ácido acético em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais.

Tabela 10. Valores médios da concentração de ácido propiônico (mMD no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.

Dietas	nº de Anim.	Tempos de Amostragem (horas)				Média
		0	1	3	6	
Uréia	10	6,86±1,42 ^{aA}	9,05±2,17 ^{aB}	13,70±2,43 ^{aC}	13,57±2,67 ^{aC}	10,80 ^a
Farelo de Algodão	10	10,06±3,25 ^{bA}	12,74±1,45 ^{bB}	15,42±4,47 ^{aB}	13,62±1,51 ^{aB}	12,96 ^b
Média		8,46 ^A	10,90 ^B	14,56 ^C	13,59 ^C	

Letra minúscula = comparação de médias nas colunas

Letra maiúscula = comparação de médias nas linhas

Letras diferentes = indicam que as médias diferem entre si (P<0,05)

Tabela 11. Resumo da análise de variância do perfil da concentração de ácido propiônico (mMD referente à Tabela 10.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Tratamentos (T)	1	93,8525**
Tempos (t)	3	151,8550**
Interação (T x t)	3	13,4740
Indivíduo dentro T	18	10,3468
Resíduo	54	5,6931
Total	79

Figura 9. Níveis médios de ácido propiônico em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais

Figura 10. Níveis médios de ácido propiônico em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais

Tabela 12. Valores médios de concentração de ácido butírico (mM) no líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas experimentais, em diferentes tempos.

Dietas	nº de Anim.	Tempos de Amostragem (horas)				Média
		0	1	3	6	
Uréia	10	3,18±0,99 ^{aA}	4,62±0,68 ^{aB}	5,82±1,27 ^{aC}	6,88±2,09 ^{aC}	5,13 ^a
Farelo de Algodão	10	5,82±1,68 ^{bA}	7,90±1,47 ^{bB}	9,16±2,86 ^{bB}	8,54±1,22 ^{bB}	7,86 ^b
Média		4,50 ^A	6,26 ^B	7,49 ^C	7,71 ^C	

Letra minúscula = comparação de médias nas colunas

Letra maiúscula = comparação de médias nas linhas

Letras diferentes = indicam que as médias diferem entre si (P<0,05)

Tabela 13. Resumo da análise de variância do perfil da concentração de ácido butírico (mM), referentes à Tabela 12.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Tratamentos (T)	1	148,7040**
Tempos (t)	3	43,3402**
Interação (T x t)	3	3,0143
Indivíduo dentro T	18	5,9162
Resíduo	54	1,7324
Total	79

Figura 11. Níveis médios de ácido butírico em líquido ruminal de bubalinos, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais

Figura 12. Níveis médios de ácido butírico em líquido ruminal de buphalinus, sob duas dietas e em quatro tempos experimentais

Através destas Tabelas e Figuras observa-se que as dietas com uréia e farelo de algodão apresentam diferenças estatisticamente significativas entre si ($P < 0,05$), no tocante aos teores médios de AGVs totais (49,42 e 66,70 mM; ácido acético (33,50 e 45,88mM; ácido propiônico (10,80 e 12,96 mM e ácido butírico (5,13 e 7,86 mM. A análise de variância mostrou haver tendência a uma interação significativa ($P < 0,05$) entre as dietas, com relação à concentração de AGV totais, indicando que os perfis das dietas não são semelhantes ao longo do tempo. Tal interação não foi observada quando os ácidos voláteis foram analisados separadamente, indicando uma similaridade da curva de concentração entre as dietas nos vários tempos experimentais.

PANDE & SHUKLA (1981) trabalhando com uréia e outra fonte protéica, observaram uma menor concentração de AGV totais na dieta contendo uréia, fato este observado também por KAPOOR *et alii* (1987), quando estes arraçaram bubalinos com dietas contendo ou não uréia, o que está de acordo com os dados apresentados nesta pesquisa. Por outro lado, LANGAR *et alii* (1984) fornecendo dietas com e sem uréia a bubalinos, não obtiveram diferenças significativas entre as dietas. Da mesma forma, FREITAG *et alii* (1968) também não observaram diferenças significativas entre os parâmetros AGVs totais e os ácidos acético, propiônico e butírico, entre rações formuladas com diferentes níveis e

fontes protéicas, incluindo a uréia.

LAVEZZO (1986) trabalhando com dietas contendo duas fontes protéicas, levedura e farelo de algodão, obteve os teores médios de AGVs totais (77,03 e 74,83 mM, ácido acético (48,86 e 51,39 mM, ácido propiônico (15,40 e 13,70 mM e ácido butírico (10,79 e 7,93 mM. Comparativamente, estes últimos dados, em relação aos obtidos na presente pesquisa, foram menores em todos os parâmetros, entretanto, quando comparou-se somente as duas dietas, de ambas as pesquisas formuladas com farelo de algodão verificou-se uma certa proximidade de valores notadamente para os ácidos propiônico e butírico.

Os mais altos valores encontrados na presente pesquisa para as concentrações de AGVs totais, ácidos acético, propiônico e butírico na dieta com farelo de algodão em relação a uréia, talvez possam ser atribuídos ao maior valor nutritivo do farelo de algodão, uma vez que, com a introdução da uréia os microrganismos do rúmen foram privados de significativa parcela de nutrientes, notadamente de isoácidos oriundos dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina, encontrados no farelo (EL SHASLY, 1952), fato este que favorece a maior produção de ácido acético. O incremento na produção do ácido butírico pode ser atribuído também a uma elevação da concentração do ácido acético, pois, segundo CHURCH (1979), 40 a 80% do ácido butírico presente no rúmen é devido a atuação de microrganismos que

fazem a condensação de dois moles de ácido acético para produzir um mol de ácido butírico.

Na presente pesquisa, apesar dos valores médios da concentração de ácido propiônico terem sido estatisticamente superiores ($P < 0,05$) para a dieta com farelo de algodão, cabe ressaltar que esta diferença não se manteve após três horas decorridas da alimentação ($P < 0,05$), tempo no qual ocorreram, para as duas dietas, os picos de maior produção de ácido propiônico, coincidentemente com o pico de mais baixo pH. É bastante conhecido que a produção de ácido propiônico é estimulada pelo abaixamento do pH (BALCH & ROWLAND, 1957), através do favorecimento da proliferação de microrganismos que fazem sua síntese.

Analisando-se as Tabelas 6, 8, 10 e 12, e as Figuras 5, 6, 7 e 8, observa-se um comportamento estatisticamente diferente ($P < 0,05$) das dietas experimentais, nos tempos de coletas estudados, para os parâmetros AGV totais, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico.

Assim sendo, quando se considera a dieta com uréia, observa-se que a máxima concentração de produção ($P < 0,05$) de AGV totais (56,34 e 58,46 mM), ácido acético (36,82 e 38,19 mM), ácido propiônico (13,70 e 13,57 mM) e ácido butírico (5,82 e 6,88 mM) ocorreu de 3 a 6 horas após a alimentação.

Na dieta com farelo de algodão, a máxima

produção de AGV totais (72,42; 71,71 e 68,11 mM, ácido acético (51,78; 47,13 e 45,95 mM; ácido propiônico (12,74; 15,42 e 13,62 mM e ácido butírico (7,90; 9,16 e 8,54 mM, ocorreu de 1 a 6 horas após a alimentação.

Resultados semelhantes foram obtidos por PANDE & SHUKLA (1981), os quais também obtiveram a máxima produção de AGV totais 3 horas após a alimentação com uréia, e também por BHATIA *et alii* (1980), que observaram o pico de produção de AGV 4 horas após a ingestão da dieta contendo uréia.

Por outro lado, a obtenção de picos de produção de AGV 1 hora após a ingestão da dieta contendo farelo de algodão, talvez se deva ao maior valor nutritivo da fonte de proteína verdadeira (KAPOOR *et alii*, 1987), que propicia uma maior quantidade de aminoácidos precursores de isoácidos (KOLB, 1984), os quais estimulam o desenvolvimento de bactérias (HUNGATE, 1966).

ANNISON & LEWIS (1966) observaram que as proteínas verdadeiras são de baixa degradabilidade, pois sofrem inicialmente a proteólise e a seguir a desaminação. Isto poderia explicar em parte as maiores taxas de $N-NH_3$ (14,61 mg/dl) obtidas no tempo 0 para a dieta contendo farelo de algodão, superiores ($P < 0,05$) a 9,36 mg/dl para a dieta contendo uréia. Isto implicaria em um maior número de bactérias em função do substrato nitrogenado existente, explicando assim o pico de produção de AGV 1 hora após a alimentação. Já com relação a dieta contendo uréia, a

concentração maior de $N-NH_3$ ocorreu somente 1 hora após a ingestão de alimento, o que retardou o pico de produção de AGV para 3 horas após a alimentação.

Estas argumentações encontram suporte nas observações de LAVEZZO (1986), que obteve picos de produção de amônia 2 a 4 horas após a alimentação, e dos ácidos graxos voláteis (ácido butírico) somente 4 a 6 horas, como decorrência da degradação da proteína ocorrida inicialmente.

5. CONCLUSÕES

Nas condições do presente trabalho as seguintes conclusões podem ser apontadas:

1. A substituição parcial da proteína do farelo de algodão por uréia é viável ao nível de 1% da dieta, uma vez que, a análise dos parâmetros ruminais demonstrou a existência de condições adequadas para o desenvolvimento dos microrganismos do rúmen em ambas as dietas. A sua utilização fica na dependência da relação custo/benefício.
2. O uso da dieta contendo uréia resultou em maiores índices de pH em relação ao uso da dieta contendo somente farelo de algodão como a principal fonte de proteínas, porém, em nenhum dos tempos estudados atingiu o nível crítico que potencializa a passagem

da amônia ruminal para o sistema circulatório, evidenciando que o nível de 1% uréia na ração em substituição parcial do farelo de algodão, não acarreta riscos de intoxicação.

3. A maior concentração de nitrogênio amoniacal registrada, ocorreu 1 hora após a ingestão da dieta contendo uréia e entre 1 a 3 horas naquela contendo somente farelo de algodão e, é devida à mais lenta degradabilidade desta última, favorecendo uma atividade microbiana mais constante, caracterizada pelas maiores taxas de produção de ácidos graxos voláteis, inclusive no momento anterior ao consumo de alimentos.
4. A dieta contendo exclusivamente farelo de algodão, como única fonte suplementar de proteína, apresentou padrões de fermentação ruminal superiores àquela contendo uréia, fato este alicerçado nas maiores concentrações de ácidos graxos voláteis totais, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico. Esta condição qualifica a proteína verdadeira como substrato mais eficiente que o nitrogênio não protéico para o desenvolvimento dos microrganismos ruminais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHRAR, M. & SCHINGOETHE, D.J. Heat-treated soybean meal as protein supplement for lactating cows. *J. Dairy Sci.*, Champaign, 62(6):932-40, 1979.
- ANNISON, E.F. & LEWIS, D. El Metabolismo en el Rumen. Mexico, Union Tipografica Editorial Hispano Americana, 1966. 200p.
- AZIZ, T. & MIR, F.A. Studies on rumen physiology of buffalo bulls receiving different nitrogen sources with sugar cane pith. Pakistan Veterinary Journal, 6(1):11-14, 1986. In: Nutrition Abstracts and Reviews, 57(1):32, 1986.
- BALCH, D.A. & ROWLAND, S.J. Volatile fatty acids and lactic acid in the rumen of dairy cows receiving a variety of diets. Br. J. Nutr., Cambridge, 11(3):288-98, 1957.

BATH, I.H. & ROOK, J.A.F. The evaluation of cattle foods and diets in terms of the ruminal concentration of volatile fatty acids. I. The effect of level of intake, frequency of feeding, the ratio of hay concentrates in the diet and of supplementary feeds. J. agric. Sci., Cambridge, 61(3):341-8, 1963.

BATH, I.H. & ROOK, J.A.F. The evaluation of cattle foods and diets in terms of the ruminal concentration of volatile fatty acids. II. Roughages and succulents. J. agric. Sci., 64(1):67-75, 1965.

BHATIA, K.P. & SINGH, R. Rumen metabolic profile as influenced by dietary non-protein nitrogen and soluble carbohydrates. Indian J. Anim. Sci., New Delhi, 50(1):16-20, 1980.

BLOOMFIELD, R.A. Kinetics of urea metabolism in sheep. J. Anim. Sci., 19:1248, 1960.

BLOOMFIELD, R.A.; KEARLEY, E.O.; CREACH, D.O.; MUHRER, M.E. Ruminal pH and absorption of ammonia and VFA. J. anim. Sci., Albany, 22(3):833, 1963.

BUCHANAN-SMITH, J.G. & YAO, Y.T. Non-protein nitrogen in corn silage: a practical characterization in the rumen

and effect upon digestibility and retention of nitrogen in lambs. Can. J. Anim. Sci., Ottawa, 58:681-90, 1978.

BRYANT, M.P. The nitrogen metabolism of pure cultures of ruminal bacteria. U.S.D.A., A.R.S. 44-92, 1961.

BURCHALL, J.J.; NIEDERMAN, R.A.; WOLIN, M.J. Amino group formation and glutamate synthesis in *Streptococcus bovis*. J. Bacteriol., 88:1038, 1964.

CHURCH, D.C. Digestive physiology and nutrition of ruminants. Vol. 1 - Digestive Physiology. 3ed. Oxford Press Inc., 1979. 350p.

COCKRILL, W.R. The husbandry and health of the domestic buffalo. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1974. 993p.

EDWARDS, J.S. & BARTLEY, E.E. Soybean meal or starea for microbial protein synthesis or milk production with rations above thirteen percent natural protein. J. Dairy Sci., Champaign, 62:732, 1979.

EL-SHAZLY, K. Degradation of protein in the rumen of the sheep. 1. Some volatile fatty acids, including branchedchain isomers, found in vivo. Biochem. J.,

Cambridge, 51(5):640-53, 1952.

ERFLE, J.D.; BOILA, R.J.; TEATHER, R.M.; MAHADEVAN, S.;
SAVER, F.D. Effect of pH on fermentation characteristics
and protein degradation by rumen microorganisms in
vitro. J. Dairy Sci., Champaign, 65:1457-64, 1982.

ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid
analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography.
J. Dairy Sci., Champaign, 44(9):1768-71, 1961.

FOLDAGER, J. Protein requirement and non protein nitrogen
for high producing cow in early lactation. East Lansing,
1977. (Ph.D - Michigan State University).

FREITAG, R.R.; SMITH, W.H.; BEESON, W.M. Factors related to
the utilization of urea vs. protein-nitrogen supplemented
diets by the ruminant. J. Anim. Sci., Albany,
27(2):478-83, 1968.

GRIFFITHS, T.W. & BATH, I.H. Effects of energy and nitrogen
supplementation of silage diets on rumen fermentation in
fistulated heifers. J. agric. Sci., Cambridge,
80(1):89-95, 1973.

HOFIREK, B.A. Simple method for collecting of the rumen liquor of cattle for diagnostic purpose. Vet. Med., Praha, 15(3):75-85, 1970.

HUBER, J.T. Nonprotein nitrogen replacement of dietary protein-leaflet. Seminar at ESALQ in Piracicaba, SP, Brazil. 1984.

HUNGATE, R.E. The rumen and its Microbes. New York, Academic Press, 1966. 533p.

ICHHPONANI, J.S. & SIDHU, G.S. Biochemical process in the rumen. I. The production of volatile fatty acids in the rumen of cattle and buffalo feed on green berseen and wheat straw. Indian J. Vet. Sci., Madra, 35(3):265, 1965.

ICHHPONANI, J.S.; MAKKAR, G.S.; SIDHU, G.S. Studies on the biochemical processes in the rumen. IV. Product, on of volatile fatty acids (VFAD) in vitro by rumen microorganisms obtained from the ruminar of the buffalo and cattle. Indian J. Anim. Sci., New Delhi, 39(3):201-6, 1968.

JONES, G.A.; MAC LEOD, R.A.; BLACKWOOD, A.C. Ureolytic rumen bacteria. II. Effect of inorganic ions on urease

activity. Can J. Microbiol., 10:379, 1964.

JORDAN, E.R. & SWANSON, L.W. Effect of crude protein on reproductive efficiency serum total protein and albumin in the high producing dairy cow. J. Dairy Sci., 62(1):58-63, 1979.

KANG-MEZNARICH, J.H.; BRODERICK, G.A. Effect of incremental urea supplementation on ruminal ammonia concentration and bacterial protein formation. J. Anim. Sci., Albany, 51:422-31, 1981.

KAPOOR, P.D.; NANGRA, O.P.; GUPTA, M. Studies on some of the rumen and blood metabolites on isonitrogenous urea/molasses supplemented ration in buffalo calves. Indian Vet. J., Madras, 64(8):669-73, 1987.

KOLB, E. Fisiologia Veterinária. 4a. ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S/A, 1984. 612p.

KULASEK, G. A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood and blood cells using urease and phenol reagent. Pol. Arch. Wet., Warsaw, 15(4):801-10, 1972.

LANGAR, P.N.; MAKKAR, G.S.; BAKSHI, M.P.S. Comparative

studies on the urea and fibre utilization in buffalo and cattle. Indian J. Anim. Sci., New Delhi, 54(5):413-19, 1984.

LAVEZZO, O.E.N.M. Influência dos métodos de coleta de fluido ruminal sobre os parâmetros de fermentação, em bovinos alimentados com diferentes fontes de proteína. Piracicaba, 1986. 167p. (Tese - Mestrado, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" - USP).

McDONALD, I.W. The role of ammonia in ruminal digestion of protein. Biochem. J., Cambridge, 51(1):86-90, 1952.

McDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D. Nutrição Animal. Editorial Acribia, Zaragoza, 1975.

McLAREN, G.A.; ANDERSON, C.G.; TSAI, L.T.; BARTH, K.M. Level of readily fermentable carbohydrates and adaptation of lambs to all-urea supplemented rations. J. Nutr., 87:331, 1965.

Mc NAUGHT, M.L.; OWEN, E.C.; HENRY, K.M.; KON, S.K. The utilization of non-protein nitrogen in the bovine rumen. 8. The nutritive value of the protein of preparations of dried rumen bacteria, rumen protozoa and brewer's yeast for rats. Biochem J., Cambridge, 56(1):151-6, 1954.

MACHADO, P.F. Valor nutritivo da levedura, resíduo da produção de álcool, para vacas em lactação. São Paulo, 1983. 110p. (Tese - Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP).

MAHADEVAN, S.; SAUER, F.D.; ERFLE, J.D.; TEATHER, R.M.; MORSE, P.M. Changes in ammonia concentration, bacterial counts, pH and volatile fatty acid concentration in rumen of cows fed alfalfa hay or concentrate: urea-corn silage. Can. J. Anim. Sci., Ottawa, 62(1):249-58, 1982.

MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. Brit. J. Nutr., 38:437, 1977.

MEHTA, R.K. & SINGHAL, K.K. Effects of pelleting and supplementing urea to agroindustrial byproducts on nutrient utilization and rumen fermentation in buffaloes. Indian J. Anim. Sci., New Delhi, 54(1):19-24, 1984.

MORRISON, D.F. Multivariate Statistical Methods. New York, Mc Graw Hill Book Company, 1967. 338p.

- MOTT, G.O.; QUINN, L.R.; BISSCHOFF, N.V.A.; ROCHA, G.L.
Melaço como suplemento energético para novilhos zebu, em
pastejo de capim Colonião com e sem adubo nitrogenado.
Pesq. Agropec. Bras., 2:441-59, 1967.
- MURDOCK, F.R. & HODGSON, A.S. Effects of roughage type and
texture of milk fat secretion and body weight recovery by
lactating dairy cows. J. Dairy Sci., 62:505-10, 1979.
- NOLAN, J.V.; NORTON, B.W.; LENG, R.A. Nitrogen cycling in
sheep. Proc. Nutr. Soc., London, 32(2):93-8, 1973.
- NRC Nutrient Requirement of Beef Cattle. National Academy
Press, Washington, DC, 6th revised edition, 1984.
- OLTJEN, R.R.; WILLIAND, E.E.; SLYTER, L.L.; RICHARDSON,
G.V. Urea versus biuret in a roughage diet for steers.
J. Anim. Sci., 29:816, 1969.
- ORSKOV, G.R.; FLATT, W.P.; MOE, P.W. Fermentation balance
approach to estimate extent of fermentation and
efficiency of volatile fatty acid formation in ruminants.
J. Dairy Sci., Champaign, 51(1):1429-35, 1968.
- PANDE, M.B. & SHUKLA, P.C. Effect of feeding digestible
crude protein levels and urea of rumen liquor nitrogen

fractions and volatile fatty acids. Indian Vet. J., Madras, 58(11):894-900, 1981.

PANT, H.C. & ROY, A. Studies on the rumen microbial activity of buffalo and zebu cattle. Concentration of microorganisms and total and particulate nitrogen in the rumen liquor. Indian J. Anim. Sci., New Delhi, 40(6):600-609, 1970.

PATHAK, N.N.; SINGH, V.B.; KUMAR, P.; VERMA, D.N.; RANJHAN, S.K.; SRIVASTAVA, R.V.N. Utilization of urea-molasses liquid diet with restricted intake of wheat straw and intact proteins by adult cattle and buffaloes with special reference to VFA production rates. Indian J. Anim. Sci., New Delhi, 43(9):819-23, 1973.

PIDGEN, W.J. Effect of physical and chemical processing non protein nitrogen supplementation on utilization of lignocellulose. *Conf. FAO and Loc. Expert. Comm. Anim. Nutr.*, Makerere Univ. Kampala, Uganda, FAO, Rome, 1971.

PONTES, M. Papel de la fibra en la alimentación de los ruminantes. *Avance in Alimentación y Mejora Animal*, 22(10):411, 1981.

PUTNAM, P.A.; LEHMANN, R.; DAVIS, R.E. Feed intake and

salivary secretion by steers. J. Anim. Sci., Albany, 33(5):1169, 1971.

RAUNS, N.S. & BURROUGHS, W. Suction strainer technique in obtaining rumen fluid samples from intact lambs. J. Anim. Sci., Albany, 21(3):454-7, 1962.

RHODES, R.W. Influence of nutrient addition, physical form of the ration and interval of feeding on performance of lambs. Ames. 1961. (PhD - Thesis - Iowa State University of Science and Technology).

ROFLER, R.E. & SATTER, L.D. Relationship between ruminal ammonia and nonprotein nitrogen utilization by ruminants. 1. Development of a model for predicting non-protein nitrogen utilization by cattle. J. Dairy Sci., Champaign, 58(12):1880-8, 1975.

RUMSEY, T.S.; PUTNAM, P.A.; BOND, J.; OLTJEN, R.R. Influence of level and type of diet on ruminal pH and VFA, respiratory rate and EKG patterns of steers. J. Anim. Sci., Albany, 31(3):608-16, 1970.

SATTER, L.D. & BAUMGARDT, B.R. Changes in digestive physiology of the bovine associated with various feeding frequencies. J. Anim. Sci., Albany, 21(4):897-900, 1962.

SATTER, L.D. & ROFFER, R.E. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. J. Dairy Sci., 58:1219, 1975.

SATTER, L.D. & SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. Br. J. Nutr., Cambridge, 32(2):199-208, 1974.

SCHAADT Jr., H. & JOHNSON, R.R. VFA production in the rumen of sheep fed limestone and urea treated corn silage. J. Anim. Sci., Albany, 29(5):839-47, 1969.

SING, N. & SUD, S.C. Effect of different diets on pH and protein fractions in the rumen of buffaloes. Indian J. Dairy Sci., New Delhi, 34(3):284-7, 1981.

SINGH, S.P. & GUPTA, B.N. Effect of feeding ammoniated straw impregnated with urea and molasses on fibre digestibility and volatile fatty acids production rates in buffaloes. Indian J. Anim. Sci., New Delhi, 56(12):1210-14, 1986.

SMITH, R.H. Digestion and metabolism in the ruminant. Armidale, Australia, I.W. Mc Donald and A.C.I. Warner, eds. of New England Press, 1975. 400p.

STEWART, W.E.; STEWART, D.G.; SCHAULTZ, L.H. Rates of volatile fatty acid production in the bovine rumen. J. Anim. Sci., Albany, 17(3):723-36, 1958.

VAN DER HORST, C.J.G. Keto acid and amines in the rumen liquor cattle. In: CHALUPA, W. Problems in feeding urea to ruminants. J. Anim. Sci., Albany, 27(1):207-19, 1968.

VAN SOEST, P.J. Nutritional Ecology of the Ruminant. O & B Book, Inc., Corwallis, 1982. 374p.