UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Nedilse Helena de Souza

**Metabolismo ruminal e balanço de minerais
em bubalinos com ingestões de diferentes
níveis de fósforo**

Nedilse Helena de Souza

Metabolismo ruminal e balanço de minerais em bubalinos com ingestões de diferentes níveis de fósforo

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Raul Franzolin Neto

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, à São Francisco de Assis, pois ele foi o primeiro a abençoar os animais.

Ofereço, aos meus pais, Hercílio e Helena por sempre me ajudarem nas necessidades temporais e espirituais.

AGRADECIMENTOS

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa de estudo concedida.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, da Universidade de São Paulo pela possibilidade da realização do curso de doutorado.

À empresa Premix – técnica em suplementação animal, pelo apoio ao trabalho com a doação dos concentrados utilizados.

Ao Professor Raul Franzolin Neto, pela orientação, estímulo e amizade durante a realização deste trabalho.

Aos funcionários do Setor de Animais Experimentais, Ricardo Galeni e Manoel dos Santos, pela dedicação, esforço físico e ajuda com os búfalos.

Ao técnico de laboratório, Marcos Roberto Ferraz, pela ajuda, compreensão e com as análises laboratoriais.

Ao técnico de laboratório, José Aparecido da Cunha, por compartilhar técnicas e me ajudar a solucionar problemas.

Às técnicas de laboratório, Roseli Sengling Lacerda e Rosilda Clareti Motta Loura, pela dedicação e sempre boa vontade em ajudar.

Aos colegas de trabalho por compartilhar os problemas e felicidades, em especial ao Weber Villas Boas Soares.

À todos os colegas, professores e funcionários do Departamento de Zootecnia – ZAZ, que me ajudaram nesta longa jornada.

RESUMO

SOUZA, N.H. **Metabolismo ruminal e balanço de minerais em bubalinos com diferentes níveis de ingestão de fósforo**. 2004. 53f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.

Quatro bubalinos adultos com fístulas ruminais foram utilizados com o objetivo de se estudar os efeitos da ingestão de níveis de fósforo sobre as características do metabolismo ruminal e digestão das rações. Foram avaliados os seguintes parâmetros: pH; concentração de amônia; volume e taxa de passagem do líquido ruminal; quantificação de minerais no conteúdo ruminal; digestibilidade com marcador (Cr_2O_3) e estimativa de excreção fecal de minerais. Os animais foram delineados em Quadrado Latino (4×4), com ingestão de quatro diferentes níveis de fósforo na dieta (8, 12, 15 e 18 gramas), mantendo-se a relação volumoso:concentrado foi de 85:15 e com o uso de cana de açúcar como único volumoso. Cada sub-período compreendeu 28 dias, sendo 14 de adaptação. Não houve influencia no pH, na concentração de amônia, no volume e na taxa de passagem do líquido ruminal; nas concentrações de minerais no conteúdo ruminal (P, Ca, Mg, Na, K, S, Fe, Cu, Zn e Mn) e nos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, fibra em detergente neutro, proteína bruta e energia bruta. Observou-se excreção linear de fósforo nas fezes em função ao fósforo ingerido da dieta, podendo ser estimada pela equação de regressão $Y = 0,03 + 0,610 * X$, onde Y é a quantidade de fósforo excretado nas fezes diariamente em $\text{g/kg}^{0,75}$ e X é a quantidade de fósforo ingerido diariamente em $\text{g/kg}^{0,75}$.

Palavras-chaves: búfalo; digestibilidade; fósforo; metabolismo ruminal; minerais; rúmen

ABSTRACT

SOUZA, N.H. **Rumen metabolism and the mineral balance in water buffaloes with different levels of the phosphorus intake.** 2004. 53f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.

Four mature buffaloes fitted with rumen cannulas were used to study the effects of different levels of the phosphorus intake on the ruminal metabolism and the digestion in the diets. Ammonia concentration, pH, fluid and solid outflow rates, rumen volume; concentration of mineral in the ruminal content; digestibility and estimate of faecal output of minerals were determined. The animals were designed in Latin Square experiment (4x4) with each period of 28 d of duration. Treatments were applied four rations with different levels of P intake (8, 12, 15 e 18 grams). The proportion forage for concentrate was 85:15 with only using fresh chopped sugar cane. No differences were observed among the treatments in the rumen parameters evaluated and digestibility. Increasing in phosphorus intake resulted in simple linear regression equation $Y = 0.03 + 0.610 * X$, where P output daily ($\text{g (kg bodyweight)}^{-0.75}$) was used as the dependent variable (Y) and P intake daily ($\text{g / kg}^{-0.75}$) was used as the independent variable (X).

Keywords: Buffalo; digestibility; mineral; phosphorus; rumen metabolism; rumen

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Esquema do metabolismo do fósforo em ruminantes, adaptado de Braithwaite (1984) e Schneider et al. (1987)	9
Figura 2 -	Ingestão média diária de matéria seca das rações ($\text{g/kg}^{0,75}$) em bubalinos com dietas contendo diferentes níveis de fósforo	21
Figura 3 -	Valores médios do coeficiente de digestibilidade da matéria seca, da fibra em detergente neutro, da proteína e da energia bruta em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	24
Figura 4 -	Curvas diárias do pH médio do líquido ruminal em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	26
Figura 5 -	Concentrações médias de amônia (mg%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira refeição, em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	29
Figura 6 -	Valores médios do volume ruminal $\text{mL/kg}^{0,75}$ em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	31
Figura 7 -	Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de fósforo diária (g) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	37

Figura 8 - Valores médios totais da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de cálcio diária (g) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	38
Figura 9 - Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de magnésio diária (g) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	39
Figura 10 - Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de ferro diária (mg) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	40
Figura 11 - Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de cobre diária (mg) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	41
Figura 12 - Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de zinco diária (mg) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	42
Figura 13 - Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de manganês diária (mg) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	43
Figura 14 - Relação entre fósforo ingerido($\text{g/kg}^{0,75}$) e fósforo excretado nas fezes ($\text{g/kg}^{0,75}$) em bubalinos alimentados com níveis diferentes de fósforo	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição dos concentrados utilizados em porcentagem	13
Tabela 2 -	Teores de proteína, fibra em detergente neutro, energia bruta e minerais dos componentes das rações e as relações cálcio:fósforo, com base na matéria seca	14
Tabela 3 -	Esquema dos tratamentos aplicados nos búfalos no delineamento em Quadrado Latino 4 x 4, com 4 animais e 4 sub-períodos	15
Tabela 4 -	Ingestão diária média de matéria seca total (kg) em bubalinos com dietas contendo diferentes níveis de fósforo	20
Tabela 5 -	Valores médios dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), da fibra em detergente neutro (CDFDN), da proteína (CDPB) e da energia bruta (CDEB) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	23
Tabela 6 -	Valores médios do pH do líquido ruminal em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	25
Tabela 7 -	Valores médios de concentração de amônia do líquido ruminal em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	28

Tabela 8 -	Valores médios da taxa de passagem de líquido ruminal e do volume ruminal em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	30
Tabela 9 -	Valores médios das concentrações de macro minerais (% na MS) no conteúdo ruminal em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	33
Tabela 10 -	Valore médios das concentrações de micro minerais (mg/kg de MS) no conteúdo ruminal em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações	34
Tabela 11 -	Quantidade de macro e micro minerais nos quatro níveis de fósforo (P8, P12, P15 e P18) das rações na ingestão diária, média do conteúdo ruminal, excreção fecal diária e absorção aparente diária em bubalinos	36
Tabela 12 -	Regressões lineares usando fósforo ingerido($\text{g/kg}^{0,75}$) como variável dependente (X) e fósforo excretado nas fezes ($\text{g/kg}^{0,75}$) como a variável independente (Y) em bubalinos alimentados com níveis diferentes de fósforo	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	- porcentagem
AGV	- ácidos graxos voláteis
Ca	- cálcio
Cr ₂ O ₃	- óxido de cromo
Cu	- cobre
EB	- energia bruta
EE	- extrato etéreo
FB	- fibra bruta
FDN	- fibra em detergente neutro
Fe	- ferro
h	- horas
K	- potássio
kg	- quilograma
mL	- mililitro
mg	- miligrama
Mg	- magnésio
Mn	- manganês
MS	- matéria seca
N	- nitrogênio
Na	- sódio
NH ₃	- amônia
N-NH ₃	- nitrogênio amoniacal
P	- fósforo
P ^{0,75}	- peso vivo metabólico
PB	- proteína bruta
PV	- peso vivo
S	- enxofre
Zn	- zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1 O Fósforo e sua Importância na Nutrição Animal	2
2.2 Ingestão de Fósforo e a sua Reciclagem Via Salivar	3
2.3 O Fósforo no Rúmen	5
2.4 Absorção e Excreção Fecal de Fósforo e Interações Metabólicas entre Minerais	6
2.5 Metabolismo Ruminal e Digestão em Bubalinos	10
3 MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 Animais e Local	12
3.2 Tratamentos e Manejo Alimentar	12
3.3 Delineamento Experimental	15
3.4 Parâmetros Ruminais	15
3.5 Quantificação de Minerais no Conteúdo Ruminal	17
3.6 Digestibilidade com Marcador e Estimação Excreção de Minerais nas Fezes	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1 Ingestão de Matéria Seca e Digestibilidade	19
4.2 Parâmetros Ruminais	25
4.3 Concentração no Rúmen, Excreção e a Absorção Aparente de Minerais ...	32
5 CONCLUSÕES	46
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1 INTRODUÇÃO

Todas as formas de matéria viva necessitam de elementos inorgânicos ou minerais, para seus processos vitais normais. Os minerais que exercem funções corporais, sob a forma do próprio elemento ou incorporados a compostos específicos, são os macrominerais, que estão em maior concentração no organismo animal e cujos requerimentos são expressos em porcentagem (%): cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), sódio (Na), cloro (Cl), potássio (K) e enxofre (S) e os microminerais ou oligoelementos, que se encontram em concentrações bem menores e cujos requerimentos são expressos em miligramas por kilogramas (mg/kg): cobre (Cu), zinco (Zn), iodo (I), selênio (Se), ferro (Fe), cobalto (Co), manganês (Mn), molibdênio (Mo) e flúor (F).

Problemas nutricionais, incluindo deficiências, desequilíbrio ou toxicidade de diversos nutrientes, são os fatores que mais limitam a produção e a produtividade da indústria animal em extensas áreas do mundo. Em qualquer região, o adequado suprimento de nutrientes na dieta é um dos principais fatores relacionados ao bom desempenho produtivo e reprodutivo dos rebanhos.

Dentre as deficiências nutricionais, a de minerais é a mais fácil de ser corrigida a custo relativamente baixo. Algumas vezes o suprimento de um único elemento mineral deficiente na dieta do animal pode trazer mais benefício do que a suplementação de energia ou proteína.

Existem mais funções conhecidas de fósforo no organismo animal, que aquelas de qualquer outro elemento mineral.

As funções metabólicas na espécie bubalina não estão bem descritas como nos bovinos, e há uma carência de informação sobre o comportamento digestivo e aproveitamento de minerais. Estudos que forneçam essas informações são importantes para o desenvolvimento de um manejo adequado, principalmente quanto ao fornecimento de dietas ideais ou alternativas para uma melhor produtividade desta espécie.

O propósito do experimento foi estudar o metabolismo mineral na espécie bubalina, em dietas com níveis diferentes de fósforo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O Fósforo e sua Importância na Nutrição Animal

São considerados como minerais essenciais para o crescimento, conservação, reprodução e funcionamento dos tecidos corporais dos animais: cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl), enxofre (S), iodo (I), ferro (Fe), cobre (Cu), cobalto (Co), manganês (Mn), zinco (Zn), selênio (Se), molibdênio (Mo), cromo (Cr), estrôncio (Sr), vanádio (V), níquel (Ni), e silício (Si).

O fósforo não existe no estado livre na natureza porque ele combina espontaneamente com o oxigênio, constituindo 1% do peso corporal do animal. Segundo Hays e Swenson (1988) o cálcio e o fósforo são os principais elementos estruturais do tecido esquelético, com mais de 99% do cálcio corporal total e mais de 75% do fósforo total sendo encontrados nos ossos e dentes. Estão presentes nos ossos principalmente sob a forma de sal de apatita, fosfato de cálcio e carbonato de cálcio. Além de constituírem a estrutura de sustentação básica do corpo, os ossos também são reservatório de cálcio e fósforo corporal. O cálcio e o fósforo encontrados na porção trabecular (substância esponjosa) dos ossos estão em equilíbrio dinâmico com a parte desses elementos presente nos líquidos corporais e outros tecidos do corpo. Durante períodos de deficiência alimentar, ou quando a necessidade de ambos os elementos aumenta, como ocorre na gestação e na lactação, o cálcio e o fósforo são prontamente mobilizados dos ossos, para manter níveis normais e aproximadamente constantes (em particular de cálcio) no sangue circulante e em outros tecidos moles.

Conforme Boin (1985), do ponto de vista metabólico, o fósforo é um elemento versátil. Além de sua função conhecida há muito tempo como um componente estrutural dos ossos, tem sido demonstrado importantes funções bioquímicas e fisiológicas, estando envolvido em quase todas as vias metabólicas. Absorção de carboidratos através da mucosa intestinal ocorre na forma de compostos fosforilados. O catabolismo de carboidratos requer uma fosforilação inicial para liberar a energia que é capturada e transportada para as células na forma de ligações fosfatadas de alta energia do trifosfato de adenosina (ATP). O fósforo desempenha importantes funções no organismo animal. Os fosfolipídeos são os principais meios de transporte de ácidos graxos através do organismo;

afetam a permeabilidade celular e como componente da camada de mielina dos nervos atuam na transmissão nervosa. A ativação das vitaminas do complexo B (tiamina, niacina, piridoxina, riboflavina, biotina e ácido pantotênico) para formar coenzimas requer fosforilação inicial. O fósforo faz parte do ácido ribonucléico (RNA) e desoxirribonucléico (DNA) que contém a informação genética e que regulam a biosíntese de proteína e a imunidade. Além disso, o monofosfato de adenosina cíclica (CAMP), um derivativo do ATP, afeta a ação de um grande número de hormônios em sistemas enzimáticos.

A deficiência de fósforo ocorre em muitas partes do mundo sendo necessário o conhecimento das quantidades mínimas de suplementação exigidas para equilibrar os efeitos adversos da carência mineral sobre o desempenho animal. Em razão das múltiplas e importantes funções que o elemento desempenha no corpo do animal, de sua deficiência generalizada nos solos e forrageiras tropicais e sub-tropicais é fundamental o entendimento de seu metabolismo, especialmente a sua dinâmica nos diferentes tecidos e rotas metabólicas (BARCELLOS, 1998).

As deficiências de minerais são tradicionalmente estudadas a partir da análise do solo e das forragens, onde os animais estão localizados. Entretanto, devido às variações na disponibilidade, interferências dos diferentes minerais e habilidade animal em melhorar ou reduzir a absorção, o diagnóstico das deficiências minerais no animal deve, preferencialmente, ser abordado por intermédio da monitoração dos níveis nos fluídos e tecidos corpóreos (TOKARNIA et al., 1999; DIAZ GONZÁLEZ, 2000). A análise de material proveniente dos animais permite verificar de forma mais direta, com maior rapidez e mais facilmente, as deficiências existentes, com menor risco de erros na interpretação dos resultados (UNDERWOOD, 1969).

2.2 Ingestão de Fósforo e a sua Reciclagem Via Salivar

Para que o ruminante tenha crescimento, saúde e produção adequadas deve receber um suprimento adequado de nutrientes e energia, da mesma forma que os microrganismos no rúmen. Entre os nutrientes importantes estão os minerais, que devem ser atendidos conforme suas exigências, em quantidades e proporções adequadas e formas disponíveis (MACKIE; THERION, 1983).

Argarwala et al. (1971) estudaram os requerimentos de fósforo para bubalinos em manutenção utilizando-se três fontes de fósforo (fosfato dihidrogênio de sódio, fosfato bicálcico e fósforo contido no farelo de trigo) e concluíram que o requerimento para búfalos em manutenção é de 12 a 17 gramas (g) por dia.

O National Research Council (NRC), (1976) recomenda 0,18% de cálcio e de fósforo na matéria seca consumida como nível mínimo para a manutenção de bovinos de corte em crescimento e terminação.

Gartner et al. (1982) submeteram 15 vacas Hereford a três tratamentos: com suplementação diária de 12 gramas de fósforo e ração ad libitum (CA), sem suplementação de fósforo e ração ad libitum (SA) e com suplementação diária de 12 gramas de fósforo e ração restrita ao consumo do grupo sem suplementação (CR). A ração continha 0,09% de fósforo em matéria seca. Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para o consumo de ração em gramas por quilograma de peso vivo metabólico até a 19ª semana. Da 19ª semana até 62ª semana houve diferença significativa entre tratamentos ($CA > SA$, CR ; $P<0,05$; $CA > CR$, $SA > CR$; $P<0,01$) com o consumo médio de 82,9, 78,3 e 73,2 g/kg^{0,75} para CA, SA e CR, respectivamente.

Scott et al. (1985) estudaram em ovelhas a secreção salivar de fósforo e os autores concluíram que a quantidade de fósforo secretado na saliva é igual a diferença entre o fósforo ingerido e o total de fósforo que passa para o duodeno. Isto justificável, desde que estudos de absorção em ovelhas indicam que pequena ou nenhuma absorção ou secreção de fósforo ocorre no retículo-rúmen (SCARISBRICK; EWER, 1951; SPEBER; HYDEN, 1952; PARTHASARATHY et al., 1952), no omaso (ENGELHARDT; HAUFFE, 1975) ou no abomaso (GARTON, 1951).

Challa e Braithwaite (1988), em experimentos com bezerros bovinos, demonstraram que a perda endógena fecal não se manteve constante como afirma o Agricultural Research Council (ARC), (1965), e foi correlacionada com o nível de ingestão de fósforo. Em ingestões de 2,5, 6,0 e 10,0 g de P por dia, os autores observaram valores diários de fósforo endógeno de 12,06, 18,31 e 22,75 mg/kg de PV/dia. O aumento da perda endógena com o aumento da ingestão de fósforo na dieta deve-se, em parte, à maior secreção via salivar. De acordo com o Agricultural and Food Research Council (AFRC), (1991), não há evidências de que ocorra um mecanismo de saturação na secreção salivar de fósforo. Entretanto, Louvandini (1995) observou, em ovinos, que houve uma estabilização nos valores de fósforo salivar e endógeno, com um consumo de fósforo acima de 100 mg/kg de PV/dia.

2.3 O Fósforo no Rúmen

Ospina et al. (1999) em extensa revisão sobre o desafio de otimizar a fermentação ruminal através da suplementação mineral, afirmaram que os minerais atuam como catalisadores dos processos de multiplicação celular dos microrganismos do rúmen, sendo importante para a síntese de proteína microbiana. De outra forma, os minerais também assumem funções importantes em nível de ambiente ruminal, podendo afetar a pressão osmótica, a capacidade de tamponamento e a taxa de diluição. Os autores ressaltam a importância de alguns microminerais (Co, Fe, Mo e Zn) na regulação de numerosas reações enzimáticas e, que alguns, da mesma forma que macrominerais (P, Mg e S), podem afetar a digestibilidade ruminal da matéria orgânica e da parede celular das plantas. Além disso, outro aspecto relevante quando se trabalha com minerais na dieta de ruminantes é a possível interação entre eles, podendo influenciar na disponibilidade de nutrientes pela formação de complexos insolúveis e da competição pelo mesmo sítio de absorção.

Franzolin (1996) em revisão de literatura sobre o assunto, observou que há ainda pouca evidência para sugerir que o crescimento microbiano é limitado pela suplementação de fósforo em condições normais, mas a presença do fósforo em materiais fibrosos tem provido uma melhor digestão da celulose. O conteúdo de fósforo na massa microbiana é de 2 a 6% na matéria seca e a taxa de N:P é de 8:1. Há uma estimativa de 4 gramas de P/kg de matéria orgânica digestível, assumindo que 65% da matéria orgânica é fermentada no rúmen. Entretanto, esse valor pode variar muito em função da reciclagem de fósforo endógeno para o rúmen e da quantidade de saliva produzida pelo animal.

Barcellos (1998) citou que vários autores têm demonstrado a importância do fósforo sobre na atividade dos microrganismos do rúmen, salientando diminuições na produção de ácidos graxos voláteis quando ocorre a sua deficiência, na população de protozoários, o rendimento de ATP e a atividade das bactérias celulolíticas. De acordo com autor, a exigência das bactérias celulolíticas por fósforo pode ser tão elevada quanto às exigências do animal hospedeiro.

Os microrganismos do rúmen, ao contrário dos mamíferos, não têm exigências estruturais por cálcio e fósforo, mas sim para o metabolismo celular. Para o caso do fósforo, pode-se salientar a alta concentração de RNA e DNA comparada com a maioria das células, além da sua composição na parede celular, segundo Langwinski e Ospina (2001).

Os ruminantes são capazes de usar o fosfato orgânico a partir de fontes de fitato, devido a produção da enzima fitase pelos microrganismos do rúmen.

Milton e Ternouth (1985) utilizaram quatro carneiros em um experimento com três tratamentos: baixa concentração de P no rúmen com baixa concentração de P no sangue

(BRBS), alta concentração de P no rúmen com alta concentração de P no sangue (ARAS) e baixa concentração de P no rúmen com alta concentração de P no sangue (BRAS). Os autores observaram que o coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente neutro, os tratamentos com baixa concentração de P no rúmen foram 5% inferiores que o tratamento com alta concentração de fósforo ruminal. Não houve diferenças ($P>0,05$) no teor de nitrogênio amoniacal do rúmen, na quantidade de volume ruminal e na taxa de passagem de líquidos ruminal.

Komisarczuk et al. (1987) avaliaram os efeitos de diferentes níveis de fósforo na fermentação ruminal in vitro utilizando-se líquido ruminal de carneiro, e verificaram que com a diminuição da concentração de fósforo no meio de cultura ocorreram: a diminuição da produção de ácidos graxos voláteis totais, o aumento do pH e o aumento da concentração de nitrogênio amoniacal.

Petri et al. (1988) estudaram a resposta de cabras em lactação tendo ingestões adequada e deficiente de fósforo. Nos animais com deficiência de fósforo houve aumento do pH ruminal, diminuição nas concentrações do fósforo e da amônia no líquido ruminal, e a taxa de passagem de líquido ruminal não sofreu alteração em relação ao tratamento com ingestão adequada de fósforo.

2.4 Absorção e Excreção Fecal de Fósforo e Interações Metabólicas entre Minerais

Segundo Hays e Swenson (1988), o fósforo presente nos alimentos é absorvido principalmente no intestino delgado, em particular no duodeno; a quantidade absorvida depende da fonte, da proporção entre cálcio e fósforo, do pH intestinal, e dos níveis dietéticos de cálcio, fósforo, vitamina D, ferro, alumínio, manganês e gorduras (HIBBS; CONRAD, 1983; HORST, 1986; NRC, 1989). Os primeiros autores afirmaram que conforme ocorre com a maioria dos nutrientes, quanto maior a necessidade, mais eficaz é a absorção do fósforo. A absorção aumenta, embora não de maneira proporcional, de acordo com o aumento da ingestão do elemento. A absorção do fósforo é facilitada pelo pH intestinal, que é necessário para sua solubilização. Portanto, a secreção gástrica normal de ácido clorídrico ou H^+ é indispensável para que a absorção seja eficaz. O baixo pH duodenal é responsável pela maior absorção nessa parte do corpo.

Segundo Challa e Braithwaite (1988), um fator para a redução da absorção do fósforo ingerido de dietas com baixo teor de fósforo deve ser a alta relação cálcio:fósforo (acima de 5:1) pois resulta na precipitação do fosfato no trato gastrointestinal como sugeriram

Young et al. (1966), Nel e Moir (1974) e Field et al. (1975). Esta precipitação em fosfato de cálcio, entretanto, é pH dependente e com isto ocorre no rúmen sérias conseqüências para atividade microbiana ruminal, afetando a digestibilidade da matéria seca. Estes problemas já não ocorrem no intestino delgado, que é o local de absorção do fósforo e do cálcio, porque o pH é baixo neste local havendo uma redissolução do fosfato de cálcio, disponibilizando-os para a absorção.

Conforme Barcellos (1998), a fração do fósforo da dieta que é absorvida, constitui a absorção verdadeira, enquanto que a diferença entre o fósforo consumido e o fósforo nas fezes, representa a absorção aparente. Após entrar na corrente sanguínea, de modo semelhante em ruminantes ou não ruminantes, o fósforo circula parte ligado em uma proteína transportadora, parte complexado e parte na forma ionizada, indo pela circulação porta até o fígado, onde é redistribuído para os diferentes tecidos alvo. Parte desse fósforo passa para a saliva se integrando ao circuito de reciclagem. O balanço de fósforo é finalmente estabelecido entre a retenção líquida de fósforo nos ossos e tecidos moles, a retenção no útero gravídico e o fósforo necessário para a produção de leite. No controle desse balanço estão envolvidos vários mecanismos.

Nos herbívoros a rota primária de excreção de fósforo é a via fecal, sendo um importante mecanismo de controle da homeostasia do elemento. Nas fezes, o fósforo aparece em duas frações: fósforo da dieta que não foi absorvido e o fósforo endógeno, sendo o último principalmente de origem salivar. As perdas endógenas fecais representam a forma mais importante de perda de fósforo nos ruminantes.

A maior via de excreção endógena ou exógena de fósforo em vacas leiteiras são as fezes e o fósforo secretado no leite; pequena quantidade é excretado através da urina, visto que os rins não são a principal via de excreção de fósforo (HIBBS; CONRAD, 1983; HORST, 1986; LOMBA et al., 1969). A quantidade de excreção renal de fósforo é normalmente por volta de 2 mg/kg de peso vivo, ou menos, em bovinos adultos. Os rins atuam filtrando uma porção de fluídos no sangue e então os nutrientes, os quais o corpo deseja reter, incluindo o fósforo, são reabsorvidos a partir destes fluídos. Em condições normais, quando o fósforo sanguíneo está muito elevado, ocorre uma superioridade na capacidade de reabsorção dos túbulos renais, e parte do fósforo é excretado pela urina. Quando o animal é alimentado com dietas à base de concentrados com alta porcentagem de grãos (alta concentração de fósforo), ocorre uma considerável perda de fósforo pela urina.

Dados encontrados por Silva Filho et al. (2000) de excreção de fósforo nas fezes foram em média de 4,50, 6,35 e 8,05 g/dia, para os tratamentos que consistiram de diferentes quantidades de fosfato bicálcico em níveis de 0,12, 0,24 e 0,36% de P (com base na dieta basal), respectivamente, para novilhos da raça Nelore. A suplementação de fósforo causou um aumento na excreção de fósforo fecal, linear com o aumento do fósforo

consumido. Isto também foi reportado por Scott et al., 1985; Challa e Braithwaite, 1988 e Zahari et al., 1994.

O uso de equações de regressão para a estimativa do consumo de fósforo em bovinos a pasto através da quantificação de fósforo excretado nas fezes já foi estudado por Moir (1960), Cohen (1974) e Holechek et al. (1985). Todos os trabalhos obtiveram diferentes equações de regressão por várias causas, entre elas raças, categoria e tipos de forrageiras ingeridas.

Níveis de fósforo em amostras de fezes colhidas do reto inferiores a 0,12% na matéria seca são considerados indicadores de deficiência por pesquisadores australianos (RESORCE CONSULTING SERVICES, 1986) e têm auxiliado no manejo da suplementação de fósforo.

Díaz González (2000) afirma que a ingestão em excesso de cálcio e fósforo pode causar diminuição da absorção intestinal de outros minerais como o magnésio, manganês e cobre. A absorção de Zinco é favorecida pelo magnésio, fosfatos e vitamina D, e pode ser afetada pela interação exercida por outros elementos como cálcio, cobre e ferro.

Na Figura 1 pode-se observar um esquema do fluxo de fósforo em ruminantes, a partir do modelo de Braithwaite (1984) e Schneider et al. (1987) adaptado para bovinos.

Sendo:

1. Secreção de P na saliva (P_{sec})
2. Absorção de P da dieta (P_a) + absorção do P da saliva (P_d)
3. Deposição de P nos ossos e tecidos moles
4. Reabsorção de P dos ossos e tecidos moles
5. P fecal, oriundo do P não absorvido da dieta ($P_i - P_a$) e o P não absorvido da saliva ($P_{sec} - P_d$), este último é considerado como o P fecal endógeno (P_{fe}), isto é $P_{fe} = P_{sec} - P_d$.

Figura 1. Esquema do metabolismo do fósforo em ruminantes, adaptado de Braithwaite (1984) e Schneider et al. (1987)

2.5 Metabolismo Ruminal e Digestão em Bubalinos

Lundri e Razdan (1981) observaram que o pH no rúmen não sofreu alteração em bubalinos e bovinos alimentados com quatro níveis de proteína na ração, correspondendo a 100%, 80%, 60% e 40% da exigência em proteína digestível para a manutenção, e o pH nunca ultrapassou a 7,0, sendo maior no rúmen dos bubalinos.

Souza et al. (2000a), utilizaram quatro bubalinos e quatro bovinos adultos com fístulas ruminais alimentados com quatro níveis crescentes de FDN na MS (54, 60, 66 e 72%), sobre as suas características de fermentação ruminal. Os bubalinos apresentaram valor médio de pH no rúmen (6,78) maior que dos bovinos (6,58). Houve efeito da interação tempo x espécie na concentração de amônia do líquido ruminal somente após 2 horas da alimentação da manhã, onde os bubalinos obtiveram média de 31,76 mg% e os bovinos de 27,74 mg%.

Paliwal e Sagar (1990) relataram o pico de amônia em duas horas após a alimentação, em quatro dietas (14%PB), maior para os bubalinos, o que indica uma maior atividade proteolítica no rúmen de bubalinos que no de bovinos, fato este confirmado por BHATIA et al. (1992).

Zanetti et al. (1995) utilizaram uma ração composta de feno de Coast cross, fubá de milho e farelo de algodão com 9,91 %PB, coletaram líquido ruminal em 2, 4, 6 e 8 horas após a alimentação da manhã e verificaram que os bubalinos apresentaram maiores valores de amônia (17,18 mg/100ml) que os bovinos (11,93mg/100ml). Não houve interação tempo x espécie e o nível de amônia ruminal aumentou significativamente nas primeiras duas horas após a alimentação, diminuindo a seguir.

De acordo com a literatura consultada, não foi encontrado dados sobre a influência da concentração de fósforo no metabolismo ruminal em bubalinos.

A busca de métodos mais simples para determinação da digestibilidade conduziu ao uso de marcadores que podem proporcionar uma série de informações, como a quantidade ingerida de alimentos ou nutrientes específicos, a taxa de passagem da digesta através de todo o trato digestivo e a digestibilidade de todo o alimento ou nutrientes específicos.

Os marcadores podem ser externos ou internos. Entre os marcadores externos, o mais freqüentemente utilizado é o óxido de cromo (KOTB; LUCKEY, 1972). Altas recuperações fecais de óxido de cromo (Cr_2O_3) têm sido relatadas por vários autores que concluíram que ele permite estimativas de coeficientes de digestibilidade semelhantes àqueles obtidos por coleta total de fezes (CROSS et al., 1971; FAICHNEY, 1972; LIMA et al., 1980).

Souza et al. (2000b) utilizando quatro níveis de FDN (%MS) na dieta com duas espécies (bubalinos e bovinos) observaram que os valores resultantes da digestão com uso de marcador proporcionaram uma interação entre as espécies e os níveis de FDN para o coeficiente de digestibilidade da MS. Não foram notados efeitos de espécies sobre o coeficiente de digestibilidade da FDN, que sofreu influência apenas dos níveis de FDN. No coeficiente de digestibilidade da PB não houve diferença significativa para espécie ou para os níveis de FDN.

No estudo de Argawala e Nath (1980), quantificaram o efeito do nível e fonte de suplementos de fósforo na ingestão, digestão de nutrientes e utilização de energia em búfalos machos adultos relataram que os níveis crescentes de fósforo (7 a 19 gramas de fósforo ou 0,105 a 0,284% de fósforo na MS por animal por dia) não afetaram ($P>0,05$) a digestibilidade da MS, PB, EE, FB, extrativo não nitrogenado e carboidratos totais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e Local

Foram utilizados quatro búfalos (*Bubalus bubalis*), machos inteiros, da raça Mediterrâneo, com peso médio inicial de 650 kg e peso final médio de 620 kg (este último após 16 horas de jejum), fistulados no rúmen com cânulas de látex de 10 cm de diâmetro. Os animais foram mantidos em baias individuais contendo comedouro e bebedouro automático, localizadas no Setor Experimental de fistulados da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Campus da USP de Pirassununga. A colocação das cânulas no rúmen foi realizada dentro das técnicas adequadas de procedimento cirúrgico, mantendo os animais bem adaptados a elas com a devida manutenção higiênica e sanitária. O período experimental foi de 1º de Julho a 20 de Outubro de 2003, compreendendo um total de 112 dias.

Antes do início do experimento, os animais foram tratados com vermífugo, vacinados contra febre aftosa e receberam suplementação de complexo vitamínico A, D e E, por meio de injeção intramuscular.

3.2 Tratamentos e Manejo Alimentar

Durante todo período experimental, os búfalos foram alimentados com volumoso exclusivo de cana de açúcar picada, fornecida duas vezes ao dia (8h e 16h) na quantidade total de aproximadamente 20 kg de matéria original por animal. As sobras da cana de açúcar foram retiradas e pesadas antes do trato da manhã, sendo que quando na ocorrência de grande quantidade de sobras era reduzida a quantidade fornecida. A quantidade

fornecida dos quatro concentrados testados era de 1 kg por dia por animal sendo fornecido no período da manhã.

A cana de açúcar era colhida de área próxima ao local experimental a cada dois dias sendo picada no momento do fornecimento aos animais.

Os tratamentos consistiam da ingestão total de fósforo na dieta. Para tanto, foram formulados quatro concentrados contendo níveis crescentes de fósforo, utilizando-se o fosfato bicálcico como fonte de fósforo. Para manter um nível baixo de ingestão de fósforo, utilizou-se de ingredientes pobres em fósforo na composição da dieta total.

Dessa forma, os tratamentos foram designados de P8, P12, P15 e P18, representando os níveis aproximados de ingestão total de fósforo na dieta, ou seja, 8, 12, 15 e 18 g/dia/animal.

O concentrado utilizado foi fornecido pela indústria de Manufaturação de Produtos para Alimentação Animal PREMIX Ltda., a composição dos concentrados fornecidos está descrita na Tabela 1. Os componentes das rações foram analisados bromatologicamente segundo o método descrito por Silva (1990) para os cálculos de ingestão de nutrientes e minerais, estes valores constam na Tabela 2.

Apesar de ter sido utilizado como fonte de fósforo o fosfato bicálcico que provem também o cálcio, tendo assim com os níveis crescentes de fósforo, níveis crescentes de cálcio, este estudo teve como foco principal às influências do fósforo sobre o metabolismo ruminal e digestão por não haver uma grande diferença na relação Ca:P que ficou entre 2,5:1 a 3,5:1.

A composição do concentrado encontra-se na Tabela 1 e a sua composição química e bromatológica pode ser observada na Tabela 2.

TABELA 1 - Composição dos concentrados utilizados em porcentagem

Concentrados	Ingredientes (%)					
	Levedura	Uréia	Polpa cítrica	Germem de milho	Fosfato bicálcico	Veículo
C0	20	8	37	30	0,000	5,000
C1	20	8	37	30	1,357	3,643
C3	20	8	37	30	3,244	1,756
C5	20	8	37	30	4,912	0,088

TABELA 2 – Teores de proteína, fibra em detergente neutro, energia bruta e minerais dos componentes das rações e as relações cálcio:fósforo, com base na matéria seca

Componentes das rações	MS (%)	PB (%)	FDN (%)	EB (cal/kg)	P (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (%)	K (%)	S (%)	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Relação Ca:P
Volumoso (V)															
Cana de açúcar	31,07	2,63	49,29	432,94	0,05	0,18	0,09	TR	0,24	0,06	396,92	TR	3,41	58,69	3,6:1
Concentrado (C)															
C 0	86,65	44,58	16,42	367,10	0,60	2,09	0,28	0,20	1,17	0,19	580,45	58,28	205,42	42,70	3,5:1
C 1	86,65	43,93	18,40	367,57	1,03	2,65	0,31	0,32	1,34	0,27	580,45	82,52	240,05	49,05	2,6:1
C 3	86,15	46,47	18,90	381,08	1,50	3,42	0,32	0,38	1,18	0,30	752,09	100,99	302,38	57,46	2,3:1
C 5	86,80	43,90	16,82	369,46	1,76	4,52	0,50	0,37	1,23	0,45	783,96	86,98	297,81	195,28	2,6:1
Ingestão Total (C+V)															
P8	37,23	7,87	43,75	412,39	0,12	0,42	0,11	0,03	0,36	0,07	407,06	7,38	28,93	55,00	3,5:1
P12	40,09	9,24	44,61	424,61	0,21	0,58	0,13	0,05	0,42	0,09	426,26	13,17	41,25	57,43	2,8:1
P15	40,34	9,36	45,75	431,13	0,29	0,71	0,13	0,06	0,39	0,09	401,60	16,49	51,84	61,08	2,5:1
P18	40,89	9,62	44,51	426,97	0,34	0,92	0,16	0,06	0,41	0,12	465,76	14,67	53,14	82,52	2,7:1

Obs: TR = traços.

3.3 Delineamento Experimental

O experimento foi realizado seguindo o modelo de delineamento em Quadrado Latino 4 x 4 (GOMES, 1985) correspondendo a quatro níveis de ingestão de fósforo e quatro sub-períodos, conforme esquema mostrado na Tabela 3. Foram realizadas, ainda, medidas repetidas no tempo, as quais corresponderam às coletas de líquido e conteúdo ruminal ao longo do dia.

TABELA 3 - Esquema dos tratamentos aplicados nos búfalos no delineamento em Quadrado Latino 4 x 4, com 4 animais e 4 sub-períodos

Bubalinos	1	2	3	4
Sub-período I	P8	P12	P15	P18
Sub-período II	P12	P15	P18	P8
Sub-período III	P18	P8	P12	P15
Sub-período IV	P15	P18	P8	P12

Cada sub-período experimental foi constituído de 28 dias compreendendo de 14 dias de adaptação e 14 dias de período de coleta de dados.

Os dados obtidos foram analisados em programa computacional de estatística (SAS Institute Inc., 1985), as médias do tratamentos foram testadas com Tukey a 5%. Os dados referentes ao pH, as concentrações de amônia no líquido ruminal e as concentrações de minerais no conteúdo ruminal foram adicionados do fator medidas repetidas no tempo, referentes aos diversos momentos de colheita entre as refeições. Tal análise foi realizada utilizando-se o comando "repeated" gerado pelo procedimento do modulo GLM (PROC GLM do SAS), a separação por contrastes foi baseada na média de todos os tempos de amostragem.

3.4 Parâmetros Ruminiais

Concentração de amônia (NH_3) no líquido ruminal foi determinada por método de reação fenol-hipoclorito de colorimetria, conforme técnica descrita por Kulasek (1972) e adaptada por Foldager (1977). No 28º dia de cada sub-período, foram realizadas as amostragens do líquido ruminal em 0, 2, 8 e 10 horas após alimentação. O pH ruminal foi

determinado imediatamente após a coleta de amostras com medidor de pH digital, fazendo-se uma curva nesses mesmos tempos.

A taxa de passagem do líquido ruminal foi determinada utilizando-se do polietilenoglicol (PEG) como marcador segundo o método de Russel et al. (1982). Cem gramas de PEG foram introduzidas no rúmen de cada animal no 15º dia de cada sub-período, retirando-se amostras nos tempos 0, 1 e 24 horas após, para dosagem da concentração do PEG/ml de líquido ruminal utilizando o espectrofotômetro a 500 nm.

Após serem feitas as regressões e cálculos para a determinação da taxa de passagem de líquidos e do volume no rúmen, foram feitos os cálculos para a determinação de quantidade de conteúdo ruminal e estimativa da taxa de passagem de sólidos de acordo com Alexander et al. (1969) e Waner e Stacy (1968), utilizando as seguintes fórmulas:

$$\text{Total de água no rúmen} = \frac{\text{VR}}{\text{Y}}$$

Onde: VR = Volume ruminal determinado pelo PEG

Y = é calculado pela equação de regressão seguinte

$$Y = 96,10 - 1,239 * X, \text{ para volumosos}$$

Onde: Y = Porcentagem de água disponível

X = Porcentagem de matéria seca

A quantidade total de conteúdo no rúmen:

$$\text{Total de conteúdo ruminal} = \frac{\text{Total de água no rúmen}}{\% \text{ água} = (100 - \% \text{MS})}$$

$$\text{Taxa de passagem de sólidos} = \frac{\text{kg MS ingerido / hora}}{\text{kg MS total no rúmen}}$$

3.5 Quantificação de Minerais no Conteúdo Ruminal

As amostras de conteúdo ruminal foram obtidas de três diferentes locais no rúmen, formando uma amostra de cada animal no 28º dia de cada sub-período, com amostragens realizadas nos tempos 0, 2, 8, e 10 horas após a alimentação da manhã. As amostras de cada tempo foram ensacadas devidamente etiquetadas e congeladas à -10 °C.

No final do experimento, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e colocadas em bandejas de alumínio para a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 65 °C por 72 horas. Em seguida, foram trituradas em moinho de tipo Wiley em peneira de 1 mm e acondicionadas em saquinhos de plástico para posterior análise dos seguintes minerais: P, Ca, Mg, Na, K, Fe, Cu, S, Zn e Mn. As determinações de macro e micro elementos minerais foram realizadas conforme técnicas descritas por Silva (1990), sendo que a solução mineral para determinação de macro e micro elementos foi preparada pela digestão em via úmida. Após as devidas diluições, o teor de P foi determinado por colorimetria; o teor de S pelo método Turbidimetria do Sulfato de Bário; os teores de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn, em espectrofotometria de absorção atômica e os de Na e K, em espectrofotometria de chama.

Para a estimativa da concentração dos minerais no conteúdo ruminal utilizaram-se os valores obtidos do total de matéria seca estimada no conteúdo ruminal, conforme descrito no item 3.4.

3.6 Digestibilidade com Marcador e Estimativa da Excreção de Minerais nas Fezes

A digestibilidade pelo uso de marcador foi determinada conforme técnica descrita por Silva et al (1968) com a introdução no rúmen de 15 gramas de óxido de cromo, dividido em duas vezes ao dia, do 16º ao 24º dia, e as amostragens de fezes de cada período foram feitas diariamente no período da manhã (entre 7h30 às 8h) e no período da tarde (entre 3h:30 às 4h), do 21º ao 25º dia. As fezes foram retiradas diretamente do reto do animal e acondicionadas em um único saco plástico por período por animal, em porções aproximadas de 150 g por coleta, as quais foram imediatamente armazenadas em congelador à -10 °C.

As amostras de fezes foram descongeladas em temperatura ambiente no final do período de coleta, homogeneizadas manualmente, retiradas alíquotas de aproximadamente de 500 gramas por animal e colocadas em bandejas de alumínio para a pré-secagem em

estufa de ventilação forçada a 65 °C por 72 horas. Em seguida, foram moídas em moinho tipo Wiley com peneira de 1 mm e acondicionadas em saquinhos de plástico para posterior análise.

Para a determinação do teor de cromo nas fezes foi feita uma digestão via úmida das amostras e posterior foi feita a leitura no espectrofotômetro de absorção atômica.

Nas fezes foram determinados as porcentagens de MS, FDN, PB e EB e os seus coeficientes de digestibilidade e foram feitas as determinações das concentrações de P, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn. e Zn para a determinação da quantidade excretada dos mesmos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ingestão de Matéria Seca e Digestibilidade

O peso médio metabólico dos animais teve uma pequena variação ao longo do experimento em função dos tratamentos, sendo observados os valores de 128,55, 126,92, 124,50 e 124,02 kg^{0,75} para os tratamentos P8, P12, P15 e P18, respectivamente.

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) na ingestão de matéria seca do volumoso, da dieta total, ou em g/kg^{0,75} entre tratamentos (Tabela 4 e Figura 2). Uma das causas para não ter sido observado o provável aumento do consumo do volumoso com o aumento da ingestão de níveis crescentes de fósforo, pode ser por não haver um nível de ingestão de fósforo inferior a 7 gramas por animal por dia que seria um nível deficiente segundo Agarwala e Nath (1980), isto é, um nível que não suplanta-se as exigências nutricionais dos búfalos machos adultos em manutenção. Outra causa possível seria o período curto de experimento com sup-períodos de 28 dias. Com nível mais baixo de ingestão de fósforo ao longo de mais semanas poderia ser verificado uma diminuição no consumo de matéria seca conforme citado por Gartner et al. (1982).

Houve um baixo consumo médio diário de matéria seca da ração total pelos animais (45,85 g/kg^{0,75}). A quantidade de matéria seca consumida de uma determinada ração, independente de forma que é expressa, refletindo de alguma maneira a qualidade do alimento oferecido ao animal (MOLETTA; RESTLE, 1992). Portanto, o baixo consumo de MS verificado neste estudo, certamente pode ser atribuído à elevada proporção de volumoso da dieta (85,5% da MS oferecida) de baixa qualidade como a cana de açúcar. Em bubalinos em crescimento, porém alimentados com dieta de melhor qualidade (com maiores proporções de concentrado) em confinamento, são relatados maiores consumos de matéria seca: Velloso et al. (1994) de 91,39 g de MS/kg^{0,75} e Franzolin et al. (2001) de 89,06 a 95,79 g de MS/kg^{0,75}. Em dietas à base de cana de açúcar contendo 30% de concentrado para bubalinos, Moletta e Restle (1992) e Polli et al (1996) observaram ingestões de 76,61 e 57,20 de MS/kg^{0,75}, respectivamente.

Segundo Kearn (1982) após ampla revisão sobre a ingestão de matéria seca em bubalinos, adotou o valor médio de 97,4 g de MS/kg^{0,75} de ingestão de matéria seca em animais em crescimento, consumindo rações com concentração energética de 2,5 Mcal/kg MS.

TABELA 4 – Ingestão diária média de matéria seca total (kg) em bubalinos com dietas contendo diferentes níveis de fósforo

	Tratamentos			
	P8	P12	P15	P18
Ingestão de MS de cana de açúcar (kg)	4,75	5,01	4,84	5,02
Ingestão de MS total diária (kg)	5,62	5,88	5,71	5,88
Ingestão de MS (g/kg ^{0,75})	43,65	46,34	45,70	47,70

Não houve diferenças significativas entre tratamentos (P > 0,05).

FIGURA 2 – Ingestão média diária de matéria seca das rações (g/kg^{0.75}) em bubalinos com dietas contendo diferentes níveis de fósforo

Os resultados apresentados na Tabela 5 e Figura 3 mostram os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente neutro (CDFDN), coeficiente de digestibilidade da proteína (CDPB) e coeficiente de digestibilidade da energia bruta (CDEB) para bubalinos em dietas com diferentes níveis de fósforo.

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para o CDMS e para o CDPB, corroborando com Agarwala e Nath (1980) que utilizaram níveis de 7 a 19 g de P por dia em bubalinos e não concordando com Bass et al. (1981) que obtiveram diferenças significativas ($P<0,05$) para o CDMS com médias de 0,33% e 0,51% para níveis de 5,9 e 11,9 g/d de P ingerido respectivamente, em vacas de corte em lactação com 16 semanas de experimento e Gartner et al. (1982) que observaram um significativo ($P<0,01$) decréscimo para CDPB com valores médios de 49,9% e 36,3% para ingestões diárias de 6,7 e 18,6 g de P respectivamente, em vacas Hereford.

Para o CDFDN não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos, sendo isto também relatado por Witt e Owens (1983) que forneceram 9,5 e 18,3 g de P por dia para bovinos adultos. Porém, Milton e Ternouth (1985) obtiveram diferenças significativas ($P<0,05$) para as médias de 0,47%, 0,49% e 0,46% do CDFDN para os tratamentos: baixa concentração de P no rúmen com baixa concentração de P no sangue (BRBS), alta concentração de P no rúmen com alta concentração de P no sangue (ARAS) e baixa concentração de P no rúmen com alta concentração de P no sangue (BRAS) respectivamente, em carneiros.

Não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) nos coeficientes de digestibilidades da energia bruta entre os tratamentos, confirmando os resultados esperados já que os níveis de fósforo não influenciam o nível energético das rações.

TABELA 5 – Valores médios dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), da fibra em detergente neutro (CDFDN), da proteína (CDPB) e da energia bruta (CDEB) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

	Tratamentos			
	P8	P12	P15	P18
CDMS (%)	88,68	89,89	89,76	88,77
CDFN (%)	46,27	49,20	56,85	41,84
CDPB (%)	66,05	70,50	73,41	71,10
CDEB (%)	66,54	67,71	71,32	63,90

Não houve diferenças significativas entre tratamentos ($P > 0,05$).

FIGURA 3 – Valores médios do coeficiente de digestibilidade da matéria seca, da fibra em detergente neutro, da proteína e da energia bruta em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

4.2 Parâmetros Ruminais

Os valores médios de pH de líquido ruminal obtidos nos diferentes tempos de amostragens encontram-se apresentados na Tabela 6 e as curvas de pH nos diferentes tratamentos podem ser visualizadas na Figura 4. Não houve diferença significativas entre tratamentos ($P>0,05$). Houve efeito altamente significativo ($P<0,0001$) do tempo de amostragem, indicando queda do pH após os arraçoamentos principalmente após o primeiro.

O pH médio do líquido ruminal de 7,45 mostrou-se alto e superior ao valor máximo observado dentro da variação de pH ruminal de ruminantes alimentados com diversos tipos de alimentos, que é de 5,5 a 7,0 de acordo com Dehority (2003) e também superior ao mínimo recomendado de 6,70 por Mould et al. (1983) para não haja queda na taxa de degradação da fibra. Isso deve ter sido reflexo de uma alta produção de saliva devido a baixa qualidade do volumoso, ou seja, a cana-de-açúcar. De fato, Polli et al. (1996) observaram em bovinos e bubalinos, tendência de maior tempo de mastigação por bolo alimentar e de forma mais lenta em dieta à base de cana-de-açúcar do que à base de silagem de milho.

TABELA 6 – Valores médios do pH do líquido ruminal em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

	Tratamentos				Médias
	P8	P12	P15	P18	
Tempo 0	7,96	7,85	7,81	7,70	7,83
Tempo 2	7,69	7,49	7,48	7,54	7,55
Tempo 8	7,42	7,39	7,27	7,25	7,33
Tempo 10	7,12	7,05	7,12	7,07	7,09
Médias Totais	7,55	7,45	7,42	7,39	7,45

Efeito do tratamento não significativo ($P=0,1728$)

Efeito do tempo significativo ($P<0,0001$)

Efeito da interação tratamento*tempo não significativo ($P=0,9846$)

FIGURA 4 – Curvas diárias do pH médio do líquido ruminal em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

Os valores médios da concentração de amônia no líquido ruminal nos diferentes tempos de amostragens podem ser observados na Tabela 7, assim como as curvas diárias na Figura 5. Não houve diferenças significativas ($P>0,05$) entre tratamentos, mas houve efeito altamente significativo para o tempo de amostragem ($P<0,0001$), sendo esta variabilidade comum em ruminantes alimentados de forma intermitente (MEHRES et al., 1977). Alguns fatores podem influenciar este parâmetro, entre eles a metodologia de coletas e análises laboratoriais e tipo da dieta (WOHLT et al., 1976). Essa variabilidade foi visivelmente notada após duas horas do arraçoamento da manhã. O alto pico de concentração de amônia observado nesse ponto (média de 35,31 mg/ 100 mL), refletiu o efeito da ingestão do concentrado, já que o mesmo apresentou teor médio de 44,72% de PB na MS. O valor médio observado no líquido ruminal (13,37 mg/100 mL) está próximo ao verificado por Zanetti et al. (1995) em bubalinos (17,18mg/100ml) que também observaram aumento significativo de amônia no rúmen com duas horas após a alimentação.

Os valores médios encontrados nos tempos amostrados, apresentaram-se, via de regra, menores do que os valores de amônia recomendados por Satter e Slyter (1974), Preston e Leng (1987), Pisulewski et al. (1981) e Van Soest (1994), correspondentes a 5,0 mg%, 8,0 mg%, 9,6 mg% e 10,0 mg/%, respectivamente, para o máximo crescimento microbiano, com exceção em 2 horas após a primeira alimentação. Isso indica um sistema de alimentação deficiente com excesso de nitrogênio para a síntese microbiana em T2 e deficiência em outros períodos ao longo do dia. Portanto, somente em duas horas após o arraçoamento matinal, o nível de amônia ruminal foi superior à 24 mg% definidos por Mehres et al. (1977) para máximo desaparecimento do substrato no rúmen, embora estes autores citaram não ser necessário manter, de forma constante, altas concentrações de amônia no líquido ruminal.

O mínimo ingerido de fósforo por animal por dia, em torno de 8 gramas, encontra-se dentro do requerimento mínimo estabelecido para o metabolismo dos microrganismo do rúmen de acordo com Anderson et al., (1956).

TABELA 7 – Valores médios de concentração de amônia (mg%) do líquido ruminal em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

	Tratamentos				Médias
	P8	P12	P15	P18	
Tempo 0	5,32	6,05	7,13	6,53	6,26
Tempo 2	36,34	34,88	37,38	32,66	35,31
Tempo 8	8,67	5,14	7,66	4,21	6,42
Tempo 10	5,75	4,50	6,75	4,89	5,47
Médias Totais	14,02	12,64	14,73	12,07	13,37

Efeito do tratamento não significativo ($P=0,0573$)

Efeito do tempo significativo ($P<0,0001$)

Efeito da interação tratamento*tempo não significativo ($P=0,7814$)

FIGURA 5 – Concentrações médias de amônia (mg%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira refeição, em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

A dinâmica no rúmen mostrou uma rápida taxa média de passagem do líquido ruminal conforme pode-se observar na Tabela 8, não existindo diferenças significativas ($P>0,05$) entre tratamentos. Não foi também observadas diferenças significativas ($P>0,05$) no volume ruminal em litros (L) e em $\text{mL/kg}^{0,75}$ (Figura 6) entre os diferentes níveis de ingestão de fósforo pelos animais. Milton e Ternouth (1985) e Petri et al. (1988) também não verificaram diferenças na taxa de passagem de líquido e no volume ruminal.

Não houve diferenças significativas ($P>0,05$) para a estimativa da taxa de passagem de sólidos. A média da taxa de passagem de sólidos no rúmen foi de 0,02/h considerada

lenta e refletindo as ingestões de rações com alto nível de volumoso (85%), corroborando com as informações citadas pelo ARC (1980) para ruminantes consumindo volumoso de baixa qualidade.

TABELA 8 – Valores médios das taxas de passagem de líquido e de sólidos no rúmen e do volume ruminal em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

	Tratamentos			
	P8	P12	P15	P18
Taxa de Passagem de Líquido por hora	0,096	0,090	0,092	0,086
Taxa de Passagem de Líquido por dia	2,30	2,16	2,21	2,07
Taxa de Passagem de Sólidos por hora ¹	0,022	0,020	0,020	0,018
Taxa de Passagem de Sólidos por dia ¹	0,53	0,47	0,49	0,42
Volume Ruminal (L)	59,14	70,10	61,31	74,99
Volume Ruminal mL/kg ^{0,75}	457,22	552,40	491,51	607,43

Não houve diferenças significativas entre tratamentos ($P > 0,05$)

¹Estimativas calculadas a partir da taxa de passagem de líquido ruminal e do teor de matéria seca determinado no rúmen

FIGURA 6 – Valores médios do volume ruminal mL/kg^{0,75} em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

4.3 Concentração no Rúmen, Excreção e a Absorção Aparente de Minerais

Os macrominerais (P, Ca, Mg, Na, K e S) quantificados em porcentagens da matéria seca do conteúdo ruminal estão apresentados na Tabela 9, e os microminerais (Fe, Cu, Zn e Mn) em miligramas por quilograma da matéria seca do conteúdo ruminal estão apresentados na Tabela 10.

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para nenhum mineral em sua concentração na matéria seca do conteúdo ruminal para os tratamentos estudados.

A concentração média obtida de fósforo no conteúdo ruminal foi de 0,98% na matéria seca enquanto que a concentração de fósforo nas rações variou de 0,12 a 0,34%. Esta diferença pode ser explicada principalmente pela reciclagem do fósforo através da saliva, demonstrando que mesmo com ingestões diferentes de fósforo, a saliva mantém a concentração alta de fósforo no rúmen. Não podemos afirmar com os dados obtidos qual seria o mínimo, nem o máximo para que esta constante se altere.

As concentrações de sódio e de potássio no conteúdo ruminal variaram inversamente nos tempos antes dos arraçoamentos e duas horas após, respectivamente. Assim, no T8 (antes do arraçoamento da tarde) a concentração média de sódio no conteúdo ruminal era de 2,03% da MS e a de potássio era de 0,75% da MS e no T2 (2 horas após arraçoamento da tarde) a concentração de sódio era em média de 0,98% da MS e a do potássio em média de 2,24% da MS. Esta variação deve ter ocorrido devido à adição da saliva ao conteúdo ruminal que segundo Bailey e Balch (1961) o sódio e o potássio respondem inversamente a taxa de secreção salivar, que dizer, quando ocorre um aumento da taxa de secreção salivar aumenta a concentração de sódio e diminui a concentração de potássio na saliva e vice-versa.

Pode-se inferir dos dados obtidos no trabalho que os búfalos tiveram um comportamento de alta taxa de secreção salivar nos momentos da alimentação e que a taxa de secreção salivar foi baixa após 2 horas da alimentação.

TABELA 9 – Valores médios das concentrações de macro minerais (% na MS) no conteúdo ruminal em bubalinos com ingestão de quatro diferentes níveis de fósforo nas rações

Macro minerais	Tempos (h)	Tratamentos			
		P8	P12	P15	P18
Fósforo	T0	1,02	1,08	1,04	0,99
	T2	0,95	0,93	0,95	0,99
	T8	0,84	0,84	0,83	0,88
	T10	1,06	1,12	1,07	1,13
	Média	0,97	0,99	0,97	1,00
Cálcio	T0	0,34	0,40	0,42	0,35
	T2	0,33	0,30	0,31	0,31
	T8	0,24	0,25	0,27	0,31
	T10	0,49	0,45	0,45	0,37
	Média	0,35	0,35	0,36	0,33
Magnésio	T0	0,08	0,08	0,09	0,08
	T2	0,08	0,08	0,08	0,08
	T8	0,07	0,07	0,08	0,08
	T10	0,10	0,09	0,09	0,10
	Média	0,08	0,08	0,09	0,08
Sódio	T0	1,84	2,04	2,01	1,94
	T2	1,35	1,43	1,37	1,41
	T8	2,02	2,04	2,01	2,04
	T10	0,95	0,95	0,98	1,05
	Média	1,54	1,61	1,59	1,61
Potássio	T0	0,97	1,01	1,04	0,96
	T2	1,81	1,81	1,90	1,85
	T8	0,75	0,73	0,74	0,77
	T10	2,25	2,23	2,19	2,28
	Média	1,45	1,45	1,47	1,46
Enxofre	T0	0,09	0,10	0,09	0,09
	T2	0,08	0,08	0,08	0,08
	T8	0,09	0,09	0,09	0,10
	T10	0,11	0,12	0,11	0,11
	Média	0,09	0,10	0,09	0,09

Não houve diferenças significativas entre tratamentos ($P > 0,05$) e também na interação Tratamento*Tempo ($P > 0,05$).

TABELA 10 – Valor médios das concentrações de micro minerais (mg/kg de MS) no conteúdo ruminal em bubalinos com ingestão de quatro diferentes níveis de fósforo nas rações

Micro minerais	Tempos (h)	Tratamentos			
		P8	P12	P15	P18
Ferro	T0	248,97	255,26	255,23	244,32
	T2	312,78	263,40	288,38	274,09
	T8	311,35	310,52	292,68	295,63
	T10	328,40	298,14	336,42	310,67
	Média	300,38	281,83	293,18	281,18
Cobre	T0	14,48	17,13	16,60	19,50
	T2	16,82	17,10	20,39	20,71
	T8	20,15	22,62	23,05	26,71
	T10	18,94	20,01	22,64	23,32
	Média	17,59	19,21	20,67	22,56
Zinco	T0	36,79	43,36	41,91	46,26
	T2	43,03	47,52	49,56	52,61
	T8	44,16	52,66	43,87	59,79
	T10	41,92	44,83	51,68	52,51
	Média	41,48	47,09	46,75	52,79
Manganês	T0	20,11	19,83	18,68	23,40
	T2	22,24	21,25	24,20	28,73
	T8	21,87	22,89	22,74	33,59
	T10	24,82	23,54	28,49	32,09
	Média	22,26	21,88	23,52	29,45

Não houve diferenças significativas entre tratamentos ($P > 0,05$) e também na interação Tratamento*Tempo ($P > 0,05$).

Os dados da quantidade média da ingestão, da excreção fecal e da absorção aparente em gramas para os macrominerais ou miligramas para os microminerais estão demonstrados na Tabela 11.

A elevação dos níveis de fósforo na ingestão causou aumentos na excreção fecal de fósforo e na absorção aparente de fósforo dando equações lineares ($P < 0,01$) (Figura 7).

No tratamento P8 houve maiores valores de excreção de fósforo nas fezes do que de fósforo ingerido resultando na absorção negativa aparente em média de -0,88 gramas por dia. Como o nível de ingestão de fósforo não influenciou na concentração de fósforo no rúmen, isto indica que este nível de ingestão (P8) foi suficiente para não afetar negativamente a digestibilidade de nutrientes. Este mecanismo poderia permitir que o animal se mantivesse em boas condições por algum período em deficiência de fósforo. Em animais jovens em crescimento este tipo de perda poderá ser mais grave (WITT; OWENS, 1983).

Houve excreção linear ($P < 0,01$) fecal diária de cálcio e de magnésio com os níveis crescentes de ingestão de fósforo. Ressalta-se, porém que pode ter ocorrido influência dos níveis de ingestões também crescentes de cálcio embora os tratamentos ficaram dentro de uma faixa pequena da relação Ca:P. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) na absorção aparente do cálcio e também do magnésio (Figuras 8 e 9).

Na excreção fecal diária e na absorção aparente do ferro (Figura 10) e do cobre (Figura 11), não foram detectadas diferenças estatísticas ($P > 0,05$), mesmo tendo ocorrido aumento da excreção fecal do cobre para os tratamentos e uma queda acentuada na sua absorção aparente para o nível P18, o que pode ter sido causado pelo excesso de cálcio ingerido neste nível.

Foram observados efeitos quadráticos ($P < 0,05$) para a excreção fecal de zinco e manganês e também para a absorção aparente do zinco ($P < 0,01$) (Figura 12) em função da ingestão desse elemento mineral pelos animais. A variação da absorção aparente do zinco pode ter sido devido ao fato de que com o aumento na ingestão de fósforo (P8, P12 e P15) houve aumento na absorção de zinco, mas no nível P18 a concentração alta de cálcio ingerido pode ter prejudicado a absorção do zinco e conseqüentemente houve aumento da sua excreção fecal, concordando com as achados de Diaz González (2000). Não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre os tratamentos para a absorção aparente do manganês (Figura 13).

TABELA 11 – Quantidade de macro e micro minerais nos quatro níveis de fósforo (P8, P12, P15 e P18) das rações na ingestão diária, média do conteúdo ruminal, excreção fecal diária e absorção aparente diária em bubalinos

	Raões	P (g)	Ca (g)	Mg (g)	Na (g)	K (g)	S (g)	Fe (mg)	Cu (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
Ingestão diária total	P8	7,78	26,55	6,65	1,73	21,39	4,46	2364,00	50,50	193,98	312,12
	P12	11,59	31,69	7,05	2,77	23,24	5,25	2426,62	71,50	224,53	326,94
	P15	15,32	37,32	6,68	3,27	20,64	5,20	2379,33	86,99	275,38	305,51
	P18	17,99	48,13	8,79	3,21	22,54	6,87	2642,09	75,50	275,35	459,55
Quantidade média no Conteúdo ruminal	P8	102,52	37,81	8,76	159,20	162,55	9,74	3170,21	223,26	460,55	241,50
	P12	124,74	45,53	10,02	199,60	183,31	12,58	3511,98	247,04	588,48	275,41
	P15	112,48	40,66	9,73	182,84	173,20	10,60	3363,78	273,08	537,49	273,61
	P18	135,98	45,55	11,66	217,34	205,07	12,71	3867,01	282,73	710,23	395,84
Quantidade média Excretada nas fezes	P8	8,66 b	14,74 b	0,96 b	*	*	*	880,29	32,79	176,91 b	209,94 ab
	P12	11,59 ab	19,49 b	1,58 b				940,81	35,77	175,60 b	209,24 ab
	P15	13,99 a	20,55 ab	1,62 b				890,74	43,68	166,61 b	172,00 b
	P18	14,59 a	29,44 a	3,04 a				1050,11	53,70	222,52 a	269,80 a
Digestibilidade Aparente (Ingerido – Excretado nas fezes)	P8	-0,88 b	11,81	5,68				1483,71	17,71	17,07 b	102,18
	P12	0,00 ab	12,19	5,47				1485,81	35,73	48,93 b	117,70
	P15	1,33 ab	16,77	5,03				1488,59	43,31	108,77 a	133,51
	P18	3,45 a	18,69	5,75				1591,98	21,80	52,83 b	189,75

* Análises não realizadas.

Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Valores não seguidos por letras não diferem entre si ($P < 0,05$).

FIGURA 7 – Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de fósforo diária (g) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

FIGURA 8 – Valores médios totais da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de cálcio diária (g) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

FIGURA 9 – Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de magnésio diária (g) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

FIGURA 10 – Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de ferro diária (mg) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

FIGURA 11 – Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de cobre diária (mg) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

FIGURA 12 – Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de zinco diária (mg) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

FIGURA 13 – Valores médios da ingestão, excreção nas fezes e absorção aparente de manganês diária (mg) em bubalinos com ingestão de quatro níveis diferentes de fósforo nas rações

Na Tabela 12 estão apresentadas as equações de regressão determinadas da ingestão de fósforo em função da excreção fecal do mesmo, juntamente com as mesmas equações observadas por Holechek et al. (1985) e Cohen (1974) obtidas com bovinos. A regressão obtida pode ser visualizada na Figura 14.

TABELA 12 – Regressões lineares usando fósforo ingerido($\text{g/kg}^{0,75}$) como variável dependente (X) e fósforo excretado nas fezes ($\text{g/kg}^{0,75}$) como a variável independente (Y) em bubalinos alimentados com níveis diferentes de fósforo

Equação de Regressão	¹ N	² R ²
$Y = 0,03 + 0,610 * X$	4	0,98
$Y = 0,03 + 0,613 * X$	16	0,83
HOLECHEK et al. (1985)		
$Y = 0,86 + 1,871 * X$	6	0,92
$Y = -0,29 + 1,449 * X$	33	0,71
COHEN (1974)		
$Y = 0,51 + 0,294 * X$	11	0,96

¹N = Número de observações; ²R² = Coeficiente de determinação

Equação de regressão: $Y = 0,03 + 0,613 * X$

Onde: Y = Quantidade de fósforo excretado nas fezes diariamente em gramas por quilograma de peso vivo metabólico.

X = Quantidade de fósforo ingerido diariamente em gramas por quilograma de peso vivo metabólico.

FIGURA 14 – Relação entre fósforo ingerido (g/kg^{0,75}) e fósforo excretado nas fezes (g/kg^{0,75}) em bubalinos alimentados com níveis diferentes de fósforo

5 CONCLUSÕES

Com base nas condições em que este trabalho foi desenvolvido, podem ser enumeradas as seguintes conclusões:

- 1) Ingestões de níveis crescentes de fósforo na dieta de 8 a 18 gramas por animal por dia em bubalinos adultos não influenciam o pH, a concentração de amônia, o volume e a taxa de passagem do líquido ruminal; as concentrações de minerais no conteúdo ruminal (P, Ca, Mg, Na, K, S, Fe, Cu, Zn e Mn) e os coeficientes de digestibilidade da MS, FDN, PB e EB.
- 2) Há excreção linear de fósforo nas fezes em função ao fósforo ingerido da dieta, podendo ser estimada pela equação de regressão $Y = 0,03 + 0,610 * X$, onde Y é a quantidade de fósforo excretado nas fezes diariamente em g/kg^{0,75} e X é a quantidade de fósforo ingerido diariamente em g/kg^{0,75}.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWALA, O.N.; NATH, K. Note on the effect of level and source supplements on feed intake, digestion of nutrients and energy utilization in buffalo bulls. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v.50, n.11, p.993-995, 1980.

AGARWALA, O.N.; NATH, K.; MAHADEVAN, V. Phosphorus requirement of buffalo. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.76, p.83, 1971.

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. Technical Committee on Responses to Nutrients. A reappraisal of the calcium and phosphorus requirements of sheep and cattle. **Nutrition Abstracts and Reviews**: series B livestock feeds and feeding, Aberdeen, v.61, n.9, p.573-612, 1991.

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL. **The nutrient requirement of farm livestock**. London: Commonwealth Agricultural Bureau, 1965. p.14-84.

_____. **The nutrient requirements of ruminant livestock**. Slough, U.K.: Commonwealth Agricultural Bureau, 1980. 351p.

ALEXANDER, C.L.; MEYER, R.M.; BARTLEY, E.E. Effect of quantity of rumen dry matter and other factors on determinations of rumen fluid volume with polyethylene glycol. **Journal of Animal Science**, Albany, v.29, p.69-74, 1969.

ANDERSON, R.; CHENG, R.; BURROUGHS, W. A laboratory technique for measuring phosphorus availability of feed supplements fed to ruminants. **Journal of Animal Science**, Albany, v.15, p.489, 1956.

BAILEY, C.B.; BALCH, C.C. Saliva secretion and its relation to feeding in cattle. 1. The composition and rate of secretion of parotid saliva in a small steer. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.15, n.3, p. 371-383, 1961.

BARCELLOS, J.O.J. O papel do fósforo na nutrição de bovinos de corte. In: DIAZ GONZALEZ, F.H.; OSPINA, H.; BARCELLOS, J.O.J. (Ed.). **Nutrição mineral em ruminantes**. 2.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1998. p.23-72.

BASS, J.M. The effects of supplementary phosphorus on the voluntary consumption and digestibility of a low phosphorus straw-based diet given to beef cows during pregnancy and early lactation. **Journal of Agricultural Science**, v.97, p.365-372, 1981.

BHATIA, S.K., PRADHAN, K., SINGH, R. et al. Effect of feeding wheat straw and oat on rumen microbial and enzymatic activities in cattle and buffalo. **Indian Journal Animal Science**, v.62, n.4, p.364-368, 1992.

BOIN, C. Exigências de minerais pelas categorias do rebanho bovino e funções desses nutrientes. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 3., 1985, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1985. p.15-46.

BRAITHWAITE, G.D. Some observations on phosphorus homeostasis and requirements of sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.102, p.295-306, 1984.

CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G.D. Phosphorus and calcium metabolism in growing calves with special emphasis on homeostasis. 1. Studies of the effects of changes in the dietary phosphorus intake and calcium metabolism. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.110, n.3, p.573-581, 1988.

COHEN, R.D.H. Phosphorus nutrition of beef cattle. 4. The use of fecal and blood phosphorus for the estimation of phosphorus intake. **Australian Journal Experimental Agricultural Animal Husbandry**, v.14, p.709-715, 1974.

CROSS, D.L.; BOLING, J.A.; BRADLEY, N.W. Chromic oxide and crude protein excretion in the bovine as influenced by water restriction. **Journal of Animal Science**, Albany, v.36, n.5, p.982-985, 1971.

DEHORITY, B.A. **Rumen microbiology**. Nottingham University Press, Nottingham, UK, 2003, 372p.

DIAZ GONZÁLEZ, F.H. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: DIAZ GONZÁLEZ, F.H.; BARCELLOS, J.O.; RIBEIRO, L.A.O. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.31-51.

ENGELHARDT, W.V.; HAUFFE, R. Role of the omasum in absorption and secretion of water and electrolytes in sheep and goats. In: McDONALD, I.W.; WARNER, A.C.I. (Ed.). **Digestion and metabolism in the ruminant**. Armidale: University of New England, 1975. p.216-230.

FAICHNEY, G.J. An assessment of chromic oxide as an indigestible marker for digestion studies in sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.79, n.3, p.493-499, 1972.

FIELD, A.C.; SUTTLE, N.F.; NISBET, D.I. Effects of diets low in calcium and phosphorus on the development of growing lambs. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.85, p.435-442, 1975.

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

FRANZOLIN, R. Características fisiológicas do sistema digestivo e da digestão microbiana em ruminantes. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM NUTRIÇÃO MINERAL DE BOVINOS, 1996, Pirassununga. Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos-USP, 1996. p.3-10. Apostila.

FRANZOLIN, R.; SILVA, J.R.; OCAMPOS, D. Níveis de energia na dieta para bubalinos em crescimento alimentados em confinamento. 1. Desempenho e bioquímica de nutrientes sanguíneos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1872-1879, 2001.

GARTNER, J.W.; MURPHY, G.M.; HOEY, W.A. Effects of induced, subclinical phosphorus deficiency, on feed intake and growth of beef heifers. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.98, p.23-29, 1982.

GARTON, G.A. Observations on the distribution of inorganic phosphorus, soluble calcium and soluble magnesium in the stomach of the sheep. **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v.28, p.358-368, 1951.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: ESALQ, 1985. 467p.

GONÇALVES, L.C. **Digestibilidade, composição corporal, exigências nutricionais e características das carcaças de zebuínos, taurinos e bubalinos**. 1988. 238f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1988.

HAYS, V.W.; SWENSON, M.J. Minerais e ossos. In: SWENSON, M.J. (Ed.). **DUKES/ Fisiologia dos animais domésticos**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p.397-427.

HIBBS, J.W.; CONRAD, H.R. The relation of calcium and phosphorus intake and digestion and the effects of vitamin D feeding on the utilization of calcium and phosphorus by lactating dairy cows. **Research Bulletin**, Ohio Agricultural Experimental Station, Wooster, p.1150, 1983.

HOLECHEK, J.L. et al. Evaluation of fecal indices for predicting phosphorus status of cattle. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.40, p.489-492, 1985.

HORST, R.L. Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.69, p.604, 1986.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminant in development countries**. Section 10. Domestic buffalo. Utah State University, Logan, Utah, USA, 1982, p.89-113.

KOMISARCZUK, S.; MERRY, R.J.; McALLAN, A.B. Effect of different levels of phosphorus on rumen microbial fermentation and synthesis determined using a continuous culture technique. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.57, p. 279-290, 1987.

KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. **Nutrition Abstract Review**, Aberdeen, v.42, n.3, p.813-845, 1972.

KULASEK, G.A. A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood and blood cells using urease and phenol reagent. **Polskie Archiwum Weterynaryjne**, Warszawa, v.15, n.4, p.801-810, 1972.

LANGWINSKI, D.; OSPINA, H. **A nutrição de ruminantes e os complexos orgânicos de minerais**. Rio Grande do Sul: UFRGS, 2001. 52p.

LIMA, M.A.; VIANA, I.A.C.; RODRIGUES, N.M. O uso do óxido crômico para estimar a excreção fecal de novilhos zebus em pastejo. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.9, n.2, p.188-202, 1980.

LOMBA, F. et al. Statistical research on the fate of dietary mineral elements in dry and lactating cows. III. Phosphorus. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.73, p.215, 1969.

LOUVANDINI, H. **Perda endógena de fósforo em ovinos suplementados com diferentes níveis do elemento na dieta**. 1995. 87 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 1995.

LUNDRI, R.S.; RAZDAN, M.N. Effect of variable amount of dietary nitrogen on pH, VFA and total and particulate nitrogen in the rumen of cow and buffaloes. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.34, n.3, p.272-277, 1981.

MACKIE, R.I.; THERION, J.J. Influence of mineral interactions on growth efficiency of rumen bacteria. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HERBIVORE NUTRITION IN THE SUBTROPICS ON TROPICS, 1983. **Proceedings...** 1983.

MEHRES, A.Z.; ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. Rates fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.38, n.3, p.437-443, 1977.

MILTON, J.T.B.; TERNOUTH, J.H. Phosphorus metabolism in ruminants. II. Effects of inorganic phosphorus concentration upon food intake and digestibility. **Australian Journal Agricultural Research**, Melbourne, v.36, p.647-654, 1985.

MOIR, K.B. Nutrition of grazing cattle. 2. Estimation of phosphorus and calcium in pasture selected by grazing cattle. **Queensland Journal Agricultural Science**, Brisbane, v.17, p.373-383, 1960.

MOLETTA, J.L.; RESTLE, J. Desempenho em confinamentos de novilhos de diferentes grupos genéticos. **Ciência Rural**, v.22, n.2, p.227-233, 1992.

MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R.; MANN, S.O. Associative effects of mixed feeds. 1. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.10, p.15-30, 1983.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Committee on Animal Nutrition (EUA). **Nutrient requirements of beef cattle**. 5.ed. Washington DC: Natl. Acad. Sci., 1976. 56p.

_____. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6th ed. rev. Washington DC: Natl. Acad. Sci., 1989. 157p.

NEL, J.W.; MOIR, R.J. The effect of ruminal and duodenal application of different levels of calcium and phosphorus to sheep on semi-purified diets. **South African Journal of Animal Science**, Pretoria, v.4, p.1-20, 1974.

OSPINA, H.; PRATES, E.R.; BARCELLOS, J.O.J. A suplementação mineral e o desafio de otimizar o ambiente ruminal para digestão de fibra. In: BARCELLOS, J.O.J.; OSPINA, H.; PRATES, E.R. (Ed.). **Suplementação mineral de bovinos de corte**. Porto Alegre: UFRGS, 1999. p.37-60.

PALIWAL, V.K.; SAGAR, V. Effect of dietary fiber protein on rumen microbial fermentation in cattle and buffalo. **Journal of Animal Science**, New Delhi, v.60, n.1, p.66-70, 1990.

PARTHASARATHY, D.; GARTON, G.A.; PHILLIPSON, A.T. The passage of phosphorus across the rumen epithelium of sheep. **Biochemical Journal**, London, v.52, xvi, 1952.

PETRI, A. et al. Response of lactating goats to low phosphorus intake. 2. Nitrogen transfer from rumen ammonia to rumen microbes and proportion of milk protein derived from microbial amino acids. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.111, p.265-271, 1988.

POLLI. et al. Aspectos relativos à ruminação de bovinos e bubalinos em regime de confinamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.5, p.987-993, 1996.

PRESTON, T.R.; LENG, R.A. **Ruminant production systems**. Queensland, 1987. 245p.

RESORCE CONSULTING SERVICES (Australian). **A review of phosphorus requirements of grazing cattle in North Australia**. Darwin, 1986. 12p.

RUSSEL, R.W. et al. Evaluation of turbidimetric determination of polyethylene glycol. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.65, p.1798-1803, 1982.

SAS INSTITUTE INC. **SAS user's guide: statistics**. Cary, NC: SAS Institute Inc, 1985. v.5.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration of rumen microbial protein production in vitro. **British Journal Nutrition**, Cambridge, v.32, p.199-203, 1974.

SCARISBRICK, R.; EWER, T.K. The absorption of inorganic phosphate from the rumen of the sheep. **Biochemical Journal**, London, v.49, lxxix, 1951.

SCHNEIDER, K.M.; BOSTON, R.C.; LEAVER, D.D. Quantification of phosphorus excretion in sheep by compartmental analysis. **American Journal Physiology**, Bethesda, v.252, p.720-731, 1987.

SCOTT, D. et al. The effect of variation in phosphorus intake on salivary phosphorus secretion, net intestinal phosphorus absorption and faecal endogenous phosphorus excretion in sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.105, p.271-277, 1985.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1990. 165p.

SILVA, J.F.C.; CAMPOS, J.; CONRAD, J.H. Uso do óxido cromo na determinação da digestibilidade. **Experientiae**, Viçosa, v.1, n.8, p.1-10, 1968.

SILVA FILHO, J.C. et al. Exigência mínima de fósforo em novilhos da raça Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.9, p.1861-1865, 2000.

SOUZA, N.H. et al. Efeitos de níveis crescentes de fibra em detergente neutro na dieta sobre a fermentação ruminal em bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.5, p.1562-1573, 2000a.

_____. Efeitos de níveis crescentes de fibra em detergente neutro na dieta sobre a digestão ruminal em bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.5, p.1574-1586, 2000b.

SPEBER, I.; HYDEN, S. Transport of chloride through the rumen mucosa. **Nature**, London, v.169, p.587, 1952.

TOKARNIA, C.H. et al. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos – revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.19, n.2, p.47-62, 1999.

UNDERWOOD, E.J. **Los minerales en la alimentación del ganado**. Zaragoza: Acribia, 1969. 320p.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Cornell University Press, New York, USA, 1994, 476p.

VELLOSO, L. et al. Desempenho comparativo de zebuínos Nelore e bubalinos Mediterrâneos em regime de confinamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.23, n.2, p.236-241, 1994.

WANER, A.C.I.; STACY, B.C. The fate of water in the rumen. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.22, p.369-387, 1968.

WITT, K.E.; OWENS, F.N. Phosphorus: ruminal availability and effects on digestion. **Journal Animal Science**, v.56, n.4, p.930-937, 1983.

WOHLT, J.E.; CLARK, J.H.; BLAISDELL, F.S. Effect of sampling location, time and method of concentration of ammonia nitrogen in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.59, n.3, p.459-464, 1976.

YOUNG, V.R.; LOFGREEN, G.P.; LUICK, J.R. The effects of phosphorus depletion, and of calcium and phosphorus intake, on the endogenous excretion of these elements by sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.20, p.795-805, 1966.

ZAHARI, W.M. et al. The effect of high phosphorus retention and bone turnover in growing lambs. **Experimental Physiology**, Cambridge, v.79, p.175-181, 1994.

ZANETTI, M.A. et al. Níveis de amônia ruminal em bovinos da raça Nelore e em búfalos da raça Mediterrâneo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32., 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: SBZ, 1995. p.351-352.