UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TERESA CRISTINA ALVES

**Desenvolvimento ponderal, características da carcaça e
eficiência da nutrição energética e protéica no
metabolismo ruminal de búfalos e produção de gases *in*
*vitro***

Pirassununga

2010

TERESA CRISTINA ALVES

**Desenvolvimento ponderal, características da carcaça e
eficiência da nutrição energética e protéica no
metabolismo ruminal de búfalos e produção de gases *in
vitro***

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

Área de concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Orientador: Raul Franzolin Neto

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

A474d Alves, Teresa Cristina
Desenvolvimento ponderal, características da carcaça e eficiência da nutrição energética e protéica no metabolismo ruminal de búfalos e produção de gases *in vitro* / Teresa Cristina Alves. -- Pirassununga, 2010. 146 f.
Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo. Departamento de Zootecnia.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.
Orientador: Prof. Dr. Raul Franzolin Neto.

1. Bubalinos 2. Degradabilidade 3. Energia 4. Produção de gases *in vitro* 5. Proteína 6. Rúmen. I. Título.

A vocês, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade.

Que iluminaram os caminhos obscuros com afeto e dedicação para que eu os trilhassem sem medo e cheia de esperança.

Que se doaram inteiros e renunciaram aos seus sonhos, para que, muitas vezes, eu pudesse realizar os meus

A vocês, João Batista Alves e Zilda Luíza Mariano Alves, o mínimo que posso fazer para demonstrar todo meu amor e gratidão é dedicar esse trabalho.

Há um ditado que diz que irmãos a gente não escolhe. Mas se pudesse não teria escolhido melhor, cada um com sua particularidade...

É com amor e admiração que ofereço a vocês, meus irmãos Ana Carolina Alves e João Paulo Mariano Alves esse trabalho.

Amo vocês!

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Raul Franzolin Neto pelos ensinamentos, pela orientação, confiança, paciência e amizade.

Ao Prof. Ives Claudio da Silva Bueno pelo auxílio na implantação da metodologia de produção de gases no Laboratório de Metabolismo Ruminal do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP, pela execução de análises estatísticas, pela disposição em sanar minhas dúvidas.

À Prof. Angélica Simone Cravo Pereira pela realização das análises de carcaça e carne.

Ao Prof. Augusto Hauber Gameiro pelo apoio, confiança e amizade.

Aos funcionários do setor de fistulados da FZEA Alexandre João Bueno do Prado, Lúcio André Zanquetin, Manoel dos Santos e Ricardo Galeni pela amizade, disposição e principalmente pelo auxílio na condução dos experimentos.

Aos funcionários do setor de Bubalinocultura da CCPS, Edgar Pavão e José Antonio Cuel, pelo auxílio e disposição durante todo o período experimental.

À Técnica em Laboratório Priscila Sales Maldonado, pelo auxílio na execução de experimento e amizade.

Ao especialista em laboratório Raphael Jacir Corradini Júnior, do Laboratório de Proteína pela amizade, apoio e auxílio na execução das análises laboratoriais.

À especialista em laboratório Roseli Sengling Lacerda e auxiliar de Laboratório Rosilda Clarete Motta Loure do Laboratório de Bromatologia, pelo apoio na execução das análises laboratoriais e amizade.

Ao especialista em laboratório José Aparecido da Cunha, do Laboratório de minerais auxílio na execução de análises laboratoriais.

Aos estagiários Daflin Fernanda Mello, Laura Berwerth, Samuel Farina e João Augusto Franco Leonel pela colaboração na condução do experimento e nas análises laboratoriais.

À minha irmã Ana Carolina Alves pela amizade, paciência e auxílio na condução dos experimentos.

Aos meus familiares pelo apoio e incentivo em todos os momentos. Principalmente ao meu avô Antônio Alves e minha avó Maria Tavares Alves que estão sempre torcendo pela realização dos netos. A minha avó Rita Luiza da Silva que tenho certeza que esta muito orgulhosa com essa conquista.

Aos meus primos "irmãos" Du, Dri, Rê, Paulo, Ana Julia, Matheus e Gabriel, por compartilharem comigo ótimos momentos.

À minha afilhada Ana Julia, pelo simples fato de existir.

À amiga Fabiana Sakamoto, pelo incentivo e apoio, principalmente nos momentos difíceis.

Aos meus amigos de Pirassununga: Alessandra, Daniele, Regina, Nathan pelo companheirismo e apoio.

Ao amigo Rinaldo Rodrigues pelos ensinamentos, apoio, incentivo.

À Zilda, José Lauro e Raquel pela amizade e apoio.

Ao Thiago Santana pelo incentivo, amizade e bons momentos compartilhados.

Aos colegas de pós-graduação pela amizade e incentivo em especial o Felipe, Letícia, Nancy, Liliane, Rosana, José Esler, Arthur e Rinaldo.

À minha companheira de todos os momentos Lua e ao meu novo companheiro Bruce, pela companhia, bagunça...

Aos meus ex-colegas de trabalho e ex-alunos, e especial à Poli, Marcy, Rodrigo e L. Marcela.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

“Ser e ter são verbos auxiliares, e fazer um verbo principal. Por isso no final das nossas vidas, o bom Deus não vai nos perguntar “o que você era ou o que você teve na vida?”, mas, sim, “o que você fez da sua vida?”.”

Robert Wong

Resumo

ALVES. T. C. **Desenvolvimento ponderal, características da carcaça e eficiência da nutrição energética e protéica no metabolismo ruminal de búfalos e produção de gases *in vitro***. 2010. 146 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

Com o objetivo de estudar a espécie bubalina quanto ao desempenho de machos do nascimento ao abate em regime de pastejo e as características de carcaça em dois pesos de abate, assim como o metabolismo ruminal de dietas com diferentes níveis de proteína e energia e a produção de gases *in vitro*. O presente trabalho apresenta avaliações realizadas em quatro partes. A parte 1 foi realizada com 17 búfalos em crescimento criados a pasto, do nascimento até atingirem dois pesos distintos de abate (517 e 568 kg). Para a avaliação do desempenho foram realizadas medições do peso vivo, perímetro torácico, altura de cernelha e comprimento corporal. As avaliações das características da carcaça e carne foram determinação do rendimento de carcaça quente e fria, perda no resfriamento, peso da gordura, peso do fígado, temperatura e pH da carcaça, área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea, marmorização, maciez e coloração. A segunda parte avaliou dietas com três níveis de proteína (9%, 12% e 15%) no metabolismo ruminal. Os itens analisados foram: consumo de nutrientes, pH, N-amoniaco e ácidos graxos de cadeia curta no rúmen e degradabilidade *in situ*. Na parte 3, foram avaliadas dietas com dois níveis de proteína (9 e 15%) e dois de energia (65 e 69% NDT) no metabolismo ruminal. Além dos itens avaliados na parte 2 foram ainda analisados a digestibilidade com uso de marcador, taxa de passagem e volume de líquido ruminal e síntese de proteína microbiana. Na última parte foi realizada avaliação de produção de gases *in vitro* com estudo da cinética da degradabilidade *in vitro* no tempo de 72 horas. Os animais abatidos com diferentes pesos apresentaram desenvolvimento ponderal diferenciado desde o início do crescimento. Não houve diferença entre os dois grupos de animais nas características de carne e carcaça, mas os búfalos abatidos mais pesados (568 kg) apresentaram maior deposição de gordura interna. Níveis de proteína de 9%, 12% e 15% não influenciaram na degradabilidade *in situ* dos nutrientes e no pH ruminal. A

concentração de N-amoniaco e AGCC foram maiores com níveis de 15% de proteína na dieta. Os níveis de energia (alta ou baixa) combinados com teores de proteína (alto ou baixo) não promoveram efeitos sobre o pH ruminal, concentração de N-amoniaco, taxa de passagem de líquido e volume ruminal em búfalos. Entretanto, dieta com teor de 15% de proteína bruta, independente dos níveis de energia apresentaram melhores degradabilidades efetivas dos nutrientes. Os níveis de energia não influenciaram a concentração N-amoniaco ruminal ao contrário dos níveis de proteína em que a maior quantidade de proteína na dieta produziu maior concentração de N-amoniaco. Não houve diferença na taxa de passagem e volume ruminal entre as quatro dietas fornecidas aos animais. Dietas com diferentes níveis de energia e proteína não influenciaram na qualidade do inóculo para a produção de gases *in vitro*.

Palavras-chave: bubalinos; degradabilidade; energia; produção de gases *in vitro*; proteína; rúmen

Abstract

With the aim of studying the buffalo on the performance of males from birth to slaughter in buffalo grazing and carcass characteristics in two slaughter weights, as well as the metabolism of diets with different levels of protein and energy and the production of gases in vitro, this work presents evaluations conducted in four parts. Part 1 was performed with buffalo raised in pasture from birth until they reach two different slaughter weights (517 and 568 kg). Performance assessments were performed with measurement of body weight, chest girth, height and body length and evaluations of carcass characteristics and meat with determining the hot and cold carcass, the cooling loss, fat weight, liver weight, temperature and pH of the carcass, ribeye area, fat thickness, marbling, tenderness and color. The second part evaluated diets with three protein levels (9%, 12% and 15%) on rumen metabolism. Items discussed were the amount of nutrients, pH, ammonia and volatile fatty acids in the rumen and degradability in situ. In Part 3, were evaluated diets with two protein levels (9 and 15%) and two energy (65 and 69% of TDN) on rumen metabolism. Besides the items evaluated in Part 2, were also analyzed the digestibility, passage rate and ruminal volume and rumen microbial protein synthesis. In the last part was done evaluation of gas production in vitro with study of the kinetics of degradation in 72 hours. Animals slaughtered at different weights showed differential weight performance since the beginning of growth. There were no differences between the two groups of animals on meat and carcass characteristics, but the buffaloes slaughtered heavier (568 kg) had higher deposition of internal fat. Protein levels of 9%, 12% and 15% did not influence the in situ degradability of nutrients and rumen pH. The concentration of ammonia and VFA levels were higher with 15% protein diet. Energy levels (high or low) combined with protein levels (high or low) and the correlations between the levels of energy and protein did not cause significant effects on rumen pH, ammonia concentration, liquid passage rate and ruminal volume in buffalo, however, dietary content of 15% crude protein, independent of the energy levels in the diet showed better effective degradability of nutrients. Energy levels did not significantly modify the rumen ammonia concentration unlike the protein levels where in the higher protein diet resulted in higher ammonia concentration. There was no significant difference in passage rate and ruminal volume between the four diets

fed to the animals. Diets with different levels of energy and protein did not influence the quality of inoculum for the gas production in vitro.

Keywords: buffaloes; degradability, energy, rumen gas production , microbial protein synthesis, rumen

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Crescimento dos tecidos em função da idade do animal	24
Figura 2 - Esquema do metabolismo de proteína em ruminantes	33
Figura 3 - Pesagem dos animais.....	49
Figura 4 - Medição do perímetro torácico.....	49
Figura 5 - Medição da altura de cernelha	50
Figura 6 - Medição do comprimento corporal	50
Figura 7 – Pesagem da gordura interna (A), do fígado (B), da carcaça (C) e medição de pH e temperatura da carcaça (D).	51
Figura 8 - Medição da área de olho de lombo	52
Figura 9 - Medição da espessura de gordura subcutânea	52
Figura 10 - Análise de escore de marmorização da carne de acordo com as escala da USDA	53
Figura 11 - Avaliação da coloração das amostras de carne.....	54
Figura 12 - Análise de maciez da carne no aparelho de Warner Bratzler Shear Force	55
Figura 13 - Amostragem de líquido ruminal para quantificação de AGCC e NH ₃	61
Figura 14 - Animais em experimento alocados em baias individuais	61
Figura 15 - Verificação da pressão de gás.....	70
Figura 16 - Peso vivo dos búfalos mantidos a pasto do nascimento aos 750 dias....	75
Figura 17 – Perímetro torácico dos búfalos mantidos a pasto do nascimento aos 750 dias.....	75
Figura 18 – Comprimento Corporal dos búfalos mantidos a pasto do nascimento aos 750 dias.....	76
Figura 19 – Altura de Cernelha dos búfalos mantidos a pasto do nascimento aos 750 dias.....	76
Figura 20- Regressão do peso em função da idade em bubalinos da raça Mediterrâneo em pastagem de Brachiaria brizantha cv. Marandu ($\text{Peso (kg)} = 69,84 + 0,6455 \cdot \text{Idade(dias)}$; $r^2=0,9970$; $p<0,01$))	78
Figura 21 - Regressão do peso em função do perímetro torácico em bubalinos da raça Mediterrâneo em pastagem de Brachiaria brizantha cv. Marandu ($\text{Peso (kg)} = -368,81 + 4,2915 \cdot \text{P.Torax (cm)}$; $r^2=0,9440$; $p<0,01$)).....	79

Figura 22 - Regressão do peso em função do comprimento corporal em bubalinos da raça Mediterrâneo em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu (Peso (kg) = - 312,56 + 5,6696*C.Corp (cm); $r^2=0,8979$; $p<0,01$)).....	79
Figura 23 - Regressão do peso em função da altura na cernelha em bubalinos da raça Mediterrâneo em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu (Peso (kg) = - 480,02+ 6,7128*Altura (cm); $r^2=0,9241$; $p<0,01$)).....	80
Figura 24 – Curvas de degradação da MS <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen dos diferentes teores de proteína na dieta (9% PB, 12% PB e 15% PB).....	87
Figura 25 - Curvas de degradação da MS <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen dos ingredientes da ração (algodão, milho, soja e silagem de milho)	87
Figura 26 - Curvas de degradação da MO <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen dos diferentes teores de proteína na dieta (9% PB, 12% PB e 15% PB).....	89
Figura 27 - Curvas de degradação da MO <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen dos ingredientes da ração (algodão, milho, soja e silagem de milho)	89
Figura 28 - Curvas de degradação da PB <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen dos diferentes teores de proteína na dieta (9% PB, 12% PB e 15% PB).....	91
Figura 29 - Curvas de degradação da PB <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen dos ingredientes da ração (algodão, milho, soja e silagem de milho)	91
Figura 30 - Curvas de degradação da FDN <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen dos diferentes teores de proteína na dieta (9% PB, 12% PB e 15% PB) ..	92
Figura 31 - Curvas de degradação da FDN <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen da <i>Brachiaria brizantha</i> e silagem de milho.....	93
Figura 32 - Valores médios de pH no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira alimentação, em búfalos recebendo dietas com diferentes teores de proteína.	94
Figura 33 - Concentrações médias de N-amoniaco (mg%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira alimentação, em bubalinos recebendo dietas com 9%, 12% e 15% de proteína.....	96
Figura 34 - Concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e total no líquido ruminal (mM), em bubalinos alimentados com diferentes teores de 9%, 12% e 15% de PB na dieta	97
Figura 35 - Concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e total no líquido ruminal (mM), em diversas horas após a primeira refeição, em bubalinos alimentados com diferentes teores de proteína (9%, 12% e 15%).	98

Figura 36 - Curvas de degradação da MS <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen das dietas BEBP (baixa energia baixa proteína), BEAP (baixa energia alta proteína), AEBP (alta energia baixa proteína) e AEAP (alta energia alta proteína)	101
Figura 37 - Curvas de degradação da MS <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen das amostras incubadas no rúmen (silagem de milho e concentrados 6509: baixa energia baixa proteína, 6515: baixa energia alta proteína, 6909: alta energia baixa proteína e 6915: alta energia alta proteína)	101
Figura 38 - Curvas de degradação da MO <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen das dietas BEBP (baixa energia baixa proteína), BEAP (baixa energia alta proteína), AEBP (alta energia baixa proteína) e AEAP (alta energia alta proteína)	103
Figura 39 - Curvas de degradação da MO <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen das amostras incubadas no rúmen (silagem de milho e concentrados 6509: baixa energia baixa proteína, 6515: baixa energia alta proteína, 6909: alta energia baixa proteína e 6915: alta energia alta proteína)	103
Figura 40 - Curvas de degradação da PB <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen das dietas BEBP (baixa energia baixa proteína), BEAP (baixa energia alta proteína), AEBP (alta energia baixa proteína) e AEAP (alta energia alta proteína)	105
Figura 41 - Curvas de degradação da PB <i>in situ</i> ao longo do tempo de incubação no rúmen das amostras incubadas no rúmen (silagem de milho e concentrados 6509: baixa energia baixa proteína, 6515: baixa energia alta proteína, 6909: alta energia baixa proteína e 6915: alta energia alta proteína)	105
Figura 42 - Valores médios de pH no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira alimentação, em búfalos recebendo dietas com diferentes níveis de energia e proteína (BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína)	107
Figura 43 - Concentrações médias de N-amoniaco (mg%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira alimentação, em bubalinos recebendo dietas com diferentes níveis de energia e proteína (BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína)	110
Figura 44 - Concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e total no líquido ruminal (mM), em bubalinos alimentados com diferentes níveis de proteína e energia	113

Figura 45 - Concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e total no líquido ruminal (mM), em diversas horas após a primeira refeição, em bubalinos alimentados com diferentes níveis proteína e energia.....	113
Figura 46 - Perfis da cinética de fermentação <i>in vitro</i> dos inóculos D6509 (dieta com baixa energia baixa proteína), D6515 (dieta com baixa energia alta proteína), D6909 (dieta com alta energia baixa proteína) e D6915 (dieta com alta energia alta proteína), utilizando como fonte de inóculo líquido ruminal de búfalos alimentados com a dieta correspondente.....	123
Figura 47 - Perfis da cinética de fermentação <i>in vitro</i> do milho em grãos moídos, farelo de soja, farelo de trigo, farelo de algodão e silagem de milho, incubados em diferentes inóculos (6509: dieta com baixa energia baixa proteína, 6515: dieta com baixa energia alta proteína, 6909: dieta com alta energia baixa proteína e 6915: dieta com alta energia alta proteína).....	125

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimentos ao abate observados para búfalos	27
Tabela 2 – Proporção dos ingredientes dos concentrados, expressa na matéria seca (% MS)	56
Tabela 3 - Composição percentual dos ingredientes nas dietas (% MS)	56
Tabela 4 - Composição química bromatológica dos ingredientes dos concentrados (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).	57
Tabela 5 - Composição química bromatológica dos concentrados e da silagem de milho (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).	57
Tabela 6 - Composição química bromatológica das dietas totais (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).	58
Tabela 7 - Proporção dos ingredientes dos concentrados, expressa na matéria seca (% MS)	63
Tabela 8 - Composição percentual dos ingredientes nas dietas (% MS)	63
Tabela 9 - Composição química bromatológica dos ingredientes dos concentrados (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).	63
Tabela 10 - Composição química bromatológica dos concentrados e da silagem de milho (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente	

neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).....	64
Tabela 11 - Composição química bromatológica das dietas totais (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).	64
Tabela 12 - Peso vivo, perímetro torácico, altura de cernelha e comprimento corporal de búfalos machos considerados leves e pesados ao nascimento, 210, 360, 540 e 720 dias.....	74
Tabela 13 – Ganho de peso diário de búfalos machos considerados leves e pesados do nascimento aos 210 dias (PN-P210), dos 210 aos 360 dias (P210-P360), dos 360 aos 540 dias (P360-P540) e dos 540 aos 720 dias (P540-P720).....	77
Tabela 14 - Regressão entre idade, peso, perímetro torácico (P. Tórax), comprimento corporal (C. Corp) e altura de cernelha (Altura) dos animais considerados leves e pesados no momento do abate e de todos os animais (leves e pesados).....	78
Tabela 15 - Valores de rendimento de carcaça quente (RCQ), rendimento de carcaça fria (RCF), perda ao resfriamento (PR), peso da gordura e peso do fígado, pH e temperatura no músculo <i>Longissimus dorsi</i> 1 e 24 horas após o abate, AOL e EGS em búfalos abatidos com peso médio de 517 kg (Leves) e de 568 kg (Pesados)	81
Tabela 16 - Valores das características da carne (marmorização, força de cisalhamento e cor) de bubalinos abatidos com peso médio de 517 kg (Leves) e de 568 kg (Pesados)	83
Tabela 17 - Consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de proteína bruta (CPB), consumo de extrato etéreo (CEE), consumo de carboidratos totais (CCT), consumo de FDN (CFDN), consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF) e consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT) obtidos para as dietas experimentais	85
Tabela 18 – Cinética da degradabilidade ruminal da matéria seca dos níveis de proteína (baixo, médio e alto), e das amostras (farelo de algodão, milho em grãos moídos, farelo de soja e silagem de milho)	86

Tabela 19 - Cinética da degradabilidade ruminal da matéria orgânica dos níveis de proteína (baixo, médio e alto), e das amostras (farelo de algodão, milho em grãos moídos, farelo de soja e silagem de milho)	88
Tabela 20 - Cinética da degradabilidade ruminal da proteína bruta dos teores de proteína (baixo, médio e alto), e das amostras (farelo de algodão, milho em grãos moídos, farelo de soja e silagem de milho)	90
Tabela 21 - Cinética da degradabilidade ruminal da fibra em detergente neutro (FDN) dos teores de proteína (baixo, médio e alto), e das amostras (<i>Brachiaria brizantha</i> e silagem de milho)	92
Tabela 22 - Valores médios do pH no rúmen de búfalos alimentados com dietas contendo diferentes teores de proteína bruta na matéria seca	94
Tabela 23 – Valores médios de N-amoniacal (mg%) no líquido ruminal em bubalinos alimentados com três teores de proteína na dieta total.....	95
Tabela 24 – Concentrações médias de ácido acético (mM e %M), ácido propiônico (mM e %M) e ácido butírico (mM e %M), total (mM) e relação acético:propionico (Ac:Pr) no líquido ruminal em bubalinos alimentados com diferentes teores de proteína e em diferentes tempos de coleta.	97
Tabela 25 - Consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de proteína bruta (CPB), consumo de extrato etéreo (CEE), consumo de carboidratos totais (CCT), consumo de FDN (CFDN), consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF) e consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT) obtidos para as dietas experimentais	99
Tabela 26 - Cinética da degradabilidade ruminal da matéria seca das amostras (silagem de milho e concentrados 6509, 6515, 6909 e 6915) e das dietas (BEBP, BEAP, AEBP e AEAP)	100
Tabela 27 - Cinética da degradabilidade ruminal da matéria orgânica das amostras (silagem de milho e concentrados 6509, 6515, 6909 e 6915) e das dietas (BEBP, BEAP, AEBP e AEAP)	102
Tabela 28 - Cinética da degradabilidade ruminal da proteína bruta das amostras (silagem de milho e concentrados 6509, 6515, 6909 e 6915) e das dietas (BEBP, BEAP, AEBP e AEAP)	104
Tabela 29 - Valores médios de pH e temperatura no rúmen de búfalos em dietas com dois níveis de energia: 65% NDT (BE) e 69% NDT (AE) e dois níveis de proteína: 9% PB (BP) e 15% PB (PA)	106

Tabela 30 - Concentração de N-amoniaco (mg%) no líquido ruminal de búfalos em dietas com dois níveis de energia, 65% NDT (BE) e 69% NDT (AE) e dois níveis de proteína, 9% PB (BP) e 15% PB (AP)	111
Tabela 31 - Concentrações médias de ácido acético (mM e %M), ácido propiônico (mM e %M) e ácido butírico (mM e %M), AGCC total (mM) e relação acético:propionico (Ac:Pr) no líquido ruminal em bubalinos alimentados com diferentes níveis de proteína e energia, e em diferentes tempos de coleta	114
Tabela 32 – Excreção urinária de creatinina, derivados de purinas e estimativa da síntese de proteína microbiana em búfalos alimentados em quatro dietas com diferentes níveis de proteína e energia e com dois teores de proteína (9 e 15%) e com dois níveis de energia (65 e 69% NDT).....	117
Tabela 33 - Valores da taxa de passagem do líquido ruminal (%/hora) de búfalos em dietas com dois níveis de energia: 65% NDT (BE) e 69% NDT (AE) e dois níveis de proteína: 9% PB (BP) e 15% PB (PA)	118
Tabela 34 - Valores do volume do líquido ruminal (L) de búfalos em dietas com diferentes tempos de concentração do marcador (PEG4000) com dois níveis de energia: 65% NDT (BE) e 69% NDT (AE) e dois níveis de proteína: 9% PB (BP) e 15% PB (PA)	119
Tabela 35 - Peso das fezes e digestibilidade calculados utilizando cromo ou FDAi	121
Tabela 36 - Parâmetros do modelo de France et al. (1993) e produções relativas de gases nos inóculos D6509, D6515, D6909 e D6915, utilizando como fonte de inóculo líquido ruminal de búfalos alimentados com a dieta correspondente.	122
Tabela 37 - Parâmetros do modelo de France et al. (1993) e produções relativas de gases nos inóculos 6509, 6515, 6909 e 6915, utilizando como fonte de inóculo líquido ruminal de búfalos alimentados com a dieta correspondente e como substrato milho em grãos moídos, farelo de soja, farelo de trigo, farelo de algodão e silagem de milho.....	124
Tabela 38 - Parâmetros do modelo de France et al. (1993) e produções relativas de gases para os níveis de proteína (alto e baixo) de energia (alto e baixo) e correlações entre níveis de energia e proteína na dieta do animal doador de inóculo	127

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	OBJETIVOS.....	21
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	Aspectos da Bubalinocultura no Brasil.....	22
2.2	Curva de crescimento em bubalinos.....	23
2.3	Características de carcaça em bubalinos	26
2.4	Características físicas da carne.....	30
2.5	Proteína e energia na alimentação de ruminantes	32
2.5.1	Proteína	32
2.5.2	Energia	38
2.5.3	Relação proteína:energia.....	40
2.6	Técnica <i>in vitro</i> de produção de gases	45
3	MATERIAL E MÉTODOS	47
3.1	Parte 1. Avaliação do desenvolvimento ponderal e características de carcaça de bubalinos com dois pesos de abate criados a pasto	47
3.1.1	Local e manejo dos animais experimentais	47
3.1.2	Avaliação do desenvolvimento ponderal e características da carcaça	48
3.1.3	Peso Vivo.....	49
3.1.4	Perímetro Torácico	49
3.1.5	Altura na Cernelha.....	50
3.1.6	Comprimento corporal	50
3.1.7	Rendimento de carcaça	51
3.1.8	Área de olho de lombo (AOL)	52
3.1.9	Espessura de gordura subcutânea (EGS)	52
3.1.10	Índice de Marmorização (IM)	53
3.1.11	Coloração (COR)	53
3.1.12	Maciez da Carne.....	54

3.2	Parte 2. Avaliação de dietas com três níveis de proteína no metabolismo ruminal em bubalinos	55
3.2.1	Animais e local de experimentação	55
3.2.2	Tratamentos e Manejo Alimentar	55
3.2.3	Ingestão de Matéria Seca	58
3.2.4	Degradabilidade <i>in situ</i>	58
3.2.5	pH Ruminal, concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta, N-amoniaco	60
3.3	Parte 3. Avaliação de dietas com diferentes níveis de energia e proteína no metabolismo ruminal em bubalinos	61
3.3.1	Animais e local de experimentação	61
3.3.2	Tratamentos e Manejo Alimentar	62
3.3.3	Ingestão de Matéria Seca	64
3.3.4	Degradabilidade <i>in situ</i>	65
3.3.5	Digestibilidade aparente total.....	65
3.3.6	pH Ruminal concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta, N-amoniaco	67
3.3.7	Síntese de Proteína Microbiana.....	67
3.3.8	Taxa de Passagem e Volume Ruminal de Líquidos	68
3.4	Parte 4. Avaliação da produção de gases <i>in vitro</i> em bubalinos alimentados com diferentes níveis de energia e proteína	69
3.4.1	Determinação da produção de gases	69
3.5	Tratamento dos dados obtidos e análises estatísticas	70
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
4.1	Parte 1. Avaliação do desenvolvimento ponderal e características de carcaça de bubalinos com dois pesos de abate criados a pasto	73
4.1.1	Peso vivo, perímetro torácico, altura de cernelha e comprimento corporal	73
4.1.2	Características de carcaça	80
4.1.3	Características da carne	82
4.2	Parte 2. Avaliação de dietas com três níveis de proteína no metabolismo ruminal em bubalinos	84
4.2.1	Consumo	84
4.2.2	Degradabilidade <i>in situ</i>	85

4.2.3	pH ruminal	93
4.2.4	Nitrogênio Amoniacal ruminal	94
4.2.5	AGCC no rúmen	96
4.3	Parte 3. Avaliação de dietas com diferentes níveis de energia e proteína no metabolismo ruminal em bubalinos	98
4.3.1	Consumo	98
4.3.2	Degradabilidade <i>in situ</i>	99
4.3.3	pH e temperatura ruminal	106
4.3.4	Nitrogênio amoniacal ruminal	108
4.3.5	AGCC no rúmen	112
4.3.6	Síntese de proteína microbiana	115
4.3.7	Taxa de passagem de líquido e volume ruminal.....	118
4.3.8	Digestibilidade Ruminal	120
4.4	Parte 4. Avaliação da produção de gases <i>in vitro</i> em bubalinos alimentados com diferentes níveis de energia e proteína	122
5	CONCLUSÕES	128
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129

1 INTRODUÇÃO

No mundo há aproximadamente 177 milhões de búfalos espalhados por todos continentes, a maioria desses animais se concentram no continente asiático. O Brasil se destaca como maior produtor de búfalos da América do Sul.

Os bubalinos são considerados animais de tripla aptidão produzindo carne, leite e trabalho. No Brasil, o leite de búfala produzido se destina principalmente a produção de derivados, destacando-se a “*mozzarella*”. A cadeia de produção de carne bubalina ainda não é bem estruturada no país, sendo a maioria do produto comercializado como carne bovina. Atualmente esta cadeia está passando por grandes modificações e para melhor exploração do potencial bubalino são necessários avanços, nos estudos sobre desenvolvimento ponderal, nutrição, características de carcaça e melhoramento genético.

O desenvolvimento ponderal indica a capacidade de adaptação dos animais aos mais diversos fatores ambientais. O desenvolvimento do animal é mais bem observado quando, além do peso, são realizadas medidas que avaliam crescimento ósseo, como altura na cernelha ou comprimento corpóreo.

Fatores como genética, idade, sexo e nutrição afetam o rendimento de carcaça e a composição corporal. Dessa forma, as avaliações da carcaça desempenham papel importante no melhoramento genético do rebanho com a definição da melhor época do abate.

A nutrição animal é um fator fundamental para um eficiente desempenho animal. Atualmente ainda há poucas pesquisas sobre o metabolismo ruminal de búfalos, principalmente nas condições brasileiras. Desta forma, dados obtidos com bovinos têm sido extrapolados para bubalinos, resultando em considerável ineficiência alimentar.

As formulações modernas de rações para ruminantes baseiam-se em cálculos feitos a partir da concentração energética do concentrado e da demanda de nitrogênio pelos microrganismos no rúmen para síntese de proteína microbiana. O metabolismo ruminal depende, portanto, da concentração energética e protéica da dieta que influi na retenção de nutrientes. Assim, informações sobre a população

microbiana e o metabolismo de nutrientes no rúmen são fundamentais para a eficiência de alimentação da espécie bubalina.

A importância prática da avaliação da alimentação de ruminantes é essencial uma vez que melhorando a eficiência da alimentação há otimização na utilização dos nutrientes, na produção e no retorno financeiro ao produtor. Além disso, minimizar a excreção de nutrientes e a emissão gases do efeito estufa para o ambiente está ganhando importância na produção animal.

1.1 OBJETIVOS

Objetivou-se avaliar o desempenho de machos bubalinos do nascimento ao abate em regime de pastejo e as características de carcaça, assim como o metabolismo ruminal animais submetidos a dietas com diferentes níveis de proteína e energia e ainda, a produção de gases *in vitro*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos da Bubalinocultura no Brasil

O rebanho bubalino mundial possui cerca de 177 milhões de animais, dos quais 53% encontra-se na Índia, seguido de 15% na China e 13% no Paquistão (BERNARDES, 2006). No Brasil, são aproximadamente 1.132.000 búfalos distribuídos da seguinte maneira pelas diferentes regiões do país: 62,23% no Norte; 10,60% no Nordeste; 9,79% no Sudeste; 11,30% no sul e 6,08% no Centro-Oeste (IBGE, 2007). Entretanto, a Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos estimou no ano de 2006 que o rebanho bubalino brasileiro era de 3 milhões de cabeças (BERNARDES, 2006). De acordo com Bastianeto (2005), essa diferença estatística pode ser explicada pelo fato de alguns produtores cadastrarem os búfalos como bovinos no momento das declarações de vacinação, imposto territorial rural, entrada e abate em frigoríficos. Assim, fica difícil dimensionar o real crescimento do rebanho bubalino, uma vez que o registro de bubalinos se confunde com o de bovinos, resultando na subestimação da dimensão os mesmos (BERNARDES, 2006).

Na última década, o Brasil apresentou crescimento de 54,6% na exportação de carne (ABIEC, 2009), ultrapassando países tradicionalmente líderes, como Austrália, Argentina e Estados Unidos, demonstrando, assim, seu potencial junto ao mercado internacional.

De acordo com Jorge e Andrighetto (2005), a produção mundial de carne bubalina foi de 3,17 milhões de toneladas, destacando-se como principais países produtores a Índia, a China, a Paquistão e a Egito. No Brasil, a carne bubalina ainda não conta com um padrão de identificação nacional tanto de suas características quanto de sua qualidade e 90% de toda produção é comercializada como carne bovina (JORGE, 2004; CORRÊA; TRAMOSO, 2004). Este setor encontra-se em expansão principalmente pelas características nutricionais da carne, pelo atendimento das exigências de qualidade e palatabilidade do consumidor ao mesmo tempo em que garante maior eficiência econômica para o produtor. O Brasil possui extensão territorial e condições adequadas de clima e solo, fatores que são favoráveis para produção. É importante salientar que a cadeia de produção de carne

bubalina está passando por grandes modificações, principalmente nos aspectos relacionados à caracterização, garantia de qualidade e identificação (OLIVEIRA, 2005).

2.2 Curva de crescimento em bubalinos

Uma grande opção e potencial dos búfalos é a produção de carne. Para melhor exploração de bubalinos são necessários avanços em várias áreas e não só ao melhoramento genético do rebanho. A princípio deve-se priorizar estudos detalhados sobre o desenvolvimento corporal do animal, otimizando o ganho de peso, sem deixar de considerar a influência de fatores como raça, sexo, nutrição e peso de abate (GRANT; HELFERICH, 1991; OLIVEIRA, 2005; TRINDADE, 2000).

O peso ao nascer e o desenvolvimento ponderal são características importantes que indicam a capacidade de adaptação dos animais aos mais diversos fatores ambientais. De acordo com Nogueira et al. (1997), os bezerros bubalinos que apresentam maior peso ao nascer, frequentemente, tendem a ganhar peso mais rapidamente antes e depois da desmama.

O desenvolvimento ponderal dos bubalinos representa a capacidade exteriorizada do ganho de peso antes e depois da desmama no local onde o animal vive até atingir a idade adulta. Segundo Moran (1992), o ganho de peso após a desmama demonstra o vigor de crescimento do animal, representando uma característica marcante no processo de seleção dos animais.

Peso animal até certa idade é o critério mais comumente usado para avaliar o crescimento dos animais. Mas, o peso corporal por si só não reflete estado nutricional. O desenvolvimento do animal é mais bem observado quando a avaliação de peso é acompanhada por medidas de crescimento ósseo, como altura na cernelha ou comprimento corpóreo. A altura na cernelha reflete crescimento em estatura (crescimento ósseo), enquanto que o peso corporal reflete crescimento em órgãos, músculo e tecido adiposo. O perímetro torácico pode ser uma medida alternativa prática para se estimar o peso do animal.

Após o nascimento o animal inicia um processo de desenvolvimento seguindo uma curva sigmóide até atingir o tamanho adulto que é determinado geneticamente.

Esta curva pode ser dividida em duas fases de comportamentos bastante distintos. A primeira fase, compreendida do nascimento à maturidade sexual, apresenta inclinação crescente até o ponto correspondente à puberdade. Esta fase é caracterizada pela elevada velocidade de crescimento corporal predominando o acúmulo de tecido muscular. Na primeira fase o crescimento é acelerado, à custa do desenvolvimento do tecido ósseo e muscular, ativados pela liberação de hormônios protéicos de crescimento. Por ocasião da puberdade os esteróides substituem os hormônios protéicos e intensifica-se a deposição do tecido adiposo, diminuindo a intensidade do crescimento. Deste modo, grande parte da composição do ganho nesta fase corresponde à deposição de tecido adiposo (Silveira et al., 1999). Segundo Reid et al. (1980), o grau de deposição de gordura corporal também é influenciado pela condição sexual dos animais, sendo que fêmeas tendem a depositar maiores quantidades de gordura e menores quantidades de proteína corporal com o aumento do peso e da idade quando comparadas aos machos inteiros.

Na Figura 1, pode-se observar que após o nascimento, a proporção relativamente elevada de tecido ósseo começa a diminuir lentamente à medida que o animal ganha peso, sendo substituído pelo tecido muscular que, na fase da puberdade atinge seu ápice de desenvolvimento, logo será substituído pelo tecido adiposo, que representa a maior porcentagem de carcaça de um animal maduro, refletindo a pior conversão alimentar e maiores custos para ganho de peso (OWENS et al., 1993).

Fonte: Adaptado de Owens et al. (1993).

Figura 1 - Crescimento dos tecidos em função da idade do animal

Essa sequência de crescimento dos tecidos (ósseo, muscular e adiposo) determina o destino dos nutrientes no corpo do animal e o ponto ideal de abate dos animais em diversos sistemas de produção disponíveis, seja este a pasto, semi-confinamento ou confinamento, sendo necessário conhecer o momento (peso e/ou idade) em que o crescimento muscular diminui (puberdade) e a maioria dos nutrientes é direcionada para o tecido adiposo, pois este tem um custo energético mais elevado, e seu excesso acarreta desvalorização do produto comercializado (JORGE; ANDRIGHETTO, 2005; YÁÑEZ, 2002).

Nascimento et al. (1972) observaram em bubalinos machos pesos ao nascer de 37,5 kg, aos três meses de 73,5 kg, aos 15 meses de 306,0 kg e aos 18 meses pesos de 333,0 kg. Bubalinos machos da raça mediterrâneo mantidos em pastagem no estado de São Paulo apresentaram os seguintes pesos: 44,6 kg ao nascer, 101,24 kg aos 4 meses, 155,32 kg aos 7 meses e 352,55 kg aos 14,5 meses (PACOLA et al., 1978).

Nogueira et al. (1989), avaliando bubalinos criados a pasto no noroeste do estado de São Paulo, observaram o seguinte desenvolvimento ponderal: 151,5 kg e 153,2 kg; 224,6 kg e 223,1 kg; 301,3 kg e 310,3 kg; 360,4 e 352,5 kg; 516,1 kg e 512,8 kg para animais das raças Mediterrâneo e Jafarabadi aos 4, 7, 12, 18 e 24 meses, respectivamente. Avaliando o desempenho de bubalinos mediterrâneos para produção de carne, Barbosa et al. (1988) encontraram para machos pesos ao nascimento de 39,8 kg, aos 12 meses de 208,5 kg e aos 18 meses de 298,2 kg.

Jorge e Andrichetto (2005), avaliando a curva de crescimento de búfalos da raça Murrah, obtiveram para machos ao nascer, aos 120, aos 240, aos 365, aos 550 e aos 730 dias, os seguintes pesos: 37,91 kg, 103,47 kg, 168,11 kg, 260,38 kg, 350,59 kg e 397,46 kg, respectivamente.

Lourenço Junior et al. (2006), avaliando o desempenho ponderal de búfalos submetidos à prova de ganho de peso, obtiveram correlações significativas entre peso vivo e medidas corporais: altura do parte anterior do corpo, altura da posterior, comprimento corporal, perímetro torácico, comprimento de garupa, largura de garupa e circunferência escrotal ($P < 0,01$), de 0,87; 0,86; 0,90; 0,95; 0,81; 0,90 e 0,54, respectivamente.

2.3 Características de carcaça em bubalinos

No Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, carcaça bovina é definida como o produto obtido após o abate de um bovino, sendo sangrado, esfolado, eviscerado, desprovido de cabeça, patas, rabada, glândulas mamárias na fêmea, ou verga no macho, exceto suas raízes e testículos (BRASIL, 1997). A carcaça é o produto de maior valor comercial após o abate do animal e a partir dela são obtidos os cortes cárneos comerciais.

Avaliações realizadas ao abate, bem como nas etapas subsequentes (desossa e avaliação de rendimentos), desempenham papel extremamente importante no melhoramento genético do rebanho e na produção pecuária em seus diversos níveis (FELÍCIO et al., 1979; 1980).

Os búfalos são animais capazes de transformar alimentos fibrosos em carne, apresentando grande potencial para ganho de peso, uma boa relação músculo:ossos e uma porção adequada de gordura corporal, podendo ser abatidos jovens e bem acabados em confinamento, proporcionando carcaça e carne de boa qualidade (OLIVEIRA; VELLOSO; SCHALCH; 1991 e OLIVEIRA, 2000a).

A composição corporal envolve a obtenção de valores confiáveis, referentes a dois importantes itens: a carcaça propriamente dita e os componentes da não carcaça. Os valores, quando calculados em função do peso corporal do animal vivo, permitem obter uma série de rendimentos que são afetados diretamente pelos pesos das partes da não carcaça, como cabeça, couro, patas, trato gastrointestinal, etc. Esse fato pode levar um animal que apresente um elevado peso vivo ao abate, quando avaliado em termos de rendimento, apresentar valores inferiores aos de animais mais leves.

Vários fatores afetam o rendimento de carcaça e a composição corporal: genética, idade, sexo, nutrição e alimentação. Entre eles, a composição da dieta consumida apresenta-se de grande importância, já que a deposição de gordura corporal promove diferenças na quantidade e qualidade da carcaça produzida.

Jorge et al. (1997b) observaram rendimento médio de carcaça de 49,44% em bubalinos abatidos em diferentes estádios de maturidade alimentados com dieta contendo 2,4 Mcal de EM / kg MS. Oliveira; Velloso; Schalch (1991) verificaram, em bubalinos confinados, rendimento médio de 49,30%. Afif et al. (1974) observaram

rendimento médio de carcaça de 50 a 55% para bubalinos machos com diferentes pesos e idade de abate. Velloso et al. (1994) observaram rendimento de carcaça quente (RCQ) médio de 49,2% em bubalinos alimentados em 112 dias de confinamento com cana-de-açúcar *ad libitum*, farinha de mandioca e farelo de soja.

Franzolin e Silva (2001), alimentando búfalos confinados por 140 dias com dietas contendo diferentes níveis de energia, obtiveram RCQ médio de 51,27% e 50,15% para rendimento de carcaça fria (RCF). Oliveira (2005), testando suplementação mineral específica para a espécie bubalina sobre o rendimento da carcaça, obteve RCQ de 45,68% e 46,56% e RCF de 41,72% e 40,75% para animais que receberam mistura mineral comum e suplemento mineral específico para bubalinos, respectivamente.

Mattos, Jorge e Nogueira (1997), avaliando o rendimento de carcaça em búfalos confinados por 120 dias recebendo 60% de silagem de milho e 40% de concentrado, e abatidos aos 20 meses de idade, obtiveram RCQ de 52,45% e RCF de 52,09%. Em experimento para verificar o rendimento de carcaça de búfalos castrados da raça Murrah e abatidos em diferentes períodos de confinamento foram observados valores de 47,7%, 48,5%, 48,6% e 49,0% para RCF para animais mantidos, respectivamente, 75, 100, 125 e 150 dias em confinamento (MENEGUCCI et al., 2006).

Jorge, Andrighetto e Castro (2005), estudando as características quantitativas da carcaça de bubalinos de três grupos genéticos terminados em confinamento, obtiveram rendimento de carcaça de 53,90% para Murrah, 54,39% para Jafarabadi e 54,32% para Mediterrâneo.

Oliveira (2005) apresentou em seu trabalho um agrupamento de dados obtidos na literatura dos últimos 30 anos, referentes à avaliação dos principais itens e rendimentos ao abate de búfalos que estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1 - Rendimentos ao abate observados para búfalos

Autor	Idade	Peso vivo	PCF	Rendimento de Carcaça
Santiago (1971)	36 Meses	450 kg	220 kg	48,9 %
Drudi et al. (1976)	25 Meses	457 kg	230 kg	50,3 %
Ramos et al. (1979)	24 Meses	364 kg	183 kg	50,2 %
Felício (1980)	24 Meses	400 kg	195 kg	48,7 %
Oliveira et al. (1991)	22 Meses	447 kg	217 kg	48,5 %
Rodrigues (2003)	24 Meses	447 kg	242 kg	54,1 %

Adaptado de Oliveira (2005)

Silva et al. (2006), utilizando bubalinos da raça Murrah confinados recebendo dietas com diferentes proporções de volumoso e concentrado, obtiveram RCQ de 50,28%, 51,20% e 51,05% e RCF de 48,80%, 48,81% e 49,45% para os tratamentos com 75% volumoso e 25% de concentrado; 65% volumoso e 35% de concentrado e 55% volumoso e 45% concentrado, respectivamente.

Lapitan et al. (2007), ao comparar características de carcaça e da carne de búfalos cruzados (Carabao x Murrah) e bovinos, observaram os seguintes resultados para os búfalos: RCQ 54,99%, RCF 53,64% com perda por resfriamento de 2,47%. O mesmo grupo de pesquisa, comparando também a qualidade de carne e carcaça de bovinos e búfalos cruzados alimentados com dietas de alta forragem, obteve para os búfalos RCQ de 51,2% e RCF de 49,4% com perda no resfriamento de 2,9% (LAPITAN et al., 2008).

É possível também utilizar indicadores de composição para avaliação da carcaça, tais como gordura de cobertura; a medida da área de olho de lombo (AOL) e comprimento de carcaça, conforme Oliveira (2000b). A avaliação da espessura de gordura subcutânea (EGS) no músculo *longissimus dorsi* é um eficiente indicador de acabamento da carcaça (HEDRICK, 1983). De acordo com Luchiari Filho (2000), a AOL é utilizada como indicador de composição de carcaça. Essa medida está relacionada à musculosidade e é usada como indicador de rendimento dos cortes de alto valor comercial, tendo correlação positiva com a porção comestível da carcaça.

Vaz et al. (2003), ao avaliar as características de carcaça e da carne de bubalinos Mediterrâneo, com idade de 20 meses, terminados em confinamento por 112 dias e alimentados com dietas isoprotéicas (12% de proteína bruta) composta de 33% de concentrado e 67% de cana-de-açúcar ou silagem de milho, observaram AOL de 52,4 cm² e 51,7 cm² e EGS de 2,92 mm e 3,00 mm para animais alimentados com cana-de-açúcar e silagem, respectivamente.

Em experimento com bubalinos da raça Murrah confinados recebendo dietas com diferentes proporções de volumoso e concentrado, Silva et al. (2006) observaram AOL de 65,48 cm², 67,83 cm² e 62,76 cm² e EGS de 7,58 mm, 8,42 mm e 6,88 mm para os tratamentos com 75% volumoso e 25% de concentrado; 65% volumoso e 35% de concentrado e 55% volumoso e 45% concentrado, respectivamente. Irurueta et al. (2008), avaliando as características da carne de búfalos criados a pasto e abatidos com pesos entre 400 - 420 kg, verificaram AOL

de 50,92 cm e EGS de 13,60 mm. Lapitan et al. (2007) obtiveram AOL de 56,51 cm² e Lapitan et al. (2008) observaram AOL de 39,80 cm², em búfalos cruzados.

Um importante parâmetro de qualidade da carne é o pH, uma vez ele pode influenciar a cor, a capacidade de retenção de água, a maciez, entre outros fatores. O pH muscular logo após o abate é ao redor de 7,0 e após 24 horas do abate (pH final), em torno de 5,80 a 5,50.

De acordo com Kandeepan e Biswas (2007) apud Kandeepan et al., (2009), o pH final da carne de búfalos varia de 5,4 a 5,6. Mattos et al. (1997) verificaram pH 5,48 após 24 horas do abate e Spanghero et al. (2004) encontraram pH de 5,47 no *longissimus dorsi* de bubalinos Mediterrâneo.

Em experimento para avaliar características de carcaça de búfalos mediterrâneos abatidos com diferentes pesos, Jorge et al. (2006) obtiveram valores médios de pH inicial e pH final dos músculos *longissimus dorsi* e *biceps femoris* de 6,6 e 5,4; e de 6,3 e 5,5, respectivamente e de temperatura inicial e final dos músculos *longissimus dorsi* e *biceps femoris* média de 39,7°C e 4,1°C; 40,4°C e 7,0°C, respectivamente.

Silva (2007), estudando as características do *rigor mortis* em carcaças de búfalos, observou pH de 6,80; 6,45; 6,22; 6,17; 6,06 e 6,01 para o músculo bíceps braquial e pH de 6,85; 6,48; 6,31; 6,27; 6,17 e 6,10 para o músculo grácil, respectivamente, para os tempos de 1, 5, 10, 12, 15 e 24 horas após o abate. Neath et al. (2007), ao comparar as características da carne de búfalos e bovinos obtiveram pH de 6,7; 5,7; 5,4 para carne de búfalos aos 40 minutos, 24 e 48 horas após o abate, respectivamente.

Ao avaliar as características de carcaça de búfalos da raça Murrah abatidos em diferentes períodos de confinamento, Andrigheto et al. (2008) verificaram, para carcaça resfriada por 24 horas, pH de 5,52; 5,52; 5,52 e 5,50, respectivamente, para 75, 100, 125 e 150 dias de confinamento.

Kandeepan et al. (2009), comparando características da carcaça de búfalos de diferentes idades e sexo, observaram pH de 5,57 para machos jovens, 5,59 para machos maduros e 5,52 para fêmeas maduras.

Lapitan et al. (2007, 2008) obtiveram, respectivamente, valor médio de pH 24 horas após o abate de 5,96 e 5,93 para carcaça de búfalos cruzados.

2.4 Características físicas da carne

As propriedades mensuráveis da carne, como cor, capacidade de retenção de água da carne fresca e maciez da carne cozida, são denominadas de características físicas da carne. A avaliação destas características pode ser feita de forma subjetiva ou medidas com aparelhos específicos (FELÍCIO, 1999).

Vários fatores podem influenciar a maciez da carne bovina, como genética, sexo, maturidade, acabamento, promotores de crescimento, velocidade de resfriamento, taxa de queda de pH, pH final e tempo de maturação (FELÍCIO, 1999).

A cor da carne é reflexo da quantidade e do estado químico da mioglobina, seu principal pigmento. Em bovinos, a quantidade de mioglobina em um determinado corte cárneo varia principalmente com a atividade física dos músculos que o compõem e a maturidade fisiológica do animal ao abate (FELÍCIO, 1999).

O manejo *ante mortem* pode afetar alguns aspectos físicos, como a cor e a maciez, e químicos, e o pH final. O abate de animais estressados aumenta o pH final, diminui a taxa de glicogênio muscular e ocasiona a cor escura na carne (LAHUCKY et al., 1998).

A qualidade final da carne depende de propriedades organolépticas, dentre as quais pode-se citar: aparência, cor, conteúdo de gordura, sabor, textura e maciez. A cor e a presença de gordura são fatores importantes que influenciam na compra pelo consumidor. Entretanto, estudos indicam que o grau de maciez do músculo após o abate é um dos mais importantes fatores que contribuem significativamente para a qualidade da carne (PEREIRA, 2006).

Gasperlin, et al. (2001) relataram que, dentre os diversos fatores de qualidade exigidos pelos consumidores de carne, a manutenção da cor vermelha é a que dá a impressão de satisfação ao consumidor. A cor vermelho-cereja foi eleita a de preferência pelos consumidores com mais de 50% de aceitação. No momento do preparo da carne a coloração também é o principal fator levado em consideração pelo consumidor (HOFFMAN, 2006).

Irurueta et al. (2008), ao avaliar as características da carne de búfalos criados a pasto e abatidos com pesos entre 400 - 420 kg obtiveram para coloração da carne utilizando a escala CIELAB os valores: $L^* = 33,35$; $a^* = 19,39$ e $b^* = 15,68$, e para a

maciez no músculo *longissimus* 3,44 kgf ao utilizar o aparelho de *Warner-Bratzler shear force* (WBSF). No mesmo experimento a carne de búfalo foi classificada como “*small amount*” na escala USDA de marmorização para bovinos.

Em experimento com búfalos da raça mediterrâneo confinados e abatidos com diferentes pesos corporais, Jorge et al. (2006), obtiveram na avaliação da cor da carne com o método objetivo, valores de 35,59 para L^* , 12,50 para a^* e 5,66 para b^* .

Lapitan et al. (2007) encontraram em búfalos cruzados (Carabao x Murrah) maciez de 1,78 lb/in², escore de marmorização de 6,7, e para a avaliação objetiva da cor $L^*= 40,33$, $a^*= 17,04$ e $b^*= 5,98$. Em pesquisa semelhante, Lapitan et al. (2008) observaram escore de marmorização de 6,8, e coloração: $L^*= 36,9$, $a^*= 15,8$ e $b^*= 3,11$.

Em experimento para avaliar características físicas, químicas e sensoriais da carne de búfalos abatidos em diferentes períodos de confinamento, Andrighetto et al. (2008) obtiveram os seguintes valores para escore de marmorização 1,25; 2,00; 2,00 e 2,20 para animais que permaneceram durante, 75, 100, 125 e 150 dias em confinamento, respectivamente. Francisco et al. (2010), trabalhando com búfalos confinados e abatidos com 450 kg, 480 kg, 510 kg e 540 kg, encontraram força de cisalhamento de 2,83 kgf, 3,87 kgf, 3,91 kgf e 4,57 kgf e índice de marmorização de 1,86, 1,96, 2,47 e 2,80, respectivamente, para os pesos de abate.

Rodrigues e Andrade (2004), avaliando características físico-químicas da carne de bubalinos e de bovinos abatidos com 437,5 kg, obtiveram os seguintes dados para bubalinos: Cor: $L^*= 38$, $a^*= 19,1$ e $b^*= 0,78$, força de cisalhamento (kgf) 3,75 e pH final de 5,66. Mattos et al. (1997), trabalhando com a carne búfalos Mediterrâneo e Jafarabadi encontraram para búfalos Mediterrâneos e Jafarabadi, respectivamente, pH final da carne de 5,5 e 5,6, força de cisalhamento de 5,3 e 5,2 e coloração de $L^*= 25,7$ e 23,1, $a^*= 14,6$ e 11,9 e $b^*= 8,4$ e 7,3.

Neath et al. (2007), em experimento para comparar as características da carne de bubalinos e bovinos no período *post mortem*, observaram valores para maciez da carne em torno de 5,76 kgf, 3,80 kgf e 3,80 kgf, respectivamente para 48 horas, 7 dias e 14 dias *post mortem*.

2.5 Proteína e energia na alimentação de ruminantes

2.5.1 Proteína

Para desempenho animal eficiente, há necessidade de conhecimentos básicos da nutrição de bubalinos. Em 1974, Chalmers enfatizou a grande importância de se desenvolver estudos mais detalhados da fisiologia nutricional dos bubalinos, incluindo dados básicos sobre o metabolismo dos nutrientes, exigências nutritivas, avaliação corporal e outros. Porém, ainda há escassez de informações sobre requerimentos de nutrientes para os bubalinos, especialmente nas condições brasileiras.

Na formulação de dietas para ruminantes é importante que os requerimentos protéicas e energéticas para manutenção e produção dos animais seja atendidos, levando-se em conta o sistema produtivo.

A sincronia entre a disponibilidade de nutrientes é importante. Quando taxa de degradação da proteína excede a taxa de fermentação de CHO, grande quantidade de N pode ser perdida como N-amoniaco, e, inversamente, quando a taxa de fermentação de CHO ultrapassa taxa de degradação protéica, a síntese protéica microbiana pode diminuir (NOCEK; RUSSELL, 1988).

Perdas de energia e nitrogênio pelos ruminantes ocorrem em diferentes níveis dependendo do sistema de alimentação utilizado. Além de prejuízos econômicos, há considerável prejuízo ao meio ambiente, com aumento do aquecimento global pela emissão de CH₄, CO₂ e N ao ambiente. O caminho mais promissor para redução de metano pelos ruminantes é a melhoria na produtividade e na eficiência nutricional dos animais. Uma importante forma de reduzir perdas de N é promover adequada eficiência de assimilação de N pelo animal, através de uma alimentação balanceada, pela otimização de proteínas e aminoácidos para conciliar com a exata exigência fisiológica do animal (STEINFELD; WASSENAAR, 2007).

Para formulação de dietas que melhorem a eficiência nutricional dos animais é importante conhecer o metabolismo dos dois principais componentes, proteína e energia. A proteína bruta existente nos alimentos dos ruminantes é composta de uma porção degradável no rúmen (PDR) e uma porção não degradável no rúmen (PNDR). Os microrganismos do rúmen utilizam os peptídeos, aminoácidos e N-

amoniaco, resultantes da degradação da fração PDR da PB, para a síntese de proteína microbiana e multiplicação celular (NRC; 1996, 2001). É importante ressaltar que inúmeras variáveis contribuem para a extensão de degradação da proteína no rúmen. A princípio, o que determinará essa extensão de degradação é o perfil da proteína que compõe esse alimento, o tipo de processamento aplicado sobre ele e o tempo de retenção no rúmen.

Desta forma, o metabolismo de nitrogênio no rúmen pode ser dividido em dois eventos distintos: a degradação de proteína que é fonte de N para as bactérias e a síntese de proteína microbiana. A Figura 2 apresenta um esquema simplificado do metabolismo de proteína no ruminante.

PBI = Proteína bruta ingerida; PRDR = Proteína rapidamente degradável no rúmen; PLDR = Proteína Lentamente Degradável no rúmen; PNDR = Proteína Não Degradável no Rúmen; PEDR = Proteína Efetivamente Degradável no Rúmen; PMVD = Proteína Microbiana Efetivamente Degradável; PM = Proteína Metabolizável; NEB = Nitrogênio Endógeno Basal.

Fonte: Adaptado de AFRC, (1993)

Figura 2 - Esquema do metabolismo de proteína em ruminantes

A qualidade e a concentração da proteína na dieta podem alterar tanto o mecanismo físico como quimiotático do consumo alimentar dos ruminantes. Nível de

PDR abaixo das exigências dos microrganismos ruminais pode comprometer o crescimento microbiano, a produção de proteína, a digestão ruminal e a disponibilidade de energia e proteína (REYNAL; BRODERICK, 2005). A proteína em níveis abaixo de 7% e a diminuição da disponibilidade de N pode reduzir a digestão da fibra e, conseqüentemente, restringir o consumo devido à lenta passagem dos alimentos pelo rúmen. Por outro lado, níveis elevados de N podem induzir à toxidez, devido ao excesso de liberação de N-amoniaco, reduzindo também o consumo (FERNANDES, 2004). Em uma dieta contendo mais PDR que a exigência pelos microrganismos, a proteína é degradada em N amoniacal, absorvida, metabolizada em uréia pelo fígado e eliminada na urina. Contribuindo, dessa forma, para contaminação do solo e meio ambiente.

Em pesquisa com ovinos, Cruz Soto et al. (1994) obtiveram um aumento de 57,2 para 123,9 mg de $\text{N-NH}_3/\text{L}$ no rúmen, resultante da infusão de uréia, aminoácidos e peptídeos diretamente no rúmen. Valadares et al. (1997), avaliaram níveis de PB na dieta de bovinos, obtiveram variação de pH de 6,27 a 7,09, não havendo relação significativa com os teores de N-amoniaco no rúmen.

A inclusão na dieta de 8 a 11% de PDR na base de matéria seca melhora a ingestão de alimento e de matéria orgânica, a digestibilidade da hemicelulose (GRISWOLD et al., 2003) e a fermentação ruminal (DAVIDSON et al., 2003). Reynal e Broderick (2005), fornecendo PDR de 10,6 a 13,2% (de MS), observaram efeito linear positivo na proteína microbiana, sendo o máximo de produção de proteína atingido com 12,3% de PDR.

Cordeiro et al. (2007), ao avaliar dietas com teores crescentes de PB (11,5; 13,0; 14,5; 16,0%) para vacas leiteiras, observaram que não houve influência dos níveis de proteína na digestibilidade aparente e total dos nutrientes, mas a ingestão de matéria seca aumentou com o incremento de PB na dieta. Entretanto, em experimento com vacas leiteiras recebendo dieta contendo teores crescentes de PB na matéria original (20; 23; 26 e 29%) do concentrado, Pereira et al. (2005) obtiveram aumento linear nos consumos de matéria seca (MS), PB, fibra em detergente neutro (FDN) e nutrientes digestíveis totais (NDT) conforme adição de PB na dieta e o mesmo ocorreu com a digestibilidade da MS, matéria orgânica (MO), PB e FDN.

Detmann et al. (2005a,b), em experimento com novilhos em piquetes de *B. decumbens*, recebendo suplemento com níveis de 12; 16; 20 e 24% de proteína bruta (PB), com base na matéria original, não verificaram efeitos da composição dos suplementos sobre o consumo voluntário, a digestibilidade total e parcial da matéria seca, matéria orgânica e fibra em detergente neutro, bem como sobre os fluxos abomasais de nitrogênio (N) total, amoniacal e microbiano (NMIC). Os teores de N amoniacal ruminal foram incrementados linearmente pela elevação dos teores de PB dos suplementos. A eficiência de síntese microbiana apresentou valor médio de 17,5 g NMI/kg MO fermentada no rúmen (MOFR) para os suplementos, sendo superior ao controle (10,6 g NMI/kg MOFR). A elevação dos níveis de PB dos suplementos incrementou cubicamente a excreção urinária de uréia. O teor de PB dos suplementos não afetou a taxa de passagem ruminal das partículas, cujo valor médio ($0,034 \text{ h}^{-1}$) foi superior ao observado no controle ($0,029 \text{ h}^{-1}$).

É importante salientar que os ruminantes possuem um mecanismo fisiológico de suma importância para economia (ou balanço) de nitrogênio, especialmente quando a dieta apresenta baixa concentração de N, que é a reciclagem de nitrogênio para o rúmen. No entanto, quantidades variáveis e significativas de N reciclado podem causar problemas na estimativa das exigências protéicas para o ruminante (FERRELL et al., 2001). A quantidade e a proporção do N reciclado pelos ruminantes são consequência de vários fatores alimentares, incluindo teor de nitrogênio (BUNTING et al., 1987; FERRELL et al., 2001), degradabilidade do nitrogênio na dieta (FERRELL et al., 2001) e proporção volumoso:concentrado (HUNTINGTON et al., 1996).

2.5.1.1 Síntese de proteína microbiana

A proteína microbiana sintetizada no rúmen é a principal fonte de proteína que supre o animal e representa cerca de 50 a 80% do total de proteína absorvida (STORM; ØRSKOV, 1983). O conhecimento do potencial de produção de massa microbiana a partir do alimento é de grande importância, uma vez que as exigências de proteína para produção ou manutenção dos ruminantes são supridas pela síntese microbiana a partir da degradação dos alimentos no rúmen, pela proteína dietética

não degradada no rúmen e pela reciclagem de nitrogênio microbiano (BOER; MURPHY, 1987).

A disponibilidade ruminal de energia e de nitrogênio são os fatores nutricionais que mais limitam o crescimento microbiano (CLARK; KLUSMEYER; CAMERON, 1992). Esses autores verificaram que a alteração da relação volumoso:concentrado na dieta poderia influir no crescimento microbiano, em razão da variação na disponibilidade de energia. A energia para a síntese de proteína microbiana é oriunda principalmente dos carboidratos dietéticos cuja fonte pode afetar o crescimento microbiano. Se os carboidratos não-estruturais (CNE) estiverem em alta proporção na dieta e o pH for mantido, os microrganismos fermentadores deste substrato irão crescer rapidamente, resultando em aumento da produção microbiana. Por outro lado, se houver acúmulo de ácido láctico, ocorrerá diminuição do pH e alteração na ecologia microbiana e no consumo de matéria seca (SNIFFEN; ROBINSON, 1987).

Além da energia e proteína, outros dois fatores afetam a fermentação ruminal, crescimento e eficiência das bactérias de forma significativa: o pH ruminal, o qual, estando abaixo de 6,2, pode deprimir o crescimento de microrganismos ruminais, principalmente bactérias celulolíticas e metanogênicas, e a taxa de passagem, pois a eficiência de crescimento de células microbianas aumenta à medida que aumenta a taxa de diluição. Esses fatores, por sua vez, dependem do nível de consumo do animal, sistema de alimentação, tamanho de partícula, qualidade e proporção da forragem e tipo de processamento dos carboidratos dos alimentos (CLARK; KLUSMEYER; CAMERON, 1992; HUBER et al., 1994; OWENS; ZINN; KIM, 1986; VAN SOEST, 1994).

Segundo Dehority (1987), o pH médio no rúmen é de 6,5, podendo variar entre 5,5 a 7,0 dependendo do tipo de ração consumida. Hungate (1966), Church (1976), Dehority (1987), Giger-Reverdim et al. (1991) e Zhao, Shimojo e Goto (1993) relataram que as flutuações no pH do rúmen refletem as mudanças nas quantidades dos ácidos orgânicos que acumulam no conteúdo ruminal e da quantidade de saliva produzida. O pH ruminal geralmente alcança o nível mais baixo entre duas a seis horas após a alimentação, dependendo da natureza da dieta e da rapidez com que ocorre a ingestão. Dietas com grandes quantidades de amido ou carboidratos solúveis resultam em valores baixos de pH, ao passo que

dietas com preponderância de celulose ou outros carboidratos que são metabolizados vagarosamente, a queda do pH não é tão acentuada.

Franzolin Neto, Nogueira Filho e Zanetti (1990) observaram pH médio de 6,28 em bubalinos alimentados somente com volumosos. Sousa (1999), trabalhando com diferentes níveis de FDN na dieta de bubalinos, obteve pH médio de 6,78. Nogueira Filho (1995), avaliando o pH ruminal de búfalos submetidos a dietas com volumosos e concentrados em um período de 24 horas, observou valor médio de 6,24. Alves et al. (2009), avaliando inclusão de diferentes níveis de milho em grãos moídos na dieta de bubalinos, verificaram pH médio de 6,70.

De acordo com Waldo e Glen (1981), para que a eficiência de síntese protéica pelos microrganismos ruminais seja máxima, a degradabilidade da proteína dietética deve atender exatamente as necessidades microbianas, desde que não haja limitação da fonte energética entre outros fatores. Para que a eficiência de utilização de proteína nos tecidos seja máxima, a soma da proteína dietética não-degradada no rúmen e da proteína microbiana deve atender as exigências dos tecidos, em termos quantitativos e qualitativos.

A quantificação da síntese de proteína microbiana no rúmen resultante da fermentação microbiana permite calcular o crescimento da população microbiana e a formação da biomassa. Assim, pode-se observar a influência da dieta neste crescimento (DOVE; MILNE, 1994).

O NRC (1996) estima a quantidade de proteína microbiana sintetizada no rúmen como sendo 13% da ingestão de NDT. O cálculo da exigência em PDR é feito como sendo 100% da produção estimada de proteína microbiana, dessa forma, a síntese de 1kg de PB microbiana exige a disponibilidade de 1 kg de PDR.

Segundo Zinn e Shen (1998), o NRC (1996) é conservador, superestimando a exigência de PDR. Segundo esses pesquisadores, o fluxo de N microbiano só foi reduzido quando a PDR foi menor que 70 a 80% do fluxo de N bacteriano para o intestino, recomendando um mínimo de 100 g de PDR por kg de matéria orgânica (MO) digestível (0,7 a 0,8 kg PDR para cada kg de PB microbiana).

A proteína sintetizada pelos microrganismos no rúmen possui excelente perfil de aminoácidos e composição pouco variável (NRC, 2001), o que denota a importância do estudo dos mecanismos de síntese protéica microbiana e dos fatores a eles relacionados, visando sua maximização. Vários estudos confirmam a relação

entre produção de proteína microbiana e excreção de derivados de purina na urina (VAGNONI et al., 1997; RENNO et al., 2000).

A excreção de derivados de purina (DP) na urina consiste em um método simples e não-invasivo para estimativa da produção de proteína microbiana no rúmen. Nessa técnica, assume-se que os ácidos nucléicos presentes no duodeno são de origem predominantemente microbiana e que, após digestão intestinal dos nucleotídeos purínicos, as purinas absorvidas são catabolizadas e recuperadas proporcionalmente na urina como derivados de purina.

Enquanto a excreção de DP na urina de bovinos, caprinos, ovinos e camelos está intimamente associada à produção de proteína microbiana, devido à digestão dos ácidos nucléicos microbianos no intestino delgado, existe um problema em usar este método para previsão de produção de proteína microbiana em bubalinos. Isso ocorre porque a excreção de DP em búfalos é menor que em outras espécies de ruminantes (LIANG et al., 1999; MOSCARDINI et al., 1999; MAKKAR, 2004; SOEJONO et al., 2004; VO et al., 2004).

Pimpa, Liang e Balcells (2007) observaram que a excreção urinária diária em de alantoína, ácido úrico e derivados totais de purina em búfalos foram, respectivamente, de $215,9 \mu\text{mol/kgPV}^{0,75}$, $63,4 \mu\text{mol/kgPV}^{0,75}$ e $279,4 \mu\text{mol/kgPV}^{0,75}$. Dipu et al. (2006) avaliando diferentes níveis de ingestão de alimentos, obtiveram valores médios de alantoína de 14,57 mmol/d, de ácido úrico de 2,07 mmol/d e de creatinina de 48,78 mmol/dia. Liang et al. (1993) verificaram excreção de alantoína de 3,2 mmol/d. Chen et al. (1996) observaram para búfalos excreção de alantoína de 17,11 mmol/d, excreção de ácido úrico de 1,89 mmol/d e excreção de derivados de purina de 19,00 mmol/d.

2.5.2 Energia

A energia não é considerada nutriente, sendo liberada do alimento pelos complexos processos metabólicos, uma vez que todos os constituintes orgânicos de uma dieta são suscetíveis à oxidação. A energia produzida pela oxidação fisiológica é utilizada pelo animal de duas formas principais: pela realização de trabalho como, por exemplo, atividades musculares, ou pela geração de calor como energia

utilizada para manutenção da temperatura corporal e processos metabólicos (RESENDE; TEIXEIRA; FERNANDES, 2006).

A energia é usualmente escolhida como base das exigências nutricionais, sendo os nutrientes expressos em relação a ela. Isso acontece porque os lipídios, proteínas e carboidratos dos alimentos atuam como combustível para os processos vitais dos seres vivos e cada um destes nutrientes é considerado pelo seu potencial em liberar energia na combustão.

As formulações modernas de dietas para ruminantes baseiam-se em cálculos feitos a partir da concentração de energia da dieta e da demanda de nitrogênio pelos microrganismos ruminais para síntese de proteína microbiana (FRANZOLIN; SILVA, 2001). Assim, deve-se conhecer qual a concentração energética da dieta capaz de maximizar o metabolismo ruminal para cada categoria animal e tipo de produção e, conseqüentemente, aumentar a produtividade animal.

A produção de AGCC, a partir da fermentação de substratos no rúmen e sua posterior absorção representam a maior fonte de energia para os ruminantes, fornecendo pelo menos 50% do total de energia digestível. A utilização de energia pelos ruminantes é determinada pelas concentrações relativas dos principais ácidos graxos de cadeia curta no rúmen (RESENDE et al., 2006).

As exigências de energia e de proteína podem ser divididas em exigências de manutenção e de produção. Segundo Jessop (2000), a energia utilizada para manutenção envolve os gastos com a manutenção da homeotermia, pressão sanguínea, tônus muscular, atividade cardíaca, transmissão de impulsos nervosos, transporte de íons através da membrana, ingestão de alimentos, locomoção, etc. O excedente de energia ingerida acima das necessidades de manutenção, o qual é utilizado para a síntese de tecidos corporais como proteína, corresponde às exigências de energia líquida para ganho.

Vários fatores afetam as exigências de energia em ruminantes: espécie animal, raça, sexo, tamanho e peso corporal, idade, estado fisiológico, tipo de produção e fatores de estresse do ambiente (temperatura, ventos, necessidades de água e sombra), entre outros (AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC, 1980; AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC, 1995). Teixeira et al. (1987) estimaram as exigências diárias de energia líquida, para manutenção de bubalinos, como 78 kcal de energia líquida/kgPV^{0,75}. Kearl (1982) recomenda

para manutenção de búfalos o valor médio de 125 kcal de energia metabolizável/kgPV^{0,75}/ dia.

De acordo com Van Soest (1994), a eficiência da utilização de energia metabólica para a produção sofre influência principalmente das características da dieta, como, por exemplo, o valor comparativo de volumoso e concentrado, o teor de fibra, o tempo da ingestão e ruminação e as relações de AGCC no rúmen.

O incremento constante na ingestão de energia diária resulta em progressiva diminuição da retenção desta energia. Tyrrel, Moe e Oltjen (1974) justificam que esse decréscimo pode ser devido à aceleração na taxa de passagem que reduz a digestão do amido e da parede celular dos carboidratos (ØRSKOV; McDONALD, 1979), diminuindo dessa forma a digestibilidade (VERMOREL; BICKEL, 1980) e aumentando as perdas nas fezes (TYRREL; MOE; OLTJEN, 1974), reduzindo a produção de metano ruminal (BOUVIER; VERMOREL, 1975; THORBEK, 1980) e as perdas urinárias (VERMOREL; BICKEL, 1980).

Maeda et al. (2007), avaliando dietas com diferentes níveis de concentrado, com o NDT variando de 61,2 a 67,02%, compostas por milho moído e resíduo desidratado de fécula de mandioca como fonte de amido, observaram baixo consumo de matéria seca (1,4% do PC) e aumento na digestão ruminal do amido sem prejuízo na atividade dos microrganismos fibrolíticos. A máxima concentração de N-NH₃ nos bubalinos foi obtida às 3,42 horas após o fornecimento das dietas, sendo de 19,62 para 23% (61,20 de NDT), de 17,20 para 43% (64,25 de NDT) e de 15,16 mg N-NH₃/100 mL para 63% de concentrado (67,02 de NDT).

2.5.3 Relação proteína:energia

As formulações de rações para ruminantes baseiam-se em cálculos feitos a partir da concentração energética da dieta e da demanda de nitrogênio pelos microrganismos no rúmen para síntese de proteína microbiana (AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC, 1980). O metabolismo ruminal depende, portanto, da concentração energética da dieta que influi na retenção de nutrientes e nas características da carcaça.

No rúmen, as bactérias necessitam de fontes de nitrogênio, energia, minerais, vitaminas e outros nutrientes para crescer. Contudo, nitrogênio e energia são exigidos em quantidades maiores e exercem maior influência no crescimento bacteriano. Segundo Cameron et al. (1991), a síntese de proteína microbiana e o crescimento microbiano dependem de uma adequada quantidade de energia e N para a síntese e assimilação de aminoácidos. Um sincronismo entre a degradação ruminal da proteína e carboidratos da dieta é necessário para um ótimo crescimento microbiano e síntese protéica (RUSSEL; HESPEL, 1981). A deficiência em fontes de N (N-amoniacal, AA e peptídeos) pode limitar a síntese de proteína microbiana e o crescimento dos microrganismos, principalmente quando dietas contendo uma alta concentração de PNDR são fornecidas (NOCEK; RUSSEL, 1988).

Quando a proteína é degradada mais rapidamente do que é disponibilizada a fonte de energia, ocorre desacoplamento da fermentação, aumentando a concentração de N-amoniacal ruminal, que é absorvida pela parede do rúmen, mas a maior proporção é excretada na urina. Norlan (1975) observou em seus estudos que mais de 25% da proteína de origem alimentar é perdida na forma de N-amoniacal ruminal. Contrariamente, quando grande quantidade de energia é degradada, ultrapassando a velocidade de degradação da proteína, o crescimento microbiano e a eficiência digestiva decrescem. Isto é caracterizado pela fermentação incompleta, onde os microorganismos, deficientes em nitrogênio, desviam ATP para o acúmulo de carboidrato e não para a síntese de proteína microbiana (NOCEK; RUSSELL, 1988).

Segundo Devant et al. (2001), em dietas com baixa proteína e alto teor de concentrado, a baixa disponibilidade de nitrogênio para os microrganismos limita a síntese de proteína microbiana e a digestão de nutrientes. Neste caso, fontes ricas em PDR seriam mais adequadas para serem suplementadas, permitindo um aumento da síntese de proteína microbiana, a qual é uma fonte muito bem balanceada em aminoácidos essenciais, sendo superior a qualquer suplemento protéico comercial usado para dietas de bovinos.

Em pesquisas *in vitro*, Newbold e Rust (1992) observaram que o desbalanço *versus* o balanço na fonte de quantidades fixas de substratos da proteína e da energia não teve nenhum efeito durável no crescimento bacteriano. Esses resultados estão de acordo com os de Henning, Steyn e Meissner (1991) que

concluíram que meramente melhorar o balanço entre taxas da energia e liberação do nitrogênio no rúmen não produziram aumentos significativos no rendimento microbiano.

Contrariamente, em trabalho com ovinos alimentados com dietas sincronizadas e não-sincronizadas quanto à liberação de nitrogênio e energia no rúmen, os animais apresentaram produção de proteína microbiana 27% maior com dieta sincronizada (SINCLAIR et al., 1993). Esses mesmos autores verificaram que o valor mínimo de pH no líquido ruminal ocorreu duas horas e 30 minutos após a alimentação para os animais alimentados com dietas sincronizadas e não-sincronizadas. A dieta sincronizada tendeu à maior liberação de nitrogênio, não provocando elevação da concentração de amônia no rúmen. McCarthy et al. (1989) verificaram que o valor mais alto de concentração de N-amoniaco no líquido ruminal ocorreu, aproximadamente, duas horas após a alimentação. Dietas com fontes de amido de lenta degradação e N de rápida degradação ruminal, fornecidas para vacas holandesas no início da lactação, proporcionaram maiores concentrações de amônia ruminal que dietas com amido de rápida e nitrogênio de lenta degradação ruminal.

Da mesma forma, Herrera-Saldana e Huber (1989) observaram que a sincronização entre proteína e energia degradável foi benéfica em termos de crescimento das células microbianas, digestibilidade ruminal e utilização de proteína e energia na produção de leite.

De acordo com Owens e Zinn (1988), a eficiência da produção animal é frequentemente limitada pela utilização de energia e não pelo fornecimento de proteína, embora esse último possa alterar o consumo de alimento e, desta forma, alterar a eficiência de produção. Logo, a fonte de energia é um fator limitante para utilização das frações solúveis das proteínas; por isso, conforme Campos e Rodrigues (1985), as características de fermentação devem ser favoráveis para o desenvolvimento microbiano. Segundo Miller (1973), deve existir um sincronismo na utilização da proteína e da energia pelos microrganismos para que o uso dos compostos nitrogenados não protéicos tenha resultados positivos no desempenho animal. Por esse motivo, os diferentes alimentos que contêm altos teores de nitrogênio solúvel no rúmen devem ser fornecidos junto com fontes de carboidratos

facilmente fermentáveis, para manter a produção de aminoácidos essenciais pelos microrganismos (CAMPOS; RODRIGUES, 1985).

Fontes de energia e proteína com taxas de degradação sincronizadas ou não no rúmen afetam diretamente os valores de digestibilidade ruminal do amido, bem como a concentração de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal, sendo ainda fator limitante para o crescimento microbiano no rúmen. A concentração de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal é consequência do equilíbrio entre sua produção e utilização pelos microrganismos (ZEOULA et al., 1998).

Em rações com alto teor de grãos, a digestibilidade total do nitrogênio, de acordo com Spicer et al. (1986), parece estar relacionada com a digestão ruminal do amido. Quando há disponibilidade de energia, os aminoácidos são incorporados à proteína microbiana, e a deficiência de energia faz com que os aminoácidos sejam fermentados para obtenção de energia, gerando acúmulo de amônia (NOCEK e RUSSEL, 1988). Dessa forma, a energia constitui um dos fatores mais limitante ao crescimento e à síntese de proteína microbiana (CAMERON et al., 1991). A captura mais eficiente do nitrogênio degradado no rúmen, segundo Sinclair et al. (1993), diminuiria as exigências de fontes protéicas não degradáveis no rúmen e também reduziria a excreção de nitrogênio. A concentração mínima de N-NH_3 para não limitar a síntese microbiana, observada por Satter e Slyter (1974), foi de 5 mg/100 mL de líquido ruminal. Erdman, Proctor e Vandersall (1986) sugeriram que a concentração mínima de nitrogênio amoniacal para a digestão e o máximo crescimento microbiano aumenta com a fermentabilidade da ração.

Em alguns trabalhos publicados, foram observados efeitos positivos quando se procurou aliar a alta degradabilidade ruminal de fontes de amido e de proteína nas dietas de vacas leiteiras. Nestes estudos, os efeitos positivos encontrados foram maior produção de leite (HERRERA-SALDANA; HUBER, 1989), estímulos à produção de proteína microbiana no rúmen (HERRERA-SALDANA et al., 1990) e maior eficiência de utilização do N para a síntese microbiana (MOORE et al., 1992).

Hoover e Stockes (1991) compilaram informações de vários estudos em curvas de estimativas com o objetivo de quantificar as exigências e a degradabilidade de carboidratos em relação ao nível de degradabilidade da proteína e sugeriram que o sincronismo foi importante na eficiência produtiva de ruminantes.

Heldt et al. (1999a) sugeriram que a magnitude dos efeitos negativos com a suplementação de CNE na utilização de forragens de baixa qualidade pode depender do tipo de CNE e o teor da proteína degradável no rúmen (PDR). Eles observaram que nos menores teores na suplementação de PDR, todos os tipos de CNE mostraram efeitos negativos na digestão da fibra. Entretanto, em altos níveis de suplementação PDR, a glicose teve menor efeito negativo na digestão da fibra que o amido. Em contraste, pesquisas anteriores (BELASCO, 1956; HELMER; BARTLEY, 1971) sugeriram que NNP é mais eficientemente utilizado quando fornecido junto com amido que com açúcares.

Zeoula et al. (2006), em trabalho com ovinos afim de avaliar a digestibilidade aparente de rações com diferentes teores de proteína degradável no rúmen (46, 50, 54 e 58%) e fonte de amido de baixa degradabilidade ruminal, observaram que os consumos de MS, MO, PB, amido, FDN e FDA não diferiram entre as rações testadas e que não houve efeitos sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes e o balanço de nitrogênio.

Misra e Ranhotra (1969), alimentando bubalinos com rações isoprotéicas e com diferentes níveis de energia (1,3; 2,3 e 3,2 Mcal/kg), à base de palha de trigo com suplementação de uréia e ou farelo de amendoim, obtiveram concentração de amônio de 33, 28 e 25 mg/100 mL de líquido ruminal, respectivamente. Zanetti et al. (1995) utilizando ração composta de feno de “*coast-cross*”, fubá de milho e farelo de algodão com 9,1% PB, obtiveram nível médio de amônio ruminal de 17,18 mg/100 mL de líquido ruminal.

Sousa (1999), alimentando bubalinos com diferentes teores de FDN, obteve média geral de 21,46 mg/100 ml de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal e a concentração de amônia duas horas após a alimentação foi de 31,76 mg%. Valadares Filho et al. (1997) avaliando dietas com 62,5% de NDT e proteína bruta nos níveis de: 7,0; 9,5; 12,0; 14,5%, na dieta de bovinos verificaram aumento linear dos teores de amônio com a inclusão de PB na dieta. Alves et al. (2009), avaliando níveis crescentes de milho na dieta de búfalos, observaram média de 7,70 mg/100 ml de N-amoniacal no rúmen.

Mansfield e Stern (1994) afirmaram que a fermentação ruminal pode ser limitada pela disponibilidade de energia ou de proteína e não pela da inadequada sincronização na liberação desses nutrientes. No entanto, quando a velocidade de

fermentação é intensa pode ocorrer produção e absorção excessivas de amônia, aumentando com isto a excreção de nitrogênio e o custo de produção (Russell et al., 1992). Por outro lado, o rápido desaparecimento da amônia pode ser atribuído à absorção pela parede ruminal ou à sua utilização pelos microrganismos.

Cecava et al. (1991) observaram que o fornecimento de soja, em substituição ao farelo de glúten de milho e farinha de sangue, aumentou a concentração de nitrogênio amoniacal (g/dia), indicando um aumento da conversão de nitrogênio dietético a nitrogênio amoniacal quando os animais são alimentados com dietas contendo mais proteína bruta degradada no rúmen. O mesmo foi observado por Stokes et al. (1991), que verificaram redução na concentração de nitrogênio amoniacal com aumento da inclusão de fontes protéicas mais resistentes à degradação ruminal.

2.6 Técnica *in vitro* de produção de gases

A técnica *in vitro* de produção de gases, assim como a técnica *in situ*, é baseada na degradação dos alimentos pelos microrganismos ruminais. Essa técnica permite, pela simulação *in vitro* do ambiente ruminal, medir o desaparecimento de material no decorrer do tempo, pela quantificação dos resíduos após a incubação, e observar a cinética de fermentação, uma vez que mensura a formação de gases da ação microbiana durante o processo de degradação (BUENO, 2002).

De maneira geral, a técnica *in vitro* de produção de gases é semelhante às demais metodologias de digestibilidade *in vitro*, que utilizam alimentos moídos, meio anaeróbio e inóculo preparado a partir de uma mistura de microrganismo ruminais (WILLIAMS, 2000). Como simula exclusivamente o ambiente ruminal, a produção de gases *in vitro* está mais relacionada à fermentação que ocorre no rúmen que à digestibilidade que ocorre no trato todo.

Há uma alta correlação entre a produção de gases, a digestibilidade e a degradabilidade do alimento (MENKE et al., 1979; THEODOROU et al., 1994; BLÜMMEL et al., 1997; MAURÍCIO et al., 1998; BUENO et al., 1999a; 1999b). A produção de gases na técnica *in vitro* é proporcional ao ataque microbiano. Assim, com a medição dos gases produzidos em intervalos frequentes é possível estimar a quantidade de substrato que foi digerido.

Esta técnica tem como vantagens a praticidade de medição da produção de gases, usando de um transdutor e a pequena quantidade necessária de material para um ensaio (THEODOROU et al., 1994; PEREZ, 1997; MAURÍCIO et al., 1998; 1999).

Dentre os diversos modelos matemáticos utilizados para expressar os dados da cinética fermentativa, os que mais aparecem nos trabalhos científicos são o de Ørskov e McDonald (1979) e o de France et al. (1993). Como a técnica de produção de gases é mais sensível que a técnica de sacos de náilon, o modelo de France et al. (1993) representa melhor o perfil sigmoidal da cinética fermentativa.

Embora a metodologia de produção de gases *in vitro* seja mais rápida e precisa, bem como exija menos substrato que na técnica *in situ*, ela ainda precisa de um inóculo. O inóculo tem como função fornecer biota adequada para fermentar e/ou degradar um alimento ao longo do tempo.

Tendo em vista a precisão da técnica de produção de gases *in vitro*, uma pequena variação no inóculo devido ambiente, alimentação, tempo e fontes de amostragem, preparação de amostras, bem como a inoculação pode gerar efeitos cumulativos sobre a produção de gases.

Dessa forma, é necessário que o inóculo contenha um nível mínimo de atividade microbiana. De acordo com Rymer et al. (2005), a dieta dos animais doadores só é importante na medida em que produz líquido ruminal com a atividade microbiana necessária e, desde que este nível de atividade microbiana é atingida, a composição da dieta dos animais doadores parece ter pouco efeito. Nagadi, Herrero e Jessop (2000) afirmaram que geralmente isto pode ser conseguido usando uma dieta de 600 g/kg de forragem e 400 g/kg de concentrado, apesar de esta ser afetada pelo tipo de volumoso e concentrado.

Calabrò et al. (2005) utilizando inóculo proveniente de búfalos mediterrâneos alimentados com 60% de feno de capim e 40% de concentrado, obtiveram para cinética da produção de gases *in vitro* utilizando o modelo de Morgam, os seguintes valores: produção total de gases 335 mL/g MO; tempo de colonização (h) 4,8 e tempo para atingir metade da assintota (h) 8,2.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Parte 1. Avaliação do desenvolvimento ponderal e características de carcaça de bubalinos com dois pesos de abate criados a pasto

3.1.1 Local e manejo dos animais experimentais

O experimento foi realizado no setor de Bubalinocultura no Campus Administrativo da USP de Pirassununga, localizado na cidade de Pirassununga - SP. O setor possui infraestrutura com estábulo leiteiro e centro de manejo construído de forma circular com quatro curraletes, tronco de contenção, balança e embarcadouro. O Campus conta também com Abatedouro de animais com boa infraestrutura para abate de bovinos, bubalinos, suínos, aves e outros animais com sala de abate, desossa, câmara frigorífica, etc. O experimento foi realizado no período de março de 2007 à maio de 2009 com 17 bezerros machos nascidos do rebanho de búfalas da raça Mediterrâneo, pertencente à Coordenadoria do Campus Administrativo de Pirassununga (CCPS).

As búfalas são utilizadas para produção de leite com ordenha uma vez ao dia e controladas com pesagens diárias da produção de leite. O rebanho é constituído de animais de baixo potencial genético com produção média diária de 4,4 kg de leite registrada em 2007 (CCPS, 2007).

O primeiro bezerro nasceu no dia 19/03/2007 e o último animal nasceu no dia 21/05/2007. Após o nascimento os bezerros e suas respectivas mães eram levados ao curral de manejo, para cura do umbigo, colocação dos brincos e tatuagem dos animais recém-nascidos.

Durante os cinco primeiros dias de vida, os bezerros permaneceram com as mães mamando o colostro. A partir do quinto dia após a parição, as búfalas eram ordenhadas uma vez ao dia, no período da manhã (7:00 horas), sendo reservado um teto para o bezerro durante os primeiros 20 dias de ordenha. Após a ordenha os bezerros permaneciam com as mães até as 13:00 horas, sendo em seguida mantidos em bezerreiro coletivo, com bebedouro e cocho cobertos, piso de concreto e piquete solário com pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. No período em que os bezerros permaneceram em bezerreiro, receberam feno de gramínea à

vontade e ração concentrada inicial ao redor de 300 g/animal/dia, aumentando-se conforme o crescimento dos animais.

Os animais foram desmamados no final do mês de outubro e durante um mês após a desmama ficaram a pasto e receberam aproximadamente 6 kg/animal/dia e 0,6 kg/animal/dia de silagem de milho e concentrado, respectivamente. No segundo mês após a desmama lote de animais permaneceu a pasto e recebeu 13 kg de concentrado bezerro/novilhas por dia, dividido em dois fornecimentos diários. A partir do terceiro mês após a desmama, os animais permaneceram somente em pastejo. O suplemento mineral fornecido aos animais foi AGROMIX SUPER CRIA que apresenta a seguinte composição por quilograma: P- 85 g, Ca - 130 g, Mg - 5 g, S - 25 g, Na - 156g, Cl - 240 g, Zn - 5000 mg, Cu - 1500 mg, Fe - 1700 mg, Mn - 1250 mg, Co - 120 mg, I - 120 mg, Se - 15 mg e F (máximo) - 850 mg. Os machos foram castrados no período de desmama.

3.1.2 Avaliação do desenvolvimento ponderal e características da carcaça

Todos os parâmetros avaliados e descritos a seguir foram mensurados ao nascimento e a cada 28 dias nos 17 animais machos castrados até completarem pesos de abate compreendidos entre 517 kg e 568 kg. As medições dos animais ao nascer foram feitas no mesmo dia quando os bezerros nasciam, no período da manhã e no dia seguinte quando nasciam no período da tarde ou à noite.

Ao atingirem o peso de abate, os 17 animais machos foram divididos em dois grupos de acordo com o peso vivo, sendo um grupo com oito animais considerados mais pesados (média 568 kg) e o outro grupo com nove animais considerados mais leves (média 517 kg). O abate foi realizado em dois lotes, um no dia 27/04/2009 com abate dos quatro animais mais pesados do grupo dos considerados pesados e dos quatro animais mais pesados do grupo dos considerados leves, e outro no dia 04/05/2009 com abate dos quatro animais mais leves do grupo dos considerados pesados e dos cinco animais mais leves do grupo dos considerados leves.

3.1.3 Peso Vivo

A pesagem dos animais foi realizada em balança mecânica devidamente calibrada (Figura 3). As búfalas também foram pesadas após o parto, durante o manejo dos bezerros.

Figura 3 - Pesagem dos animais

3.1.4 Perímetro Torácico

Foi avaliado com uma fita métrica colocada logo atrás dos membros anteriores e atrás da paleta dos animais. A fita era esticada ao longo do corpo e a medida então anotada (Figura 4).

Figura 4 - Medição do perímetro torácico

3.1.5 Altura na Cernelha

A cernelha é considerada o ponto mais alto da linha dorsal na base do pescoço, bem entre as paletas. Altura na cernelha foi avaliada com uma régua ajustável. A régua era colocada próxima aos membros anteriores dos animais logo à frente de onde se coloca a fita métrica para medir o perímetro torácico dos animais. Antes da anotação da medida era observado se o animal estava devidamente aprumado (Figura 5).

Figura 5 - Medição da altura de cernelha

3.1.6 Comprimento corporal

O comprimento corporal foi avaliado com uso de fita métrica com a qual se formava uma linha reta entre a articulação escápulo-umeral à tuberosidade coxal do íleo (Figura 6).

Figura 6 - Medição do comprimento corporal

3.1.7 Rendimento de carcaça

O abate dos animais foi realizado após jejum de sólidos de 18 horas, de forma humanitária e conforme regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Foi utilizada pistola pneumática para insensibilização, seguido de sangria, evisceração, toailete e limpeza das meias carcaças. As carcaças foram identificadas após o abate e durante a toailete e evisceração. O fígado e a gordura inguinal, pélvica e renal foram separados e pesados (Figura 7A e 7B).

As duas meias carcaças quentes foram pesadas e posteriormente resfriadas em câmara fria a 1°C. O peso da carcaça fria (PCF) foi determinado após resfriamento a 1°C por 24 horas e calculado o valor de quebra no resfriamento que é a diferença entre o peso da carcaça quente e fria expressa em porcentagem (Figuras 7C).

O pH e temperatura da carne foram medidos na meia carcaça direita no músculo *longissimus dorsi*, na altura da 12ª costela, usando-se um peagâmetro digital com sondas de penetração uma hora após o abate e 24 horas após o abate (Figura 7D).

Figura 7 – Pesagem da gordura interna (A), do fígado (B), da carcaça (C) e medição de pH e temperatura da carcaça (D).

3.1.8 Área de olho de lombo (AOL)

Na meia carcaça direita foi feito um corte transversal entre a 12^a e 13^a costelas, expondo-se o músculo *longissimus dorsi*; em seguida, foi medida a AOL com auxílio de uma régua reticulada com escala em cm² específica, pelo método do quadrante de pontos (Figura 8).

Figura 8 - Medição da área de olho de lombo

3.1.9 Espessura de gordura subcutânea (EGS)

Na região do corte entre 12^a e 13^a costelas, acima do músculo *longissimus dorsi*, com o auxílio de uma régua, foi obtida a EGS, avaliada a $\frac{3}{4}$ da distância entre a parte medial da espinha dorsal e a parte lateral do músculo (Figura 9).

Figura 9 - Medição da espessura de gordura subcutânea

3.1.10 Índice de Marmorização (IM)

A avaliação do índice de marmorização foi realizada no músculo *longissimus dorsi* entre a 12ª e 13ª costelas por meio de análise de escore visual subjetivo (Figura 10). Foi observada a gordura intramuscular e a classificação foi feita de acordo com USDA Quality Grade (1999) com nove níveis de marmorização, variando de *very abundant* a *traces*.

Figura 10 - Análise de escore de marmorização da carne de acordo com as escala da USDA

3.1.11 Coloração (COR)

Foi avaliada a coloração apresentada pelo músculo após resfriamento das carcaças por 24 horas. Um corte transversal do músculo *longissimus dorsi* foi realizado na região entre a 12ª e 13ª costelas e retirada uma amostra de 2,5 cm e, após 30 minutos, a coloração foi avaliada com colorímetro digital portátil Modelo MiniScan XE Plus marca HUNTERLAB, utilizando-se da escala CIELAB (L^* , a^* , b^*) (Figura 11).

Figura 11 - Avaliação da coloração das amostras de carne

3.1.12 Maciez da Carne

As análises de maciez foram realizadas no Laboratório de Avaliação Animal e Qualidades de Carne da USP/FZEA. Durante a desossa foram retiradas 3 amostras de aproximadamente 2,5 cm do músculo *longissimus dorsi*, na região entre a 12^a e 13^a costelas. Em seguida as amostras foram embaladas a vácuo em filme flexível de alta barreira, maturadas a 2°C, por 7 e 14 dias. Após o período de maturação, as amostras foram congeladas para posterior análise.

Após descongelamento, as amostras foram pesadas e termômetros individuais de perfuração foram inseridos, atingindo o centro geométrico das amostras. Em seguida, as mesmas foram levadas ao forno elétrico pré-aquecido a uma temperatura de aproximadamente 170°C. Quando a temperatura do centro das amostras atingia 40°C, a amostra era virada permanecendo no forno até que a temperatura do centro das mesmas atingisse 71°C (WHELLER et al., 2001).

Retiradas do forno, as amostras foram retiradas do forno as amostras permaneceram em temperatura ambiente (25°C) até resfriarem. De cada amostra foram retirados seis cilindros com 12,7 mm de diâmetro. As análises de maciez foram feitas utilizando o aparelho de Warner Bratzler Shear Force (Figura 12).

Figura 12 - Análise de maciez da carne no aparelho de Warner Bratzler Shear Force

3.2 Parte 2. Avaliação de dietas com três níveis de proteína no metabolismo ruminal em bubalinos

3.2.1 Animais e local de experimentação

Três búfalos, com média de peso de 450 kg foram fistulados adequadamente no rúmen, com técnica cirúrgica feita por médico veterinário especializado, mantendo-se todo controle de higiene e bem estar animal realizada 60 dias antes do início do experimento. Durante o período de experimentação (01/07/2008 à 04/09/2008), os animais permaneceram individualmente em galpão experimental no Campus de Pirassununga da USP, contendo comedouro e bebedouro automático e submetidos a um experimento em delineamento em Quadrado Latino (3 x 3) com 3 sub-períodos de 21 dias cada, sendo 14 dias de adaptação e 7 dias como período de coletas.

3.2.2 Tratamentos e Manejo Alimentar

Os tratamentos constituíram de formulação de três concentrados isoenergéticos (65% NDT) com diferentes níveis de proteína (9%, 12% e 15% de PB) na dieta total.

Como volumoso foi utilizado silagem de milho e os concentrados foram formulados com milho em grãos moídos, farelo de soja, farelo de algodão e suplemento mineral. Os cálculos para formulação da ração foram feitos com base nos teores de proteína bruta médios dos ingredientes determinados em análises de rotina no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da FZEA, conforme técnicas descritas por Silva e Queiroz (2002) e o teor de NDT estimados do NRC (2001). Para tanto, foi estimado consumo médio de 12 kg MS/animal/dia durante todo o período experimental. As rações foram recalculadas conforme o andamento do experimento e o consumo médio observado.

A proporção dos ingredientes dos concentrados, a composição percentual dos ingredientes na dieta, a composição química bromatológica dos ingredientes dos concentrados, a composição química bromatológica dos concentrados e da silagem de milho e a composição química bromatológica das dietas totais estão apresentadas nas Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente.

Tabela 2 – Proporção dos ingredientes dos concentrados, expressa na matéria seca (% MS)

Ingredientes	Teores de Proteína na dieta		
	9%	12%	15%
Milho em grãos	59,5	29,8	0,0
Farelo de algodão	39,7	39,8	40,0
Farelo de soja	0,0	30,0	60,0
Sal mineral*	0,8	0,4	0,7

*Composição por kg de produto: cálcio 180,0 g; cobalto 100,0 mg; cobre 1000,0 mg; 1500,0 mg; fósforo 90,0 g; iodo 80,0 mg; magnésio 20,0 g; manganês 1000,0 mg; zinco 2500,0 mg.

Tabela 3 - Composição percentual dos ingredientes nas dietas (% MS)

Ingredientes	Teores de Proteína na dieta		
	9%	12%	15%
Silagem de milho	79,0	79,1	79,2
Milho em grãos	12,5	6,2	0,0
Farelo de algodão	8,3	8,3	8,3
Farelo de soja	0,0	6,2	12,5
Sal mineral*	0,8	0,4	0,7

*Composição por kg de produto: cálcio 180,0 g; cobalto 100,0 mg; cobre 1000,0 mg; 1500,0 mg; fósforo 90,0 g; iodo 80,0 mg; magnésio 20,0 g; manganês 1000,0 mg; zinco 2500,0 mg.

Tabela 4 - Composição química bromatológica dos ingredientes dos concentrados (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).

Componentes	Milho e grão	Farelo de Algodão	Farelo de Soja
MS*	92,50	94,40	94,60
MO**	95,84	91,99	95,63
MM ^{2**}	4,16	8,01	4,37
PB**	9,30	37,88	49,80
EE**	3,93	0,99	4,17
CT**	82,61	53,12	41,66
FDN**	20,87	31,33	23,28
CNF**	61,75	21,79	18,38
FDA**	5,64	22,88	15,47
LIG**	2,21	10,33	3,21
NDT***	85,94	66,02	80,73

*% matéria seca natural; **Valores em % da matéria seca; ***dados médios disponibilizados pela CQBAL 3.0 (2010).

Tabela 5 - Composição química bromatológica dos concentrados e da silagem de milho (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).

Componentes	Teores de Proteína			Silagem de Milho
	9%	12%	15%	
MS*	92,51	93,52	94,52	22,35
MO**	93,54	93,86	94,17	95,96
MM ^{2**}	5,66	5,74	5,83	4,04
PB**	20,57	32,79	45,03	7,18
EE**	2,73	2,82	2,90	2,95
CT**	70,24	58,26	46,24	85,83
FDN**	24,86	25,67	26,50	49,89
CNF**	45,39	32,59	19,74	35,94
FDA**	12,44	15,43	18,43	31,84
LIG**	5,42	5,73	6,06	6,46
NDT***	77,34	76,11	74,85	63,36

*% matéria seca natural; **Valores em % da matéria seca; ***dados médios disponibilizados pela CQBAL 3.0 (2010).

Tabela 6 - Composição química bromatológica das dietas totais (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).

Componentes	Teores de Proteína		
	9%	12%	15%
MS*	37,05	37,11	37,36
MO**	95,42	95,41	95,59
MM ^{2**}	4,38	4,39	4,41
PB**	9,98	12,49	15,06
EE**	2,90	2,92	2,94
CT**	82,54	80,01	77,59
FDN**	44,62	44,80	45,03
CNF**	37,92	35,20	32,57
FDA**	27,76	28,39	29,05
LIG**	6,23	6,30	6,37
NDT***	66,28	65,93	65,75

*% matéria seca natural; **Valores em % da matéria seca; ***dados médios disponibilizados pela CQBAL 3.0 (2010).

3.2.3 Ingestão de Matéria Seca

O consumo dos animais foi controlado diariamente com pesagens da quantidade oferecida aos animais e das sobras que eram descartadas diariamente.

3.2.4 Degradabilidade *in situ*

Foram determinadas as degradabilidades *in situ* da silagem de milho (MS, PB, e FDN), do farelo de milho, farelo de soja e farelo de algodão (MS e PB) e da *Brachiaria brizantha* (FDN) durante os últimos quatro dias de cada subperíodo experimental.

Os procedimentos para o desenvolvimento da técnica *in situ* de sacos de náilon foram realizados conforme recomendações de Huntington e Gives (1995). Para tanto, foram utilizados sacos de náilon, com 10 x 20 cm e abertura de poros média de 53 µm. Cerca de 8 g de silagem de milho, milho e grãos moídos, farelo de

soja, farelo de algodão e *Brachiaria brizantha* foram pesados e colocados individualmente em sacos de náilon que, em seguida foram, fechados usando abraçadeiras. Para determinação da curva de desaparecimento da silagem de milho e *Brachiaria brizantha*, os sacos de náilon foram incubados no rúmen de forma reversa por 96, 72, 48, 24, 12 e 6 horas e os ingredientes do concentrado permaneceram no rúmen por 48, 24, 12, 6 e 3 horas. As frações solúveis de cada ingrediente foram determinadas em água à 38°C por 20 minutos, de acordo com Nocek (1988). Após os sacos serem retirados do rúmen, estes foram lavados cuidadosamente até que a água saísse límpida e secos em estufa de ventilação forçada à 65°C por 72 horas.

Com as curvas de desaparecimento dos nutrientes dos sacos de náilon obtidas nos diversos tempos de incubação foram estimadas a cinética de degradabilidade aplicando-se o modelo de Ørskov e McDonald (1979), modificado por McDonald (1981), apresentado a seguir:

$$p = A; \quad t \leq t_0 \quad (1)$$

$$p = a + b \times (1 - e^{-c \times t}); \quad t > t_0 \quad (2)$$

onde p é a degradabilidade do alimento no tempo t ; A representa a fração prontamente solúvel; t_0 é o tempo de colonização para o início da degradação microbiana; a e b são constantes matemáticas, cuja soma ($a+b$) é numericamente igual à degradabilidade potencial do alimento; e c é a taxa de degradação.

A partir dessas variáveis ainda pode-se obter a fração insolúvel potencialmente fermentável do alimento (B):

$$B = (a + b) - A \quad (3)$$

A degradabilidade efetiva pode ser calculada com a seguinte equação:

$$DE = a + b \times \left[\frac{c}{c + k_e} \right] \quad (4)$$

onde k_e é taxa de passagem, assumindo valor de 0,02, 0,05 e 0,08/h (Ørskov et al., 1980).

Os teores de MS, PB e FDN dos ingredientes dos concentrados e dos resíduos dos sacos de náilon após incubação no rúmen foram determinados conforme técnicas descritas por Silva e Queiroz (2002).

3.2.5 pH Ruminal, concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta, N-amoniacal

Amostras de líquido ruminal, de aproximadamente 300 mL, foram coletadas via fístula, durante um dia do período de coleta, as 0, 2, 4 e 8 horas após o arraçoamento (8:00 horas) com auxílio de uma bomba de vácuo manual, e em seguida pipetadas (Figura 13) e acondicionadas para determinações da concentração de ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico), N-amoniacal e pH. A amostra referente à zero hora foi realizada antes dos animais receberem a primeira alimentação.

As amostras para determinação de AGCC foram acidificadas com ácido fórmico, sendo 2 mL de líquido ruminal e 0,4 mL de ácido fórmico, e determinadas por cromatografia líquida de alta precisão (HPLC) em equipamento Shimadzu 10 A, no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da FMVZ/USP, utilizando-se 1 µL de amostra, com repetições quando a diferença entre leituras foi superior a 5%.

As amostras para a determinação do nitrogênio amoniacal (N-NH_3) foram acidificadas com ácido sulfúrico (1N), 2 mL de líquido ruminal e 1 mL de ácido sulfúrico, e a análise foi realizada por colorimetria em reação hipoclorito-fenol, segundo método descrito por Weatherburn (1967).

O pH do conteúdo ruminal foi mensurado imediatamente após a coleta, com uso de peagâmetro digital da marca Hanna, modelo HI 9321.

Figura 13 - Amostragem de líquido ruminal para quantificação de AGCC e NH_3

3.3 Parte 3. Avaliação de dietas com diferentes níveis de energia e proteína no metabolismo ruminal em bubalinos

3.3.1 Animais e local de experimentação

Quatro búfalos, com média de peso de 725 kg fistulados adequadamente no rúmen com técnica cirúrgica feita por médico veterinário especializado, mantendo-se todo controle de higiene e bem estar animal, permaneceram individualmente em galpão experimental no Campus de Pirassununga da USP (Figura 14), contendo comedouro e bebedouro automático e submetidos a um experimento em delineamento em Quadrado Latino (4×4) com 4 sub-períodos de 21 dias cada, sendo 14 dias de adaptação e 7 dias como período de coletas. O período experimental foi de 27/05/2009 à 15/08/2009.

Figura 14 - Animais em experimento alocados em baias individuais

3.3.2 Tratamentos e Manejo Alimentar

Os tratamentos constituíram de formulação de quatro rações em arranjo fatorial 2 x 2 com dois níveis de energia (considerados como baixo e alto, um em relação ao outro) e dois níveis de proteína (considerados como baixo e alto, um em relação ao outro) na dieta total, assim designados:

- BEBP – baixa energia (65% NDT) e baixa proteína (9% PB)
- BEAP – baixa energia (65% NDT) e alta proteína (15% PB)
- AEBP – alta energia (69% NDT) e baixa proteína (9% PB)
- AEAP – alta energia (69% NDT) e alta proteína (15% PB)

A silagem de milho foi utilizada como volumoso e os concentrados foram formulados com milho em grãos moídos, farelo de soja, farelo de trigo, farelo de algodão e suplemento mineral. Os cálculos para formulação da ração foram feitos com base nos teores de proteína bruta médios dos ingredientes determinados em análises de rotina no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da FZEA e os teores de NDT estimados através do NRC (2001). A quantidade de ração fornecida aos animais era recalculada conforme o andamento do experimento e o consumo médio observado.

Nas Tabelas 7, 8, 9, 10 e 11 estão, respectivamente, a proporção dos ingredientes dos concentrados, a composição percentual dos ingredientes na dieta, a composição química bromatológica dos ingredientes dos concentrados, a composição química bromatológica dos concentrados e da silagem de milho e a composição química bromatológica das dietas totais.

Tabela 7 - Proporção dos ingredientes dos concentrados, expressa na matéria seca (% MS)

Ingredientes	Tratamentos**			
	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP
	-----% na MS-----			
Milho em grãos	59,5	0,0	79,2	39,8
Farelo de algodão	39,7	40,0	13,9	13,9
Farelo de trigo	0,0	0,0	5,9	15,9
Farelo de soja	0,0	60,0	0,0	29,8
Sal mineral*	0,8	0,0	1,0	0,6

* Composição por kg de produto: cálcio 180,0 g; cobalto 100,0 mg; cobre 1000,0 mg; 1500,0 mg; fósforo 90,0 g; iodo 80,0 mg; magnésio 20,0 g; manganês 1000,0 mg; zinco 2500,0 mg.

** BEBP: concentrado com baixa energia e baixa proteína, BEAP: concentrado com baixa energia e alta proteína, AEBP: concentrado com alta energia e baixa proteína, AEAP: concentrado com alta energia e alta proteína.

Tabela 8 - Composição percentual dos ingredientes nas dietas (% MS)

Ingredientes	Tratamentos**			
	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP
	-----% na MS-----			
Silagem de milho	79,0	79,2	58,1	58,2
Milho em grãos	12,5	0,0	33,2	16,6
Farelo de algodão	8,3	8,3	5,8	5,8
Farelo de trigo	0,0	0,0	2,5	6,7
Farelo de soja	0,0	12,5	0,0	12,5
Sal mineral*	0,2	0,7	0,4	0,2

* Composição por kg de produto: cálcio 180,0 g; cobalto 100,0 mg; cobre 1000,0 mg; 1500,0 mg; fósforo 90,0 g; iodo 80,0 mg; magnésio 20,0 g; manganês 1000,0 mg; zinco 2500,0 mg.

** BEBP: dieta com baixa energia e baixa proteína, BEAP: dieta com baixa energia e alta proteína, AEBP: dieta com alta energia e baixa proteína, AEAP: dieta com alta energia e alta proteína.

Tabela 9 - Composição química bromatológica dos ingredientes dos concentrados (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).

Itens	Milho e grão	Farelo de Algodão	Farelo de Soja	Farelo de Trigo
MS*	92,50	94,40	94,60	92,4
MO**	95,84	91,99	95,63	94,4
MM ^{2**}	4,16	8,01	4,37	5,6
PB**	9,30	37,88	49,80	16,83
EE**	3,93	0,99	4,17	2,94
CT**	82,61	53,12	41,66	74,63
FDN**	20,87	31,33	23,28	35,14
CNF**	61,75	21,79	18,38	39,49
FDA**	5,64	22,88	15,47	10,82
LIG**	2,21	10,33	3,21	5,27
NDT***	85,94	66,02	80,73	71,58

* % matéria seca natural; ** Valores em % da matéria seca; *** dados médios disponibilizados pela CQBAL 3.0 (2010).

Tabela 10 - Composição química bromatológica dos concentrados e da silagem de milho (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).

Componentes	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP	Silagem de Milho
MS*	92,51	94,52	91,83	92,82	22,35
MO**	93,54	94,17	94,26	94,44	95,96
MM ^{2**}	5,66	5,83	4,74	4,96	4,04
PB**	20,57	45,03	13,62	26,48	7,18
EE**	2,73	2,90	3,42	3,41	2,95
CT**	70,24	46,24	77,21	64,54	85,83
FDN**	24,86	26,50	22,96	25,19	49,89
CNF**	12,44	18,43	8,29	11,76	31,84
FDA**	5,42	6,06	3,50	4,11	6,46
LIG**	77,34	74,85	81,46	78,82	63,36

*% matéria seca natural; **Valores em % da matéria seca; ***dados médios disponibilizados pela CQBAL 3.0 (2010).

** BEBP: concentrado com baixa energia e baixa proteína, BEAP: concentrado com baixa energia e alta proteína, AEBP: concentrado com alta energia e baixa proteína, AEAP: concentrado com alta energia e alta proteína.

Tabela 11 - Composição química bromatológica das dietas totais (% MS): matéria seca (MS); matéria orgânica (MO); matéria mineral (MM); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); carboidratos totais (CT); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente ácido (FDA); lignina (LIG); nutrientes digestíveis totais (NDT).

Componentes	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP
MS*	37,05	37,36	51,48	51,85
MO**	95,42	95,59	95,27	95,37
MM ^{2**}	4,38	4,41	4,33	4,43
PB**	9,98	15,06	9,88	15,27
EE**	2,90	2,94	3,15	3,15
CT**	82,54	77,59	82,24	76,95
FDN**	44,62	45,03	38,61	39,58
CNF**	37,92	32,57	43,63	37,37
FDA**	27,76	29,05	21,97	23,45
LIG**	6,23	6,37	5,22	5,48
NDT***	66,28	65,75	70,96	69,86

*% matéria seca natural; **Valores em % da matéria seca; ***dados médios disponibilizados pela CQBAL 3.0 (2010).

** BEBP: dieta com baixa energia e baixa proteína, BEAP: dieta com baixa energia e alta proteína, AEBP: dieta com alta energia e baixa proteína, AEAP: dieta com alta energia e alta proteína.

3.3.3 Ingestão de Matéria Seca

Os animais tiveram o consumo controlado diariamente com pesagens da quantidade oferecida aos animais e das sobras, sendo a última descartada

diariamente no período de adaptação. Durante o período de coleta, as sobras foram amostradas para análise de digestibilidade aparente total.

3.3.4 Degradabilidade *in situ*

Foram determinadas as degradabilidades *in situ* da silagem de milho e dos quatro concentrados (MS, MO e PB) durante os últimos quatro dias de cada subperíodo experimental.

Os procedimentos para o desenvolvimento da técnica *in situ* de sacos de náilon foram realizados conforme Huntington e Givens (1995), conforme o citado no item 3.2.4. Os tempos de incubação no rúmen para determinação da curva de desaparecimento da silagem foram 96, 72, 48, 24, 9 e 6 horas e as para os concentrados 48, 24, 9, 6 e 3 horas. As frações solúveis de cada ingrediente foram determinadas em água a 38°C por 20 minutos de acordo com Nocek (1988). Após os sacos serem retirados do rúmen, foram lavados e secos em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas.

As curvas de desaparecimento dos nutrientes, a degradabilidade efetiva e os teores de MS, MO e PB da silagem de milho, dos concentrados e dos resíduos dos sacos de náilon após incubação no rúmen foram estimadas conforme o mencionado no item 3.2.4.

3.3.5 Digestibilidade aparente total

3.3.5.1 Uso de cromo como marcador

A digestibilidade das dietas foi determinada com introdução no rúmen de 8 g de óxido de cromo, 4 g de manhã (8:00) e 4 g à tarde (16:00), durante 10 dias iniciando-se no 6º dia de cada período com amostragens de fezes durante os cinco dias seguintes (16º ao 21º dia). As coletas de fezes frescas foram realizadas duas vezes ao dia, às 8:15 e às 16:15 horas. Foram coletadas diretamente do reto aproximadamente 100 g de fezes de cada animal e foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e congelados. Para a realização das análises as

amostras foram pré-secas a 65°C por 72 horas. Em seguida, cerca de 15 g de amostras seca de cada coleta foi retirada para fazer uma amostra composta de cada animal. As amostras de fezes pré-secas foram moídas em peneira de malha 1 mm. A concentração do cromo foi verificada por espectrofotometria de absorção atômica, conforme Williams et al. (1962). Para os cálculos de produção fecal (PF) e da digestibilidade da matéria seca (DMS) da dieta utilizaram-se as relações:

$$PF = \frac{\text{dose diária de cromo (g/dia)}}{\text{g de cromo nas fezes/ g de MS fecal}} \quad (5)$$

$$DMS (\%) = \frac{MS \text{ ingerida} - MS \text{ fecal}}{MS \text{ ingerida}} \times 100 \quad (6)$$

3.3.5.2 Uso de FDAi como marcador

A digestibilidade aparente total foi estimada pelo método de fibra em detergente ácido indigestível (FDAi). As fezes foram coletadas no 15º, 17º e 19º dias de cada período experimental às 7:00 e às 15:00 horas. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenadas em freezer à -20°C. Ao final do experimento foi preparada uma amostra composta por tratamento e por animal, com base no peso seco ao ar.

Amostras de sobra, silagem e ingredientes dos concentrados foram pré-secas em estufa com ventilação forçada (65°C/72 horas) e, em conjunto com as demais amostras de ingredientes, foram processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 2 mm.

Para realização das análises, as amostras processadas de fezes, sobras e ingredientes do concentrado foram pesadas (0,5 g) e acondicionadas em sacos de tecido não-tecido (TNT), com dimensões de 5 x 5 cm de acordo com Nocek (1988).

Após o experimento, um dos animais fistulados foi adaptado com a dieta BPAE durante 7 dias e, então, foram incubadas as amostras no rúmen por um período de 288 horas, conforme adaptação da técnica descrita por Casali (2006).

Os saquinhos foram retirados do rúmen e lavados com água corrente até que esta ficasse límpida. Em seguida foram levados para a estufa de ventilação forçada

(65°C/72 horas). Após a pré-secagem, os saquinhos foram secos em estufa sem ventilação (105°C/45minutos) e depois acondicionados em dessecadores e pesados, obtendo-se, dessa maneira, a matéria seca indigestível.

Os saquinhos contendo a matéria seca indigestível foram submetidos ao tratamento com detergente ácido (Mertens, 2002) por uma hora, em equipamento analisador de fibra Tecnal®. E seguida os mesmos foram lavados com água quente, 3 lavagens de 10 minutos, e para finalizar em acetona, sendo secos e pesados, conforme procedimento anterior, obtendo-se, dessa maneira, a FDAi.

Para os cálculos de produção fecal (PF) e da digestibilidade da matéria seca (DMS) da dieta utilizaram-se as seguintes equações:

$$PF = \frac{[\text{FDAi ingerido (kg MS)} - \text{FDAi sobras (kg MS)}]}{\text{FDAi fezes (kg MS)}} \times 100 \quad (7)$$

$$DMS (\%) = \frac{\text{MS ingerida} - \text{MS fecal}}{\text{MS ingerida}} \times 100 \quad (8)$$

3.3.6 pH Ruminal concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta, N-amoniaco

As coletas de líquido ruminal e a determinação de AGCC, NH₃ e pH foram realizadas de acordo com o descrito no item 3.2.5.

3.3.7 Síntese de Proteína Microbiana

A síntese microbiana foi estimada através da determinação da excreção urinária de derivados de purina. Foram realizadas coletas de urina de cada animal no último dia de cada subperíodo, uma coleta tipo *spot* para cada animal seguindo técnica descrita por Oliveira et al. (2001), Chizzotti e Valadares Filho (2007) e Chizzotti et al. (2008). Para tanto, foram utilizados pequenos baldes adaptados para coletas individuais após higienização do prepúcio, quatro horas após a primeira

alimentação. Em seguida, amostras de 10 mL de urina foram filtradas e diluídas em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N e também amostras de urina pura (50 mL) foram filtradas e mantidas em freezer a -20°C.

No final do experimento, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente, devidamente diluídas para realização de análises laboratoriais de derivados de purina (ácido úrico, uréia, creatinina, xantina, hipoxantina e alantoína), realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática colorimétrica cinética em aparelho SBA-200 CELM®. A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da proposição de 0,44 mmol/kg PV^{0,75} (CHEN, 1996). Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dl) na amostra *spot* de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por búfalo/dia (eq. 9), para o cálculo do balanço de nitrogênio.

$$VU = \frac{PV^{0,75} \cdot E_{Creat}}{CCreat} \quad (9)$$

onde VU é o volume urinário diário, PV^{0,75} é o peso metabólico do animal, ECreat é a excreção diária de creatinina e CCreat é a concentração de creatinina na urina dos búfalos.

Os níveis de alantoína e ácido úrico na urina foram determinados pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção total de derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina excretadas na urina.

3.3.8 Taxa de Passagem e Volume Ruminal de Líquidos

A taxa de passagem do líquido ruminal foi determinada utilizando-se o complexo polietilenoglicol (PEG 4000) como marcador. Para tanto, 100 g de PEG foram introduzidos no rúmen de cada animal no final da 3ª semana, retirando-se amostras de líquido ruminal nos tempos 0, 1, 2, 4, 8 e 24 horas após a alimentação,

a análise da concentração do marcador foi realizada segundo metodologia de turbilhonamento descrita por Hyden (1956).

A taxa de passagem de líquido e volume ruminal foram analisados considerando-se diferentes relações dos tempos de coleta: 1, 2, 4, 8 e 24 horas (1.2.4.8.24); 1, 4, 8 e 24 horas (1.4.8.24); 1, 2 e 24 horas (1.2.24); 1, 4 e 24 horas (1.4.24); 1, 8 e 24 horas (1.8.24) e 1 e 24 horas (1.24).

3.4 Parte 4. Avaliação da produção de gases *in vitro* em bubalinos alimentados com diferentes níveis de energia e proteína

3.4.1 Determinação da produção de gases

Quatro inóculos, procedentes de quatro animais alimentados com os tratamentos do experimento 3 (BEBP, BEAP, AEBP e AEAP) foram preparados usando a mesma proporção de fase líquida e sólida do conteúdo ruminal. Essas porções foram homogeneizadas em liquidificador e em seguida filtradas.

Amostras dos ingredientes dos concentrados (milho em grãos moídos, farelo de soja, farelo de trigo e farelo de algodão), dos quatro concentrados, da silagem de milho e das dietas completas foram avaliadas nos quatro inóculos diferentes em cada período de experimentação para testar a especificidade do inóculo e as interações entre os ingredientes das dietas.

O perfil cumulativo de gases foi medido usando um transdutor e um *datalogger* (PressDATA 800). Para tanto, um grama de cada amostra foi incubada em frascos de 160 mL com 90 mL de tampão e 10 mL de inóculo. Foram feitas medidas das produções de gases em 3, 6, 9, 12, 16, 24, 30, 36, 48, 60, 72 h após incubação (Figura 15). A degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada às 72 horas pela recuperação da fração não-degradada após incubação pela filtração do resíduo de acordo com técnica descrita em Bueno et al. (2005), Cone et al. (2006) e Bueno et al. (2008).

O modelo matemático usado para expressar a cinética fermentativa foi o de France et al. (1993):

$$A = A_f \times \left\{ 1 - e^{[-b \times (t-t_0) - c \times (\sqrt{t} - \sqrt{t_0})]} \right\} \quad (10)$$

onde A é o volume acumulado de gases produzidos até o tempo t ; A_f é o volume assintótico dos gases produzidos; b e c são constantes do modelo; e t_0 representa um tempo de colonização discreto.

A taxa de fermentação (μ), para $t > t_0$, é dada por:

$$\mu = \frac{b + c}{2 \times \sqrt{t}} \quad (11)$$

Figura 15 - Verificação da pressão de gás

3.5 Tratamento dos dados obtidos e análises estatísticas

Todos os dados obtidos das diversas variáveis estudadas na parte 1 foram analisados adotando-se para a análise estatística o procedimento GLM do programa estatístico SAS (2002). Foram realizadas análises de regressão polinomial entre as variáveis obtidas de idade, peso, altura, perímetro torácico e comprimento do corpo dos machos considerados leves e considerados pesados para avaliar as diferentes correlações.

Nas partes 2 e 3 envolvendo digestão, metabolismo com búfalos fistulados no rúmen foram analisados em esquema de delineamento experimental em Quadrado Latino, com os efeitos de tratamento, animais e períodos testados em relação às

parcelas e a interação horário de coleta vs tratamento testada em relação às sub-parcelas.

Os dados foram submetidos à análise de variância de acordo com os seguintes modelos eq. (12) e eq. (13):

Parte 2:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + A_j + P_k + e_{ijk} \quad (12)$$

Onde: Y_{ijk} = variável dependente;

μ = média geral;

T_i = efeito do tratamento (dietas) (i= 1 a 3);

A_j = Efeito do animal (j = 1 a 3);

P_k = Efeito do período (k = 1 a 3);

e_{ijk} = resíduo.

Parte 3:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + A_j + P_k + e_{ijk} \quad (13)$$

Onde: Y_{ijk} = variável dependente;

μ = média geral;

T_i = efeito do tratamento (dietas) (i= 1 a 4);

A_j = Efeito do animal (j = 1 a 4);

P_k = Efeito do período (k = 1 a 4);

e_{ijk} = resíduo.

Na parte 4 que avaliou a produção de gases *in vitro* o delineamento utilizado foi blocos inteiramente casualizados com arranjo fatorial. O bloco foi considerado o ensaio e em cada ensaio tinham quatro inóculos e cada inóculo testou todas as amostras. Neste caso foi utilizado conteúdo ruminal como fonte de inóculo, sendo este, portanto, uma fonte de variação podendo ainda haver interações entre a amostra e o inóculo. Dessa forma, a análise de variância foi feita com o seguinte modelo estatístico eq.(14):

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + I_j + P_k + S_i \times I_j + e_{ijk} \quad (14)$$

Onde: Y_{ijk} = variável dependente;

μ = média geral;

S_i = efeito do substrato (alimentos) ($i = 1$ a 13);

I_j = Efeito do inóculo ($j = 1$ a 4);

P_k = Efeito do período ($k = 1$ a 4);

$S_i \times I_j$ = efeito da interação substrato*inóculo;

e_{ijk} = resíduo.

Para as análises estatísticas das partes 2, 3 e 4 foi utilizado o PROC GLM do programa estatístico SAS (SAS, 2000). O teste de hipótese teve nível de probabilidade de aceitação ou rejeição de 5 %.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parte 1. Avaliação do desenvolvimento ponderal e características de carcaça de bubalinos com dois pesos de abate criados a pasto

4.1.1 Peso vivo, perímetro torácico, altura de cernelha e comprimento corporal

Os valores médios de desempenho ponderal (peso vivo, perímetro torácico, altura de cernelha e comprimento corporal) de machos bubalinos com peso médio de abate de 517 kg (leves) e de 568 kg (pesados) mantidos aos 1 (nascimento), 210, 360, 540 e 720 dias de idade estão apresentados na Tabela 12. As curvas obtidas com os dados do peso vivo, perímetro torácico, altura na cernelha e comprimento corporal do nascimento aos 720 dias nos machos considerados leves e pesados no momento do abate podem ser vistas nas Figuras 16, 17, 18 e 19, respectivamente.

Não houve diferenças significativas entre os grupos nos parâmetros avaliados ao nascimento, demonstrando uma homogeneidade nos animais ao nascimento, assim como no período considerado da desmama (210 dias) com exceção da altura na cernelha. Entretanto, a partir dos 360 dias os dois grupos começaram a se diferenciar com diferença ($P < 0,05$) entre o peso vivo e o comprimento corporal. Pelas Figuras 16 e 18 pode-se observar que as linhas de ganho de peso e comprimento corporal se tornam praticamente paralelas já a partir dos 210 dias de idade. Tendo em vista esses dados, pode-se dizer que aos 360 dias os animais já poderiam ser separados em grupos de animais leves e pesados tanto para seleção de reprodutores como para o manejo de desempenho. No perímetro torácico as diferenças entre os grupos de animais leves e pesados ocorreram a partir dos 540 dias (Tabela 12 e Figura 17). Já a altura de cernelha tem um comportamento um pouco diferente, sendo que as diferenças ($P < 0,05$) entre os grupos de animais leves e pesados ocorrem aos 210, 540 e 720 dias.

Os pesos obtidos dos búfalos no presente trabalho podem ser considerados muito bons com relação ao desempenho ponderal de búfalos criados em regime de

pastejo no Brasil, tendo em vista que foram mais elevados que os obtidos por outros pesquisadores com búfalos em crescimento em condições de pastejo no Pará (NASCIMENTO et al., 1972) e no Estado de São Paulo (PACOLA et al., 1978; NOGUEIRA et al., 1989; BARBOSA et al., 1988; JORGE e ANDRIGHETTO, 2005).

Tabela 12 - Peso vivo, perímetro torácico, altura de cernelha e comprimento corporal de búfalos machos considerados leves e pesados ao nascimento, 210, 360, 540 e 720 dias

Idade	Leves	Pesados	P	Média
Peso (kg)				
Nascimento	45,8 ±5,50	43,5 ±1,69	0,2793	44,6 ±4,21
210	205,7 ±23,35	223,4 ±12,89	0,0770	214,5 ±20,69
360	312,9 ±17,41	340,5 ±10,86	0,0015	326,7 ±20,12
540	380,4 ±19,70	418,9 ±17,64	0,0008	399,7 ±26,95
720	519,3 ±21,24	559,8 ±12,28	0,0003	539,5 ±26,91
Perímetro Torácico (cm)				
Nascimento	82,56 ±4,13	80,63 ±2,07	0,2510	81,6 ±3,37
210	139,44 ±5,46	143,00 ±4,14	0,1551	141,2 ±5,07
360	166,33 ±6,46	171,25 ±4,92	0,1012	168,8 ±6,15
540	175,11 ±5,97	185,38 ±8,40	0,0103	180,2 ±8,75
720	194,67 ±5,12	202,50 ±4,04	0,0034	198,6 ±6,04
Comprimento Corporal (cm)				
Nascimento	61,44 ±2,01	61,63 ±3,70	0,9005	61,5 ±2,83
210	94,67 ±12,52	101,75 ±2,82	0,1396	98,2 ±9,75
360	109,67 ±10,20	118,13 ±3,64	0,0425	113,9 ±8,76
540	119,56 ±11,58	131,00 ±5,45	0,0222	125,3 ±10,71
720	136,44 ±4,85	143,38 ±4,24	0,0071	139,9 ±5,69
Altura de Cernelha (cm)				
Nascimento	72,89 ±2,93	73,38 ±1,69	0,6867	73,1 ±2,37
210	105,67 ±4,92	110,63 ±3,85	0,0369	108,1 ±5,01
360	121,78 ±5,76	125,75 ±2,12	0,0861	123,8 ±4,77
540	128,44 ±5,75	135,38 ±4,98	0,0186	131,9 ±6,33
720	137,44 ±4,95	143,00 ±4,41	0,0282	140,2 ±5,38

*P = valores de P em ANOVA

Figura 16 - Peso vivo dos búfalos mantidos a pasto do nascimento aos 750 dias

Figura 17 – Perímetro torácico dos búfalos mantidos a pasto do nascimento aos 750 dias

Figura 18 – Comprimento Corporal dos búfalos mantidos a pasto do nascimento aos 750 dias

Figura 19 – Altura de Cernelha dos búfalos mantidos a pasto do nascimento aos 750 dias

Houve diferença ($P < 0,05$) entre ganho de peso diário dos animais leves e pesados somente no período que compreendeu do nascimento aos 210 dias, com melhora no desempenho em 12,5% nos animais pesados (0,856 kg/dia) em relação aos animais leves (0,761 kg/dia) (Tabela 13). Entretanto, embora não tenha sido observada diferença, provavelmente em função do número de animais avaliados, os

búfalos pesados apresentaram melhores valores médios absolutos no ganho de peso diário em todos os períodos avaliados.

Tabela 13 – Ganho de peso diário de búfalos machos considerados leves e pesados do nascimento aos 210 dias (PN-P210), dos 210 aos 360 dias (P210-P360), dos 360 aos 540 dias (P360-P540) e dos 540 aos 720 dias (P540-P720)

Idade	Ganho de Peso Diário			
	Leves	Pesados	P*	Média
PN-P210	0,761 ±0,10	0,856 ±0,06	0,036	0,806 ±0,10
P210-P360	0,715 ±0,06	0,780 ±0,08	0,073	0,746 ±0,07
P360-P540	0,375 ±0,08	0,437 ±0,11	0,187	0,404 ±0,10
P540-P720	0,773 ±0,06	0,782 ±0,11	0,831	0,777 ±0,09

P = valores de P em ANOVA

Na Tabela 14 estão apresentadas as equações de regressão entre idade, peso, perímetro torácico, comprimento corporal e altura de cernelha dos grupos leves e pesados e de todos os animais avaliados juntos (leves e pesados). Nas Figuras 20, 21, 22 e 23 podem ser observados os gráficos representativos das regressão para estimativa do peso em relação à idade, perímetro torácico, comprimento corporal e altura de cernelha de todos os búfalos avaliados, respectivamente. Todas as correlações avaliadas mostraram-se altamente significativas ($P < 0,01$), com altos coeficientes de determinação, R^2 variando entre 0,8157 a 0,9970. As equações de estimativa foram todas lineares, o que torna mais fácil a utilização dessas estimativas na prática, pois é necessário apenas uma medida, por exemplo, do perímetro torácico para se obter o peso do animal. Nos animais leves a idade pode ser melhor estimada quando correlacionada com o peso e com o perímetro torácico. No geral, avaliando todo grupo de animais (leves e pesados) a equação que melhor estima a idade dos animais é a que leva em consideração o peso com elevada correlação entre os dados ($R^2 = 0,9970$). Dessa forma, em condições práticas, recomenda-se utilizar a equação $\text{Peso (kg)} = 69,84 + 0,6455 \cdot \text{Idade (dias)}$, para estimar o peso tendo um valor de perímetro torácico. Para estimativa do peso do búfalo a melhor característica a ser usada é o perímetro torácico ($R^2 = 0,9440$) com a equação $\text{Peso (kg)} = -368,81 + 4,2915 \cdot \text{P.Torax (cm)}$. Essa correlação já é utilizada na prática da bovinocultura, existindo fitas métricas comerciais próprias para a estimativa de peso nesses animais.

Tabela 14 - Regressão entre idade, peso, perímetro torácico (P. Tórax), comprimento corporal (C. Corp) e altura de cernelha (Altura) dos animais considerados leves e pesados no momento do abate e de todos os animais (leves e pesados).

Variável Independente	Variável Dependente	Equação	R ²	P*
Animais Leves				
Idade	Peso	Peso (kg) = 68,16 + 0,6185*Idade (dias)	0,9712	< 0,0001
Idade	P.Torax	P.Torax (cm) = 105,49 + 0,1350*Idade (dias)	0,9013	< 0,0001
Idade	C.Corp	C.Corp (cm) = 70,06 + 0,0972*Idade (dias)	0,8158	< 0,0001
Idade	Altura	Altura (cm) = 83,97 + 0,0843*Idade (dias)	0,8536	< 0,0001
Animais Pesados				
Idade	Peso	Peso (kg) = 71,72 + 0,6759*Idade (dias)	0,9804	< 0,0001
Idade	P.Torax	P.Torax (cm) = 105,84 + 0,1473*Idade (dias)	0,9063	< 0,0001
Idade	C.Corp	C.Corp (cm) = 73,98 + 0,1063*Idade (dias)	0,9423	< 0,0001
Idade	Altura	Altura (cm) = 86,24 + 0,0909*Idade (dias)	0,9025	< 0,0001
Animais Leves e Pesados				
Idade	Peso	Peso (kg) = 69,84 + 0,6455*Idade (dias)	0,9970	< 0,0001
Idade	P.Torax	P.Torax (cm) = 105,66 + 0,1408*Idade (dias)	0,8975	< 0,0001
Idade	C.Corp	C.Corp (cm) = 71,90 + 0,1014*Idade (dias)	0,8550	< 0,0001
Idade	Altura	Altura (cm) = 85,04 + 0,0874*Idade (dias)	0,8653	< 0,0001
P.Torax	Peso	Peso (kg) = -368,81 + 4,2915*P.Torax (cm)	0,9440	< 0,0001
C.Corp	Peso	Peso (kg) = -312,56 + 5,6696*C.Corp (cm)	0,8979	< 0,0001
Altura	Peso	Peso (kg) = -480,02 + 6,7128*Altura (cm)	0,9241	< 0,0001
Peso	C.Corp	C.Corp (cm) = 60,55 + 0,1584*Peso (kg)	0,8979	< 0,0001
Peso	P.Torax	P.Torax (cm) = 89,85 + 0,2201*Peso (kg)	0,9444	< 0,0001
Peso	Altura	Altura (cm) = 74,92 + 0,1377*Peso (kg)	0,9240	< 0,0001

P = valores de P em ANOVA

Figura 20- Regressão do peso em função da idade em bubalinos da raça Mediterrâneo em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (Peso (kg)= 69,84 + 0,6455*Idade(dias); r²=0,9970; p<0,01)

Figura 21 - Regressão do peso em função do perímetro torácico em bubalinos da raça Mediterrâneo em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (Peso (kg) = $-368,81 + 4,2915 \cdot P.Torax$ (cm); $r^2=0,9440$; $p<0,01$)

Figura 22 - Regressão do peso em função do comprimento corporal em bubalinos da raça Mediterrâneo em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (Peso (kg) = $-312,56 + 5,6696 \cdot C.Corp$ (cm); $r^2=0,8979$; $p<0,01$)

Figura 23 - Regressão do peso em função da altura na cernelha em bubalinos da raça Mediterrâneo em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (Peso (kg) = $-480,02 + 6,7128 \cdot \text{Altura (cm)}$; $r^2=0,9241$; $p<0,01$)

4.1.2 Características de carcaça

Na Tabela 15 estão apresentados os valores de rendimento de carcaça quente (RCQ), rendimento de carcaça fria (RCF), perda ao resfriamento (PR), peso da gordura, peso do fígado, pH e temperatura no músculo *Longissimus dorsi* obtidos em 1 e 24 horas após o abate, área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea (EGS) em búfalos com dois diferentes pesos médios ao abate.

Os bubalinos apresentaram rendimento de carcaça quente em média de 51,72%. Este valor é mais elevado que os encontrados com bubalinos por Velloso et al. (1994), Oliveira et al. (2005), Silva et al. (2006), Franzolin e Silva (2001) e Lapitan et al. (2008) e menor que os observados por Mattos, Jorge e Nogueira (1997) e Lapitan et al. (2007). O RCF médio de 51,01% foi mais elevado que os obtidos por Jorge et al. (1997), Oliveira et al. (1991), Franzolin e Silva (2001), Oliveira et al. (2005), Menegucci et al. (2006), Santiago (1971), Drudi (1976), Felício (1980), Ramos et al. (1979), Silva et al. (2006), Lapitan et al. (2008). Entretanto, os valores obtidos foram inferiores que os obtidos por Mattos, Jorge e Nogueira (1997), Jorge et al. (2005) e Lapitan et al. (2007) e próximos aos valores obtidos por Afif et al. (1974) para bubalinos machos com diferentes pesos e idade ao abate. A perda ao

resfriamento média foi de 1,36%, sendo inferior aos observados por Lapitan et al. (2007) e Lapitan et al. (2008).

Tabela 15 - Valores de rendimento de carcaça quente (RCQ), rendimento de carcaça fria (RCF), perda ao resfriamento (PR), peso da gordura e peso do fígado, pH e temperatura no músculo *Longissimus dorsi* 1 e 24 horas após o abate, AOL e EGS em búfalos abatidos com peso médio de 517 kg (Leves) e de 568 kg (Pesados)

Características	Leves	Pesados	P**	Média	EPM*
Peso Abate (kg)	517,33	568,13	0,0005	541,24	8,43
RCQ (%)	52,04	51,40	0,2873	51,72	0,28
RCF (%)	51,31	50,72	0,3048	51,01	0,28
PR (%)	1,37	1,33	0,6915	1,36	0,05
Peso da Gordura (kg)	11,32	15,00	0,0014	13,16	0,65
Peso da Gordura (%PV)	2,15	2,64	0,0089	2,40	0,10
Peso do Fígado (kg)	6,29	6,64	0,1603	6,46	0,12
Peso do Fígado (%PV)	1,19	1,17	0,5485	1,18	0,02
pH 1h	7,33	7,07	0,2771	7,21	0,12
pH 24h	5,69	5,70	0,9355	5,70	0,06
Temperatura 1h (°C)	35,09	36,28	0,1403	35,65	0,40
Temperatura 24h (°C)	7,79	7,31	0,5842	7,56	0,42
AOL (cm ²)	62,44	63,75	0,5739	63,10	1,11
EGS (mm)	9,00	8,75	0,8459	8,88	0,61

*EPM = Erro padrão da média; **P = valores de P em ANOVA

A gordura interna (inguinal, pélvica e renal) foi mais pesada ($P < 0,05$) nos animais abatidos com 568 kg, demonstrando que após um determinado peso o animal pode começar a acumular gordura interna. O peso dos animais ao abate não influenciou no pH e temperatura da carcaça medida no músculo *longissimus dorsi* (Tabela 15). O pH médio no músculo *Longissimus dorsi* uma hora após o abate foi de 7,21. Jorge et al. (2006), Silva (2007) e Neath et al. (2007) encontraram pH menores. No tempo de 24 horas após o abate, o pH obtido foi de 5,70, sendo mais alto que os observados por Kandeepan e Biswas (2007), Mattos et al. (1997), Spanghero et al. (2004), Jorge et al. (2006), Andricheto et al. (2008), Kandeepan et al. (2009) e Lapitan et al. (2007 e 2008). O pH mais alto na carne de animais recém abatidos pode estar relacionado ao estresse ocorrido no momento do abate. Dessa

forma, técnicas adequadas e menos estressantes devem ser implementadas para o abate específico em bubalinos.

A temperatura média no músculo *Longissimus dorsi* uma hora e 24 horas após o abate foi de 35,65°C e 7,56°C, respectivamente. Jorge et al. (2006) obtiveram temperaturas mais elevadas uma hora após o abate (40,4°C) e mais baixas (7,0°C) 24 horas após o abate. Entre os principais fatores que afetam a temperatura da carcaça tem-se: o tamanho (peso) da carcaça e a sua quantidade de gordura subcutânea; a temperatura e a velocidade do ar na câmara; o número e o espaço entre as carcaças na câmara (Gomide et al., 2006).

A área de olho de lombo média foi de 63,10 cm², sendo valor maior que o obtido por Vaz et al. (2003), Irurueta et al. (2008), Lapitan et al. (2007) e Lapitan et al. (2008) e menor que aquele observado por Silva et al. (2006). A espessura de gordura subcutânea média (8,88 mm) foi maior que a obtida por Vaz et al. (2003) e Silva et al. (2006) e menor que a obtida por Irurueta et al. (2008). Esses valores de AOL e EGS indicam boa composição e acabamento de carcaça.

Diante dos dados obtidos das características de carcaça, os animais mais leves, com peso médio de abate de 517 kg, apresentaram carcaça semelhantes aos abatidos com peso médio de 568 kg, porém com menor deposição de gordura, denotando uma fase de deposição de gordura interna nos búfalos após o peso ao redor de 517 kg. Este fato pode ser de grande interesse comercial na decisão do peso ideal de abate de bubalinos.

4.1.3 Características da carne

Na Tabela 16 encontram-se os dados dos valores das características da carne de bubalinos abatidos com peso médio de 517 kg e de 568 kg. O índice de marmorização não diferiu ($P>0,05$) entre os pesos de abate. O valor médio observado de 4,56 é classificado como “Slight” pela escala USDA de marmorização para bovinos. À medida que a marmorização da carne aumenta, melhora a suculência, sabor e maciez. De acordo com Savell et al. (1987), seria necessário um mínimo de marmorização “Slight” (3% de gordura intramuscular) para maior

palatabilidade. Dessa forma, os valores encontrados conferem à carne boa palatabilidade.

Irurueta et al. (2008), em experimento com búfalos, obtiveram classificação “*Small amount*” para índice de marmorização. Lapitan et al. (2007) e Lapitan et al. (2008) também observaram maiores índices de marmorização, de 6,7 e 6,8, respectivamente. Já Andrighetto et al. (2008) encontraram valores que variaram de 1,25 a 2,20. Francisco et al. (2010) observaram índice de marmorização de 2,47 e 2,80 para animais confinados abatidos, respectivamente, com 510 kg e 540 kg.

Tabela 16 - Valores das características da carne (marmorização, força de cisalhamento e cor) de bubalinos abatidos com peso médio de 517 kg (Leves) e de 568 kg (Pesados)

Características	Leves	Pesados	P ^{***}	Média	EPM ^{**}
Marmorização	4,59	4,53	0,27	4,56	0,03
Força de cisalhamento (Kgf)					
0 dia	5,22 ^A	4,79 ^A	0,4082	5,00 ^A	0,15
7 dias	4,02 ^B	4,43 ^{AB}	0,4123	4,22 ^B	0,13
14 dias	3,67 ^B	3,59 ^B	0,8495	3,63 ^B	0,11
Cor ^{****}					
L*	33,96	35,35	0,3537	34,61	0,72
a*	15,61	15,83	0,6637	15,72	0,24
b*	11,59	11,83	0,7296	11,70	0,32

^{**}EPM = Erro padrão da média; ^{***}P = valores de P em ANOVA ^{****}Espaço CIELAB o L* indica luminosidade e a* e b* são as coordenadas de cromaticidade, onde o eixo -a*-----+a* vai de verde a vermelho, e -b*-----+b* vai de azul a amarelo.

^{A, B, C} Valores seguidos com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste LSD (P<0,05)

A força de cisalhamento não sofreu influência (P<0,05) dos pesos ao abate. Os valores médios de força de cisalhamento para 0, 7 e 14 dias de maturação foram de 5,01 kgf, 4,20 kgf e 3,68 kgf, respectivamente. Irurueta et al. (2008) e Rodrigues et al. (2004) verificaram menor força de cisalhamento da carne sem maturação e Neath et al. (2007) observaram valores maiores para 0 dia de maturação e menores para 7 e 14 dias de maturação. Francisco et al. (2010) obtiveram, em bubalinos confinados e abatidos com 510 kg e 540 kg, força de cisalhamento de 3,91 e 4,57, respectivamente. Nos animais do grupo leves e na média dos animais (leves e pesados) a força de cisalhamento foi maior na carne que não foi maturada que nas

que foram maturadas por 7 e 14 dias. Nos animais pesados a força de cisalhamento na carne sem maturação foi maior que na carne maturada por 14 dias (Tabela 16). Esses valores de fato comprovam que a maturação em 7 e 14 dias promove maior maciez na carne bubalina.

O peso dos animais ao abate também não influenciou ($P < 0,05$) na coloração da carne. Jorge et al. (2006), em pesquisa com búfalos Mediterrâneos abatidos em diferentes pesos, também não verificaram diferenças entre os tratamentos quanto à avaliação da coloração da carne.

Os valores médios da coloração da carne para L^* , a^* e b^* foram 34,61; 15,72 e 11,70, respectivamente. Carnes de bubalinos mais escuras foram observadas por Irurueta et al. (2008) $L^* = 33,35$; $a^* = 19,39$ e $b^* = 15,68$ e Mattos et al. (1997) $L^* = 25,7$ e 23,1, $a^* = 14,6$ e 11,9 e $b^* = 8,4$ e 7,3. Já, Jorge et al. (2006) obtiveram valores de 35,59 para L^* , 12,50 para a^* e 5,66 para b^* , Lapitan et al. (2007) de $L^* = 40,33$, $a^* = 17,04$, $b^* = 5,98$, Lapitan et al. (2008) de $L^* = 36,9$, $a^* = 15,8$, $b^* = 3,11$ e Rodrigues et al. (2004) de $L^* = 38,0$, $a^* = 19,1$ e $b^* = 0,78$. A coloração da carne obtida se encontra dentro dos padrões de aceitabilidade pelo consumidor.

4.2 Parte 2. Avaliação de dietas com três níveis de proteína no metabolismo ruminal em bubalinos

4.2.1 Consumo

Não foi objeto do trabalho a avaliação do consumo de matéria seca pelos animais conforme os tratamentos designados, já que há grande variação no consumo de búfalos confinados em condições experimentais e o curto período de alimentação em cada subperíodo do quadrado-latino. Entretanto, os dados de consumo controlado de nutrientes durante o período de experimento podem ser vistos na Tabela 17. Houve pequena variação no consumo dos nutrientes entre os tratamentos, exceto a proteína que apresentou diferentes níveis, conforme planejado para o experimento.

Tabela 17 - Consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de proteína bruta (CPB), consumo de extrato etéreo (CEE), consumo de carboidratos totais (CCT), consumo de FDN (CFDN), consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF) e consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT) obtidos para as dietas experimentais

Variável	Teores de Proteína		
	9%	12%	15%
CMS (kg/dia)	7,55	7,64	7,50
CMS (%PV)	1,32	1,33	1,31
CMS (g/kgPV ^{0.75})	64,58	65,37	63,57
CMO (kg/dia)	7,20	7,29	7,17
CPB (kg/dia)	0,75	0,95	1,13
CEE (kg/dia)	0,22	0,22	0,22
CCT (kg/dia)	6,23	6,11	5,82
CFDN (kg/dia)	3,37	3,42	3,38
CFDN (% PV)	0,59	0,59	0,59
CCNF (kg/dia)	2,86	2,69	2,44
CNDT (kg/dia)	5,00	5,04	4,93

4.2.2 Degradabilidade *in situ*

Os níveis de proteína bruta na dieta não influenciaram ($P>0,05$), os parâmetros do modelo de Ørskov e McDonald (1979), para a degradação *in situ* da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e fibra em detergente neutro, conforme se pode observar pelas Tabelas 18, 19, 20 e 21 e Figuras 24, 26, 28 e 30, respectivamente. De acordo com esses dados, pode-se inferir que a dieta contendo 9% de proteína bruta foi adequada para atender as exigências de nitrogênio dos microrganismos no rúmen.

Houve algumas diferenças nos parâmetros do modelo de Ørskov e McDonald (1979) para a degradação *in situ* da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta dos ingredientes da dieta (farelo de algodão, milho em grãos moídos, farelo de soja e silagem de milho) e para a degradação *in situ* da fibra em detergente neutro da silagem de milho e *Brachiaria brizantha* (Tabelas 18, 19, 20 e 21 e Figuras 25, 27,

29 e 31, respectivamente). Esse fato era esperado uma vez que foram avaliados ingredientes de diferentes características nutricionais.

A taxa de degradação da MS da fração insolúvel potencialmente fermentável (c) foi maior ($P<0,05$) no farelo de soja e farelo de algodão (ingredientes protéicos) que nos demais ingredientes. A silagem de milho foi o ingrediente que apresentou maior ($P<0,05$) fração prontamente solúvel seguida pelo farelo de soja, farelo de algodão e milho em grãos moídos. O milho em grãos moídos, ingrediente energético, apresentou maior fração insolúvelsolúvel potencialmente fermentável (B). O farelo de algodão apresentou menor ($P<0,05$) degradabilidade potencial que o farelo de soja e o milho em grãos moídos. O ingrediente volumoso, silagem de milho, apresentou maior ($P<0,05$) tempo de colonização. O farelo de soja apresentou maior ($P<0,05$) degradabilidade efetiva para todas as taxas de passagem avaliadas. No geral os alimentos protéicos, farelo de soja e farelo de algodão, apresentaram maior degradabilidade efetiva da MS que o ingrediente energético e o volumoso (Tabela 18).

Tabela 18 – Cinética da degradabilidade ruminal da matéria seca dos níveis de proteína (baixo, médio e alto), e das amostras (farelo de algodão, milho em grãos moídos, farelo de soja e silagem de milho)

Parâmetros*	Teores de Proteína				Ingredientes				
	9%	12%	15%	EPM**	Farelo de Algodão	Milho em grãos moídos	Farelo de Soja	Silagem de milho	EPM**
a	30,13	34,89	32,89	1,47	33,82 ^b	19,44 ^c	35,08 ^b	42,46 ^a	1,70
b	61,35	64,27	58,12	3,01	49,67 ^c	85,33 ^a	66,22 ^b	43,76 ^c	3,48
c	0,062	0,037	0,051	0,007	0,071 ^a	0,034 ^b	0,074 ^a	0,021 ^b	0,008
A	34,38	34,38	34,38	-	31,69 ^c	20,58 ^d	38,56 ^b	46,69 ^a	-
B	57,29	64,78	56,63	3,50	51,79 ^{bc}	84,19 ^a	62,74 ^b	39,53 ^c	4,04
A+B	91,67	99,16	91,01	3,50	83,49 ^c	104,78 ^a	101,3 ^{ab}	86,22 ^{bc}	4,04
t ₀	1,83	1,11	1,61	0,44	0,17 ^b	0,72 ^b	0,82 ^b	4,36 ^a	0,50
DE 0,08	52,72	53,74	54,15	0,88	54,45 ^b	42,67 ^c	66,07 ^a	50,96 ^b	1,01
DE 0,05	58,86	60,13	60,16	0,93	59,75 ^b	50,98 ^c	73,60 ^a	54,52 ^c	1,08
DE 0,02	70,9	73,65	71,82	1,23	69,54 ^b	69,27 ^b	86,26 ^a	63,43 ^c	1,43

* a e b : Constantes do modelo; c: taxa de degradação da fração B (h^{-1}); A: fração prontamente solúvel (%); B: fração insolúvel potencialmente fermentável (%); A+B: degradabilidade potencial (%); t₀: tempo de colonização (h); DE 0,08: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,08 \text{ h}^{-1}$; DE 0,05: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,05 \text{ h}^{-1}$; DE 0,02: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,02 \text{ h}^{-1}$ (Ørskov e McDonald, 1979)

** EPM: erro padrão das médias

a, b, c, d médias seguidas por sobrescritos diferentes, nas linhas, diferem entre si ($P<0,05$)

Figura 24 – Curvas de degradação da MS *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen dos diferentes teores de proteína na dieta (9% PB, 12% PB e 15% PB)

Figura 25 - Curvas de degradação da MS *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen dos ingredientes da ração (algodão, milho, soja e silagem de milho)

A taxa de degradação da fração B da MO foi maior ($P < 0,05$) no farelo de soja que na silagem de milho e no milho em grãos moídos. Numericamente o farelo de soja e farelo de algodão, ingredientes protéicos, apresentaram maior taxa de degradação da fração B. A silagem de milho apresentou maior ($P < 0,05$) fração prontamente solúvel (A) da MO, seguida pelo farelo de soja, farelo de algodão e

milho em grãos moídos. O milho em grãos moídos e o farelo de soja apresentaram maior ($P<0,05$) fração insolúvel potencialmente fermentável (B) e maior degradabilidade potencial (A+B) que a silagem de milho. O tempo de colonização foi maior no volumoso, silagem de milho. A degradabilidade efetiva (DE) foi maior ($P<0,05$) em todas as taxas de passagem no farelo de soja. No geral o farelo de soja e o farelo de algodão, apresentaram maior degradabilidade efetiva da MO que o milho em grãos moídos e a silagem de milho (Tabela 19).

Tabela 19 - Cinética da degradabilidade ruminal da matéria orgânica dos níveis de proteína (baixo, médio e alto), e das amostras (farelo de algodão, milho em grãos moídos, farelo de soja e silagem de milho)

Parâmetros*	Teores de Proteína				Ingredientes				
	9%	12%	15%	EPM**	Farelo de Algodão	Milho em grãos moídos	Farelo de Soja	Silagem de milho	EPM**
a	31,03	33,49	29,87	1,63	32,92 ^b	16,05 ^c	34,00 ^b	42,89 ^a	1,89
b	63,64	62,57	60,7	3,09	53,57 ^{bc}	87,01 ^a	66,76 ^b	41,88 ^c	3,57
c	0,048	0,039	0,053	0,006	0,051 ^{ab}	0,037 ^b	0,074 ^a	0,025 ^b	0,006
A	33,74	33,74	33,74	0	34,7 ^c	17,33 ^d	35,82 ^b	47,12 ^a	0
B	60,93	62,31	56,83	3,38	51,78 ^{bc}	85,73 ^a	64,93 ^b	37,65 ^c	3,91
A+B	94,67	96,05	90,57	3,38	86,49 ^{bc}	103,06 ^a	100,75 ^{ab}	84,77 ^c	3,91
t ₀	1,82	0,89	1,81	0,35	0,94 ^b	0,74 ^b	0,67 ^b	3,68 ^a	0,4
DE 0,08	51,56	53,09	53,24	0,66	51,15 ^b	41,37 ^c	65,57 ^a	52,43 ^b	0,76
DE 0,05	57,9	59,46	59,86	0,61	56,76 ^b	50,09 ^c	73,20 ^a	56,24 ^b	0,7
DE 0,02	70,95	72,56	72,33	0,88	67,94 ^b	68,67 ^b	85,93 ^a	65,25 ^b	1,01

* a e b : Constantes do modelo; c: taxa de degradação da fração B (h^{-1}); A: fração prontamente solúvel (%); B: fração insolúvel potencialmente fermentável (%); A+B: degradabilidade potencial (%); t₀: tempo de colonização (h); DE 0,08: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,08 \text{ h}^{-1}$; DE 0,05: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,05 \text{ h}^{-1}$; DE 0,02: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,02 \text{ h}^{-1}$ (Ørskov e McDonald, 1979)

** EPM: erro padrão das médias

a, b, c, d médias seguidas por sobrescritos diferentes, nas linhas, diferem entre si ($P<0,05$)

Figura 26 - Curvas de degradação da MO *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen dos diferentes teores de proteína na dieta (9% PB, 12% PB e 15% PB)

Figura 27 - Curvas de degradação da MO *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen dos ingredientes da ração (algodão, milho, soja e silagem de milho)

A silagem de milho apresentou menor taxa de degradação de proteína bruta (c) que o farelo de algodão e o farelo de soja ($P < 0,05$). A fração prontamente solúvel (A) foi maior ($P < 0,05$) na silagem de milho, seguida pelo farelo de soja, farelo de algodão e milho em grãos moídos. O ingrediente que apresentou maior ($P < 0,05$) fração insolúvel potencialmente fermentável foi a silagem de milho. Não houve diferença na degradabilidade potencial (A+B) da proteína bruta nos ingredientes avaliados. O farelo de algodão apresentou menor tempo de colonização que o milho

em grãos moídos e o farelo de soja. A silagem de milho apresentou maiores ($P<0,05$) valores de degradabilidade efetiva com taxa de passagem de 0,08 (DE 0,08) que o farelo de soja e o milho em grãos moídos. Na avaliação da DE 0,05 e 0,02 o farelo de soja e o farelo de algodão apresentaram valores mais elevados que a silagem de milho e o milho em grãos moídos (Tabela 20).

Avaliando a cinética da degradabilidade da MS, MO e PB pode-se observar que os ingredientes protéicos apresentaram maiores degradabilidades efetivas que os demais ingredientes.

Tabela 20 - Cinética da degradabilidade ruminal da proteína bruta dos teores de proteína (baixo, médio e alto), e das amostras (farelo de algodão, milho em grãos moídos, farelo de soja e silagem de milho)

Parâmetros*	Teores de Proteína				Ingredientes				
	9%	12%	15%	EPM**	Farelo de Algodão	Milho em grãos moídos	Farelo de Soja	Silagem de milho	EPM**
a	21,37	23,36	17,97	3,14	30,18 ^b	-2,86 ^c	2,14 ^c	54,13 ^a	3,63
b	68,57	71,09	75,96	2,95	61,79 ^b	87,8 ^a	96,44 ^a	41,47 ^c	3,41
c	0,085	0,080	0,072	0,013	0,107 ^a	0,068 ^{ab}	0,114 ^a	0,026 ^b	0,015
A	23,50	23,50	23,50	0,00	17,32 ^c	7,1 ^d	18,86 ^b	50,73 ^a	0,00
B	66,45	70,95	70,43	3,17	74,65 ^a	77,83 ^a	79,73 ^a	44,88 ^b	3,67
A+B	89,95	94,45	93,93	3,17	91,97	84,93	98,59	95,61	3,67
t ₀	0,65	0,63	1,11	0,20	0,19 ^b	1,36 ^a	1,14 ^a	0,50 ^{ab}	0,24
DE 0,08	54,9	55,31	54,17	0,94	61,47 ^{ab}	36,07 ^c	58,44 ^b	63,18 ^a	1,09
DE 0,05	62,01	62,65	61,99	0,99	67,67 ^a	45,94 ^b	68,59 ^a	66,66 ^a	1,40
DE 0,02	73,98	75,48	75,45	1,36	78,22 ^{ab}	63,12 ^c	83,59 ^a	74,94 ^b	1,57

* a e b : Constantes do modelo; c: taxa de degradação da fração B (h^{-1}); A: fração prontamente solúvel (%); B: fração insolúvel potencialmente fermentável (%); A+B: degradabilidade potencial (%); t₀: tempo de colonização (h); DE 0,08: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de 0,08 h^{-1} ; DE 0,05: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de 0,05 h^{-1} ; DE 0,02: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de 0,02 h^{-1} (Ørskov e McDonald, 1979)

** EPM: erro padrão das médias

a, b, c, d médias seguidas por sobrescritos diferentes, nas linhas, diferem entre si ($P<0,05$)

Figura 28 - Curvas de degradação da PB *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen dos diferentes teores de proteína na dieta (9% PB, 12% PB e 15% PB)

Figura 29 - Curvas de degradação da PB *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen dos ingredientes da ração (algodão, milho, soja e silagem de milho)

A taxa de degradação da FDN e o tempo de colonização foram maiores ($P < 0,05$) na *Brachiaria brizantha* que na silagem de milho. A fração prontamente solúvel, a degradabilidade potencial e a degradabilidade efetiva para todas as taxas de passagem avaliadas foram maiores ($P < 0,05$) na silagem de milho que na *Brachiaria brizantha* (Tabela 21).

Tabela 21 - Cinética da degradabilidade ruminal da fibra em detergente neutro (FDN) dos teores de proteína (baixo, médio e alto), e das amostras (*Brachiaria brizantha* e silagem de milho)

Parâmetros*	Teores de Proteína			EPM**	Ingredientes		EPM**
	9%	12%	15%		<i>Brachiaria brizantha</i>	Silagem de milho	
a	23,79	24,17	20,97	1,56	7,6 ^b	38,35 ^a	1,27
b	50,37	51,08	53,15	2,29	57,19 ^a	45,87 ^b	1,87
c	0,027	0,031	0,033	0,004	0,039 ^a	0,022 ^b	0,003
A	30,71	30,71	30,71	0,00	18,72 ^b	42,69 ^a	0,00
B	43,46	44,55	43,41	1,79	46,08	41,53	1,46
A+B	74,17	75,25	74,11	1,79	64,08 ^b	84,22 ^a	1,46
t ₀	4,25	3,63	4,66	0,82	4,37 ^a	3,99 ^b	0,67
DE 0,08	36,54	37,51	36,56	0,87	25,91 ^b	47,84 ^a	0,70
DE 0,05	41,35	42,28	42,07	0,85	32,06 ^b	51,74 ^a	0,70
DE 0,02	52,25	52,77	53,77	0,76	44,58 ^b	61,29 ^a	0,62

* a e b : Constantes do modelo; c: taxa de degradação da fração B (h⁻¹); A: fração prontamente solúvel (%); B: fração insolúvel potencialmente fermentável (%); A+B: degradabilidade potencial (%); t₀: tempo de colonização (h); DE 0,08: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de 0,08 h⁻¹; DE 0,05: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de 0,05 h⁻¹; DE 0,02: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de 0,02 h⁻¹ (Ørskov e McDonald, 1979)

** EPM: erro padrão das médias

a, b, c, d médias seguidas por sobrescritos diferentes, nas linhas, diferem entre si (P<0,05)

Figura 30 - Curvas de degradação da FDN *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen dos diferentes teores de proteína na dieta (9% PB, 12% PB e 15% PB)

Figura 31 - Curvas de degradação da FDN *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmem da *Brachiaria brizantha* e silagem de milho

4.2.3 pH ruminal

Na Tabela 22 e a Figura 32 estão apresentados os valores médios obtidos para o pH do líquido ruminal dos bubalinos alimentados com diferentes níveis de proteína bruta. Não houve diferença significativa ($P>0,05$) no pH ruminal nas dietas com diferentes teores de proteína. Avaliando o tempo após alimentação observa-se comportamento semelhante nas curvas nos tratamentos com 9% e 15% de proteína; o valor mais baixo de pH ocorreu 2 horas após a alimentação e o pH mais alto 8 horas após a alimentação. No tratamento com 12% de proteína o pH foi menor 4 horas após alimentação.

O valor médio do pH ruminal foi de 6,35 estando, próximo ao valor médio citado por Dehority (1987) para ruminantes em dietas ricas em volumosos e por Franzolin Neto, Nogueira Filho e Zanetti (1990), que observaram valor médio de pH no rúmen de 6,28 em bubalinos alimentados com dieta exclusiva de volumoso. Alves et al. (2009) obtiveram pH médio no rúmen de 6,70 em pesquisa com búfalos recebendo níveis crescentes de milho na dieta.

Tabela 22 - Valores médios do pH no rúmen de búfalos alimentados com dietas contendo diferentes teores de proteína bruta na matéria seca

Tempo (horas)	Teores de Proteína			Média	EPM*
	9%	12%	15%		
0	6,39 ^{AB}	6,50 ^{AB}	6,45 ^{AB}	6,45 ^A	0,09
2	6,06 ^B	6,30 ^{BC}	6,13 ^B	6,16 ^B	0,06
4	6,26 ^{AB}	6,23 ^C	6,28 ^{AB}	6,25 ^B	0,04
8	6,54 ^A	6,56 ^A	6,54 ^A	6,55 ^A	0,03
Média	6,31	6,40	6,35	6,35	0,04

*EPM: Erro padrão da média

Não houve diferença significativa entre os tratamentos em qualquer tempo; valores seguidos por letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si ($P < 0,05$)

Figura 32 - Valores médios de pH no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira alimentação, em búfalos recebendo dietas com diferentes teores de proteína.

4.2.4 Nitrogênio Amoniacal ruminal

Os dados obtidos para concentração de amônio (N-amoniaco) no líquido ruminal de búfalos recebendo dietas com diferentes teores de proteína estão apresentados na Tabela 23. Houve diferença ($P < 0,05$) entre as dietas apenas para o tempo de 8 horas após a alimentação, sendo que no tratamento com 15% de proteína a concentração de N-amoniaco não diminuiu na mesma proporção que os

demais tratamentos, indicando que mesmo 8 horas após a alimentação a síntese de proteína microbiana deve ter sido elevada.

Em todos os tratamentos o valor mais alto observado de N-amoniaco ocorreu 2 horas após a alimentação (Figura 33) com valor 12,67 mg/100, característica comum em ruminantes que não são alimentados de forma contínua (Mehres et al., 1977). Outros autores obtiveram resultados semelhantes (PALIWAL e SAGAR, 1990, ZANETTI et al., 1995, SOUSA, 1999 e ALVES et al., 2009). Porém Maeda et al. (2007) verificaram máxima concentração de N-amoniaco às 3,42 horas após o fornecimento das dietas.

Preston e Leng (1987) sugeriram valores de concentração de amônio 5 a 25 mg/100 mL. No presente trabalho houve concentração média de N-amoniaco no rúmen de 7,44 mg%. Satter e Slyter (1974) sugeriram valores mínimos de amônio (5,0 mg/100ml). Entretanto, concentrações superiores foram observadas por Preston e Leng (1987), de 8,0 mg/%, por Pisulewski et al. (1981), de 9,6 mg/% e por Mehre et al. (1977), de 24,0 mg/%. Entretanto, Alves et al. (2009) observaram concentração média de N-amoniaco no rúmen bem próxima à do presente trabalho, de 7,70 mg%.

Tabela 23 – Valores médios de N-amoniaco (mg%) no líquido ruminal em bubalinos alimentados com três teores de proteína na dieta total

Tempo	Teores de Proteína			Média	EPM*
	9%	12%	15%		
0	4,74 ^{AB}	7,92 ^B	8,37 ^B	7,01 ^B	0,88
2	7,87 ^A	14,61 ^A	15,53 ^A	12,67 ^A	1,68
4	1,30 ^B	6,39 ^B	9,15 ^{AB}	5,61 ^B	1,67
8	3,96 ^{bAB}	3,20 ^{bB}	6,22 ^{aB}	4,46 ^B	0,70
Média	4,47 ^b	8,03 ^{ab}	9,81 ^a	7,44	0,82

Valores seguidos por letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si ($P < 0,05$); valores seguidos por letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si ($P < 0,05$)

*EPM= Erro padrão da média

Figura 33 - Concentrações médias de N-amoniaco (mg%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira alimentação, em bubalinos recebendo dietas com 9%, 12% e 15% de proteína

4.2.5 AGCC no rúmen

Na Tabela 24 estão as concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico (mM e %M), total (mM) e a relação acético:propionico (Ac:Pr) no líquido ruminal em bubalinos alimentados com diferentes teores de proteína e em diferentes tempos de coleta.

O tratamento com teor mais alto de proteína (15%) produziu mais ácido acético (mM) e AGCC totais (mM) que os demais tratamentos ($P < 0,05$) (Tabela 24 e Figura 34). A relação volumoso:concentrado na dieta dos animais era a mesma, podendo-se, dessa forma, inferir que a dieta com 15% de PB deverá gerar maior produção de metano que as demais dietas. A dieta com 15% de proteína produziu maior quantidade de ácido butírico (mM e %M) que a dieta com 9% de proteína.

Os valores mais altos observados de produção de AGCC totais (mM), ácido acético (mM), ácido propiônico (mM) e ácido butírico (mM) ocorreram nos tempos de 2 e 4 horas após o arraçoamento (Figura 35). A relação Ac:Pr foi maior no tempo de 0 horas e menor no tempo de 2 horas.

Tabela 24 – Concentrações médias de ácido acético (mM e %M), ácido propiônico (mM e %M) e ácido butírico (mM e %M), total (mM) e relação acético:propionico (Ac:Pr) no líquido ruminal em bubalinos alimentados com diferentes teores de proteína e em diferentes tempos de coleta.

Itens*	Teores de Proteína			Tempo			
	9%	12%	15%	0	2	4	8
Ac. Acético (mM)	46,39 ^b	47,21 ^b	55,73 ^a	46,41 ^b	53,62 ^a	55,72 ^a	43,36 ^b
Ac. Propiônico (mM)	10,95	11,04	12,25	8,50 ^b	14,41 ^a	13,52 ^a	9,22 ^b
Ac. Butírico (mM)	6,56 ^b	7,51 ^{ab}	8,47 ^a	6,00 ^b	8,76 ^a	8,70 ^a	6,60 ^b
Total (mM)	63,90 ^b	65,76 ^b	76,46 ^a	60,91 ^b	76,78 ^a	77,94 ^a	59,18 ^b
Ac:Pr	4,40	4,57	4,75	5,49 ^a	3,79 ^c	4,23 ^b	4,78 ^b
Ac. Acético (%M)	72,54	72,14	72,97	76,01 ^a	69,70 ^c	71,38 ^b	73,12 ^b
Ac. Propiônico (%M)	17,27	16,61	16,00	14,18 ^c	18,99 ^a	17,55 ^{ab}	15,80 ^{bc}
Ac. Butírico (%M)	10,19 ^b	11,24 ^a	11,04 ^a	9,81 ^b	11,32 ^a	11,07 ^a	11,09 ^a

Valores seguidos por letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si (P<0,05); valores seguidos por letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si (P<0,05)

Figura 34 - Concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e total no líquido ruminal (mM), em bubalinos alimentados com diferentes teores de 9%, 12% e 15% de PB na dieta

Figura 35 - Concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e total no líquido ruminal (mM), em diversas horas após a primeira refeição, em bubalinos alimentados com diferentes teores proteína (9%, 12% e 15%).

4.3 Parte 3. Avaliação de dietas com diferentes níveis de energia e proteína no metabolismo ruminal em bubalinos

4.3.1 Consumo

Da mesma forma que discutido na parte 2, não houve avaliação comparativa no consumo de matéria seca entre os tratamentos. Entretanto, os dados de consumo controlados de nutrientes nos tratamentos durante o período de experimento podem ser vistos na Tabela 25. O consumo foi mais elevado nos animais consumindo as rações com alta energia, tendo em vista maior teor de concentrado que volumoso.

Tabela 25 - Consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de proteína bruta (CPB), consumo de extrato etéreo (CEE), consumo de carboidratos totais (CCT), consumo de FDN (CFDN), consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF) e consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT) obtidos para as dietas experimentais

Variável	Tratamentos*			
	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP
CMS (kg/dia)	9,27	9,86	12,92	13,27
CMS (%PV)	1,14	1,22	1,60	1,64
CMS (g/KgPV ^{0,75})	60,91	65,05	85,43	87,26
CMO (kg/dia)	8,85	9,42	12,31	12,66
CPB (kg/dia)	0,93	1,48	1,28	2,03
CEE (kg/dia)	0,27	0,29	0,41	0,42
CCT (kg/dia)	7,65	7,65	10,62	10,21
CFDN (kg/dia)	4,14	4,44	4,99	5,25
CFDN (% PV)	0,51	0,55	0,62	0,65
CCNF (kg/dia)	3,52	3,21	5,64	4,96
CNDT (kg/dia)	6,14	6,48	9,17	9,27

*Tratamentos: BEBP = baixa energia e baixa proteína; BEAP= baixa energia e alta proteína; AEBP= alta energia e baixa proteína; AEBA= alta energia e alta proteína.

4.3.2 Degradabilidade *in situ*

Os dados de degradabilidade *in situ* da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta da silagem de milho, dos concentrados 6509 (baixa energia baixa proteína), 6515 (baixa energia alta proteína), 6909 (alta energia baixa proteína) e 6915 (alta energia alta proteína) e das dietas completas BEBP (baixa energia baixa proteína), BEAP (baixa energia alta proteína), AEBP (alta energia baixa proteína) e AEAP (alta energia alta proteína) estão apresentados nas Tabelas 26, 27 e 28 respectivamente. Nas Figuras 36, 38 e 40 pode-se observar a curva de degradação *in situ* da MS, MO e PB das dietas e nas Figuras 37, 39 e 41 estão apresentados os perfis da cinética de degradação da MS, MO e PB *in situ* dos concentrados e da silagem. Observa-se que a taxa de degradação da fração B da MS nas amostras de concentrado foram diferentes ($P < 0,05$); o concentrado 6515 apresentou maior taxa de degradação que os demais. A dieta BEAP, composta pelo concentrado 6515 apresentou maior taxa de degradação da fração B diferindo dos tratamentos com baixos níveis de proteína (BEBP e AEBP). De forma geral, verificou-se a tendência de maior taxa de degradação para concentrados e dietas com maior nível de proteína bruta.

O concentrado 6515 e a dieta BEAP apresentaram respectivamente maiores valores de degradabilidade efetiva, DE 0,08 da MS ($P<0,05$) que os concentrados e dietas com baixos teores de PB e foram iguais aos concentrados e dietas com altos níveis de energia e proteína. A DE 0,05 da MS da silagem de milho foi mais elevada que a dos tratamentos com baixa energia, mantendo-se uma tendência de haver maior DE nas amostras com nível de proteína mais elevado. A silagem de milho apresentou menor ($P<0,05$) DE 0,02 da MS que as demais amostras. Mais uma vez as amostras mais protéicas apresentaram maior DE 0,02 ($P<0,05$). O tratamento BEAP apresentou maior DE 0,02 da MS que os tratamentos com baixa proteína (BEBP e AEBP) e foi igual ao tratamento AEAP.

De forma geral, verifica-se a influência positiva da proteína na DE da MS e não se observou melhora na DE da MS quando o nível de energia foi maior, inclusive com tendência de diminuição da DE.

Tabela 26 - Cinética da degradabilidade ruminal da matéria seca das amostras (silagem de milho e concentrados 6509, 6515, 6909 e 6915) e das dietas (BEBP, BEAP, AEBP e AEAP)

Parâmetros*	Silagem de milho	Concentrado***				EPM**	Tratamentos****				EPM**
		6509	6515	6909	6915		BEBP	BEAP	AEBP	AEAP	
a	20,4	9,9	9,9	7,5	18,6	8,0	13,9	16,5	15,5	16,3	5,8
b	62,6	81,0	80,0	87,3	78,9	12,0	67,6	65,6	86,3	69,2	8,7
c	0,028 ^b	0,049 ^b	0,116 ^a	0,045 ^b	0,060 ^b	0,000	0,041 ^b	0,074 ^a	0,031 ^b	0,046 ^{ab}	0,01
A	22,3	16,1	26,0	14,3	21,6		19,2	24,1	18,3	21,9	
B	60,7	74,8	60,9	80,5	76,0	15,1	62,3	57,9	83,5	63,6	11,0
A+B	83,0	90,8	86,9	94,8	97,6	15,1	81,5	82,1	101,8	85,6	11,0
t ₀	3,39	1,44	1,83	1,60	1,14	1,90	1,76	1,5	2,9	2,9	0,8
DE 0,08	34,7 ^b	39,2 ^b	53,8 ^a	38,0 ^b	50,2 ^{ab}	3,9	36,5 ^b	46,4 ^a	36,4 ^b	40,8 ^{ab}	2,9
DE 0,05	86,1 ^a	48,2 ^b	62,3 ^{ab}	47,6 ^b	58,8 ^{ab}	14,1	61,5	71,1	80,4	67,7	10,2
DE 0,02	51,8 ^c	65,5 ^b	74,8 ^a	66,3 ^b	74,7 ^a	2,3	58,6 ^b	64,2 ^a	58,9 ^b	62,6 ^{ab}	1,7

* a e b : Constantes do modelo; c: taxa de degradação da fração B (h^{-1}); A: fração prontamente solúvel (%); B: fração insolúvel potencialmente fermentável (%); A+B: degradabilidade potencial (%); t₀: tempo de colonização (h); DE 0,08: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,08 \text{ h}^{-1}$; DE 0,05: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,05 \text{ h}^{-1}$; DE 0,02: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,02 \text{ h}^{-1}$ (Ørskov e McDonald, 1979)

** EPM: erro padrão das médias

***6509: baixa energia baixa proteína, 6515: baixa energia alta proteína, 6909: alta energia baixa proteína e 6915: alta energia alta proteína

****BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína

^{a, b, c, d} médias seguidas por sobrescritos diferentes, nas linhas, diferem entre si ($P<0,05$)

Figura 36 - Curvas de degradação da MS *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen das dietas BEBP (baixa energia baixa proteína), BEAP (baixa energia alta proteína), AEBP (alta energia baixa proteína) e AEAP (alta energia alta proteína)

Figura 37 - Curvas de degradação da MS *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen das amostras incubadas no rúmen (silagem de milho e concentrados 6509: baixa energia baixa proteína, 6515: baixa energia alta proteína, 6909: alta energia baixa proteína e 6915: alta energia alta proteína)

A taxa de degradação (c) foi maior ($P < 0,05$) no concentrado 6515 seguida de 6915. A dieta BEAP, composta pelo concentrado 6515 obteve maior taxa de degradação que as demais dietas. A DE 0,08 foi maior nos concentrados 6515 e

6915 e nas dietas com BEAP e AEAP, compostas respectivamente, pelos concentrados 6515 e 6915. A silagem de milho foi a amostra que apresentou menor valor de DE 0,02, 51,8%, ($P < 0,05$), enquanto que o concentrado 6515 apresentou maior valor, 74,8. Nas degradações da matéria seca e matéria orgânica, os concentrados e dietas com maior quantidade de proteína bruta tenderam a apresentarem maior degradabilidade efetiva, sugerindo que o aumento do teor de PB na dieta melhora a degradabilidade. Fato semelhante foi observado na análise de degradabilidade no experimento envolvendo três níveis de proteína (Parte 2) deste trabalho, onde os ingredientes protéicos, o farelo de soja e o farelo de algodão, apresentaram maior degradabilidade efetiva da MS, MO e PB.

Tabela 27 - Cinética da degradabilidade ruminal da matéria orgânica das amostras (silagem de milho e concentrados 6509, 6515, 6909 e 6915) e das dietas (BEBP, BEAP, AEBP e AEAP)

Parâmetros*	Silagem de milho	Concentrado***				EPM**	Tratamentos****				EPM**
		6509	6515	6909	6915		BEBP	BEAP	AEBP	AEAP	
a	23,2 ^a	10,7 ^b	7,8 ^b	10,0 ^b	18,6 ^{ab}	4,9	13,9	16,2	17,1	22,8	3,4
b	78,6	82,3	80,2	92,9	77,8	33,4	68,4	64,9	107,8	82,8	23,8
c	0,026 ^c	0,0450 ^{bc}	0,113 ^a	0,040b ^c	0,060 ^b	0,013	0,039 ^b	0,07 ^a	0,029 ^b	0,040 ^b	0,092
A	21,3	16,5	26,7	14,7	21,8		18,9	24,0	18,0	21,53	
B	80,5	76,6	61,4	88,2	74,7	36,9	63,4	57,1	106,9	84,0	26,2
A+B	101,8	93,1	88,0	102,9	96,5	36,9	82,3	81,1	124,9	105,6	26,2
t ₀	2,5	1,4	1,9	1,7	1,3		1,8	1,6	2,6	1,3	
DE 0,08	35,9 ^b	39,1 ^b	54,1 ^a	37,9 ^b	50,2 ^a	3,2	36,2 ^b	46,0 ^a	36,4 ^b	43,9 ^a	2,3
DE 0,05	105,8	48,0	62,8	47,3	58,8	36,0	61,1	69,8	100,2	88,9	25,6
DE 0,02	52,1 ^c	65,7 ^b	75,6 ^a	67,0 ^{ab}	74,4 ^{ab}	2,8	58,6	64,2	59,0	63,9	2,0

* a e b : Constantes do modelo; c: taxa de degradação da fração B (h^{-1}); A: fração prontamente solúvel (%) B: fração insolúvel potencialmente fermentável (%); A+B: degradabilidade potencial (%); t₀: tempo de colonização (h); DE 0,08: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,08 \text{ h}^{-1}$; DE 0,05: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,05 \text{ h}^{-1}$; DE 0,02: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de $0,02 \text{ h}^{-1}$ (Ørskov e McDonald, 1979)

** EPM: erro padrão das médias

***6509: baixa energia baixa proteína, 6515: baixa energia alta proteína, 6909: alta energia baixa proteína e 6915: alta energia alta proteína

****BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína

^{a, b, c, d} médias seguidas por sobrescritos diferentes, nas linhas, diferem entre si ($P < 0,05$)

Figura 38 - Curvas de degradação da MO *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen das dietas BEBP (baixa energia baixa proteína), BEAP (baixa energia alta proteína), AEBP (alta energia baixa proteína) e AEAP (alta energia alta proteína)

Figura 39 - Curvas de degradação da MO *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen das amostras incubadas no rúmen (silagem de milho e concentrados 6509: baixa energia baixa proteína, 6515: baixa energia alta proteína, 6909: alta energia baixa proteína e 6915: alta energia alta proteína)

A silagem apresentou menor ($P < 0,05$) taxa de degradação da proteína bruta que os concentrados 6509 e 6515. O concentrado 6515 foi a amostra que obteve

numericamente a maior taxa da degradação da fração B. O concentrado 6915 teve maior fração insolúvel potencialmente fermentável que a 6515, 6909 e silagem de milho. A silagem de milho apresentou menor fração B seguida do concentrado 6909. A dieta AEBP apresentou menor fração B que as dietas BEBP e AEAP. As degradabilidades potenciais mais altas foram observadas nos concentrados 6915 e 6515, ocorrendo o mesmo efeito para a degradabilidade efetiva assumindo taxa de passagem de 0,02/h.

Tabela 28 - Cinética da degradabilidade ruminal da proteína bruta das amostras (silagem de milho e concentrados 6509, 6515, 6909 e 6915) e das dietas (BEBP, BEAP, AEBP e AEAP)

Parâmetros*	Silagem de milho	Concentrado***				EPM**	Tratamentos****				EPM**
		6509	6515	6909	6915		BEBP	BEAP	AEBP	AEAP	
a	42,3 ^a	12,0 ^{ab}	1,8 ^b	17,9 ^{ab}	41,6 ^{ab}	13,1	26,3	24,5	31,3	42,0	8,7
b	39,2 ^b	74,3 ^a	96,9 ^a	61,5 ^{ab}	71,3 ^{ab}	14,3	57,2	61,1	53,5	51,4	9,0
c	0,038 ^b	0,122 ^a	0,134 ^a	0,066 ^{ab}	0,099 ^{ab}	0,032	0,079	0,087	0,051	0,068	0,023
A	52,8	11,1	22,3	32,3	9,5		31,9	37,5	42,5	31,1	
B	27,4 ^d	75,2 ^{ab}	71,8 ^b	47,1 ^c	88,8 ^a	5,2	51,6 ^a	47,7 ^{ab}	39,1 ^b	56,5 ^a	3,4
A+B	80,1 ^b	86,2 ^{ab}	94,1 ^a	79,4 ^b	98,3 ^a	5,2	83,5	85,2	83,1	87,6	3,4
t ₀	7,87	0,93	1,89	3,22	2,79	2,47	6,86	4,5	5,5	4,9	1,6
DE 0,08	53,0	53,3	53,7	49,2	57,0	8,0	52,5	53,6	50,9	55,5	5,8
DE 0,05	56,7	60,7	64,6	56,0	66,7	6,2	58,0	60,8	56,2	62,2	4,5
DE 0,02	64,9 ^b	72,4 ^{ab}	79,9 ^a	70,7 ^{ab}	83,7 ^a	4,9	68,1	72,1	68,4	75,0	3,5

* a e b : Constantes do modelo; c: taxa de degradação da fração B (h⁻¹); A: fração prontamente solúvel (%) B: fração insolúvel potencialmente fermentável (%); A+B: degradabilidade potencial (%); t₀: tempo de colonização (h); DE 0,08: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de 0,08 h⁻¹; DE 0,05: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de 0,05 h⁻¹; DE 0,02: degradabilidade efetiva (%) para taxa de escape do rúmen de 0,02 h⁻¹ (Ørskov e McDonald, 1979)

** EPM: erro padrão das médias

***6509: baixa energia baixa proteína, 6515: baixa energia alta proteína, 6909: alta energia baixa proteína e 6915: alta energia alta proteína

****BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína

^{a, b, c, d} médias seguidas por sobrescritos diferentes, nas linhas, diferem entre si (P<0,05)

Figura 40 - Curvas de degradação da PB *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen das dietas BEBP (baixa energia baixa proteína), BEAP (baixa energia alta proteína), AEBP (alta energia baixa proteína) e AEAP (alta energia alta proteína)

Figura 41 - Curvas de degradação da PB *in situ* ao longo do tempo de incubação no rúmen das amostras incubadas no rúmen (silagem de milho e concentrados 6509: baixa energia baixa proteína, 6515: baixa energia alta proteína, 6909: alta energia baixa proteína e 6915: alta energia alta proteína)

4.3.3 pH e temperatura ruminal

Os valores médios obtidos para o pH e temperatura do líquido ruminal dos búfalos encontram-se na Tabela 29. Os níveis de energia (alta ou baixa), de proteína (alta ou baixa) e as interações entre os níveis de energia e proteína não promoveram efeitos significativos ($P>0,05$) no pH ruminal, demonstrando uma boa capacidade de poder tampão para manutenção do pH e a adaptação dos microrganismos ruminais as diferentes condições de energia e proteína.

Tabela 29 - Valores médios de pH e temperatura no rúmen de búfalos em dietas com dois níveis de energia: 65% NDT (BE) e 69% NDT (AE) e dois níveis de proteína: 9% PB (BP) e 15% PB (PA)

Tempo	Energia (E)		Proteína (P)		Tratamento (ExP)**					EPM*
	Baixa	Alta	Baixa	Alta	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP	Média	
pH										
0	6,70	6,75	6,74	6,72	6,72	6,69	6,76 ^A	6,75 ^A	6,73 ^A	0,05
2	6,67	6,61	6,64	6,64	6,66	6,69	6,63 ^A	6,60 ^B	6,65 ^{AB}	0,03
4	6,39	6,26	6,30	6,35	6,37	6,41	6,23 ^B	6,29 ^C	6,33 ^C	0,07
8	6,58	6,51	6,57	6,52	6,66	6,50	6,47 ^{AB}	6,54 ^B	6,54 ^B	0,06
Média	6,59	6,53	6,56	6,56	6,60	6,57	6,52	6,54	6,56	0,03
Temperatura (°C)										
0	37,9	38,8	38,4	38,3	37,6 ^B	38,2	39,2	38,4	38,4 ^B	0,63
2	39,1	39,5	39,1	39,5	38,7 ^{AB}	39,5	39,6	39,5	39,3 ^{AB}	0,26
4	40,3	40,0	40,3	39,9	40,1 ^A	40,5	40,6	39,3	40,1 ^A	0,37
8	40,2	39,5	40,4	39,4	40,8 ^A	39,7	40,0	39,0	39,9 ^A	0,45
Média	39,4	39,5	39,6	39,3	39,3	39,5	39,7	39,1	39,4	0,23

* EPM – erro padrão da média

** BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína

Não houve diferenças significativas ($P<0,05$) para efeitos de níveis de energia (E) e de proteína (P) e entre os tratamentos ExP

O valor médio do pH ruminal de 6,56 encontra-se dentro da variação de pH em ruminantes de 5,5 a 7,0 dependendo do tipo de dieta consumida (Dehority, 1987). Na avaliação de dietas com três teores de proteína, Parte 2 deste trabalho, o pH médio obtido foi 6,35 e também não foi observada influência dos teores de proteína sobre o pH ruminal. Sousa (1999) alimentando bubalinos com diferentes teores de FDN observou pH ruminal médio de 6,78. Alves et al. (2009) observaram pH médio de 6,70 em búfalos recebendo níveis crescentes de milho na dieta.

Franzolin Neto et al. (1990) encontraram valor médio de 6,28 de pH no rúmen de bubalinos alimentados com dieta exclusiva de volumoso. Nogueira Filho (1995), avaliando o pH no rúmen por períodos de 24 horas em búfalos submetidos a dietas com volumosos e concentrados, relatou pH ruminal médio de 6,24.

Apesar de no tempo de 4 horas ter havido uma tendência à queda do pH ruminal em todos os tratamentos (Figura 42), os valores de pH no líquido ruminal só diferiram significativamente para os tratamento AEBP e AEAP ($P < 0,05$) entre os diferentes tempos de amostragem estando de acordo com os dados de Alves et al. (2009), Dehority (1987), Giger-Reverdim et al. (1991) e Zhao et al. (1993) em que o pH ruminal geralmente alcançou o nível mais baixo entre duas a seis horas após a alimentação, dependendo da natureza da dieta e da rapidez com que ela é ingerida.

Figura 42 - Valores médios de pH no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira alimentação, em búfalos recebendo dietas com diferentes níveis de energia e proteína (BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína)

Não houve diferença ($P > 0,05$) na temperatura do rúmen no momento da coleta entre os tratamentos (Tabela 29). A temperatura média foi de 39,42 °C, estando, de acordo com Hill (1988) dentro do intervalo de temperatura (38°C - 40°C) que auxilia a manutenção da população microbiana ativa no rúmen. A temperatura do líquido ruminal nos tempos de coleta só diferiu significativamente no tratamento BEBP e na média, mas a tendência foi de existirem temperaturas mais baixas no tempo 0. Pode ter ocorrido influência da temperatura do ambiente nos dias e

horários de coleta, já que houve variação da média de temperatura de 12,22°C para o tempo 0, 16,97°C para o tempo 2, 21,45°C para o tempo 4 e 23,5°C para o tempo 8 (CCPS, 2009).

4.3.4 Nitrogênio amoniacal ruminal

Na Tabela 30 e na Figura 43 estão apresentadas as concentrações de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal dos búfalos recebendo dietas com diferentes níveis de energia e proteína. Os níveis de energia não influenciaram ($P>0,05$) a concentração de N-amoniacal ruminal, ao contrário dos níveis de proteína. A maior quantidade de proteína na dieta produziu maior concentração de N-amoniacal, indicando que o nível de proteína interfere na concentração de N-amoniacal ruminal. O mesmo foi observado na Parte 2 deste trabalho em que avaliando dietas com diferentes níveis de proteína (9, 12 e 15%) sobre o metabolismo ruminal de bubalinos observou-se maior concentração de amônio em dietas com 15% que com 9% de proteína bruta.

Esses dados corroboram com os de Cruz Soto et al. (1994) que observaram, em ovinos, aumento do N-amoniacal de 57,2 para 123,9 mg de $\text{N-NH}_3/\text{L}$ resultante da infusão de uréia, aminoácidos e peptídeos diretamente no rúmen. Hennessy et al. (1995) alimentando bovinos com feno de gramínea suplementados com uréia e caseína também observaram aumento do N-NH_3 de 30 para 61 mg/L com o aumento de proteína bruta na dieta.

Quando a energia da dieta se manteve baixa, a variação no nível de proteína não influenciou na liberação de N-amoniacal do rúmen. Por outro lado, quando a energia da dieta foi maior, a alteração no nível de proteína promoveu efeitos significativos na concentração de N-amoniacal no rúmen, provavelmente porque uma maior disponibilidade de energia melhora as condições para síntese de proteína no rúmen.

Em dietas com baixo nível de proteína, a variação na energia não gerou alteração na produção de N-amoniacal no rúmen, demonstrando que níveis baixos de proteína limitam a ação dos microrganismos ruminais para boa síntese microbiana, mesmo que haja disponibilidade de energia no rúmen. Do mesmo modo,

dietas com alto nível de proteína e variações no nível de energia promoveram efeitos nas concentrações de N-amoniaco ruminal.

Comparando as dietas BEBP com AEAP observa-se diferença ($P<0,05$) na concentração de amônio no rúmen. A dieta BEBP provavelmente inibiu a síntese microbiana uma vez que não haveria disponibilidade de nutrientes para os microrganismos, já a dieta AEAP favoreceu a síntese microbiana.

O valor médio encontrado de 9,55 mg/% de N-amoniaco no rúmen está dentro da variação sugerida por Preston e Leng (1987) que é de 5 a 25 mg/100 mL, sendo maior que o valor observado de 5,0 mg/% por Satter e Slyter (1974) e de 8,0 mg/% por Preston e Leng (1987) e próximo ao valor médio de 9,6 mg/% obtido por Pisulewski et al. (1981). Mas, esse valor está abaixo dos 24,0 mg/% recomendados por Mehre et al. (1977) para máximo desaparecimento de substrato, embora esses autores tenham proposto não ser necessário manter, de forma constante, altas concentrações de N-amoniaco no líquido ruminal.

Em bubalinos alimentados com dietas com diferentes níveis energéticos, Misra e Ranhotra (1969) obtiveram concentração de amônio de 33,28 e 25,00 mg/100 mL de líquido ruminal, respectivamente, para 1,3 e 3,2 Mcal/kg de energia na dieta. Zanetti et al. (1995) verificaram concentração média de N-amoniaco de 17,18 mg/100 mL de líquido ruminal e Sousa (1999) de 21,46 mg%. Já Alves et al. (2009) observaram concentração média de N-amoniaco no rúmen menor que aos anteriormente citados, de 7,70 mg%.

Houve efeito do tempo sobre a concentração de N-amoniaco ($P<0,05$) para os tratamentos BEBP, BEAP, AEBP e para a média entre os tratamentos (Tabela 30), sendo essa característica comum em ruminantes alimentados de forma intermitente (Mehres et al., 1977). O valor mais alto observado da concentração de N-amoniaco no líquido ruminal ocorreu duas horas após o fornecimento da dieta (Figura 43), com valor médio de 13,59 mg%, diminuindo a seguir. Esses dados corroboram com os de Paliwal e Sagar (1990), Zanetti et al. (1995), Sousa (1999) e Alves et al. (2009). Entretanto, Maeda et al. (2007), avaliando dietas com diferentes níveis de concentrado, com o NDT variando de 61,2% a 67,02% para bubalinos, encontraram máxima concentração de N-amoniaco às 3,42 horas após o fornecimento das dietas. Nos animais que receberam dieta com alta energia e alta

proteína esse efeito não foi observado, embora tenha ocorrido aumento nos níveis de N-amoniaco em duas horas após alimentação (Tabela 30).

Figura 43 - Concentrações médias de N-amoniaco (mg%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira alimentação, em bubalinos recebendo dietas com diferentes níveis de energia e proteína (BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína)

Tabela 30 - Concentração de N-amoniaco (mg%) no líquido ruminal de búfalos em dietas com dois níveis de energia, 65% NDT (BE) e 69% NDT (AE) e dois níveis de proteína, 9% PB (BP) e 15% PB (AP)

Tempo	Energia (E)			Proteína (P)			Tratamentos (E x P) ****				Média	EPM**	BE/P ***	AE/P ***	BP/E ***	AP/E ***	BEBP/ AEAP ***	BEAP/ AEBP ***
	Baixa	Alta	P ***	Baixa	Alta	P ***	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP								
0	8,11	9,65	0,225	7,50	10,26	0,019	6,89 ^{AB}	9,32 ^B	8,10 ^{AB}	11,19	8,88 ^B	0,62	0,123	0,056	0,426	0,224	0,012	0,420
2	12,28	14,90	0,380	10,61	16,57	0,032	9,94 ^A	14,62 ^A	11,28 ^A	18,51	13,59 ^A	1,44	0,223	0,071	0,719	0,306	0,036	0,378
4	7,04	10,81	0,326	6,34	11,51	0,171	5,87 ^B	8,21 ^B	6,82 ^{AB}	14,80	8,92 ^B	1,85	0,655	0,145	0,856	0,222	0,107	0,790
8	6,39	7,31	0,666	4,71	8,99	0,027	5,36 ^B	7,43 ^B	4,06 ^B	10,55	6,85 ^B	1,00	0,419	0,022	0,606	0,228	0,057	0,197
Média	8,45	10,66	0,055	7,29	11,83	<0,01	7,01	9,89	7,56	13,76	9,56	0,71	0,076	<0,01	0,731	0,019	<0,01	0,149

Tratamentos interação entre níveis de energia (BE e AE) e de proteína (PB e PA)

** EPM – erro padrão da média

*** Valores de P para níveis de Energia (E) e de Proteína (P); efeito da proteína (BP e AP) em Baixa Energia (BE/P); efeito da proteína (BP e AP) em Alta Energia (AE/P); efeito da energia (BE e AE) em Baixa Proteína (BP/E); efeito da energia (BE e AE) em Alta Proteína (BAP/E); tratamento BEBP vs AEAP; tratamento BEAP vs AEBP

**** BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína

4.3.5 AGCC no rúmen

Na Tabela 31 estão apresentadas as concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico (mM e %M), AGCC totais (mM) e relação acético:propiônico (Ac:Pr) no líquido ruminal em bubalinos alimentados com diferentes níveis de proteína e energia e em diferentes tempos de coleta.

A concentração de ácido butírico (mM e %M) foi menor ($P<0,05$) e a de propiônico (%M) foi maior ($P<0,05$) quando o nível de proteína foi alto. A concentração de ácido butírico (%M) foi menor em altos níveis de energia.

O tratamento AEBP produziu menos acético (mM) e AGCC totais (mM) que o tratamento AEAP. Os tratamentos com maiores teores de proteína na dieta (BEAP e AEAP) produziram maior concentração de butírico (%M) que os tratamentos com baixa proteína (AEBP e BEBP) (Figura 44). Comportamentos semelhantes aos citados acima ocorreram quando foram avaliados diferentes níveis de PB na dieta (item 4.2.5). A concentração de ácido butírico (mM) foi maior no tratamento AEAP. O tratamento BEBP produziu maior concentração de ácido propiônico (%M) que o tratamento AEAP. A diferente relação volumoso:concentrado entre as dietas de baixa e alta energia não influenciaram na concentração de ácido acético no rúmen.

O valor mais alto observado de concentração de AGCC totais (mM) e dos ácidos acético (mM), propiônico (mM) e butírico (mM) ocorreu no tempo de 4 horas após o fornecimento da dieta (Figura 45). A relação Ac:Pr foi maior no tempo de 0 horas e menor nos tempos de 2 e 4 horas.

Níveis de energia e proteína

Figura 44 - Concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e total no líquido ruminal (mM), em bubalinos alimentados com diferentes níveis proteína e energia

Figura 45 - Concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e total no líquido ruminal (mM), em diversas horas após a primeira refeição, em bubalinos alimentados com diferentes níveis proteína e energia

Tabela 31 - Concentrações médias de ácido acético (mM e %M), ácido propiônico (mM e %M) e ácido butírico (mM e %M), AGCC total (mM) e relação acético:propionico (Ac:Pr) no líquido ruminal em bubalinos alimentados com diferentes níveis de proteína e energia, e em diferentes tempos de coleta

Itens*	Proteína (P)		Energia (E)		Tratamentos*				Tempo			
	Alta	Baixa	Alta	Baixa	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP	0	2	4	8
Acético (mM)	59,44	63,31	61,61	61,13	62,54 ^{ab}	60,70 ^{ab}	56,35 ^b	65,92 ^a	53,33 ^c	60,42 ^b	72,18 ^a	59,56 ^b
Propiônico (mM)	15,09	15,47	15,35	15,21	15,90	14,81	14,28	16,13	11,76 ^c	16,06 ^b	18,69 ^a	14,60 ^b
Butírico (mM)	8,93 ^b	10,71 ^a	9,52	10,12	8,98 ^b	10,07 ^b	8,88 ^b	11,36 ^a	8,76 ^b	9,44 ^b	11,41 ^a	9,67 ^b
Total (mM)	83,46	89,48	86,49	86,46	87,41 ^{ab}	85,56 ^{ab}	79,51 ^b	93,41 ^a	73,86 ^c	85,92 ^b	102,29 ^a	83,83 ^b
Ac:Pr	4,00	4,17	4,08	4,10	3,99	4,17	4,02	4,18	4,59 ^a	3,77 ^c	3,88 ^c	4,12 ^b
Acético (%M)	71,20	70,85	71,24	70,81	71,46	71,03	70,95	70,68	72,24 ^a	70,34 ^b	70,51 ^b	71,02 ^b
Propiônico (%M)	18,03 ^a	17,12 ^b	17,70	17,45	18,21 ^a	17,19 ^{ab}	17,86 ^{ab}	17,05 ^b	15,86 ^c	18,71 ^a	18,26 ^{ab}	17,48 ^b
Butírico (%M)	10,76 ^b	12,03 ^a	11,06 ^b	11,73 ^a	10,3 ^c	11,79 ^a	11,20 ^b	12,27 ^a	11,90 ^a	10,96 ^b	11,23 ^{ab}	11,49 ^{ab}

Valores seguidos por letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si ($P < 0,05$); valores seguidos por letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si ($P < 0,05$)

** BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína

4.3.6 Síntese de proteína microbiana

Os valores médios obtidos da excreção urinária de creatinina, derivados de purinas e da estimativa da síntese de proteína microbiana em búfalos alimentados em quatro dietas com diferentes teores de proteína e energia podem ser observados na Tabela 32. A excreção de creatinina (mmol/d) não diferiu ($P>0,05$) entre os vários tratamentos e nem entre os teores de energia e proteína (Tabela 32). Esses dados corroboram com os dados obtidos com búfalos por Chen et al. (1996) e Dipu et al. (2006). A excreção diária total de creatinina na urina depende da espécie animal e da raça e sofre influência mais da massa muscular do que do peso corporal (NARAYANAN; APPLETON, 1980 apud DIPU et al. 2006).

Não houve diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos e nem entre os níveis de energia e proteína na excreção total estimada de urina que foi em média 36,22 L (Tabela 32). Este valor encontra-se dentro do esperado para búfalos com peso ao redor de 800 kg conforme os dados obtidos por Koga, Kuhara e Kanai (2002) que determinaram a produção total de urina, em ensaio de balanço metabólico com búfalos, de aproximadamente de 4,3 kg de urina /100 kg PV. Costa Junior et al. (2010) obtiveram produção estimada de urina de 21,31 L para búfalos com peso em torno de 535 kg e Pereira et al. (2007), trabalhando com bubalinos com peso inicial médio de 461 kg, estimaram produção média de urina de 25,57 L.

Os níveis de energia e proteína também não influenciaram ($P>0,05$) na excreção de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina e derivados totais de purina (Tabela 32). As excreções médias de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina e derivados totais de purina foram, respectivamente, de 88,98, , 17,26 9,71 e 115,95 mmol/dia. Dipu et al. (2006), avaliando diferentes níveis de ingestão de matéria seca da dieta, obtiveram valores médios de alantoína de 14,57 mmol/dia e de ácido úrico de 2,07 mmol/dia na urina. Liang et al. (1993) verificaram excreção de alantoína de 3,2 mmol/dia e Chen et al. (1996) observaram para búfalos excreção de alantoína de 17,11 mmol/dia, excreção de ácido úrico de 1,89 mmol/dia e de derivados de purina de 19,00 mmol/dia. Costa Junior et al. (2010) verificaram excreções de alantoína de 71,38 mmol/dia, de ácido úrico de 0,65 mmol/dia e de derivados totais de purina de 72,03. Pimpa, Liang e Balcells (2007) observaram que a excreção urinária diária em búfalos de alantoína, ácido úrico e derivados totais de

purina foram de de 215,9 $\mu\text{mol/kgP}^{0,75}$, 63,4 $\mu\text{mol/kgP}^{0,75}$ e 279,4 $\mu\text{mol/kgP}^{0,75}$, respectivamente.

A alantoína, ácido úrico e xantina e hipoxantina representaram em média, respectivamente, 73,76%, 16,34% e 9,90% dos derivados totais de purina. Costa Junior et al. (2010) obtiveram 99,1 % de alantoína e 0,9% de ácido úrico; Chen et al. (1996) obtiveram 90,05 de alantoína e 9,95% de ácido úrico e Pimpa, Liang e Balcells (2007) obtiveram 77,3% de alantoína e 22,7% de ácido úrico. Os autores citados acima não quantificaram a excreção urinária de xantina e hipoxantina. Entretanto, no presente trabalho o valor observado de 9,90% foi representativo, sugerindo a necessidade de mais pesquisas nessa área com a espécie bubalina.

A excreção de uréia foi maior ($p < 0,05$) no tratamento BEBP que no tratamento AEAP. Na avaliação dos teores de proteína, alto e baixo, a excreção de uréia foi maior quando os búfalos receberam dieta com menor teor de proteína (Tabela 32). Os ingredientes utilizados como fonte de proteína foram diferentes nas dietas de alta e baixa proteína, podendo ter influenciado na quantidade de N-amoniaco produzido no rúmen. O excesso de N-amoniaco produzido no rúmen em dietas com baixa proteína pode ter sido absorvido e excretado pela urina na forma de uréia . A concentração média de uréia excretada foi de 151,47 mg/dL, valor bem mais baixo que o observado por Pereira et al. (2007) que foi de 437,15 mg/dL em búfalos da raça Murrah alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta.

A quantidade de purina absorvida, de nitrogênio microbiano e da síntese de proteína microbiana obtidos foram, respectivamente, 132,58 mmol/dia, 96,39 g/dia e 602,41 g/dia. Costa Junior et al. (2010) obtiveram valores em búfalos de 79,73 mmol/dia, 52,96 mg/dia e 362,26 mg/dia. A eficiência média de síntese microbiana estimada (8,38 g PMicBruta/100 g NDT) foi bem próxima à obtida por Costa Junior et al. (2010), que foi de 8,56 g PMicBruta/100 g NDT.

Tabela 32 – Excreção urinária de creatinina, derivados de purinas e estimativa da síntese de proteína microbiana em búfalos alimentados em quatro dietas com diferentes níveis de proteína e energia e com dois teores de proteína (9 e 15%) e com dois níveis de energia (65 e 69% NDT)

Itens	Tratamentos**				Média	EPM*	P	Proteína (P)			Energia (E)		
	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP				Baixa	Alta	P	Baixa	Alta	P
Creatinina (mg/dL)	3,28	3,50	3,20	3,23	3,29	0,25	0,9661	3,24	3,34	0,7692	3,37	3,21	0,8696
Excreção urinária total (L/dia)	35,71	32,50	40,46	35,30	36,22	2,84	0,9098	38,08	34,10	0,7602	34,33	37,88	0,8237
Alantoína (mmol/dia)	92,70	58,30	115,36	81,92	88,98	14,03	0,7661	104,03	71,80	0,3673	77,95	98,64	0,6988
Ácido úrico (mmol/dia)	16,95	14,36	20,46	16,54	17,26	1,52	0,5681	18,71	15,60	0,3865	15,84	18,50	0,5144
Xantina e Hipoxantina (mmol/dia)	10,64	5,81	10,08	11,33	9,71	1,45	0,7883	10,36	8,96	0,7773	8,57	10,70	0,5937
Uréia (mg/dL)	167,50 ^a	130,67 ^b	162,75 ^a	139,75 ^b	151,47	5,80	0,0297	165,13 ^a	135,86 ^b	0,0018	151,71	151,25	0,8196
Derivados de purinas (mmol/dia)	120,29	78,46	145,90	109,79	115,95	15,54	0,7261	133,09	96,36	0,3367	102,36	127,84	0,6281
Alantoína (% total DP)	74,28	73,75	73,45	73,57	73,76	2,70	0,9992	73,86	73,65	0,9757	74,05	73,51	0,8885
Ácido úrico (% total DP)	15,50	18,34	16,52	15,50	16,34	1,13	0,9636	16,01	16,72	0,9092	16,72	16,01	0,9088
Xantina e Hipoxantina (% total DP)	10,22	7,91	10,03	10,93	9,90	1,85	0,9230	10,13	9,63	0,9055	9,23	10,48	0,7724
Derivados de purina absorvidos (mmol/dia)	138,57	81,67	173,09	124,27	132,58	21,00	0,7256	155,83	106,01	0,3355	114,19	148,68	0,6295
Nitrogênio microbiano (g/dia)	100,74	59,37	125,84	90,34	96,39	15,27	0,7256	113,29	77,07	0,3355	83,01	108,09	0,6295
Síntese de proteína microbiana (g/dia)	629,62	371,09	786,47	564,64	602,41	95,44	0,7256	708,05	481,69	0,3355	518,82	675,56	0,6295
Eficiência síntese microbiana (g PMicBruta/100 g NDT)	10,45	5,79	10,37	6,24	8,38	1,48	0,5724	10,41	6,05	0,1751	8,45	8,31	0,5513

*EPM = Erro padrão da média

** BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína
Valores seguidos por letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si (P<0,05)

4.3.7 Taxa de passagem de líquido e volume ruminal

Na Tabela 33 estão apresentados os valores da taxa de passagem de líquido ruminal (%/h). Não houve diferença significativa ($P>0,05$) na taxa de passagem quando são comparadas as quatro dietas fornecidas aos animais, apesar da diferença de quase 20% na relação volumoso:concentrado nas dietas. A taxa de passagem de líquido ruminal média foi de 12,55%/h. Esse valor é mais elevado que os encontrados por Franzolin et al. (2002) 8,4 %/h e por Alves (2007) de 9,0%/h e por Sousa (1999) de 9,1%/h e inferior ao encontrado por Nogueira Filho (2004) de 16,0%/h.

Tabela 33 - Valores da taxa de passagem do líquido ruminal (%/hora) de búfalos em dietas com dois níveis de energia: 65% NDT (BE) e 69% NDT (AE) e dois níveis de proteína: 9% PB (BP) e 15% PB (PA)

Tempos*	Energia (E)		Proteína (P)		Tratamentos (E x P)**			
	Baixa	Alta	Baixa	Alta	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP
1.2.4.8.24	0,1175	0,1216	0,1121	0,1270 ^B	0,1135	0,1214 ^B	0,1107	0,1326
1.4.8.24	0,1206	0,1231	0,1138	0,1299 ^B	0,1151	0,1261 ^B	0,125	0,1338
1.2.24	0,1232	0,1245	0,1145	0,1332 ^{AB}	0,1177	0,1287 ^{AB}	0,1113	0,1377
1.4.24	0,1224	0,1243	0,1148	0,1319 ^{AB}	0,1162	0,1286 ^{AB}	0,1135	0,1351
1.8.24	0,1301	0,1275	0,1176	0,1400 ^{AB}	0,1219	0,1383 ^{AB}	0,1133	0,1417
1.24	0,1385	0,1325	0,1221	0,1490 ^A	0,1273	0,1497 ^A	0,1169	0,1482

Valores seguidos por letras minúsculas diferem entre si dentro do mesmo nutriente ou tratamento na mesma linha ($P<0,05$); Valores seguidos por letras maiúsculas diferem entre si dentro do mesmo nutriente ou tratamento na mesma coluna ($P<0,05$)

*Tempos: 1, 2, 4, 8 e 24h após adição do marcador no rúmen; 1, 4, 8 e 24 h; 1, 2 e 24 h.; 1, 4 e 24 h; 1, 8 e 24 h.; 1 e 24 h.

**BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína

A taxa de passagem de líquido ruminal quando avaliada utilizando diferentes tempos de coleta só apresentou diferença ($P<0,05$) nos tratamentos com alta proteína e na dieta BEAP, demonstrando que os tempos de coletas tiveram pouca influência na estimativa da taxa de passagem do líquido ruminal. Quando foram realizadas estimativas com maior número de coletas no período de 24h, os valores de taxa de passagem encontrados foram menores que os obtidos com menor número de coletas (1 e 24h). Assim, visando diminuir o número de amostras

coletadas o indicado seria fazer coletas nos tempos de 1, 2 e 24 horas; 1, 4 e 24 horas ou 1, 8 e 24 horas.

Os valores médios estimados do volume de líquido ruminal utilizando-se diferentes tempos de amostragem com os diferentes tratamentos podem ser observados na Tabela 34. Não houve influência do nível de energia da dieta no volume ruminal ($P>0,05$), porém dieta com menor nível de proteína produziu maior volume ruminal em qualquer estimativa realizada. A dieta AEBP proporcionou maior volume ruminal ($P<0,05$) que a dieta AEAP, quando foram estimadas com apenas as amostras coletadas nos tempo 1, 2 e 24 horas. Na comparação entre os diferentes tempos de coleta analisados, o volume ruminal foi maior ($P<0,05$) quando foram avaliados os cinco tempos de amostragens (1, 2, 4, 8 e 24 h) em relação à análise com dois tempos (1 e 24 h). Dessa forma, tendo em vista o alto peso dos animais, o ideal seria estimar o volume ruminal com cinco tempos de amostragem.

Tabela 34 - Valores do volume do líquido ruminal (L) de búfalos em dietas com diferentes tempos de concentração do marcador (PEG4000) com dois níveis de energia: 65% NDT (BE) e 69% NDT (AE) e dois níveis de proteína: 9% PB (BP) e 15% PB (PA)

Tempos*	Energia (E)		Proteína (P)		Tratamentos (E x P)**			
	Baixa	Alta	Baixa	Alta	BEBP	BEAP	AEBP	AEAP
1.2.4.8.24	49,5 ^A	44,6	52,6	41,5 ^A	51,4	47,6 ^A	53,8	35,4
1.4.8.24	48,1 ^A	43,7	52,0	39,7 ^A	52,1	44,1 ^{AB}	51,9	35,4
1.2.24	40,0 ^A	40,5	49,1 ^a	31,4 ^{bAB}	45,7 ^{ab}	34,3 ^{abAB}	52,5 ^a	28,4 ^b
1.4.24	44,1 ^A	40,5	49,7 ^a	35,0 ^{bAB}	50,5	37,8 ^{AB}	48,8	32,3
1.8.24	40,2 ^A	41,4	50,1 ^a	31,6 ^{bAB}	47,6	32,7 ^{AB}	52,5	30,4
1.24	33,29 ^B	36,2	46,5 ^a	23,0 ^{bB}	45,0	21,5 ^B	48,1	24,4

$P<0,10$ Valores seguidos por letras minúsculas diferem entre si dentro do mesmo nutriente ou tratamento na mesma linha; Valores seguidos por letras maiúsculas diferem entre si dentro do mesmo nutriente ou tratamento na mesma coluna

*Tempos: 1, 2, 4, 8 e 24h após adição do marcador no rúmen; 1, 4, 8 e 24 h; 1, 2 e 24 h.; 1, 4 e 24 h; 1, 8 e 24 h.; 1 e 24 h.

** BEBP: baixa energia baixa proteína, BEAP: baixa energia alta proteína, AEBP: alta energia baixa proteína e AEAP: alta energia alta proteína

Nogueira Filho (1995) obteve volume ruminal médio para bubalinos pesando 520 kg de 159,5 litros. Sousa (2004), em bubalinos pesando 650 kg obteve volume ruminal de 66,38 L. Franzolin et al. (2002), alimentando búfalos com níveis

crescentes de FDN (54, 60, 66 e 72%), verificaram volume ruminal médio 76,29 L, com o peso médio dos animais de 540 kg. Alves (2007) obteve volume ruminal médio de 43,41 litros para búfalos com peso médio 367 kg. Dessa forma, seria recomendado utilizar os cinco tempos de amostragens do líquido ruminal para estimativa do volume do líquido ruminal. O volume do líquido ruminal estimado de 47 L foi menor aos obtidos pelos pesquisadores citados, principalmente considerando que os búfalos estavam com elevado peso vivo médio. Essas variações citadas em literatura estão, de alguma forma, relacionadas às técnicas laboratoriais utilizadas e à variação individual dos animais e tipo de dieta consumida.

4.3.8 Digestibilidade Ruminal

Na Tabela 35 podem ser observados os pesos das fezes e as digestibilidades estimadas utilizando dois marcadores, um externo (óxido de cromo) e outro interno, a fibra em detergente neutro indigestível (FDAi). A digestibilidade da matéria seca (DMS) estimada com o uso do cromo como marcador foi maior nos búfalos com dietas contendo nível menor de proteína bruta (58,78%) que com nível mais alto (43,64%). O mesmo ocorreu quando se fez a interação de baixos níveis de proteína e baixos níveis de energia com aos altos níveis de proteína e altos níveis de energia. Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os dois níveis de energia avaliados.

Tabela 35 - Peso das fezes e digestibilidade calculados utilizando cromo ou FDAi

Itens*	Proteína (P)		EPM**	P	Energia (E)		EPM	P	Interações				EPM
	Alta	Baixa			Alta	Baixa			AP/AE	AP/BE	BP/AE	BP/BE	
PF Cr (kg)	5,7	4,63	0,45	0,127	5,08	5,25	0,45	0,800	5,94	5,46	4,22	5,03	0,64
PF FDAi (kg)	4,27	4,63	0,36	0,503	4,81	4,09	0,36	0,192	4,51	4,03	5,11	4,14	0,51
DMS Cr (%)	43,64 ^b	58,78 ^a	4,51	0,042	48,46	53,94	4,51	0,413	39,66 ^b	47,61 ^{ab}	57,27 ^{ab}	60,28 ^a	6,37
DMS FDAi (%)	60,6	55,76	3,26	0,322	61,42	54,93	3,26	0,193	64,3	56,88	58,55	52,98	4,61

* PF Cr: Peso das fezes calculado utilizando o cromo como marcador, PF FDAi: peso das fezes calculado pelo método de FDAi, DMS Cr: digestibilidade da matéria seca calculado utilizando o cromo como marcador, DMS FDAi: digestibilidade da matéria seca calculado pelo método de FDAi

**EPM: Erro padrão da média

4.4 Parte 4. Avaliação da produção de gases *in vitro* em bubalinos alimentados com diferentes níveis de energia e proteína

Na Tabela 36 e Figura 46 estão apresentados os parâmetros do modelo de France e a produções relativas de gases nos inóculos. Não houve interação entre as amostras e os inóculos avaliados.

Tabela 36 - Parâmetros do modelo de France et al. (1993) e produções relativas de gases nos inóculos D6509, D6515, D6909 e D6915, utilizando como fonte de inóculo líquido ruminal de búfalos alimentados com a dieta correspondente.

Parâmetros*	Inóculo***				EPM**
	D6509	D6515	D6909	D6915	
A (mL.g ⁻¹ MS)	235,659 ^b	236,705 ^b	247,392 ^a	243,002 ^a	1,73
b (h ⁻¹)	0,071 ^{ab}	0,076 ^a	0,069 ^b	0,065 ^b	0
c (h ^{-1/2})	-0,194 ^{bc}	-0,219 ^c	-0,187 ^b	-0,154 ^a	0,00
t _{1/2} (h)	23,13 ^a	21,87 ^{ab}	23,28 ^a	21,58 ^b	0,42
L (h)	2,262 ^{bc}	2,601 ^a	2,438 ^{ab}	2,150 ^c	0,8
Degrad (%)	60,09 ^b	61,86 ^a	61,84 ^a	60,56 ^b	0,43
PF (mg MSd/mL)	2,64	2,64	2,66	2,61	0,02

* A: volume final, ou produção potencial de gases; b e c: constantes do modelo; t_{1/2}: tempo no qual a metade de V_f é atingida; L: tempo de colonização; Degrad: Degradabilidade da MS em 72h de incubação; PF: Fator de Partição, quantidade de MS degradada por mL de gás produzido.

** EPM: erro padrão das médias

***D6509: animal recebendo dieta com baixa energia baixa proteína, D6515: animal recebendo dieta com baixa energia alta proteína, D6909: animal recebendo dieta com alta energia baixa proteína e D6915: animal recebendo dieta com alta energia alta proteína

a, b, c médias seguidas por sobrescritos diferentes, nas linhas, diferem entre si (P<0,05)

O volume final de produção de gás (A) foi maior (p<0,05) nos inóculos do conteúdo ruminal dos búfalos que estavam recebendo dietas com os níveis mais altos de energia (D6909: dieta com alta energia e baixa proteína e D6915: dieta com alta energia e alta proteína). No entanto, o fator de partição não diferiu entre os diferentes inóculos sendo que a eficiência de degradação (PF) e a perda de energia foram as mesmas para todos os inóculos. O t_{1/2} representa o tempo necessário para que a metade da assíntota seja atingida; assim quanto menor o t_{1/2} maior a eficiência da fermentação. O inóculo D6915 apresentou melhor eficiência de fermentação (P<0,05), que os inóculos D6509 e D6909. O tempo de colonização (L) foi mais rápido (p<0,05) nos inóculos D6509 e D6909 que no inóculo D6515 e a

degradabilidade em 72 horas de incubação foi maior ($P<0,05$) para os inóculos D6515 e D6909.

Figura 46 - Perfis da cinética de fermentação *in vitro* dos inóculos D6509 (dieta com baixa energia baixa proteína), D6515 (dieta com baixa energia alta proteína), D6909 (dieta com alta energia baixa proteína) e D6915 (dieta com alta energia alta proteína), utilizando como fonte de inóculo líquido ruminal de búfalos alimentados com a dieta correspondente

Na Tabela 37 e Figura 47 encontram-se os parâmetros do modelo de France e as produções relativas de gases nas amostras de milho em grãos moídos, farelo de soja, farelo de trigo e farelo de algodão fermentadas com os diferentes inóculos. Não houve interação entre as amostras e os inóculos avaliados.

O milho produziu mais gases ($P<0,05$) incubado em inóculo em dieta 6909 que em inóculo com dieta 6515. A silagem de milho produziu mais gases ($P<0,05$) quando incubada em inóculo em que os animais doadores foram alimentados com maior nível de energia e menor de proteína bruta (6909) que nos demais inóculos. De maneira geral, a produção potencial de gases da silagem de milho, do milho moído, do farelo de trigo e do farelo de algodão foi mais alta nos inóculos nos búfalos alimentados com nível mais elevado de energia na dieta. O farelo de soja não teve esse comportamento na produção de gases, provavelmente pelo alto teor de proteína bruta (Tabela 37).

A fermentação, avaliada pelo $t_{1/2}$, foi mais eficiente ($P<0,05$) no farelo de soja incubado com 6915 em relação ao incubado em 6509. A fermentação da silagem de

milho foi mais eficiente ($P<0,05$) quando incubada em inóculos nos quais os animais doadores recebiam maiores níveis de proteína que com maiores quantidades de energia e menores de proteína na dieta. Com exceção do milho moído todos os outros substratos tenderam a uma melhor eficiência de fermentação quando incubados no inóculo com maiores níveis de energia e proteína na dieta dos doadores (Tabela 37).

O tempo de colonização (L) do farelo de soja foi menor ($P<0,05$) no inóculo proveniente de animais que receberam dietas 6915 que com 6909. O farelo de algodão e o farelo de trigo, apesar de não significativo, também apresentaram menores tempos de colonização em 6915.

Tabela 37 - Parâmetros do modelo de France et al. (1993) e produções relativas de gases nos inóculos 6509, 6515, 6909 e 6915, utilizando como fonte de inóculo líquido ruminal de búfalos alimentados com a dieta correspondente e como substrato milho em grãos moídos, farelo de soja, farelo de trigo, farelo de algodão e silagem de milho

Inóculos*	A (mL.g ⁻¹ MS)	b (h ⁻¹)	c (h ^{-1/2})	t _{1/2} (h)	L (h)	Degrad (%)	PF (mg MSd/mL)
Farelo de Algodão							
D6509	146,32	0,044	-0,073 ^{ab}	24,31	2,56	42,98	3,36
D6515	146,92	0,032	-0,007 ^{ab}	24,34	2,26	43,82	3,29
D6909	152,77	0,041	-0,055 ^b	24,17	2,52	44,87	3,34
D6915	157,42	0,026	-0,048 ^a	22,69	2,12	43,24	3,3
Farelo de Soja							
D6509	216,28	0,039	-0,025	23,82 ^a	1,98 ^{ab}	74,69	3,75
D6515	221,43	0,053	-0,091	22,78 ^{ab}	2,08 ^{ab}	76,57	3,64
D6909	210,24	0,049	-0,053	21,34 ^{ab}	2,65 ^a	75,95	3,76
D6915	212,19	0,051	-0,053	19,71 ^b	1,62 ^b	77,05	3,73
Farelo de Trigo							
D6509	241,42	0,121	-0,353	15,19	2,37	68,34	2,61 ^a
D6515	247,6	0,12	-0,358	15,62	2,41	67,8	2,52 ^{ab}
D6909	253,64	0,123	-0,338	14,61	2,25	67,65	2,47 ^{ab}
D6915	257,54	0,121	-0,337	14,53	1,96	65,93	2,38 ^b
Milho em grãos moídos							
D6509	332,53 ^{ab}	0,106a ^b	-0,392 ^b	20,02	3,57	77,88	2,22
D6515	327,79 ^b	0,119 ^a	-0,460 ^b	19,3	3,73	80,64	2,32
D6909	345,43 ^a	0,091 ^{bc}	-0,319 ^a	20,7	3,02	78,56	2,19
D6915	342,32 ^{ab}	0,089 ^c	-0,304 ^a	21,18	3,05	78,02	2,22
Silagem de Milho							
D6509	217,15 ^b	0,052	-0,12	28,72 ^{ab}	1,45 ^b	47,55	2,25
D6515	214,85 ^b	0,055	-0,157	27,57 ^b	2,69 ^a	50,07	2,36
D6909	251,62 ^a	0,045	-0,11	32,36 ^a	2,33 ^a	50,1	2,24
D6915	227,70 ^b	0,044	-0,085	27,09 ^b	2,10 ^{ab}	48,15	2,24

A: produção potencial de gases; b e c: constantes do modelo; t_{1/2}: tempo no qual a metade de A é atingida; L: tempo de colonização; Degrad: Degradabilidade da MS em 72h de incubação; PF: Fator de partição, quantidade de MS degradada por mL de gás produzido.

**D6509: animal recebendo dieta com baixa energia baixa proteína, D6515: animal recebendo dieta com baixa energia alta proteína, D6909: animal recebendo dieta com alta energia baixa proteína e D6915: animal recebendo dieta com alta energia alta proteína

a, b, c médias seguidas por sobrescritos diferentes, nas linhas, diferem entre si ($P<0,05$)

A eficiência da degradação, avaliada pelo (PF), do farelo de trigo foi melhor ($P<0,05$) quando os animais doadores de inóculo receberam dieta 6509 que em dieta 6915 (Tabela 37).

Figura 47 - Perfis da cinética de fermentação *in vitro* do milho em grãos moídos, farelo de soja, farelo de trigo, farelo de algodão e silagem de milho, incubados em diferentes inóculos (6509: dieta com baixa energia baixa proteína, 6515: dieta com baixa energia alta proteína, 6909: dieta com alta energia baixa proteína e 6915: dieta com alta energia alta proteína)

Comparando-se os teores de proteína (alto e baixo) e os teores de energia (alto e baixo) observa-se menor ($P<0,05$) tempo de colonização quando o nível de proteína na dieta do animal doador de inóculo é alto. A eficiência da fermentação e a degradabilidade foram melhores ($P<0,05$) em inóculos cujo animal doador recebia

mais energia (Tabela 38). O $t_{1/2}$ foi menor e a degradabilidade maior quando se fez a interação de altos níveis de energia com os níveis de proteína. No entanto, o tempo de colonização (L) foi menor na interação entre altos níveis de proteína com os níveis de energia (Tabela 38).

Tabela 38 - Parâmetros do modelo de France et al. (1993) e produções relativas de gases para os níveis de proteína (alto e baixo) de energia (alto e baixo) e correlações entre níveis de energia e proteína na dieta do animal doador de inóculo

Parâmetros*	Proteína (P)		EPM	P	Energia (E)		EPM	P	Interações				EPM
	Alta	Baixa			Alta	Baixa			PA/EA	PA/EB	PB/EA	PB/EB	
A (mL.g ⁻¹ MS)	228,05	229,07	1,56	0,7795	229,83	227,7	1,56	0,336	228,00	228,90	231,65	226,49	2,21
b (h ⁻¹)	0,052 ^b	0,058 ^a	0,001	<0,0001	0,058 ^a	0,051 ^b	0,001	<0,0001	0,055 ^b	0,049 ^c	0,062 ^a	0,054 ^b	0,001
c (h ^{-1/2})	-0,106 ^b	-0,150 ^a	0,005	<0,0001	-0,140 ^a	-0,115 ^b	0,005	0,0009	-0,115 ^{bc}	-0,097 ^c	-0,166 ^a	-0,134 ^b	0,007
t _{1/2} (h)	25,32	25,46	0,442	0,837	23,76 ^b	27,02 ^a	0,442	<0,0001	23,70 ^b	26,96 ^a	23,82 ^b	27,09 ^a	0,625
L (h)	1,82 ^b	2,20 ^a	0,07	0,0005	2,07	1,95	0,075	0,255	1,80 ^b	1,85 ^b	2,34 ^a	2,05 ^{ab}	0,11
Degrad (%)	50,44	51,46	0,429	0,095	52,33 ^a	49,58 ^b	0,429	<0,0001	51,53 ^a	49,38 ^b	53,13 ^a	49,80 ^b	0,607
PF (mg MSd/mL)	2,26	2,27	0,028	0,798	2,27	2,25	0,028	0,615	2,27	2,24	2,27	2,26	0,039

A: produção potencial de gases; b e c: constantes do modelo; t_{1/2}: tempo no qual a metade de A é atingida; L: tempo de colonização; Degrad: Degradabilidade da MS em 72h de incubação; PF: Fator de partição, quantidade de MS degradada por mL de gás produzido.

**EPM: erro padrão da média

^{a, b e c} médias seguidas por sobrescritos diferentes, nas linhas, diferem entre si (P<0,05)

5 CONCLUSÕES

Bubalinos da raça mediterrâneo criados à pasto apresentaram curvas de crescimento ponderal diferentes (peso vivo, altura na cernelha, perímetro torácico e comprimento corporal) do nascimento até o peso de abate ao redor de 517 kg ou 568 kg, com os dois grupos se diferenciando logo na fase inicial do crescimento..

Estimativas do peso vivo de búfalos mediterrâneos em crescimento mantidos em pastagem podem ser feitas em função da idade, do perímetro torácico, da altura na cernelha e do comprimento corporal com altas correlações, assim como outras correlações entre essas variáveis.

Búfalos abatidos com peso médio de 568 kg apresentaram características de carcaça semelhantes aos abatidos com peso médio de 517, porém apresentaram maior peso de gordura interna (inguinal+pélvica+renal).

Níveis de proteína de 9%, 12% e 15% não influenciaram na degradabilidade *in situ* dos nutrientes e no pH ruminal. No entanto, dietas com 15% de PB apresentaram maior concentração de NH_3 e AGCC totais no rúmen.

Dietas com teores de 9 ou 15% de PB combinadas com 65 ou 69% de NDT não apresentaram diferenças no pH, concentração de N-amoniaco, taxa de passagem de líquido e volume ruminal em búfalos. Entretanto, a dieta com teor de proteína bruta de 15% na MS, independente dos níveis de energia na dieta, apresentou melhores degradabilidades efetivas da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro.

Búfalos apresentaram, em média, 8,38 g de proteína microbiana bruta /100 g de NDT, sendo 10,41 g e 6,05 g PB Microbiana / 100 g de NDT em dietas com 9% e 15% de PB, respectivamente.

Dietas com diferentes níveis de energia e proteína não interferiram na qualidade do inóculo para a produção de gases *in vitro*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC. **Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne**. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br>>. Acesso em: 3 jul. 2009

AFIF, Y. A. et al. Meat production from buffalo male calves at different ages. **Agricultural Research Review**, v. 52, p.1-20, 1974.

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

AGRICULTURAL FOOD AND RESEARCH COUNCIL - AFRC. **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford: CAB International, 159p, 1995.

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC. **The nutrient requirements of ruminant livestock**. Farnham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux, London, 351p, 1980.

ALVES, T. C. et al. Efeitos de dietas com níveis crescentes de milho no metabolismo ruminal de energia e proteína em bubalinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.10, p.2001-2006, 2009.

ALVES, T.C. **Efeitos de diferentes níveis de milho em grãos moídos (relação proteína:carboidratos não estruturais) em dietas para búfalos sobre o metabolismo no rúmen**. 2007. 83f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.

ANDRIGHETTO, C. et al. Características físico-químicas e sensoriais da carne de bubalinos Murrah abatidos em diferentes períodos de confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.12, p.2179-2184, 2008.

BARBOSA, C. et al. Desempenho de bubalinos da raça Mediterrâneo (leiteiros) para a produção de carne. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v.12, n.2, p.173-235, 1988.

BASTIANETO, E. Aspectos econômicos da criação de bubalinos em Minas Gerais. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE BUBALINOCULTURA, 2., 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, p.01.-04, 2005.

BELASCO, I.J. The role of carbohydrates in urea utilization, cellulose digestion and fatty acid formation. **Journal Animal Science**., v.15, l. 2, p. 496-508, 1956.

BERNARDES, O. Os búfalos no Brasil. In: SIMPÓSIO DE BÚFALO DE LAS AMÉRICAS E, II SIMPÓSIO EUROPA-AMERICA, 2, 2006, Medellín, **Proceedings...** Medellín, v. 3, p. 18-23, 1 CD ROM. 2006.

BLÜMMEL, M.; STEINGAB, H.; BECKER, K. The relationship between in vitro gás production, in vitro microbial biomass yield and ^{15}N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. **Brith Journal of Nutrition**, v. 77, p. 911-921, 1997.

BOER, G.; MURPHY, J.J. Mobile nylon bag for estimating availability of rúmen undegradable protein. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 5, p. 977 – 982, 1987.

BOUVIER, J. C.; VERMOREL, M. Utilization e´nerge´tique et azote´e d’une meme ration par le mouton adulte a l’enraissement et l’agneau en croissance. **Ann. Zootech.** V. 24, p. 697–710, 1975.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. RIISPOA. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal.** Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29-03-52, alterado pelos Decretos nºs 1.255 de 25-06-62, 1.236 de 02-09-94, nº 1.812 de 08-2-96 e nº 2.244 de 04-06-97. Brasília, DF: MARA, 1997.

BUENO, I. C. S. **Cinética digestiva e síntese microbiana ruminal em ovinos alimentados com fenos de três qualidades distintas.** Piracicaba, 2002. 97p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2002.

BUENO, I. C. S. et al. Comparison of inocula from sheep and cattle for the in vitro gás production under tropical conditions. In: ANNUAL MEETING OF THE BRITISH SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, Scarbourough, 1999b. **Proceedings.** Penicuik: BSAS, p. 151. 1999a.

BUENO, I. C. S. et al. Uso do liquido ruminal e fezes de bovinos e ovinos como fonte de inóculo para a técnica in vitro de produção de gases. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36. Porto Alegre, 1999a. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999b.

BUENO, I.C.S. et al. A new approach for in vitro bioassay to measure tannin biological effects based on a gas production technique. **Animal Feed Science and Technology**, v. 141, p. 153-170, 2008.

BUENO, I.C.S. et al. Influence of inoculum source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123-124, p. 95-105, 2005.

BUNTING, L.D. et al. Effect of dietary protein level on N metabolism in lambs: Studies using ^{15}N . **Journal of Animal Science**, Baton Rouge, v.64, p. 855-867, 1987.

CALABRÒ, S. et al. Comparative analysis of gas production profiles obtained with buffalo and sheep ruminal fluid as the source of inoculum. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123–124, p. 51–65, 2005.

CAMERON, M.R. et al. Effects of urea and starch on rumen fermentation nutrient passage to the duodenum and performance of cows. **Journal of Dairy Science**. v. 74, l. 4, p. 1321-1336, 1991.

CAMPOS, O.F.; RODRIGUES, A.A. **Uréia para bovinos em crescimento**. Coronel Pacheco: EMBRAPA/CNPGL, 42p. 1985.

CASALI, A. O. **Procedimentos metodológicos in situ na avaliação do teor de compostos indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos**. 2006, 47p. Dissertação (Mestrado) – Universidade federal de viçosa, Viçosa, 2006.

CCPS. **Dados Cordenadoria do Campus de Pirassununga**, FZEA/USP. Pirassununga, 2007.

CCPS. **Dados da estação meteorológica da Cordenadoria do Campus de Pirassununga**, FZEA/USP. Pirassununga, 2009. Disponível em: <http://www.usp.br/ccps/> Acesso em 20 de dezembro de 2009.

CECAVA, M.J. et al. Effects of dietary energy level and protein source on nutrient digestion and ruminal nitrogen metabolism in steers. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 2230-2243, 1991.

CHALMERS, M.I. 1974. Nutrition. In: COCKRILL, W.R. **The husbandry and health of the domestic buffalo**. Rome: FAO. p.167-194, 1974.

CHEN, B.X. et al. Urinary excretion of purine derivatives and tissue xanthine oxidase (EC 1.2.3.2) activity in buffaloes (*Bubalis bubalis*) with special reference to differences between buffaloes and *Bos Taurus* cattle. **Brit. J. of Nut.**, v.15, p.397-407, 1996.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details**. Bucksburnd: Rowett Research Institute/International Feed Research Unit, 1992. 21p. (Occasional publication).

CHIZZOTTI, M. L. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 138-146, 2007.

CHIZZOTTI, M. L. et al. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v. 113, p. 218-225, 2008.

CHURCH, D.C. **Digestive physiology and nutrition of ruminants**. Corvallis, O e B Books, v.1, 350p., 1976.

CLARK, J.H., KLUSMEYER, T.H. CAMERON, M.R.. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, I.8, p. 2304-2323, 1992.

CONE, J.W.; VAN GELDER, A.H.; CHAI, W.Z. Fermentation behaviour of the nylon bag washout and degradable fractions determined with the gas production technique. **Animal Feed Science and Technology**, v.127, p.319-326, 2006.

COPPOCK, C.E.; PEPLOWSKI, M.A.; LAKE, G.B. Effect of urea form and method of feeding on rumen ammonia concentration. **Journal of Dairy Science**, v. 59, n. 6, p. 1152-56, 1976.

CORDEIRO, C.F.A. et al. Consumo e digestibilidade total dos nutrientes e produção e composição do leite de vacas alimentadas com teores crescentes de proteína bruta na dieta contendo cana-de-açúcar e concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.2118-2126, 2007.

CORREA, A.; TRAMOSO, E. Búfalos. **Revista Produz** n.6, p. 36-43. Dezembro, 2004.

CQBAL 3.0. **Composição química-bromatológica de alimentos e Tabela brasileira de alimentos para ruminantes**. Disponível em: <<http://cqbal.agropecuaria.ws/webcqbal/comocolaborar.htm>> Acesso em: 04/01/2010.

CRUZ SOTO, R. et al. Influence of peptides, amino acids and urea on microbial activity in the rumen of sheep receiving grass hay and on growth of rumen bacteria in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, v. 49, n. 1-2, p. 151-161, 1994.

DAVIDSON, S. et al. Effects of mounts and degradability of dietary protein on lactation, nitrogen utilization, and excretion in early lactation Holstein cows. **Journal of Dairy Science**. v. 86, p. 1681-1689, 2003.

DEHORITY, B.A. **Rumen microbiology**. The Ohio State University, 125p. 1987.

DETMANN, E. et al. Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de transição seca/águas: Consumo voluntário e transito de partículas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1371-1379, 2005a

DETMANN, E. et al. Níveis de Proteína em Suplementos para Terminação de Bovinos em Pastejo Durante o Período de Transição Seca/Águas: Digestibilidade Aparente e Parâmetros do Metabolismo Ruminal e dos Compostos Nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1380-1391, 2005b.

DEVANT, M. et al. Effect of nitrogen source in high-concentrate, low-protein beef cattle diets on microbial fermentation studied in vivo and *in vitro*. **Journal of Animal Science**, v.29, n.8, p.1944-1953, 2001.

DIPU, M. T. et al. Measurement of Microbial Protein Supply in Murrah Buffaloes (*Bubalus bubalis*) Using Urinary Purine Derivatives Excretion and PDC Index. **Asian-Australian Journal Animal Science**, v.19, n. 3, p. 347-355, 2006.

DOVE, H.; MILNE, J. A. Digesta flow and rumen microbial protein production in ewes grazing perennial ryegrass. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 45, n. 6, p. 1229 – 1245, 1994.

DRUDI, A.; MATTOS, J.A.C.; PEREIRA, W.M.; BARBOSA, C. Avaliação do desempenho e do rendimento das carcaças de búfalos *Bubalis bubalis* L. de sobreano castrados e não castrados. **Zootecnia**, v.14, p.139-147, 1976.

ERDMAN, R.A., PROCTOR, G.H, VANDERSALL, J.H. Effect of rumen ammonia concentration on in situ rate and extent of digestion of feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, 69(9):2313-2320, 1986.

FELÍCIO P.E. et al. Composição corporal, composição da carcaça e qualidade da carne de búfalos Jafarabadi. **Boletim Técnico Centro de Tecnologia da Carne**, Campinas, v.4, p.1-44, 1980.

FELÍCIO, P.E. de. Qualidade da Carne Bovina: Características Físicas e Organolépticas. In: XXXVI Reunião Anual da SBZ, Porto Alegre. **Anais...** Rio Grande do Sul: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999.

FELÍCIO, P.E.; PICCHI, V.; CORTE, O.O. Sistematização da avaliação final de bovinos e bubalinos. II. composição da carcaça. **Boletim Técnico Centro de Tecnologia da Carne**, Campinas, v.3, p.33-66, 1979.

FERNANDES, J.J.R. **Farelo de soja em substituição à uréia em dietas para bovinos de corte em crescimento e terminação**. 2004. 87p. Tese (Doutorado Agronomia com área de concentração em Ciência Animal e Pastagem) – Unidade Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

FERRELL, C.L. et al. The effect of dietary nitrogen and protein on feed intake, nutrient digestibility, and nitrogen flux across the portal-drained viscera and liver of sheep consuming high-concentrate diet ad libitum. **Journal of Animal Science**, Clay Center, v. 79, p. 1322-1328, 2001.

FRANCE, J.; DHANOA, M.S.; THEODOROU, M.K. A model to interpret gas accumulation profiles with "in vitro" degradation of ruminants feeds. **Journal of Theoretical Biology**, v.163, p.99-111, 1993.

FRANCISCO, L. C. et al. Meal quality from buffaloes finished in feedlot and slaughtered in different weights. 9th World Buffalo Congress, 2010, **Anais...** Buenos Aires. p. 521 – 523, 2010.

FRANZOLIN NETO, R.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; ZANETTI, M.A. **Avaliação dos protozoários ciliados no rúmen de búfalo e bovino**. In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, 14, Salvador, BA, Anais. Salvador, 1990, p 258-262, 1990.

FRANZOLIN, R.; SILVA, J.R. Níveis de Energia na Dieta para Bubalinos em Crescimento Alimentados em Confinamento - Características da Carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, l. 6, p.1880-1885, 2001.

FRANZOLIN, M. H. T. ; SILVEIRA, A. C. ; FRANZOLIN, R. . Efeitos de dietas com diferentes níveis de fibra em detergente neutro e do tamanho de poros de sacos de náilon incubados no rúmen sobre a fauna ruminal em bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 716-723, 2002.

FUJIIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, p.7-12, 1987.

GASPERLIN, L.; ZLENDER, B. ABRAN, V. Colour of beef heated to different temperatures as related to meat ageing. **Meat Science**, v.59, l. 1, p.23-30, 2001.

GOMIDE, L. A. M., RAMOS., E. M., FONTES, P. R. **Tecnologia de abate e tipificação de carcaças**. Viçosa: Editora UFV, 370 p. 2006.

GRANT, A.L.; HELFERICH, W.G. An overview of growth. In: PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. (Eds.) **Growth regulation in farm animals**: advances in meat research. London; New York: Elsevier Applied Science, v. 7, p. 1-16, 1991.

GRISWOLD, K. E. et al. Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 329-336, 2003

HEDRICK, H.B. Methodos of estimation live animal and carcass composition; Review. **Journal of Animal Science**, v. 57, n. 5, p. 1316-1327, 1983.

HELDT, J.S. et al. Effects of different supplemental sugars and starch fed in combination with degradable intake protein on low-quality forage use by beef steers. **Journal of Animal Science** v.77, n.3, p.2793-2802, 1999a.

HELMER, L.G.; BARTLEY, E.E. Progress in the utilization of urea as a protein replace for ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.54, n.1, p.25-51, Jan. 1971.

HENNESSY, D.W. et al. The effect of nitrogen and protein supplementation on feed intake, growth and digestive function of steers with different *Bos indicus*, *Bos taurus* genotypes when fed a low quality grass hay. **Australian Journal Agricultural Science**, v. 46, n. 6, p. 1121 – 1136, 1995.

HENNING, P.H.; STEYN, D.G.; MEISSNER, H.H. The effect of energy and nitrogen supply pattern on rumen bacterial growth in vitro. **Animal Production**, v.53, n.2, p.165-175, 1991.

HERRERA-SALDANA, R.; GOMES-ALARCO, R.; TORABI, M.; HUBER, J.T. Influence of synchronizing protein and starch degradation in rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. **Journal of Dairy Science**, v. 73, l. 1, p. 142-148, 1990.

HERRERA-SALDANA, R.; HUBER, J.T. Influence of varying protein and starch degradabilities on performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, l. 6, p.1477-1483, 1989.

HILL, D.H. The effects of climate on production. In: PAYNE, W.J.A. **Cattle and buffalo meat production in the tropics**. London: Longman Scientific & Technical, p. 6-17, 1988.

HOFFMAN, L.C. Sensory and physical characteristics of enhanced vs. non-enhanced meat from mature cows. **Meat Science**, v.72, p.195-202, 2006.

HOOVER, W.H., STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v. 74, l. 10, p. 3360-3364, 1991.

HUBER, J. T. et al. Heat stress interactions with protein, supplemental fat, and fungal cultures. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 7, p. 2080-2090, 1994.

HUNGATE, R.E. **The rumen and its microbes**. USA: Academic Press Inc., 533p., 1966.

HUNTINGTON, J.A.; GIVENS, D.I. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of procedure. **Nutrition Abstracts Review (Series B)**, CAB International, v.65, n.2, p.63-93, 1995.

HUNTINGTON, G.B. et al. Effects of dietary concentrate level on nutrient absorption, liver metabolism, and urea kinetics of beef steers fed isonitrogenous and isoenergetic diets. **Journal of Animal Science**, Beltsville, v.74, p. 908-916, 1996.

HYDEN, S. **A turbidimetric method for the determination of higher polyethyleneglycol in biological material**. Kgl. Lantbruks-Hogskol. Ann. Uppsala, v. 22, p. 139-145, 1956.

IBGE. Censo agropecuário 2007. **Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Agropecuária**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> Acesso em 29 Fevereiro 2009.

IRURUETA, M. et al. Effect of aging on the characteristics of meat from water buffalo grown in the Delta del Paraná region of Argentina. **Meat Science**, 79, p. 529–533, 2008.

JESSOP, N.S. Aspects of cellular energetics. In: **Farm animal metabolism and nutrition: Critical reviews**. Ed. D'MELLO, J.P.F, 438p. 2000.

JORGE, A.M. et al. Características bioquímicas da carne de bubalinos Mediterrâneo terminados em confinamento e abatidos em diferentes pesos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1534-1539, 2006.

JORGE, A.M. et al. Ganho de peso e de carcaça, consumo e conversão alimentar de bovinos e bubalinos, abatidos em dois estádios de maturidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, l. 4, p. 806-812, 1997b.

JORGE, A.M. et al. Rendimento de carcaça e de cortes básicos de bovinos e bubalinos, abatidos em diferentes estádios de maturidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, l. 5, p.1048-1054, 1997a.

JORGE, A.M. Produção de Carne Bubalina. In: ZOOTECH 2004 – VI Congresso Internacional de Zootecnia, XIV Congresso Nacional de Zootecnia, X Reunião Nacional de Ensino em Zootecnia, XVII Fórum de Entidades de Zootecnistas, 2004, Brasília, **Anais...**, Brasília: ABZ, AZOODF, Faculdades UPIS, v.1, p.1-36, 2004.

JORGE, A.M.; ANDRIGHETTO, C. Características de Carcaça de Bubalinos. In: ZOOTECH 2005 - 24 a 27 de maio de 2005, Campo Grande. **Anais...** Mato Grosso do Sul, 2005.

JORGE, A.M.; ANDRIGUETTO, C.; CASTRO, V.S. Desenvolvimento ponderal de bubalinos da raça Murrah criados em pastagem de *Brachiaria brizantha* no Centro-Oeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 417-421, 2005.

KANDEEPAN, G., BISWAS, S. Effect of low temperature preservation on quality and shelf life of buffalo meat. **American Journal of Food Technology**, 2(3), 126–135, 2007.

KANDEEPAN, G. et al. Effect of age gender on the processing characteristics of buffalo meat. **Meat Science**. v.83, l. 1, p. 10-14, 2009.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminant in development contries**. Logan: Utah State University. 381p, 1982.

KOGA, A.; KUHARAY, T.; KANAI, Y. Comparison of body water retention during water deprivation between swamp buffaloes and Friesian cattle. **Journal of Agricultural Science**, v. 138, p. 435–440, 2002.

LAHUCKY, R. et al. Effect of preslaughter handling on muscle glycogen level and select meat quality traits in beef. **Meat Science**, v.50, l. 6, p.389-393, 1998.

LAPITAN, R.M. et al. Comparison of carcass and meat characteristics of Brahman grade cattle (*Bos indicus*) and crossbred water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Animal Science Journal**. v.78, l. 6, p. 596-604, 2007.

LAPITAN, R.M. et al. Comparison of carcass and meat characteristics of Brahman grade cattle (*Bos indicus*) and crossbred water buffalo (*Bubalus bubalis*) fed on high roughage diet. **Animal Science Journal**. v.79, p. 210-217, 2008.

LIANG, J. B. et al. Estimation of rumen microbial protein production from urinary purine derivatives in zebu cattle and water buffalo. In: **Nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock** IAEA-TECDOC, p. 35 – 42. IAEA, Vienna, 1999.

LIANG, J.B et al. Urinary allantoinexcretion in Malaysian cattle and buffaloes. In **Proceeding of 7th World Conference on Animal Production**, pp. 58–59 [M Thomas, editor].Edmonton, Canada: University of Alberta, 1993.

LOURENÇO JR, J.B. et al. Variáveis fenotípicas vs. desempenho ponderal de búfalos submetidos a prova de ganho de peso em sistema silvipastoril e pastejo rotacionado intensivo. **Anais da 58ª Reunião Anual da SBPC**. Florianópolis. 2006.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da Carne Bovina**. São Paulo, 2000.

MAEDA, E.M. et al. Digestibilidade e características ruminais de dietas com diferentes níveis de concentrado para bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.716-726, 2007.

MAKKAR, H. P. S. Development, standardization and validation of nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock for improving productivity. In **Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivative** (ed. H. P. S. Makkar and X. B. Chen), pp. 2-13. FAO/IAEA, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 2004.

MANSFIELD, H.R.; STERN, M.D. Effects of soybean hulls and lignosulfonate-treated soybean meal on ruminal fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.4, p.1070-1083, 1994.

MATTOS, J. C.A.; JORGE, A.M.; NOGUEIRA, J.R. Características da carcaça de búfalos mediterrâneo (*Bubalus bubalis*) e bovinos nelore (*Bos indicus*) terminados em confinamento. XXXIV Reunião da SBZ **Anais ...** Juiz de Fora, 1997.

MATTOS, J.C.A. et al. Comparasion on carcass, meat cuts and some meat quality characteristis of buffaloes and of zebu In: CONGRESSO MUNDIAL DE CRIADORES DE BÚFALOS, 6., 1997, Caserta. **Proceedings...** Caserta: p.442-446, 1997.

MAURÍCIO, R. M. et al. Semi automated in vitro gás production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Tecnology**, v. 79, p. 321 – 330, 1999.

MAURÍCIO, R. M. et al. Uso de líquido ruminal e feses como fonte de inóculo para técnica in vitro de produção de gases. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35. Botucatu, 1998. **Anais...** Botucatu: SBZ, p. 314 - 316, 1998.

McDONALD, I. A revised model for estimation of protein degradability in the rúmen. **Journal of Agricultural Science**, v. 96, p. 251 – 252, 1981.

MENEGUCCI, P.F.N.B. et al. Rendimentos de carcaça, dos cortes comerciais e da porção comestível de bubalinos Murrah castrados abatidos com diferentes períodos de confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2427-2433, 2006.

MENKE, K. H. et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy contento f ruminant feedstuff from the gás production when they are incubated with rúmen liquor in vitro. **Journal of agricultural Science**, v. 93, p. 217-222, 1979.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.

MILLER, E.L. Symposium on nitrogen utilization by the ruminant. Evaluation of foods as sources of nitrogen and amino acids. **The Proceedings of the Nutrition Society**, n.79, p.1-32, 1973.

MISRA, R.K.; RANHOTRA, G.S. **Influence of energy levels on the utilization of peanut protein-urea nitrogen by cattle and buffalo**. 1969. *Journal of Animal Science*, 28 (1): 107-113.

MOORE, J. A.; POORE, M. H.; ECK, T. P.; SWINGLE, R. S.; HUBER, J. T.; ARANA, M. J. Sorghum grain processing and buffer additions for early lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 12, p. 3465-3477, 1992.

MORAN, J.B. Growth and development of Buffaloes. In: **Buffalo production**. Australia: Tulloh & Holmes, Cap. 10. p. 199 – 221, 1992.

MOSCARDINI, S., HADDI, M. L., STEFANON, B., SUSMEL, P. Measurement of purine derivatives in the urine of some ruminant species. In **Nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock**. IAEA-TECDOC-1093, p. 111-118. IAEA, Vienna, 1999.

NAGADI, S., HERRERO, M., JESSOP, N.S., 2000. The influence of diet of the donor animal on the initial bacterial concentration of ruminal fluid and in vitro gas production degradability parameters. **Anim. Feed Sci. Technol.** 87, 231–239.

NARAYANAN, S.; H. D. Appleton. Creatinine : a review. **J. Clinical Chem.** 26:1119-1126, 1980.

NASCIMENTO, C.N.B. et al. Resultados parciais do controle ponderal de búfalos na fazenda Porangaba, Flórida Paulista e fertilidade do rebanho em 1970/71. **Seleções Zootécnicas**, São Paulo, v.11, n.126, p.34-35, 1972.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington, D. C.: National Academy Press, 242p. 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington, D. C.: National Academy Press, 242p. 2001.

NEATH, K.E.; DEL BARRIO, A. N.; LAPITAN, R. M. et al. Difference in tenderness and pH decline between water buffalo meat and beef during postmortem aging. **Meat Science**. v. 75, p. 499-505, 2007.

NEWBOLD, J. R., RUST, S. R.. Effect of asynchronous nitrogen and energy supply on growth of ruminal bacteria in batch culture. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 538–546, 1992.

NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. A review. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2051 – 2069, 1988.

NOCEK, J.E.; RUSSEL, J.B. Protein and energy as an integrated system: Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2070 – 2082, 1988.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M. **Estudo da degradabilidade in situ e de protozoários ciliados com zebuínos da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) e búfalos (*Bubalus bubalis*) submetidos a dietas com volumosos e concentrados**. Pirassununga, SP:FZEA, 1995. 144p. Tese (livre Docência)- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/Universidade de São Paulo, 1995.

NOGUEIRA, J.R. et al. Peso ao nascer e desenvolvimento ponderal de bubalinos das raças Mediterrâneo e Jafarabadi. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, SP, v.46, n.2, p.193-198, 1989.

NOGUEIRA, J.R. et al. Sistemas de produção de bubalinos para carne em pastagens de capim colônia na região noroeste do estado de São Paulo. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, SP, v. 54, n. 1, p. 25 – 32, 1997.

NORLAN, J. V. Quantitative models of nitrogen metabolism in sheep. In: MACDONALD, I. W.; WARNER, A. C. I. (Ed.). **Digestion and metabolism in the ruminant**. Armidale: University New England, p. 398-416, 1975.

OLIVEIRA, A.L. Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne: alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n. 2, p. 122-134, abr./jun. 2005.

OLIVEIRA, A.L. Maciez da carne bovina. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**, n.33, p.7-18, 2000a.

OLIVEIRA, A.L. Tipificação de carcaças bovinas: a experiência americana e a brasileira. **Técnico de Veterinária e Zootecnia**, n.33, p.24-46, 2000b.

OLIVEIRA, A.L., VELLOSO, L., SCHALCH, E. Carcass characteristics and yields of zebu steers compared with buffalo. In: World Buffalo Congress, 3rd, 1991, Varna, Bulgaria. **Proceedings** ... Varna: The Congress, v.4, p.1019-1026, 1991.

OLIVEIRA, A.S. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compositos nitrogenados não-proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, l. 5, P. 1621-1629, 2001.

ØRSKOV, E.R.; McDONALD, P. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal Agricultural Science**, v.92, p.499-503, 1979.

OWENS, F.N., ZINN, R.A., KIM, Y.K. Limits to starch digestion in the ruminants small intestine. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1634-1648, 1986.

OWENS, F.N.; ZINN, R. Protein Metabolism of Ruminant Animals. In: CHURCH, D. C. (Ed.). **The Ruminant Animal digestive physiology and nutrition**. Inglewood Cliffs, New Jersey: p. 227. 1988.

PACOLA, L.J. et al. Desempenho de bubalinos em Sertãozinho (SP). **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, SP, v.35, n.2, p.135-141, 1978.

PEREIRA, A.S.C. **Características qualitativas da carcaça e da carne das progênes de touros representativos da raça Nelore (*Bos indicus*) e de diferentes grupos genéticos**. 2006. 114p. Tese (Doutora em Qualidade e Produtividade Animal) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo. Pirassununga. 2006.

PEREIRA, M.L.A. et al. Consumo, Digestibilidade Aparente Total, Produção e Composição do Leite em Vacas no Terço Inicial da Lactação Alimentadas com Níveis Crescentes de Proteína Bruta no Concentrado **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.1029-1039, 2005.

PEREIRA, K. P. ET al.. Balanço de nitrogênio e perdas endógenas em bovinos e bubalinos alimentados com níveis crescentes de concentrado. **Acta Science Animal Science**. v. 29, n. 4, p. 433-440, 2007.

PEREZ, J. R. O. Sistema para a estimativa de digestibilidade in vitro. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, Lavras, 1997. **Anais...** Lavras: FAEPE; UFLAS, p. 55-68, 1997.

PIMPA O.; LIANG J. B.; BALCELLS J.; Renal and salivary excretions of plasma purine derivatives in swamp buffaloes and zebu cattle. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, vol. 20, nº8, pp. 1201-1207, 2007.

RAMOS, A.A.; VILLARES, J.B.; MOURA, J.C. **Bubalinos**. Campinas. Fundação Cargill. 323p. 1979.

REID, J.T. et al. A. Nutritional energetic of livestock: Some present boundaries of knowledge and future research needs. **Journal of Animal Science**. v.51, n.6. p.1393-1413, 1980.

RENNÓ, L.N. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1223-1234, 2000.

RESENDE, K. T.; TEIXEIRA, I. A. M. A.; FERNANDES, M. H. R. Metabolismo de energia. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. 538p. 2006.

REYNAL; S. M.; BRODERICK, G. A. Effect of dietary level of rumen-degraded protein on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 88, p. 4045 – 4064, 2005.

RODRIGUES V.C., et al. Rendimentos do abate e carcaça de bovinos e bubalinos castrados e inteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.663-671, 2003.

RODRIGUES V.C.; ANDRADE, I. F. Características Físico-Químicas da Carne de Bubalinos e Bovinos Castrados e Inteiros **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1839-1849, 2004.

RUSSEL, J.B. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant Fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.

RUSSELL, J.R.; R.B. HESPELL. 1981. Microbial rumen fermentation. **Journal of Dairy Science** v. 64, p. 1153-1169, 1981.

RYMER, C.; HUNTINGTON, J.A.; WILLIAMS, B.A.; GIVENS, D.I. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v.123–124, p. 9–30, 2005.

SANTIAGO, A.A. **Estudo sobre búfalos**. São Paulo: Associação de Criadores de Bufalo do Brasil, 1971.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's guide**. Version 9.2. Cary, NC, USA: Statistical Analysis System Institute, 943p. 2002.

SAS, 2000. **SAS system for windows**. Release 8.01, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. 2000.

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

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 235p. 2002.

SILVA, F.E.R. **Efeito da idade ao abate e do tempo de estocagem na maciez dos músculos Longissimus dorsi e Triceps brachii de búfalos (*Bubalus bubalis*)**. Tese (Doutorado em Medic.Veterinária - Hig. Veter. Proc. Tecn. Prod. Org. Animal).Universidade Federal Fluminense, UFF, Brasil. 2007.

SILVA, M.E.T. et al. Quantitative and qualitative buffalo (*Bubalus bubalis* L.) carcass characteristics fed with a Different relationship of roughage and concentrate on a feedlot system in Brazil. **Rev. Acad.**, Curitiba, v.4, n.3, p. 33-45, jul./set. 2006.

SILVEIRA, A.C. et al. Sistema de produção de novilhos superprecoce. In.: **Simpósio goiano sob produção de bovinos de corte**, 1999, Goiânia. *Anais...* Goiânia: CBNA, p.105-122 1999.

SINCLAIR, L.A. et al. Effect of synchronizing the rate of diet energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. **Journal Agricultural Science**, New York, v.120, p.251-263, 1993.

SNIFFEN, C.J., ROBINSON, P.H. 1987. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. **Journal of Dairy Science**, 70, p.425-441, 1987.

SOEJONO, M., et al. Flow of nucleic acids from the rumen and recovery of purine derivatives in the urine of cattle and buffaloes. In **Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivative** (ed. H. P. S. Makkar and X. B. Chen), pp. 69-74. FAO/IAEA, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 2004.

SOUSA, N.H. **Efeitos de níveis crescentes de fibra em detergente neutro na dieta sobre a fermentação e digestão ruminal em bubalinos e bovinos.** Pirassununga, SP: FZEA, 1999. 81p. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, 1999.

SPANGHERO, M. et al. In vivo performance, slaughtering traits and meat quality of bovine (Italian Simmental) and buffalo (Italian Mediterranean) bulls. **Livestock Production Science**, v.7, p.1-13, 2004.

SPICER, L.A.J. et al. Ruminal and post-ruminal utilisation of nitrogen and starch from sorghum grain, corn and barley-based diets by beef steers. **Journal Animal Science**, 62(2): 521-530, 1986.

STEINFELD, H.; WASSENAAR, T. The role of livestock in climate change. In: **Greenhouse Gases and Animal Agriculture Conference, proceedings, Christchurch**, New Zealand, p. 33-45, 2007.

STOKES, S. R. et. al. Ruminal digestion and microbial utilization of diets varying intake of carbohydrate and protein. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.3. p. 871-881, 1991.

STORM, E.; ØRSKOV, E.R. The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants. 1. Large-scale isolation and chemical composition of rumen micro-organisms. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.50, p.463-470, 1983.

TEIXEIRA, J.C. et al. Exigências de energia e proteína, composição e área corporal e principais cortes da carcaça em seis grupos genéticos de bovídeos. II. Exigências de energia e proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 16, n. 2, p. 181-192, 1987.

THEODOROU, M. K. et al. A simple gás production method using a pressure transducer to determine the fermentations kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 48, p. 185-197, 1994.

THORBEEK, G. **Studies on protein and energy metabolism in growing calves.** Beretn. Forglab. No 498. 1980.

TRINDADE, I.A.C.M. **Composição corporal e exigências nutricionais em macrominerais de ovinos lanados e deslanados, em crescimento.** 2000. 66 p. Dissertação (Mestre em Zootecnia)–Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

TYRREL, H. F.; MOE, P. W.; OLTJEN, R. R. Energetics of growth and fattening compared to lactation in cattle. **Proc. 6th Symp. On Energy Metab. European Assoc. Anim. Prod.** Pub. 14. p205-208. Stuttgart, F. R. Germany. 1974.

VAGNONI, D.B. et al. Excretion of purine derivatives by holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1695-1702, 1997.

VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 3. pH, amônia e eficiência microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 6, p. 1264 – 1269, 1997.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press, 476 p., 1994.

VAZ, F.N. et al. Estudo da carcaça e da carne de bubalinos Mediterrâneo terminados em confinamento com diferentes fontes de volumoso **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.2, p.393-404, 2003.

VELLOSO, L. et al. Comparative performance of buffalo, zebu (Nelore) and Holstein steers, fed crude soybean meal, dry cassava meal and ground sugar-cane in feedlot trial. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4, São Paulo. **Proceedings...**São Paulo. 1994.

VERMOREL, M., BICKEL, H. Utilization of feed energy by growing ruminants. **Ann. Zootech.** V. 29, p. 127–144, 1980.

VO, T. K. T. et al Comparison of purine derivative and creatinine in plasma and urine between cattle and buffaloes in Vietnam. In: **Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivative** (ed. H. P. S. Makkar and X. B. Chen), pp. 75-85. FAO/IAEA, Kluwer Academic Publishers, 2004.

WALDO, D.R.; GLEN, B.P. Foreign systems for meeting the protein requirements of ruminants. II. **Meeting protein requirements of cattle**. In: OWENS, F.N. (Ed). **Proc Protein requirements for cattle: Symposium**, 109, p.269-309, 1981.

WEATHERBURN, M.W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**. 39(8):971-974, 1967.

WILLIAMS, C.H., DAVID, D.J., IISMA, O. 1962. The determination of chromic oxide in feces samples by atomic absorption spectrophotometry. **Journal Agricultural Science**, 59:381, 1962.

WILLIAMS, B. A. Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. In: GIVENS, D. I.; OWEN, E.; AXFORD, R. F. E. et al. (Ed). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB Publishing, 2000. Cap. 10, p. 189-214, 2000.

YÁÑEZ, E.A. **Desenvolvimento relativo dos tecidos e características de carcaça de cabritos Saanen, com diferentes pesos e níveis nutricionais**. 2002. 99 p. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

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

ZEOULA, L.M. et al. Degradação ruminal de grãos de cereais e da raspa de mandioca amassados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Botucatu, SP. **Anais...** p.35-37, 1998.

ZEOULA, L.M. et al. Digestibilidade e balanço de nitrogênio de rações com diferentes teores de proteína degradável no rúmen e milho moído como fonte de amido em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.2179-2186, 2006.

ZHAO, J.Y.; SHIMOJO, M., GOTO, I. The effects of feeding level and roughage/concentrate ratio on the measurement of protein degradability of two tropical forages in the rumen of goats, using the nylon bag technique. **Animal Feed Science and Technology**, v.41, p. 261-269, 1993.

ZINN, M R. A.; SHEN, Y. An evalution of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requeriments of feedlot calves. **Journal of Animal Science**, El Centro, v. 76, p. 1280-1289, 1998.