

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**MÉTODOS EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES:
ESTIMATIVA DO CONSUMO ATRAVÉS DE ÍNDICES
FECAIS E ESTIMATIVA DE SÍNTESE MICROBIANA
RUMINAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Lisandre de Oliveira

**Santa Maria, RS, Brasil
2009**

**MÉTODOS EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: ESTIMATIVA
DO CONSUMO ATRAVÉS DE ÍNDICES FECAIS E
ESTIMATIVA DE SÍNTESE MICROBIANA RUMINAL**

por

Lisandre de Oliveira

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal/Nutrição de Ruminantes, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia.**

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Vilmar Kozloski

**Santa Maria, RS, Brasil
2009**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**MÉTODOS EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: ESTIMATIVA DO
CONSUMO ATRAVÉS DE ÍNDICES FECAIS E ESTIMATIVA DE
SÍNTESE MICROBIANA RUMINAL**

elaborada por
Lisandre de Oliveira

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Gilberto Vilmar Kozloski, Dr.
(Presidente/Orientador)

José Luis Repetto (UDELAR)

Henrique Mendonça Nunes Ribeiro Filho (UDESC)

Santa Maria, 13 de fevereiro de 2009.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre junto de mim, dando-me força e proteção em todos os momentos da minha vida.

A minha família e ao meu namorado pelo amor e apoio incondicional além de compreenderem todas as minhas ausências.

Ao Prof. Gilberto Kozloski pela orientação e confiança depositadas.

Ao Prof. Bonne pelos ensinamentos.

Aos colegas do “Grupo de Estudos”: Patrícia, Poliana e Gerson. Vocês sabem como foram importantes! Em especial à querida amiga-colega-professora Pati, que sempre achava um tempinho em meio à correria do seu dia-a-dia para me socorrer nas estatísticas. Vou sempre te ser grata por ter feito “se parar bonito”!!

Às amigas e colegas: Roberta - sempre disposta a ajudar. Por todas as análises, coletas e boas risadas! Carla - pela convivência harmoniosa nestes dois anos de serviço. Júlia – por todos os matinhos e momentos de incentivo e luz.

Aos estagiários e bolsistas do setor de Nutrição Animal, pelo ambiente descontraído, amizade, companheirismo, convivência e auxílio para a realização deste trabalho. Sem vocês nada as dificuldades seriam maiores. “Minha equipe!”, vocês são incríveis!”

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

A todos o meu agradecimento

O grilo procura
no escuro
o mais puro diamante perdido.

O grilo
com suas frágeis britadeiras de vidro
perfura
as implacáveis solidões noturnas.

E se o que tanto procuras só existe
em tua límpida loucura
- que importa? –

isso
exatamente isso
é o teu diamante mais puro!

Mário Quintana

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

MÉTODOS EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: USO DE ÍNDICES FECAIS PARA ESTIMAR CONSUMO E ESTIMATIVA DA SÍNTESE PROTEICA MICROBIANA RUMINAL

AUTOR: LISANDRE DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 13 de fevereiro de 2009

O objetivo deste trabalho foi avaliar métodos em nutrição de ruminantes: o uso de índices fecais para estimar consumo e uso de purinas no duodeno ou de derivados de purinas na urina para estimar a síntese de nitrogênio microbiano ruminal. Foram compilados dados de três ensaios de digestibilidade *in vivo* utilizando ovinos machos castrados não fistulados ou fistulados no duodeno alimentados com azevém (*Lolium multiflorum*, Lam) ou capim-paulista (*Cynodon dactylon* var *dactylon*) fornecidos verde a diferentes níveis de consumo. Os dados de consumo foram relacionados à excreção fecal de diferentes componentes químicos. As equações de regressão com coeficientes de correlação mais significativos foram utilizadas para calcular consumos estimados, os quais foram comparados pelo teste “t” para dados pareados com os consumos observados. O consumo de MO foi significativamente ($P < 0,01$) relacionado com a excreção fecal de N e/ou fibra em detergente ácido (FDA) no ensaio com azevém (R^2 variou de 0,69 a 0,85) e com a excreção fecal de N, FDA ou fibra em detergente neutro (FDN) nos ensaios com *Cynodon* (R^2 variou de 0,51 a 0,56). Conclui-se que a excreção fecal de FDA e/ou N tem um alto potencial para estimar consumo por animais em pastejo. A síntese de nitrogênio microbiano ruminal estimado pela metodologia das purinas duodenais ou dos derivados de purinas excretados na urina não foi similar ($P < 0,01$). Adicionalmente, estas estimativas foram altamente influenciadas pela relação purinas:N microbiano utilizada nos cálculos.

Palavras chave: consumo; derivados de purinas; índices fecais; purinas; proteína microbiana ruminal

ABSTRACT

Dissertation of Mastership
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

METHODS IN RUMINANT NUTRITION: USE OF FAECAL INDEX TO ESTIMATE INTAKE AND ESTIMATIVE OF RUMEN MICROBIAL PROTEIN SYNTHESIS

AUTHOR: LISANDRE DE OLIVEIRA

ADVISER: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI

Defense's Place and Date: Santa Maria, february, 13, 2009

This study was carried out to evaluate methods in ruminant nutrition: use of fecal index to estimate intake and use of purine or purine derivatives to estimate rumen microbial protein synthesis. Data from three digestibility trials conducted with castrated male lambs fed ryegrass (*Lolium multiflorum*, Lam) or Cynodon (*Cynodon dactylon* var *dactylon*) at different levels of intake were compiled. Intake data were related to faecal excretion of different chemical compounds through regression analysis. Significant regressions with high R^2 were used to calculate estimated intake values, which were compared to observed values by paired t test. Organic matter (OM) intake (g/day) had significant ($P<0.01$) relation to faecal excretion (g/day) of N and/or acid detergent fiber (ADF) in ryegrass trial (R^2 varied from 0.69 to 0.85) while N, ADF and neutral detergent fiber (NDF) had significant ($P<0.01$) relation to OM intake in Cynodon trials (R^2 varied from 0.51 to 0.56). It is concluded that faecal excretion of N and/or ADF had high potential to estimate intake by grazing animals. Rumen microbial protein synthesis estimated either by duodenal purines or urine purines derivatives was different ($P<0.01$). Moreover, these estimates were highly affected by purines:microbial N proportion used in calculations.

Key words: intake; purine derivatives; fecal index; purines; rumen microbial protein

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Representação esquemática da estimativa de síntese de proteína microbiana por excreção de derivados de purina na urina. Figura adaptada de Chen ; Gomes (1992).....	23
FIGURA 2 – Variação na composição química do Azevém ((<i>Lolium multiflorum</i> , Lam.) – Ensaio 1 – nos quatro períodos experimentais.....	26
FIGURA 3 – Variação na composição química do Cynodon (<i>Cynodon dactylon</i> var. <i>dactylon</i>) – Ensaio 2 - nos quatro períodos experimentais.....	28
FIGURA 4 – Variação na composição química do Cynodon (<i>Cynodon dactylon</i> var. <i>dactylon</i>) – Ensaio 3 - nos quatro períodos experimentais.....	29
FIGURA 5 - Relação entre consumo de matéria orgânica (CMO) observado e CMO estimado pela equação linear utilizando nitrogênio (NF) como índice fecal (equação nº 2 da Tabela 1).....	37
FIGURA 6 - Relação entre consumo de matéria orgânica (CMO) observado e CMO estimado pela equação linear utilizando a fibra em detergente ácido (FDA) como índice fecal (equação nº4 da Tabela 1).....	38
FIGURA 7 - Relação entre consumo de matéria orgânica observada (CMO) e CMO estimado pela equação linear múltipla utilizando nitrogênio fecal (NF) e fibra em detergente ácido (FDA) como índice fecal (equação nº6 da Tabela 1).....	39
FIGURA 8 – Relação entre consumo de matéria orgânica observada (CMO) e CMO estimado pela equação linear múltipla utilizando o nitrogênio fecal (NF) e a fibra em detergente ácido livre de cinzas (FDAc) (equação nº8 da Tabela 1).....	40
FIGURA 9 – Relação entre consumo de matéria orgânica observada (CMO) e CMO estimado pela equação linear múltipla utilizando o nitrogênio fecal (NF).....	42

FIGURA 10 – Relação entre consumo de matéria orgânica observada (CMO) e CMO estimado pela equação linear múltipla utilizando o nitrogênio fecal (NF) e a fibra em detergente ácido (FDA) como índice fecal.....	43
FIGURA 11 – Relação entre consumo de matéria orgânica observada (CMO) e CMO estimado pela equação linear múltipla utilizando o nitrogênio fecal (NF) e a fibra em detergente neutro (FDN) como índice fecal.....	44
FIGURA 12 – Relação entre síntese de nitrogênio microbiano (Nm) (g/dia) estimado pelas purinas duodenais ou pela excreção de derivados de purina na urina em animais recebendo Azevém (Ensaio 1).	46
FIGURA 13 – Relação entre síntese de nitrogênio microbiano (Nm) (g/dia) estimado pelas purinas duodenais ou pela excreção de derivados de purina na urina em animais recebendo Cynodon (Ensaio 2).	46
FIGURA 14 – Relação entre Digestibilidade Ruminal do Nitrogênio estimada pelos Derivados de purinas ou Purinas no Ensaio 1 (Azevém).....	47
FIGURA 15 – Relação entre Digestibilidade Ruminal do Nitrogênio estimada pelos Derivados de purinas ou Purinas no Ensaio 2 (Cynodon).	48
FIGURA 16 – Relação entre Consumo de matéria orgânica digestível (em g/dia) e síntese de nitrogênio microbiano (g/dia) estimado pelas purinas ou derivados de purinas no Ensaio 1.	49
FIGURA 17 – Relação entre Consumo de matéria orgânica digestível (em g/dia) e síntese de nitrogênio microbiano estimado pelas purinas ou derivados de purinas no Ensaio 2.....	49
FIGURA 18 – Relação entre síntese de nitrogênio microbiano (Nm) (g/dia) estimado pelas purinas duodenais ou pela excreção de derivados de purina na urina em animais recebendo Azevém (Ensaio 1)..	51
FIGURA 19 – Relação entre síntese de nitrogênio microbiano (Nm) (g/dia) estimado pelas purinas duodenais ou pela excreção de derivados de purina na urina em animais recebendo Cynodon (Ensaio 2).	51
FIGURA 20 – Relação entre Consumo de matéria orgânica digestível (em g/dia) e síntese de nitrogênio microbiano (g/dia) estimado pelas purinas ou derivados de purinas no Ensaio 1.	52
FIGURA 21 – Relação entre Consumo de matéria orgânica digestível (em g/dia) e síntese de nitrogênio microbiano estimado pelas purinas ou derivados de purinas no Ensaio 2.....	52

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Dados relativos ao consumo e excreção fecal de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LDA) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) em ovinos alimentados com <i>Cynodon</i> (Ensaio 2).....	68
APÊNDICE B – Dados relativos ao consumo e excreção fecal de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LDA) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) em ovinos alimentados com <i>Cynodon</i> (Ensaio 3).....	69
APÊNDICE C – Dados relativos ao consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LDA) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) em ovinos alimentados com Azevém (Ensaio 1).	70
APÊNDICE D – Dados relativos à excreção fecal de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido com ou sem cinzas (FDA; FDAc), lignina (LDA) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) em ovinos alimentados com Azevém (Ensaio 1).....	71
APÊNDICE E – Dados relativos ao fluxo duodenal de matéria seca (MS), fibra em detergente ácido livre de cinzas (FDAc), nitrogênio microbiano estimado pelas purinas ou derivados de purinas (Nm) em ovinos recebendo Azevém (Ensaio 1). ..	72
APÊNDICE F – Dados relativos ao fluxo duodenal de matéria seca (MS), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente ácido livre de cinzas (FDAc), nitrogênio microbiano estimado pelas purinas ou derivados de purinas (Nm) em ovinos recebendo <i>Cynodon</i> (Ensaio 2).	73
APÊNDICE G – Dados relativos a digestibilidade ruminal do nitrogênio (DRN) para os Ensaios 1 e 2 (Azevém e <i>Cynodon</i>).....	74

APÊNDICE H – Dados relativos ao cálculo de fluxo de nitrogênio microbiano (Nm) utilizando os derivados de purinas da urina. Ensaio 1.....	75
APÊNDICE I – Dados relativos ao cálculo de fluxo de nitrogênio microbiano (Nm) utilizando os derivados de purinas da urina. Ensaio 2.....	76
APÊNDICE J – Produção total de urina. Ensaio 1 e 2.....	77

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 HIPÓTESES	15
3 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	16
3.1 Índices Fecais	16
3.2 Síntese microbiana ruminal	19
3.3 Bases Purinas	20
3.4 Derivados de Purinas	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 Local e época	25
4.2 Índices Fecais	25
4.2.1 Ensaio 1	25
4.2.2 Ensaio 2	27
4.2.3 Ensaio 3	28
4.2.4 Análises químicas	29
4.2.5 Cálculos e Análise estatística	30
4.3 Síntese microbiana ruminal	30
4.3.1 Estimativa da síntese de nitrogênio microbiano utilizando purinas	30
4.3.1.1 Isolamento e análise química de bactérias ruminais	31
4.3.1.2 Análises químicas	31
4.3.1.3 Estimativa de fluxo duodenal de N microbiano	32
4.3.2 Estimativa de síntese de nitrogênio microbiano pelos derivados de purinas	33
4.3.2.1 Análises químicas	33
4.3.2.2 Cálculos	34
4.3.2.3 Análise Estatística	34
5 RESULTADOS	35

5.1 Uso de índices fecais para estimar o consumo	35
5.1.1 Ensaio 1 (Azevém)	35
5.1.2 Ensaio 2 e Ensaio 3 (Cynodon)	40
5.2 Síntese de Proteína microbiana	44
6 DISCUSSÃO	53
6.1 Índices fecais	53
6.2 Síntese microbiana ruminal	56
7 CONCLUSÕES	60
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
APÊNDICES	68

1 INTRODUÇÃO

O ótimo desempenho animal depende do potencial genético, sanidade e oferta de nutrientes satisfatórias. A oferta de nutrientes, por sua vez, depende entre outros fatores, do consumo voluntário e da síntese microbiana ruminal.

Do total de 169,8 milhões de bovinos criados no Brasil em 2008, 96,72% são produzidos a pasto (ANUALPEC, 2008). O consumo a pasto não pode ser medido, apenas estimado. Muitas metodologias foram desenvolvidas na tentativa de estimar o consumo com eficácia. O consumo pode ser estimado diretamente através dos métodos agrônomicos e animais fistulados no esôfago; indiretamente, pela relação entre digestibilidade e consumo que inclui análises de digestibilidade *in vitro* vindas de simulações de pastejo ou ainda pela estimativa de produção fecal e indigestibilidade da forragem, lançando mão da utilização de marcadores internos e externos, dentre os quais o mais difundido é o cromo e o mais recente estudado os n-alcenos. Todas estas técnicas têm demonstrado grandes limitações: necessidade de utilização de animais preparados cirurgicamente, limitações das técnicas *in vitro* ou mesmo pelas dificuldades de coleta e observação do comportamento ingestivo real do animal e ainda a grande variação na recuperação do indicador.

Metodologias que utilizam índices fecais para estimar a digestibilidade e posteriormente o consumo vêm sendo estudadas desde 1949 com Lancaster. Nesta técnica, a excreção de um componente químico fecal é relacionada à digestibilidade e aliada a quantificação da excreção fecal, o consumo pode ser calculado.

Esta metodologia que relaciona consumo e excreção fecal de componentes químicos da dieta pode ser uma alternativa segura para estimar consumo a pasto com pouca interferência sobre o comportamento do animal já que não necessita de dosificação de marcadores ou mesmo animais preparados cirurgicamente. Porém, existe a necessidade do desenvolvimento e verificação das equações que serão utilizadas para este fim. Além disso, existem muitas incógnitas relacionadas a este método que necessitam ser estudadas para completa validação.

A proteína disponível para utilização dos ruminantes é proveniente de fontes de proteína verdadeira do alimento, não degradável no rúmen e proteína microbiana

ruminal. A fim de quantificar a produção de proteína microbiana, foram desenvolvidos diversos métodos.

Zinn; Owens (1986) adaptaram uma técnica desenvolvida por McAllan; Smith (1969) que objetiva a mensuração de purinas nas bactérias. A síntese de proteína microbiana pode ser estimada através do fluxo duodenal de purinas. Este método contudo requer animais fistulados pós-ruminalmente. Métodos invasivos vão de encontro a premissas de sanidade e bem-estar animal além obviamente dos gastos envolvidos com o processo cirúrgico e manutenção destes animais.

Uma técnica mais simples e não-invasiva que não requer nenhuma preparação cirúrgica dos animais foi desenvolvida por Chen; Gomes (1992). Esta técnica necessita apenas coleta total de urina e se baseia na mensuração da excreção de derivados de purinas na urina. Possui limitações já que para o cálculo assume que praticamente não há contribuição de purinas dos alimentos no total que estará disponível para absorção intestinal. Utiliza uma relação constante entre purinas totais e nitrogênio total nas bactérias; aliado a isto, está o fato de que as equações utilizadas são específicas para cada espécie animal (ex: bovinos ou ovinos).

A utilização dos derivados de purinas urinários para estimativa de síntese microbiana ruminal traria diversas vantagens, porém o método não está conclusivamente validado.

O presente estudo foi conduzido para analisar o uso de índices fecais para estimar consumo, assim como comparar dois métodos utilizados para estimar a síntese microbiana ruminal.

2 HIPÓTESES

- ✓ Índices fecais podem ser utilizados para estimativas de consumo em animais a pasto.
- ✓ A estimativa de síntese microbiana ruminal é diferente quando calculada a partir do fluxo duodenal de purinas ou pela excreção de derivados de purinas urinários.

3 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

3.1 Índices Fecais

A qualidade nutricional de uma forrageira depende da digestibilidade, da eficiência de utilização dos nutrientes digeridos e absorvidos e principalmente do consumo voluntário.

Formas de estimar o consumo a pasto tem sido objeto de estudo de pesquisadores há muito tempo. Em animais em pastejo, a estimativa de consumo depende de estimativas de digestibilidade da forragem e da quantificação da excreção fecal. A excreção fecal pode ser medida com o uso de bolsas coletoras ou estimada indiretamente, com a utilização de indicadores que podem ser internos ou externos.

A digestibilidade por sua vez, pode ser estimada através da composição química da forragem, de ensaios *in vivo* ou *in vitro*, ou através do uso de índices fecais. Wild, (1874) citado por Balbir et al., (1954) foi o primeiro ao estimar a digestibilidade por índices fecais. O autor utilizou a sílica, que ocorre naturalmente em feno e palhas. Depois disso, diversos índices fecais têm sido testados para estimar a digestibilidade, como por exemplo: fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e lignina (BOVAL, 1996, 2000, 2003; KARN, 1990; WOFFORK 1985), minerais como o Zinco (HOLLOWAY et al., 1981) ou Cálcio e Fósforo (KARN, 1990), porém o índice fecal mais correlacionado com digestibilidade na maioria dos estudos é a concentração de proteína bruta (PB) ou nitrogênio (N) nas fezes ou excreção total de N ou PB (BALBIR, 1954; BOVAL, 1996, 2000, 2003; FERRI, 2003; JARRIGE, 1965; LANCASTER, 1949; LEITE ; STUTH, 1990; ODOVANAN, 1967; STALLCUP et. al., 1975).

Lancaster (1949) sugeriu que a digestibilidade da matéria orgânica (DMO) pode ser estimada pela relação entre nitrogênio total fecal (NTF, como % da matéria orgânica consumida) e concentração de nitrogênio fecal (NFc) pela equação: $DMO=1-NFT/NFc$ (FERRI et al., 2003).

A hipótese é de que a excreção de nitrogênio nas fezes de ovinos por unidade de consumo de matéria orgânica da pastagem é constante. O valor da constante calculada foi de $0,83 \pm 0,102$ g de N para cada 100 g de MO consumida, estes dados foram obtidos de pastagens com 50 a 85% de digestibilidade e 10 a 36% de PB (LANCASTER, 1949).

As estimativas são baseadas no fato de que com uma maior digestibilidade da dieta, aumenta também a proporção de proteína microbiana indigestível nas fezes e desta forma, a proporção de resíduos do alimento não digerida diminui. (SCHLECHT; SUSENBETH, 2006). Entretanto outros fatores além da DMO podem afetar a concentração de PB nas fezes. Quando diminui a digestibilidade da MO da dieta, a concentração de PB endógena na MO fecal diminui por diluição já que ocorre aumento na MO fecal (LUKAS, 2005).

Diferente dos métodos que utilizam marcadores externos como os alcanos, os quais necessitam métodos complexos de análise, nem sempre disponíveis na maioria dos centros de pesquisas (BERCHIELLI et al., 2000), a utilização do N como índice fecal para estimar digestibilidade depende apenas de equipamentos normalmente disponíveis em laboratórios de bromatologia.

Além disso, a utilização de índices fecais para estimar digestibilidade da forragem é indicada principalmente em dietas complexas já que este método não requer amostras de alimento (LUKAS et al., 2005).

Thomas; Campling (1976), observaram a relação entre digestibilidade e nitrogênio fecal em ovinos e bovinos alimentados *ad libitum*. Os autores observaram que é possível combinar ovinos e bovinos em uma equação comum que relaciona digestibilidade de MO e concentração de N fecal e concluem que sob similares condições ovinos podem ser utilizados para derivar a equação de predição utilizando N fecal para o uso em bovinos. Esta observação é um fator positivo na escolha deste método já que manejar pequenos ruminantes em gaiolas metabólicas é mais prático e gera menores custos do que estabular bovinos.

A utilização da metodologia de índices fecais implica na condução de um experimento de digestibilidade, seja em gaiolas de metabolismo ou através de estimativas de produção fecal e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (MO). Com base nos resultados obtidos do ensaio de digestibilidade, são relacionados à concentração de um ou mais componente químico fecal, com a digestibilidade do alimento. A equação de regressão gerada poderá ser aplicada a campo, porém

apenas para o tipo de pastagem que foi testada no ensaio de digestibilidade. Através da coleta e análise química de amostras fecais dos animais em pastejo e utilizando a equação gerada no experimento de digestibilidade, deduz-se a digestibilidade do alimento.

Outro fator positivo na utilização desta metodologia é observado quando se compara as variações nas excreções diárias. O marcador externo óxido de cromo, utilizado para estimar produção fecal em bovinos alimentados a pasto, apresenta evidente variabilidade na excreção ao longo do dia, indicando a necessidade de se obter amostras representativas destas variações (KOZLOSKI et al., 2006). Já Balbir et al. (1954), testando a equação sugerida por Lancaster (1949) utilizando N como índice fecal, os autores perceberam que não há variação diária nas estimativas de digestibilidade.

Apesar do grande número de publicações aprovando os índices fecais para estimativas de digestibilidade, este assunto gera controvérsia, pois alguns autores atestam a inconfiabilidade dos resultados. Nunez-Hernandez et al., (1992) pesquisaram os índices fecais para avaliar o status energético e protéico de bovinos e cabras. Apesar de não invalidar a técnica, os autores explicam que baseados em dados de pesquisa próprios e de literatura, acreditam ser duvidoso que a digestibilidade *in vivo* possa ser avaliada com acurácia por indicadores fecais. Além disso, Streeter (1969) e Holloway et al. (1981), chamam atenção para as variações nas composições químicas da forragem conforme as épocas do ano o que tornaria a técnica dos índices fecais inconfiáveis. Afirmar esta ratificada por Ferri et al., (2003) que observaram que o nitrogênio total fecal não se modificou com o maior nível de alimentação, porém aumentou com o período de avaliação. Os resultados demonstram que não é possível estimar a digestibilidade da matéria orgânica a partir da utilização do nitrogênio total fecal sem considerar o período do ano.

Hobbs (1987) é ainda mais enfático ao afirmar que a variabilidade na excreção de N entre animais reduz a precisão das estimativas de qualidade da dieta. Além disso, a presença de compostos taníferos em dicotiledôneas, aumenta a excreção de N. O importante aqui é que o alto N fecal pode resultar de altos níveis de taninos em vez de elevados níveis de N ou menor digestibilidade da dieta e o pesquisador pode não conseguir identificar qual fator predomina.

Dentre as críticas ao método, a principal é o fato de que não leva em consideração que a excreção fecal de N pode ser influenciada pela excreção de

matéria orgânica indigestível. Carvalho et al., (2007) sugerem que esta relação poderia ser utilizada para prever consumo a pasto.

O consumo dos animais em pastejo normalmente é calculado utilizando estimativas de digestibilidade e produção fecal. A utilização de índices fecais para estimativa direta do consumo provavelmente seria ainda mais confiável, pois se isenta dos erros associados à coleta do alimento e de estimativas de produção fecal.

Hutchinson (1958) compilou dados próprios ($r=0,900$) e de literatura ($r=0,936$) a respeito da excreção fecal de N, e observou alta correlação entre Nitrogênio total fecal e consumo de matéria seca. Da mesma maneira Leite; Stuth (1990) chamam atenção para a promissora relação entre consumo de matéria orgânica e excreção fecal total de N.

Para a realização desta metodologia é necessária a mensuração do consumo de animais estabulados além da coleta total e análise química das fezes. Para que pudesse se realizar a estimativa de consumo a pasto, seriam necessárias coletas totais de fezes de um número pequeno de animais além da análise química das fezes. A excreção destes componentes fecais é diretamente relacionada ao consumo do alimento.

No entanto, a utilização de índices fecais para estimar consumo contém incógnitas que necessitam ser elucidadas.

3.2 Síntese microbiana ruminal

Nos ruminantes, uma substancial proporção da proteína da dieta é fermentada no rúmen e degradada a subprodutos que são utilizados para a síntese de proteína microbiana. A proteína que será disponível para digestão e absorção no intestino delgado provém da proteína alimentar não degradada e principalmente da proteína microbiana (HUTTON et al., 1971; RUSSEL, et al., 1992). Por exemplo, em animais que consomem basicamente forragens, a proteína microbiana responde, em média, por 59% da proteína que chega ao intestino delgado, pois nessas dietas há muito pouca participação de proteína não degradável (CLARK et al., 1992).

A quantificação da síntese de proteína microbiana é mais que necessária devido à grande importância que os microorganismos bacterianos possuem na

digestão e degradação da fibra além de conferir ao animal proteína microbiana de alto valor nutricional. A estimativa de síntese microbiana ruminal pode ser obtida através de marcadores internos bacterianos como, por exemplo, ácidos nucleicos, purinas totais ou ácido diaminopimélico (DAPA). Para isto, se utilizam animais canulados pós-ruminalmente e o fluxo duodenal de proteína microbiana é determinado. Chen ; Gomes (1992), desenvolveram uma técnica alternativa, a qual baseia-se na excreção de derivados de purinas e não necessita animais preparados cirurgicamente.

3.3 Bases Purinas

Quando nos referimos às bases purinas (BP), estamos nos remetendo aos constituintes dos ácidos nucleicos presentes no RNA e DNA de todo os seres vivos.

Os ruminantes podem ingerir quantidades apreciáveis de ácidos nucleicos da dieta além dos sintetizados pela população microbiana no retículo-rúmen. Os ácidos nucleicos da dieta e seus derivados são rapidamente degradáveis no rúmen e não irão contribuir significativamente para o total de ácidos nucleicos que chegam ao duodeno (MCALLAN, 1982). A utilização das bases purinas como marcador de síntese bacteriana está baseada neste conceito.

O Método Zinn; Owens (1986) para quantificação de purinas tem sido utilizado por diversos pesquisadores por ser um método simples e que demanda baixo custo. Este método baseia-se na hidrólise das bases purinas em HClO_4 e posterior precipitação dos produtos desta hidrólise, adenina e guanina, em AgNO_3 (MAKKAR ; BECKER, 1999).

Broderick; Merchen (1992) destacam que não há nenhum marcador completamente adequado, as estimativas obtidas são relativas e não absolutas. Contudo, os autores indicam as purinas totais como um robusto marcador microbiano.

Makkar; Becker (1999), sugerem modificações para o método Zinn; Owens (1986) lançando a hipótese de que há a possibilidade de alimento indigerido ruminalmente produzir erros na determinação de purinas. Os autores também afirmam que o método parece não ser específico, pois outras substâncias que não

purinas são mensuradas a comprimento de onda de 260nm. Contudo os autores atestam a confiabilidade do método para determinação de purinas após a transformação dos valores de absorbância em proteína microbiana.

A maior limitação para estimar proteína microbiana no duodeno é a necessidade de amostras de rúmen para determinação de um padrão bacteriano, esta amostra necessita ser representativa do total da população bacteriana. No ambiente ruminal estão presentes diferentes cepas de bactérias em diferentes fases de crescimento além de protozoários e outras espécies de microorganismos. A dificuldade de amostragem está no fato de necessitar percentagens similares entre estas espécies e os diferentes estágios de crescimento. (OBISPO; DEHORITY, 1999).

Em experimento realizado por Obispo; Dehority (1999) a concentração de purinas em bactérias isoladas de amostras ruminais representaram aproximadamente um terço das encontradas em bactérias puras o que sugere que amostras bacterianas isoladas de conteúdo ruminal podem estar contaminadas, provavelmente com partículas muito pequenas de forragem e a utilização destes valores poderia subestimar a síntese de proteína microbiana. Outro item importante na tentativa de estimar a síntese de proteína microbiana é a medida de fluxo duodenal. A acurácia da predição de síntese microbiana utilizando purinas é dependente da estimativa acurada do fluxo de digesta.

Para estimativas de fluxo o mais comumente utilizado são cânulas duodenais simples em T que permitem coletas pontuais da digesta duodenal. Para quantificar o total da digesta é necessária a utilização de um marcador de fluxo.

O fluxo pode ser estimado através de marcadores internos que na verdade são componentes indigestíveis do alimento. Este método baseia-se no fato de que, à medida que o alimento transita pelo trato gastrointestinal, a concentração desses constituintes amplia-se progressivamente pela remoção de outros componentes por digestão e absorção (ASTIGARRA, 1997).

A escolha do marcador dependerá da definição do sitio a partir do qual não ocorrerá mais digestão da fração. Por exemplo, a lignina é inadequada como marcador interno de digestibilidade, pois é parcialmente digerida no rúmen (CARVALHO, et al., 2007), bem como a FDA e a FDN. Uma forma de eliminar esta variação seria avaliar a concentração fecal e duodenal da FDA, visto que após a

saída do rúmen, provavelmente não há digestão ou ele é muito pequena das frações celulose, lignina.

3.4 Derivados de Purinas

A excreção de derivados de purinas (DP) na urina (por exemplo, alantoína e ácido úrico) representa uma alternativa de técnica simples e não invasiva suportada pelo princípio de que a excreção urinária dos DP provém de ácidos nucleicos que fluem do rúmen (GONZÁLES-RONQUILLO et al., 2004). Embora esta seja uma técnica relativamente simples, para sua execução é necessária a coleta total de urina.

Para o uso do método indireto, muitos parâmetros devem ser definidos entre as espécies: recuperação urinária das bases purinas absorvidas, excreção endógena de DP e atividade da xantina oxidase (XO) no intestino, fígado e plasma (OJEDA et al., 2005).

Os ácidos nucleicos que deixam o rúmen são essencialmente de origem microbiana. Isto ocorre porque os alimentos dos ruminantes possuem um baixo conteúdo de purinas e a maior parte deles sofre extensiva degradação no rúmen como resultado da fermentação microbiana. Nos intestinos delgados, os nucleotídeos das purinas são hidrolisados em purinas nucleosídeos e bases livres e ambas as formas podem ser absorvidas. Os Nucleosídeos púricos e as bases livres absorvidas nos intestinos estão sujeitas a degradação bem como a utilização pela mucosa intestinal. Os ácidos nucleicos das purinas absorvidas são degradados e excretados pela urina em seus derivados, hipoxantina, xantina e ácido úrico ou alantoína (CHEN; GOMES, 1992). Na Figura 1 pode ser observada uma representação esquemática do método.

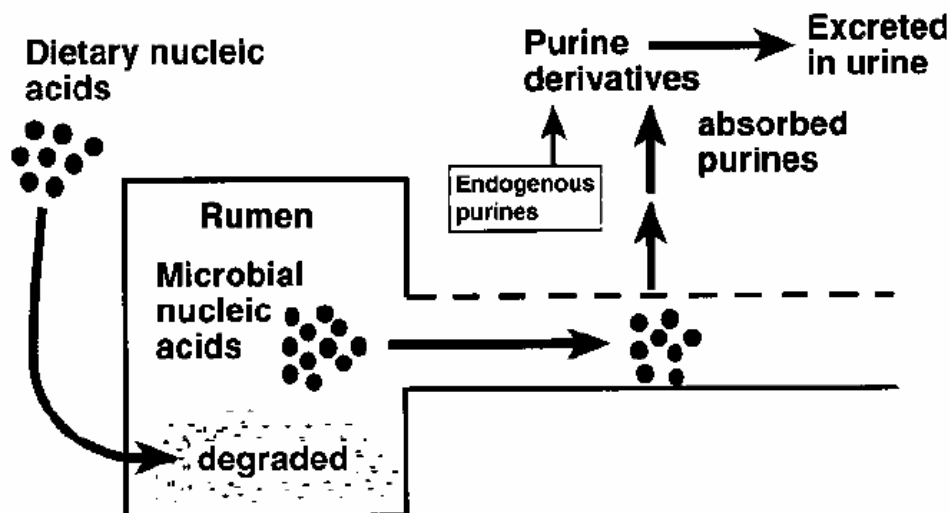


Figura 1. Representação esquemática do metabolismo das purinas pelos ruminantes. Figura adaptada de Chen; Gomes (1992).

O metabolismo difere entre bovinos e ovinos. Nos bovinos há alta atividade da enzima xantina oxidase na mucosa intestinal e plasma que oxida as purinas rapidamente a compostos não reutilizáveis (ORELLANA BOERO et al., 2001).

A excreção de DP é grandemente determinada pela absorção de purinas microbianas. Entretanto, a relação entre excreção total de DP e absorção de purinas microbianas em ovinos não é linear. Isto ocorre porque nestes animais a atividade da xantina oxidase na mucosa intestinal é muito pequena e parte das purinas absorvidas podem ser utilizadas pelos tecidos do animal para a re-síntese e incorporação nos ácidos nucléicos teciduais. Os DP originados da degradação exógena de purinas são produzidos principalmente no fígado que possui alta atividade de xantina oxidase e uricase. Nos ovinos a relação entre excreção urinária de DP e absorção de purinas exógenas é corrigida pelo fator 0,84 que ajusta a perda de DP para rotas que não sejam a excreção na urina (CHEN; GOMES, 1992; CHEN et al., 1992, CHEN et al., 1990).

A estimativa de síntese microbiana por DP tem demonstrado alta correlação com as medidas de fluxo de bases purinas no duodeno (PEREZ et al., 1996 GONZÁLES-RONQUILLO et al., 2004; RENNÓ et al., 2000). Os autores também sugerem o uso de DP para estimar a produção de proteína microbiana, porém

observaram que método das BP normalmente possui coeficientes de determinação mais elevados e coeficientes de variação mais baixos em relação aos DP.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local e época

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Bromatologia e Nutrição de Ruminantes pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, situada no município de Santa Maria, na região fisiográfica denominada Depressão Central, RS, Brasil.

4.2 Índices Fecais

Foram utilizados dados de três ensaios de digestibilidade conduzidos com ovinos machos castrados não fistulados ou fistulados no duodeno, mantidos em gaiolas de metabolismo, e recebendo dietas a base de Azevém (*Lolium multiflorum*, Lam.) ou *Cynodon* (*Cynodon dactylon* var. *dactylon*).

4.2.1 Ensaio 1

4.2.1.1 Animais, Instalações e condução do experimento

O ensaio de digestibilidade com os animais recebendo azevém (*Lolium multiflorum*, Lam.) foi desenvolvido no período de julho a outubro de 2007 utilizando como delineamento experimental o duplo Quadrado Latino 4 x 4. Para isso foram utilizados oito ovinos machos castrados fistulados no duodeno mantidos em gaiolas de metabolismo individuais providas de cocho para volumoso e cocho para sal além

de bebedouro com água permanentemente disponível. Os animais apresentavam em média 22 kg de peso vivo.

O azevém foi implantado com adubação de base com 100kg de NPK (10-18-20) em área de 0,30 ha próximo às instalações do laboratório. Adicionalmente, 200kg/ha de nitrogênio (N) na forma de uréia foi adicionada em cobertura e as aplicações distribuídas ao longo da estação de crescimento da pastagem. A variação na composição química do Azevém é apresentada na Figura 2.

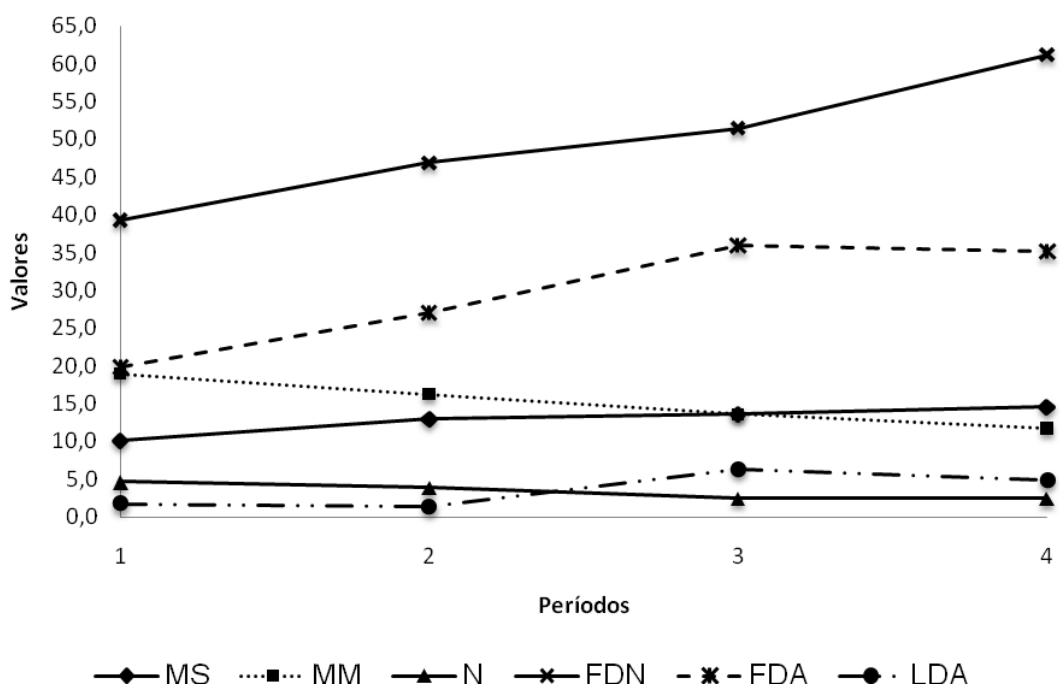


Figura 2 – Variação na composição química do Azevém (*Lolium multiflorum*, Lam.) – Ensaio 1 – nos quatro períodos experimentais. As frações estão expressas em % da MS.

Os tratamentos incluídos no experimento foram quatro níveis oferta de forragem (base MS):

- 1,5% do peso vivo;
- 2,0% MS do peso vivo;
- 2,5% MS peso vivo;
- *ad libitum*

Previamente ao período experimental, os animais receberam tratamento para verminose e durante o experimento o grau de infestação foi acompanhado utilizando

o método FAMACHA. Após um período pré-experimental de aproximadamente duas semanas, com a finalidade de adaptar os animais ao manejo e instalações, foi conduzido o experimento, em quatro períodos de 15 dias, sendo os primeiros 10 dias destinados à adaptação dos animais às dietas e os cinco últimos à coleta de dados e amostras.

A pastagem era cortada pela tarde e congelada. Este alimento era oferecido duas vezes ao dia, pela manhã e pela tarde. No tratamento *ad libitum* a quantidade oferecida foi o suficiente para que as sobras fossem mantidas em torno 10 a 20% do ofertado. Uma mistura mineral comercial contendo, por kg: Ca: 100 g, P: 45 g, S: 4,12 g, Na: 205 g, Co: 25 mg, Cu: 450 mg, Fe: 1500 mg, I: 50 mg, Mn: 1000 mg, Se: 9 mg, Zn: 2520 mg e F: 450 mg, foi oferecida em cocho separado à vontade.

4.2.1.2 Medidas e observações

Para a medida do consumo e da digestibilidade total, foram quantificadas e coletadas amostras do alimento, fezes e sobras durante os últimos cinco dias de cada período experimental. Estas amostras foram pesadas e secas em estufa a 55° C até peso constante, moídas (peneira com porosidade de 1 mm) e armazenadas para posterior análise.

4.2.2 Ensaio 2

De janeiro a março de 2008 foi conduzido o experimento de digestibilidade utilizando Grama Paulista, também conhecida em alguns estados como Capim Estrela (*Cynodon dactylon* var. *dactylon*). O delineamento experimental foi um simples Quadrado Latino 4 x 4, utilizando 4 ovinos machos castrados fistulados no duodeno com peso vivo médio de 26 kg.

A forragem de *Cynodon* utilizada foi proveniente de uma pastagem perenizada em área pertencente ao laboratório, de cerca de 0,26 ha e também

recebeu 200kg/ha de nitrogênio (N) na forma de uréia distribuída ao longo da estação de crescimento. A variação na composição química da forragem durante os quatro períodos experimentais está apresentada na Figura 3. O manejo com os animais e os tratamentos decorreram da mesma forma que no Ensaio 1.

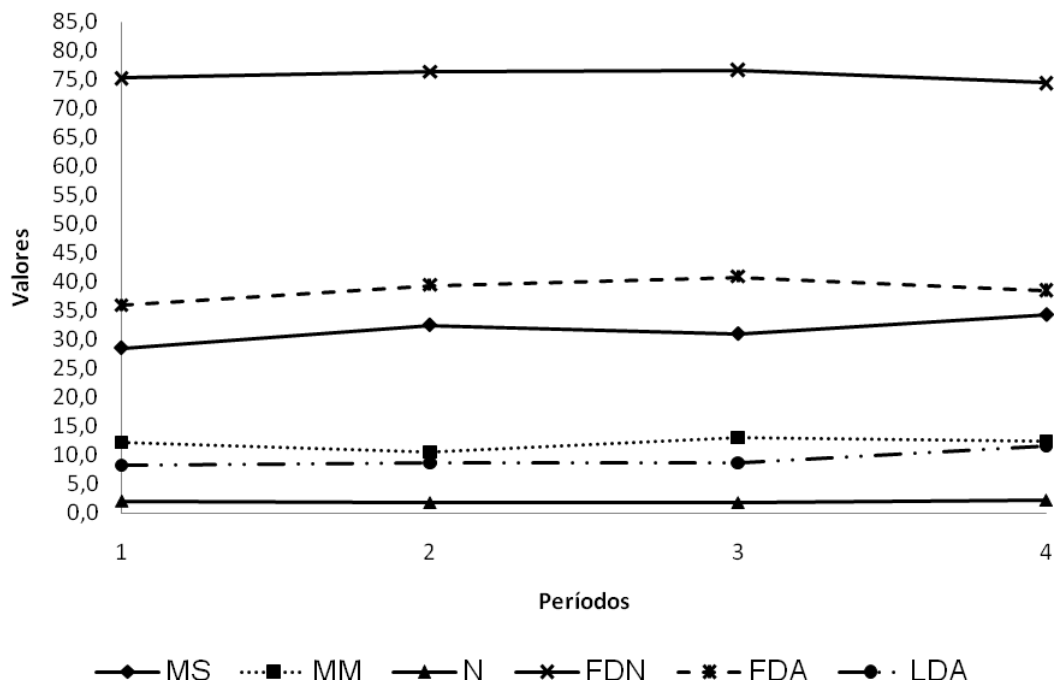


Figura 3 – Variação na composição química do Cynodon (*Cynodon dactylon* var. *dactylon*) – Ensaio 2 - nos quatro períodos experimentais. As frações estão expressas em % da MS.

4.2.3 Ensaio 3

O Ensaio 3 foi desenvolvido utilizando a mesma pastagem de *Cynodon* do Ensaio 2, sendo que o período de avaliação decorreu de fevereiro a abril de 2008. A variação na composição química da forragem é apresentada na Figura 4.

Para tanto utilizou-se 4 ovinos machos castrados não fistulados, com peso vivo médio de 26,5kg em um simples Quadrado Latino 4x4. O manejo com os animais ocorreu da mesma forma que nos ensaios anteriores exceto que os

tratamentos utilizados foram diferentes níveis de sobras em relação ao alimento consumido no dia anterior: 0%, 10%, 20% e 30% de sobras.

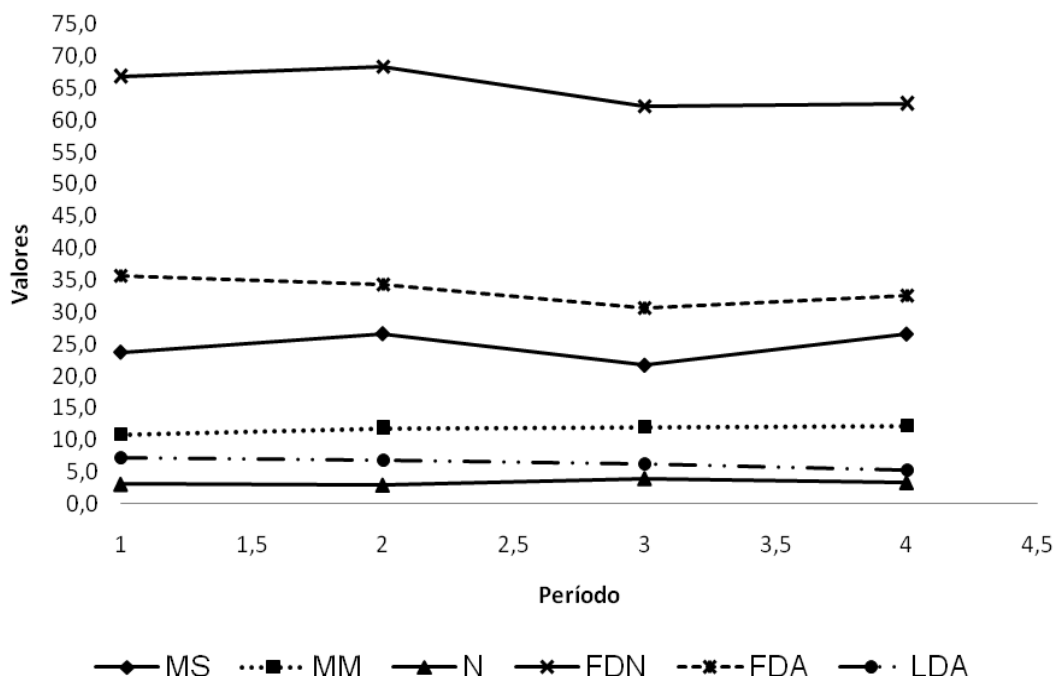


Figura 4 – Variação na composição química do Cynodon (*Cynodon dactylon* var. *dactylon*) – Ensaio 3 - nos quatro períodos experimentais. As frações estão expressas em % da MS.

4.2.4 Análises químicas

O teor de MS foi determinado por secagem à estufa a 105 °C durante pelo menos 16 h. O conteúdo de cinzas foi determinado por combustão a 600 °C durante 3 h. O nitrogênio total (N) total foi determinado pelo método Kjeldahl (Método 984.13, AOAC, 1997), modificado por Kozloski et al. (2003). A análise de concentração de fibra em detergente neutro (FDN) incluiu alfa-amilase, porém não inclui cinzas ou sulfito de sódio. Esta análise foi realizada conforme Mertens (2002) exceto que as amostras eram pesadas em sacos de poliéster e tratadas com detergente neutro em autoclave a 110° por 40 minutos (SENGER et al., 2008). A concentração de fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em detergente ácido (LDA) foram analisadas de

acordo com o Método 973.18 da AOAC (AOAC, 1997) exceto que as amostras eram pesadas em saquinhos de poliéster e tratados com detergente ácido em autoclave a 110° por 40 minutos (SENGER et al., 2008). Nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e N insolúvel em detergente neutro (NIDN) foram analisados de acordo com Licitra et al. (1996).

4.2.5 Cálculos e Análise estatística

Os resultados de consumo de matéria seca total (CMS) e matéria orgânica total (CMO) foram analisados por regressão em relação os dados de excreção fecal total de N, NIDN, FDA, FDAc, FDN e LDA. Foram utilizados dados de consumos absolutos ou relativizados com base no peso metabólico.

Os dados dos Ensaio 2 e 3 foram analisados conjuntamente.

As equações de regressão que apresentaram os coeficientes de determinação (R^2) mais altos foram utilizadas para calcular consumos estimados os quais foram comparados aos consumos observados através do teste “t” para dados pareados. O programa estatístico utilizado foi o SAS (2001).

4.3 Síntese microbiana ruminal

4.3.1 Estimativa da síntese de proteína microbiana utilizando purinas

Foram utilizados dados e amostras dos Ensaio 1 e 2 descritos anteriormente.

No 14º dia de cada período experimental foram coletadas, a intervalos de três horas amostras de digesta duodenal (aproximadamente 100 ml). Estas amostras foram compostas por animal e período e armazenadas em congelador. Posteriormente foram descongeladas em temperatura ambiente, retirada uma alíquota de aproximadamente 40ml que foi centrifugada (4000 x g por 20 minutos) e o sobrenadante foi congelado e armazenado para posterior análise. O restante da

amostra foi seca em estufa de ar forçado a 55°C, pesada e moída (peneira com porosidade de 1mm).

4.3.1.1 Isolamento e análise química de bactérias ruminais

A fim de identificar a relação Purinas:Nmicrobiano foi realizado o isolamento de bactérias ruminais. Para tal, utilizou-se um bovino fistulado ruminalmente alimentado com forragem verde semelhante à utilizada nos Ensaio 2 e 3. Foi retirado cerca de 5 litros de conteúdo ruminal, o qual foi filtrado em gaze e o líquido separado foi armazenado. O conteúdo sólido foi lavado em solução salina gelada (0,9%) e filtrado novamente. As duas partes líquidas foram então compostas e submetidas primeiramente a uma centrifugação baixa por 30 minutos a 500 x g. Esta centrifugação teve por objetivo separar contaminantes como protozoários e partículas pequenas do alimento que podem ter escapado à filtração.

O sobrenadante foi coletado e submetido a diversas centrifugações (4000 x g por 30 minutos), descartando-se desta vez o sobrenadante e ressuspensão-se o pellet em solução salina (0,9%). As centrifugações ocorreram até que o sobrenadante tornou-se límpido. O pellet resultante destas centrifugações assumiu-se representar apenas bactérias ruminais isoladas.

A amostra de bactérias foi então seca em estufa a ar forçado por 72 horas a 55°C, moída em Gral e armazenada para posterior análise.

4.3.1.2 Análises químicas

As análises convencionais foram às mesmas descritas anteriormente.

O teor de purinas foi quantificado nas amostras de digesta duodenal segundo Makkar; Becker (1999).

A técnica foi realizada como descrito a seguir:

Para o a confecção do padrão foram utilizadas 25mg de adenina e 25mg de guanina que passaram pelos mesmos processos das amostras de duodeno (descrito abaixo).

Amostras duodenais: 200mg do resíduo seco da amostra duodenal foi pesada e colocada em tubo de 25ml com tampa de rosca (com borracha para vedação).

Foi adicionado 2,5 ml de HClO_4 (2M) e a amostra foi então submetida a banho-maria por 1 hora a 90 – 95°C, agitando-se periodicamente.

Após este processo, foi adicionado 7,5 ml $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (28,5mM). A amostra foi novamente submetida a banho-maria, desta vez por 15 minutos a 90 – 95°C.

A amostra foi então centrifugada 4000 x g por 20 minutos. O sobrenadante foi coletado. Uma alíquota de 0,25ml do sobrenadante foi retirada e adicionado a ela 4,5ml 0,2M de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, misturado vigorosamente e adicionado 0,25ml de AgNO_3 0,4 M. A amostra foi mantida a 4°C por um período de 12 horas.

Após este período a amostra foi novamente centrifugada (4000 x g por 20 minutos) descartando-se o sobrenadante. Adicionou-se água destilada (4,5ml) com o pH ajustado para 2,0 (com H_2SO_4). Após este processo, a amostra foi novamente submetida à centrifugação a 4000xg por 20 minutos.

O sobrenadante foi descartado novamente e o pellet foi ressuscitado em 5ml de HCl 0,5M. Agitou-se vigorosamente e submeteu-se a amostra novamente em banho maria 90 – 95°C por 30 minutos (desta vez coberta com condensadores). Houve nova centrifugação por 4000 x g por 20 minutos e absorbância foi lida a 260 nm contra 0,5M HCl (branco).

4.3.1.3 Estimativa de fluxo duodenal de N microbiano

O fluxo de MS no duodeno foi calculado com base na excreção fecal e na concentração duodenal de FDA da seguinte forma:

$$\text{MS duodenal (g/dia)} = \text{Excreção fecal (g/dia)} \times \text{FDA fecal (\%)} / \text{FDA duodenal (\%)}$$

A concentração de Nitrogênio microbiano (Nm) representou a concentração de purinas (mg/g de MS) multiplicada pela relação Purinas:N das bactérias isoladas

no rúmen. O fluxo de Nm foi estimado pela concentração de Nm (g/g de MS) x Fluxo de MS duodenal (g/dia).

4.3.2 Estimativa de síntese de nitrogênio microbiano pelos derivados de purinas

Foram utilizados dados e amostras dos Ensaios 1 e 2.

Foi realizada a coleta total de urina diariamente durante os cinco últimos dias de cada período experimental, em recipientes contendo 100 ml de uma solução de H₂SO₄ a 20%. Este volume de ácido foi definido como sendo o necessário para manter o pH da urina a valores abaixo de 2. Foi mensurada a produção total de urina e retirada uma amostra de 1% do total, a qual foi transferida para um balão de 100ml, completado com água destilada e armazenado em congelador para posterior análise.

4.3.2.1 Análises químicas

Nas amostras de urina, o N total foi determinado como descrito anteriormente. As concentrações de alantoína e ácido úrico foram determinadas colorimetricamente de acordo com Chen; Gomes (1992). O ácido úrico foi determinado usando um Kit comercial (LABTEST, Lagoa Santa, MG, Brasil), após xantina e hipoxantina serem convertidas a ácido úrico com xantina oxidase. Assim, os teores de ácido úrico foram calculados como a soma de ácido úrico, xantina e hipoxantina (convertidas a ácido úrico) e, os derivados de purinas totais (DP) como a soma do ácido úrico e alantoína.

4.3.2.2 Cálculos

O fluxo de nitrogênio microbiano no intestino delgado foi estimado com base na excreção urinária dos derivados de purinas (DP), conforme Chen; Gomes (1992). A quantidade de purinas absorvidas (X, mmol/dia) correspondeu à quantidade de DP excretada (Y, mmol/dia, considerando 158 mg/mmol de alantoína e 168 mg/mmol de ácido úrico), onde:

$$Y=0,84X + (0,150 PV^{0,75}e^{-0,25X})$$

O cálculo de X baseado no valor de Y foi feito usando o processo iterativo de Newton-Raphson:

$$X_{(n+1)} = X_n - (((0,84X + (0,150 PV^{0,75}e^{-0,25X})) - Y)/(0,84 - (0,038 PV^{0,75}e^{-0,25X})))$$

O N microbiano (Nm) foi estimado como proposto por Chen e Gomes (1992):

$$Nm \text{ (g/dia)} = 70X/(0,116 \times 0,83 \times 1000) = 0,727X$$

Onde X e Y representam, respectivamente, a absorção de purinas e excreção de DP assumindo que a digestibilidade das purinas microbianas é 0,83. O conteúdo de N nas purinas foi considerado ser 70 mg/mmol e a proporção de N purina:N microbiano foi considerado ser 0,116.

Adicionalmente, o fluxo de Nm foi calculado utilizando a mesma equação acima, exceto que a proporção N purina:N microbiano utilizada foi à obtida pelo isolamento das bactérias ruminais no presente estudo.

4.3.2.3 Análise Estatística

Os dados de síntese microbiana estimados pelas purinas ou pelos derivados de purinas foram analisados por regressão e também comparados pelo teste “t” para dados pareados. Utilizou-se o programa estatístico SAS (2001).

5 RESULTADOS

5.1 Uso de índices fecais para estimar o consumo

5.1.1 Ensaio 1 (Azevém)

A Tabela 1 apresenta algumas das equações de regressão relacionando consumo com índices fecais selecionados com base na significância estatística e nos mais elevados coeficientes de determinação (R^2) bem como, quando utilizadas para o cálculo de consumo estimado e comparado pelo teste “t” para dados pareados, não diferiram dos consumos observados (dados apresentados na Tabela 2). As equações de regressão que utilizaram variáveis expressas em relação ao peso metabólico pioraram o R^2 e não foram apresentadas nas tabelas. A excreção de NIDN, LDA e FDN apresentaram menores R^2 em comparação com os outros índices fecais e não foram incluídas na tabela.

Assumindo que o CMO é mais relevante nutricionalmente que o CMS, nas Figuras 5, 6, 7 e 8 estão apresentadas graficamente as relações entre os CMO observados e estimados utilizando as equações apresentadas na Tabela 1.

Nestas figuras são apresentadas duas equações e duas linhas. Uma das equações (linha cheia) expressa o grau de precisão das estimativas, enquanto que a outra (linha tracejada) foi forçada à origem e expressa o grau de desvio médio das estimativas. Com base na equação em que a intercepta é forçada a origem, observa-se que em geral os consumos individuais apresentaram um desvio médio de somente 2 a 5%.

Há relação altamente significativa ($p < 0,0001$) entre os consumos observados e estimados através de quaisquer dos índices fecais utilizados. Dentre os CMO estimados utilizando os diferentes componentes químicos fecais, os consumos estimados utilizando NF são os que possuem os maiores desvios sendo que estimam 105,7 g/dia para mais ou para menos os consumos reais observados,

seguido pelos consumos estimados utilizando FDA ($\pm 85,78\text{g/dia}$) e NF e FDAc (desvio de $\pm 75,92\text{g/dia}$). O menor desvio nas estimativas de consumo se alcançou quando foi utilizado o NF e FDA ($\pm 74,6 \text{ g/dia}$).

Tabela 1 – Relação entre consumo de matéria seca (CMS) ou matéria orgânica (CMO) de azevém (variável dependente) e excreção de índices fecais* (variável independente) em ovinos

Variável dependente (g/dia)	Variável independente (g/dia)		N°	Equação	R ²	P	DP**
CMS	NF		1	$158,46176 + 130,65122 * \text{NF}$	0,7213	<0,0001	113,48
CMO	NF		2	$135,2558 + 113,22894 * \text{NF}$	0,6912	<0,0001	105,77
CMS	FDA		3	$145,40734 + 7,42123 * \text{FDA}$	0,7845	<0,0001	99,80
CMO	FDA		4	$114,7335 + 6,62182 * \text{FDA}$	0,7968	<0,0001	85,79
CMS	NF	FDA	5	$107,12793 + 62,84293 * \text{NF} + 4,77203 * \text{FDA}$	0,8514	<0,0001	84,29
CMO	NF	FDA	6	$85,66446 + 47,72235 * \text{NF} + 4,61005 * \text{FDA}$	0,8460	<0,0001	75,96
CMS	NF	FDAc	7	$105,46967 + 96,17758 * \text{NF} + 3,81798 * \text{FDAc}$	0,8454	<0,0001	85,96
CMO	NF	FDAc	8	$83,79868 + 79,75386 * \text{NF} + 3,70739 * \text{FDAc}$	0,8405	<0,0001	77,32

*CMS=consumo de matéria seca, CMO= consumo de matéria orgânica, NF= nitrogênio fecal, FDA= fibra insolúvel em detergente ácido, FDAc= fibra insolúvel em detergente ácido livre de cinzas.

**Desvio padrão da regressão sendo n = 32.

Tabela 2 – Diferença entre os valores de CMS e CMO observados ou estimados pelas equações de regressão e comparados pelo teste “t” para dados pareados

Variável	Valor Médio (g/dia)	Índice fecal*	Equação**	Diferença entre as média	DP***	P****
CMS	505	NF	1	0,1563	101,6	0,9937
CMO	435	NF	2	0,0625	104	0,9973
CMS	505	FDA	3	-0.063	98,1	0,9971
CMO	435	FDA	4	-0.063	84,4	0,9967
CMS	505	NF e FDA	5	0	81,5	1,0000
CMO	435	NF e FDA	6	0	73,4	1,0000
CMS	505	NF e FDAc	7	0,125	83,1	0,9933
CMO	435	NF e FDAc	8	-0.063	74,7	0,9963

*NF= nitrogênio fecal, FDA= fibra insolúvel em detergente ácido, FDAc= fibra insolúvel em detergente ácido livre de cinzas. **Ver tabela 1. ***Desvio Padrão das diferenças entre os valores observados e estimados, sendo n=32. ****Probabilidade pelo teste “t” para dados pareados.

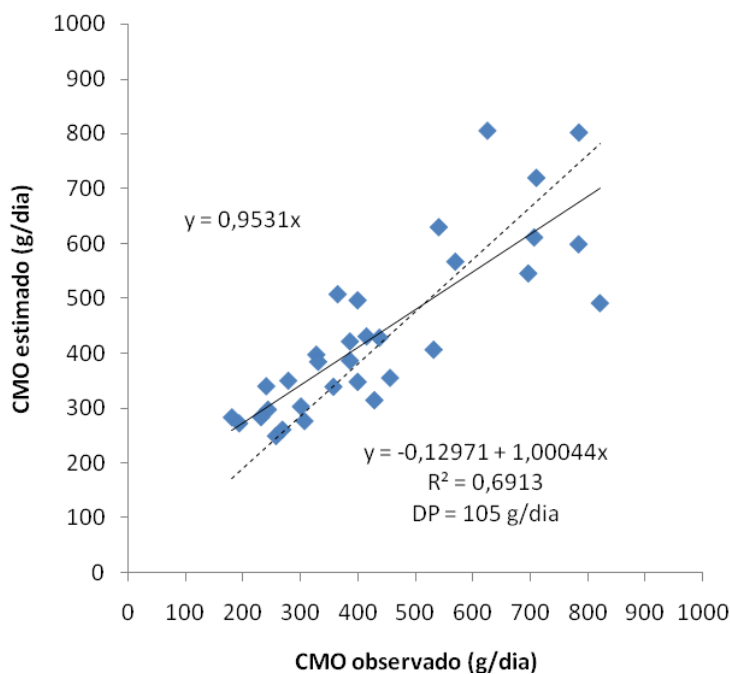


Figura 5 - Relação entre consumo de matéria orgânica (CMO) observado e CMO estimada pela equação linear utilizando nitrogênio (NF) como índice fecal (equação n° 2 da Tabela 1). A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

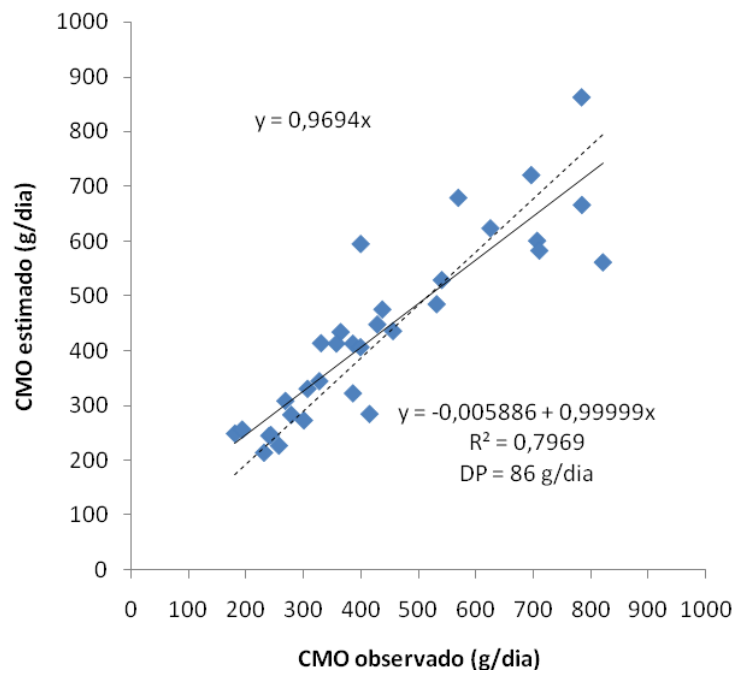


Figura 6 - Relação entre consumo de matéria orgânica (CMO) observado e CMO estimada pela equação linear utilizando a fibra em detergente ácido (FDA) como índice fecal (equação n°4 da Tabela 1). A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

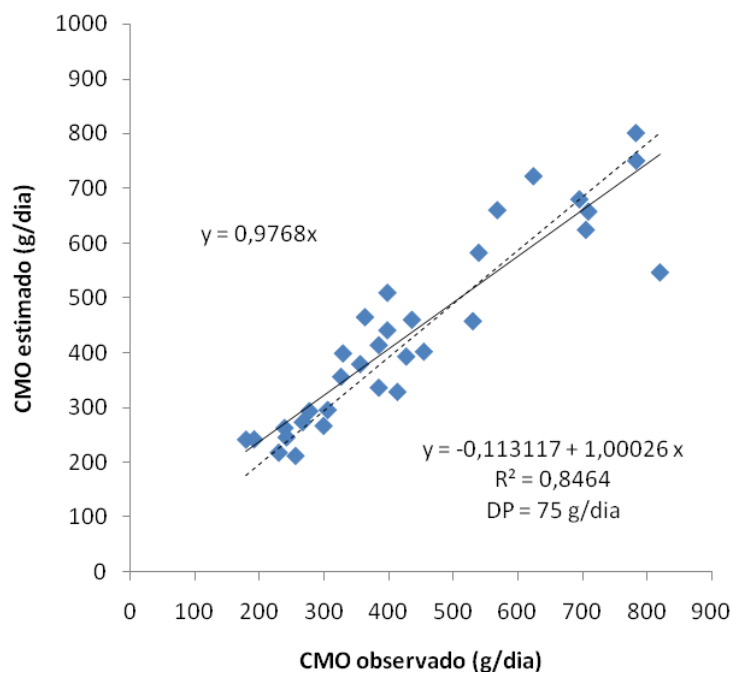


Figura 7 - Relação entre consumo de matéria orgânica observada (CMO) e CMO estimada pela equação linear múltipla utilizando nitrogênio fecal (NF) e fibra em detergente ácido (FDA) como índice fecal (equação n°6 da Tabela 1). O traço pontilhado representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

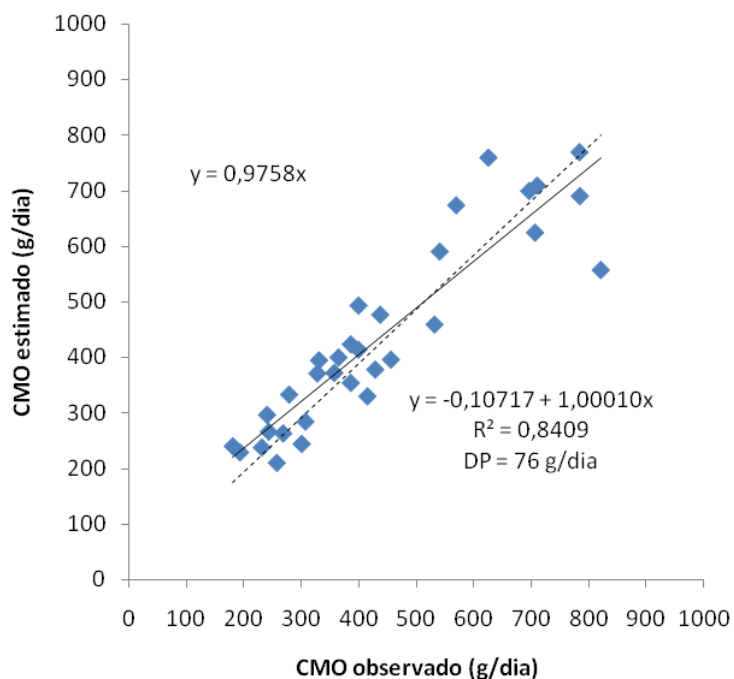


Figura 8 – Relação entre consumo de matéria orgânica observada (CMO) e CMO estimada pela equação linear múltipla utilizando o nitrogênio fecal (NF) e a fibra em detergente ácido livre de cinzas (FDAC) (equação n°8 da Tabela 1). A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

5.1.2 Ensaio 2 e Ensaio 3 (*Cynodon*)

As equações de regressão que apresentaram os melhores coeficientes de correlação bem como, quando analisadas pelo teste “t” para dados pareados não apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) com os consumos observados estão apresentadas nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. Da mesma forma que o ocorrido no Ensaio 1, às variáveis expressas em relação ao peso metabólico pioraram o coeficiente de correlação (R^2). Em geral, os R^2 foram mais baixos em comparação ao Ensaio 1.

Tabela 3 - Relação entre consumo de matéria seca (CMS) ou matéria orgânica (CMO) (variável dependente) e excreção de índices fecais* (variável independente) em ovinos alimentados com Cynodon (Ensaio 2 e 3)

Variável dependente (g/dia)	Variável independente (g/dia)	N°	Equação	R ²	P	DP**	
CMS	NF	1	$268,48632 + 91,39193 * NF$	0,5278	<0,0001	127,2	
CMO	NF	2	$239,25557 + 80,89822 * NF$	0,5156	<0,0001	115,4	
CMS	NF	FDA	3	$178,85997 + 64,49631 * NF + 1,73385 * FDA$	0,5641	<0,0001	124,4
CMO	NF	FDA	4	$156,99786 + 56,21383 * NF + 1,5913 * FDA$	0,5536	<0,0001	112,7
CMS	NF	FDN	5	$188,8709 + 67,56365 * NF + 0,96086 * FDN$	0,5296	<0,0001	125
CMO	NF	FDN	6	$167,34324 + 59,37539 * NF + 0,8679 * FDN$	0,5460	<0,0001	113,4

*CMS=consumo de matéria seca, CMO= consumo de matéria orgânica, NF= nitrogênio fecal, FDA= fibra insolúvel em detergente ácido, FDN=fibra insolúvel em detergente neutro. **Desvio padrão da regressão sendo n = 32.

Os valores de CMS e CMO observados ou estimados pelas equações da Tabela 3 a partir de indicadores fecais não diferiram pela análise estatística “t” para dados pareados.

Nas Figuras 9, 10 e 11 são apresentadas graficamente as equações de regressão entre os CMO estimados e observados. As linhas tracejadas representam a equação de regressão forçada à origem a fim de demonstrar o grau de desvio médio das estimativas de consumo. Em geral os consumos estimados obtiveram um grau de desvio médio de 4% em relação aos consumos observados.

Há relação altamente significativa ($p < 0,0001$) entre os consumos observados e estimados através de quaisquer dos índices fecais utilizados. Dentre os CMO estimados utilizando os diferentes componentes químicos fecais, os consumos estimados utilizando NF são os que possuem os maiores desvios sendo que estimam 115,4 g/dia para mais ou para menos os consumos reais observados seguido pelos consumos estimados utilizando NF e FDA ($\pm 110,7$ g/dia). O menor desvio nas estimativas de consumo se alcançou quando foi utilizado o NF e FDN ($\pm 111,5$ g/dia).

Tabela 4 - Diferença dos valores de CMS e CMO observados e calculados pelas equações de regressão e comparados pelo teste “t” para dados pareados

Variável	Valor médio	Índice fecal*	Diferença entre as médias	Equação**	DP***	P****
CMS	606	NF	0,063	1	125,1	0,9978
CMO	534	NF	0,0625	2	113,5	0,9975
CMS	606	NF e FDA	0,031	3	120,2	0,9988
CMO	534	NF e FDA	0,094	4	108,9	0,9961
CMS	606	NF e FDN	0,125	5	120,8	0,9954
CMO	534	NF e FDN	0,031	6	109,7	0,9978

*FDA= fibra insolúvel em detergente ácido, FDN= fibra insolúvel em detergente neutro, NF= nitrogênio fecal. **Ver tabela 1. ***Desvio Padrão das diferenças entre os valores observados e estimados, sendo n=32. ****Probabilidade pelo teste “t” para dados pareados.

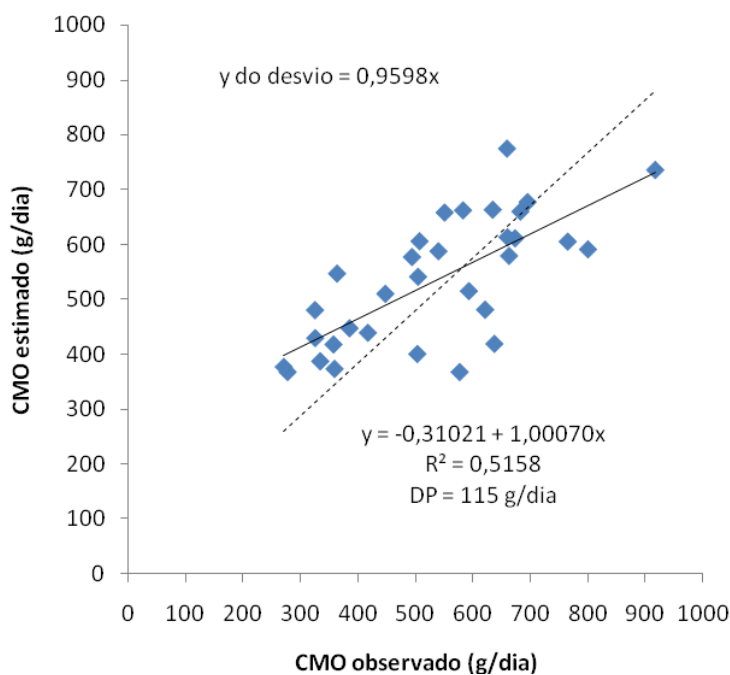


Figura 9 – Relação entre consumo de matéria orgânica observada (CMO) e CMO estimada pela equação linear múltipla utilizando o nitrogênio fecal (NF). A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

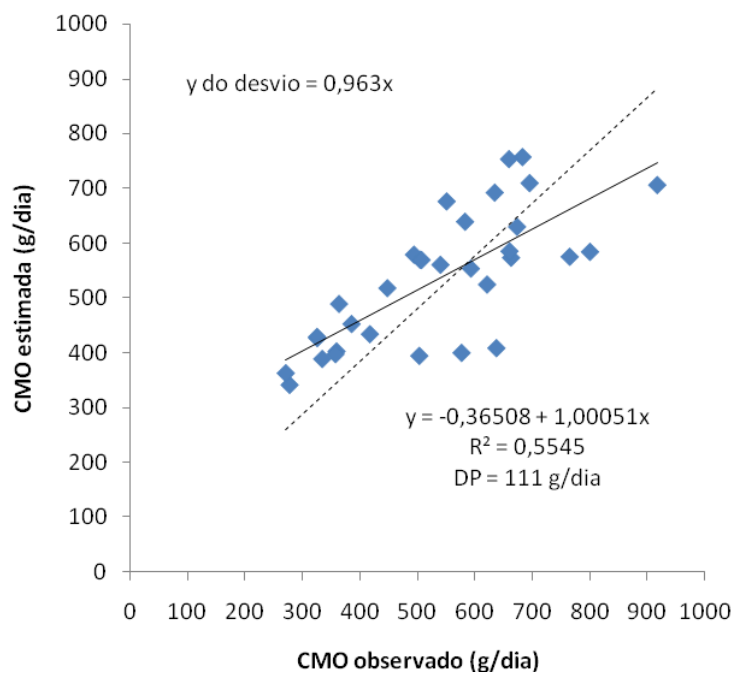


Figura 10 – Relação entre consumo de matéria orgânica observada (CMO) e CMO estimada pela equação linear múltipla utilizando o nitrogênio fecal (NF) e a fibra em detergente ácido (FDA) como índice fecal. A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

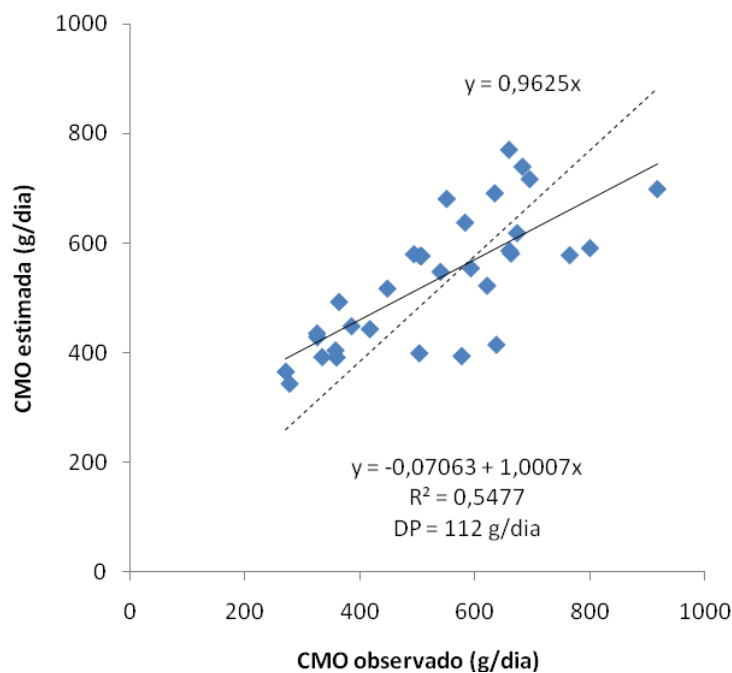


Figura 11 – Relação entre consumo de matéria orgânica observada (CMO) e CMO estimada pela equação linear múltipla utilizando o nitrogênio fecal (NF) e a fibra em detergente neutro (FDN) como índice fecal. A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

5.2 Síntese de Proteína microbiana

A composição química das bactérias ruminais estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5 – Composição química das bactérias ruminais isoladas*

Componente	% MS
MO	78,14
N	9,51
Purinas	1,56
N purinas**	0,77

* MO= matéria orgânica, N= nitrogênio

** 49% de N nas purinas

Os valores de síntese microbiana estimadas pelas purinas ou pelos derivados de purinas diferiram significativamente ($P < 0,001$) nos dois ensaios (Tabela 6).

Tabela 6 – Diferença dos valores de síntese microbiana ruminal (g/dia) estimados pelo método de purinas ou derivados de purinas comparados pelo teste “t” para dados pareados dos Ensaio 1 e 2

Purinas - Derivados	Médias (g/dia)	Diferença entre as médias	DP*	P**
Ensaio 1 (Azevém)	9,39 - 6,59	2,7987	3,3273	<0,0001
Ensaio 2 (<i>Cynodon</i>)	4,6 – 3,7	0,8443	1,0469	0,0099

*Desvio Padrão das diferenças entre os valores de síntese de nitrogênio microbiano estimados pelas purinas ou derivados de purinas, sendo n=32 no Ensaio 1 e n=16 no Ensaio 2. **Probabilidade pelo teste “t” para dados pareados.

Os valores estimados pelas purinas ou pelos derivados de purinas de ambos os ensaios quando analisados por regressão, geraram equações altamente significativas ($P < 0,0001$) e estão demonstradas graficamente nas Figuras 12 e 13. As equações também foram forçadas a passar pela origem a fim de demonstrar o grau de desvio entre as médias (linha tracejada).

Pode-se observar que o desvio médio das estimativas de síntese microbiana ruminal no Ensaio 1 foi em torno de 29% e em torno de 23% no Ensaio 2. A Figura 14, mostra que há relação altamente significativa ($P < 0,0001$) entre a digestibilidade ruminal do nitrogênio (DRN) estimada pelas purinas ou pelos derivados de purinas. No entanto, a DRN no Ensaio 1 estimada pelas purinas é muito superior à estimada pelos derivados. Por exemplo, enquanto pelas purinas a DRN varia em torno de 50% quando calculada pelos derivados reduz-se a valores próximos a 0%. Além disso o desvio médio das estimativas foi em torno de 13%.

No Ensaio 2, utilizando o *Cynodon*, também houve relação altamente significativa entre a DRN estimada pelos dois métodos ($P < 0,001$). Já o desvio das estimativas foi em torno de 12% (Figura 15).

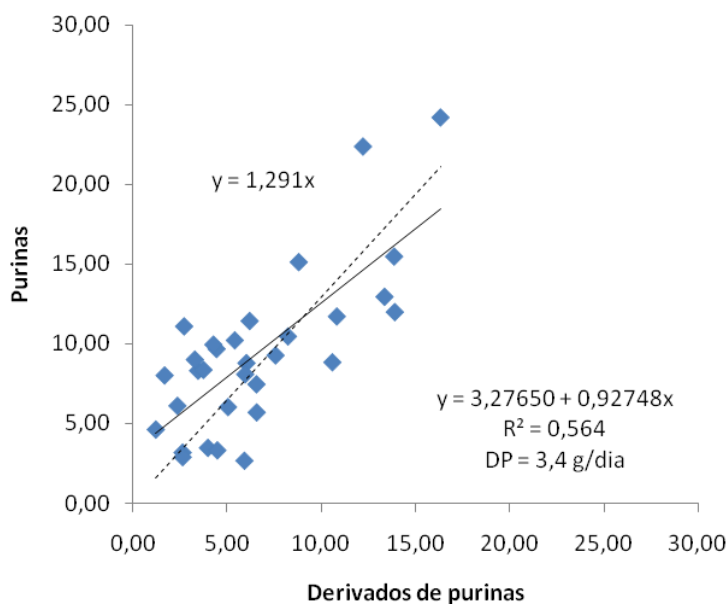


Figura 12 – Relação entre síntese de nitrogênio microbiano (Nm) (g/dia) estimado pelas purinas duodenais ou pela excreção de derivados de purina na urina em animais recebendo Azevém (Ensaio 1). A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

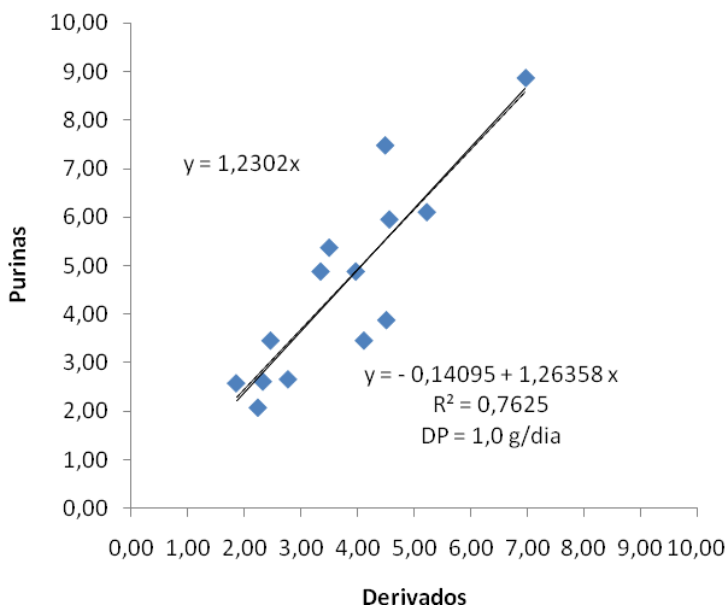


Figura 13 – Relação entre síntese de nitrogênio microbiano (Nm) (g/dia) estimado pelas purinas duodenais ou pela excreção de derivados de purina na urina em animais recebendo Cynodon (Ensaio 2). A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

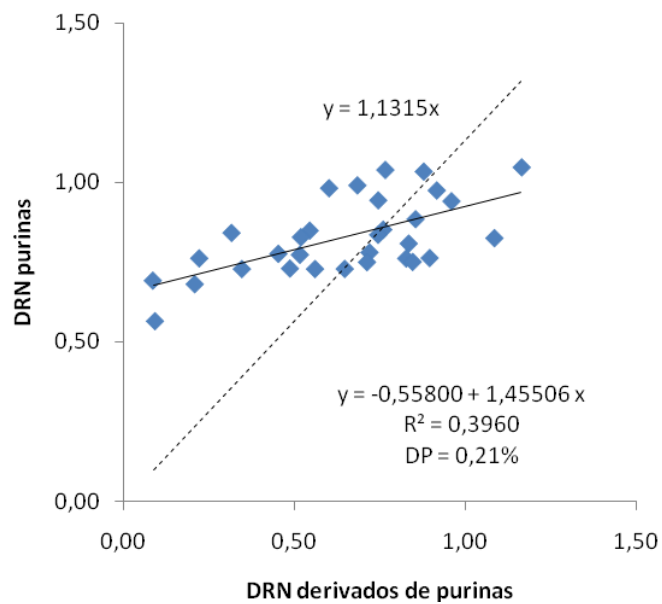


Figura 14 – Relação entre Digestibilidade Ruminal do Nitrogênio estimado pelos Derivados de purinas ou Purinas no Ensaio 1 (Azevém). A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

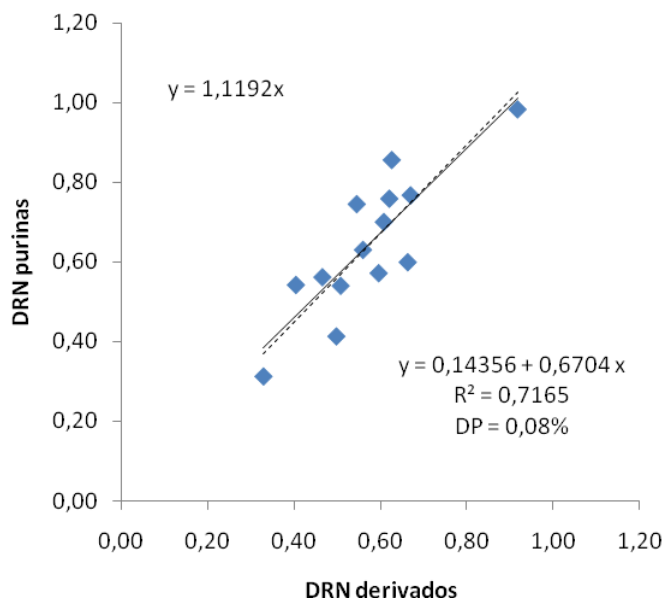


Figura 15 – Relação entre Digestibilidade Ruminal do Nitrogênio estimado pelos Derivados de purinas ou Purinas no Ensaio 2 (Cynodon). A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

Nas Figuras 16 e 17, estão demonstradas graficamente as relações entre consumo de matéria orgânica digestível (CMOD) e a síntese de nitrogênio microbiano estimado pelas purinas ou pelos derivados de purinas. Há relação altamente significativa ($P < 0,0001$) entre CMOD e síntese de nitrogênio microbiano ruminal. Porém devido à grande variabilidade nos dados houve como resultado um baixo coeficiente de determinação das relações em ambos os Ensaios, com exceção da síntese estimada pelos derivados de purinas no Ensaio 1 (Azevém). Em ambos os Ensaios 1 e 2, as estimativas de síntese utilizando purinas foram superiores em relação àquelas que utilizaram derivados de purinas.

A eficiência na síntese (ou seja g Nm/kg de MOD consumida) foi de aproximadamente 24 e 22 gNm/kg de MOD no Ensaio 1, utilizando purinas e derivados, respectivamente. Já no Ensaio 2 a eficiência de síntese foi de aproximadamente 13 e 9 gNm/kg de MOD para purinas e derivados, respectivamente.

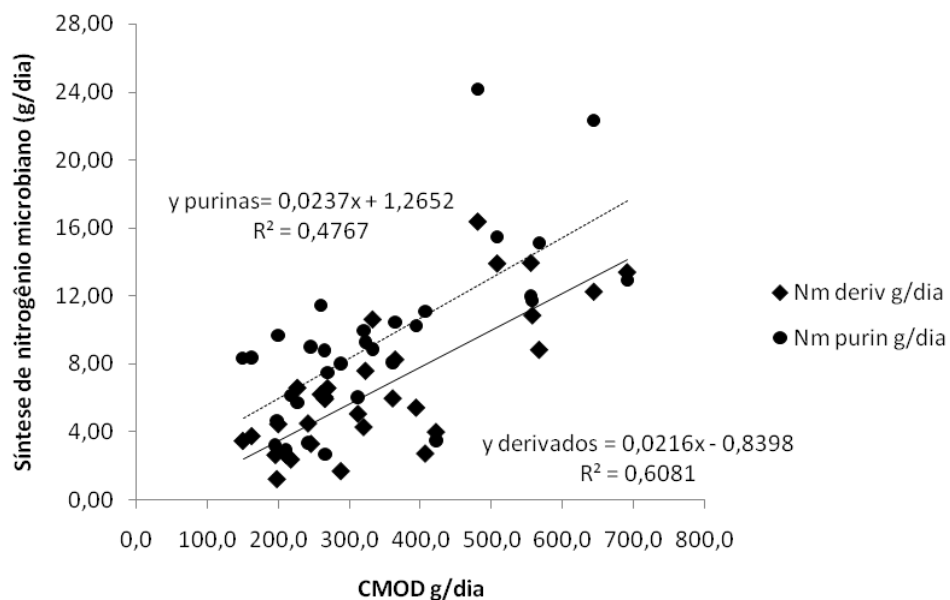


Figura 16 – Relação entre Consumo de matéria orgânica digestível (em g/dia) e síntese de nitrogênio microbiano (g/dia) estimado pelas purinas ou derivados de purinas no Ensaio 1.

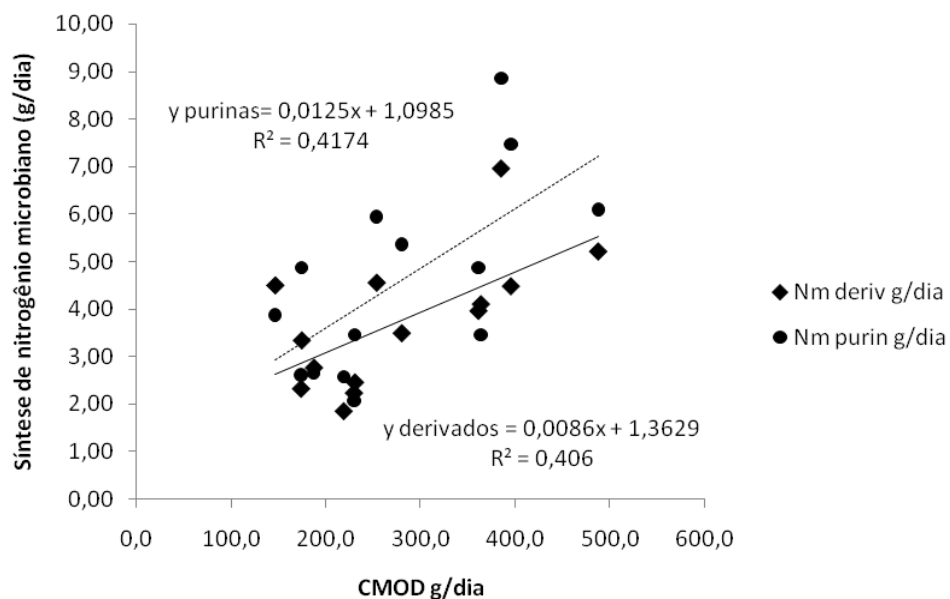


Figura 17 – Relação entre Consumo de matéria orgânica digestível (em g/dia) e síntese de nitrogênio microbiano estimado pelas purinas ou derivados de purinas no Ensaio 2.

O cálculo da síntese microbiana utilizando a equação de Chen; Gomes (1992) é baseada em três pressupostos: o conteúdo de N nas purinas é 70mg/mmol; a digestibilidade intestinal das purinas é 0,83 e a proporção N purinas:N microbiano é

0,116. Esta relação, porém, como observado pelo isolamento das bactérias ruminais no presente experimento, não é a mesma em todas as situações. No presente experimento a relação Npurinas:Nmicrobiano encontrada foi de 0,08. Quando substituímos este valor na equação proposta por Chen; Gomes (1992), o fator de cálculo utilizado aumenta de 0,727 para 1,054.

Utilizando-se deste novo fator de cálculo, foram recalculados os valores de síntese microbiana ruminal estimada pelos derivados de purinas, os quais também foram comparados com os estimados pelas purinas em ambos ensaios (Figura 18 e 19, respectivamente). Há relação altamente significativa ($P < 0,001$) entre as estimativas pelos dois métodos. No Ensaio 1, o desvio médio das estimativas pelas purinas em relação aos derivados foi em torno de 11% e, no Ensaio 2, de 15%. Estes desvios são bem menores quando comparados aos obtidos na primeira análise.

Nas Figuras 20 e 21 está representada a relação entre CMOD e síntese de nitrogênio microbiano (Snm) estimado por purinas ou derivados em ambos os Ensaios 1 e 2. Há relação altamente significativa ($P < 0,001$) entre Snm e CMOD no Ensaio 1. A eficiência na síntese, ou seja, aumento na Snm por kg de MOD consumida neste ensaio foi de 24 gNm/kg de MOD consumida quando estimada pelas purinas e 31 gNm/kg de MOD consumida quando estimada pelos derivados. Já a superioridade nas estimativas de Snm utilizando as purinas indicada na primeira análise não se mantiveram.

No Ensaio 2, a relação entre CMOD e Snm também foi significativa ($P < 0,0134$ e $P < 0,0125$) e a eficiência na síntese estimada pelas purinas ou derivados foi semelhante (13 e 12 gNm/kg de MOD consumida respectivamente). Neste ensaio as estimativas de síntese permaneceram superiores quando utilizadas as purinas em relação aos derivados, como indicado na primeira análise.

Em ambos os ensaios, a eficiência na Snm estimada pelos derivados aumentou em relação à primeira análise que utilizava a relação Npurinas:Nmicrobiano de 0,1116. No Ensaio 1 passou de 22 para 31 gNm/kg de MOD e no Ensaio 2 de 9 para 12 gNm/kg de MOD.

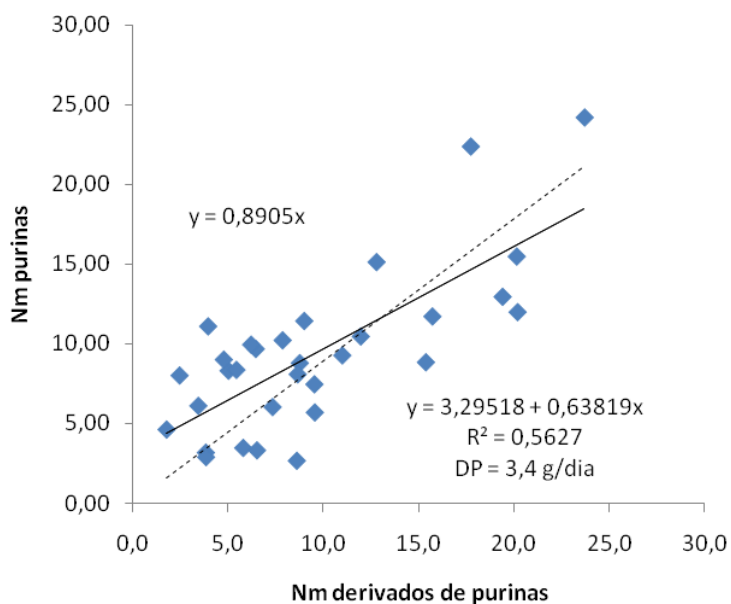


Figura 18 – Relação entre síntese de nitrogênio microbiano (Nm) (g/dia) estimado pelas purinas duodenais ou pela excreção de derivados de purina na urina em animais recebendo Azevém (Ensaio 1). A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

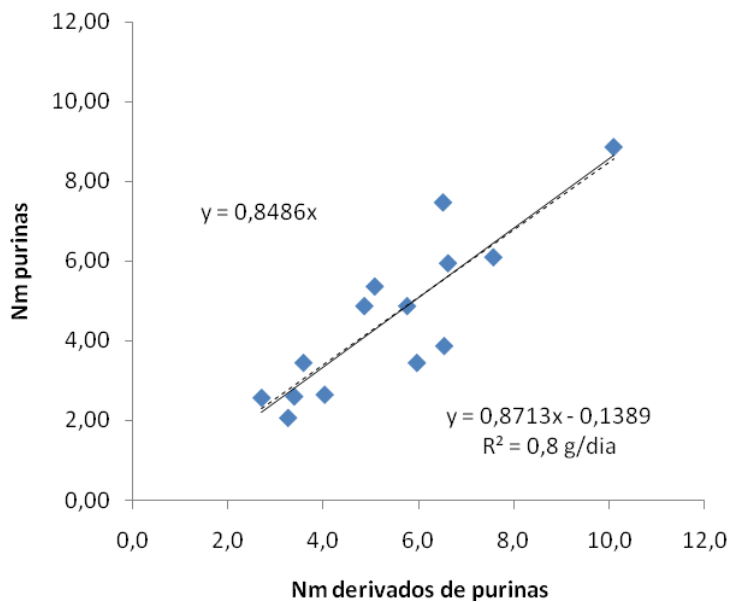


Figura 19 – Relação entre síntese de nitrogênio microbiano (Nm) (g/dia) estimado pelas purinas duodenais ou pela excreção de derivados de purina na urina em animais recebendo Cynodon (Ensaio 2). A linha tracejada representa o resultado da regressão cuja intercepta foi forçada à origem.

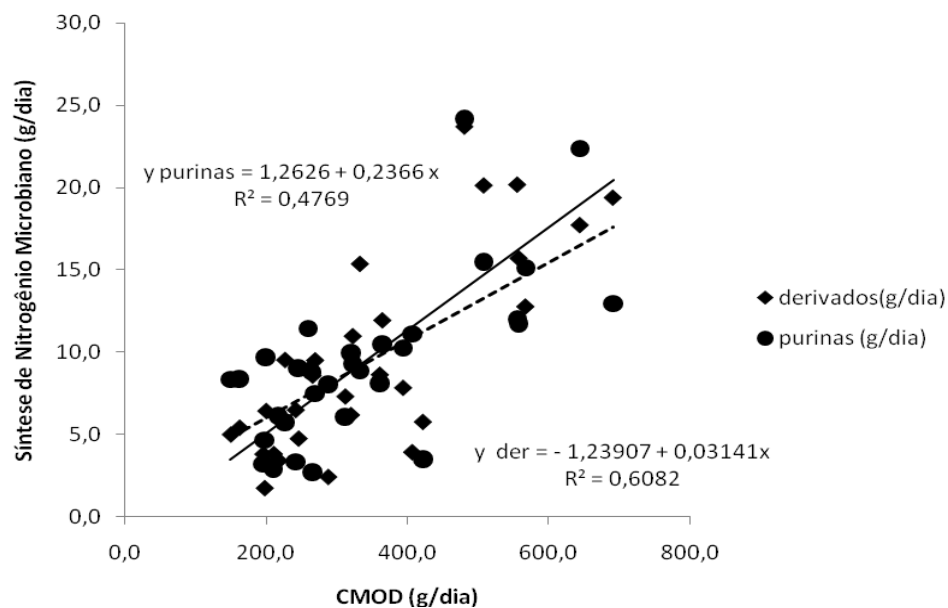


Figura 20 – Relação entre Consumo de matéria orgânica digestível (em g/dia) e síntese de nitrogênio microbiano (g/dia) estimado pelas purinas ou derivados de purinas no Ensaio 1.

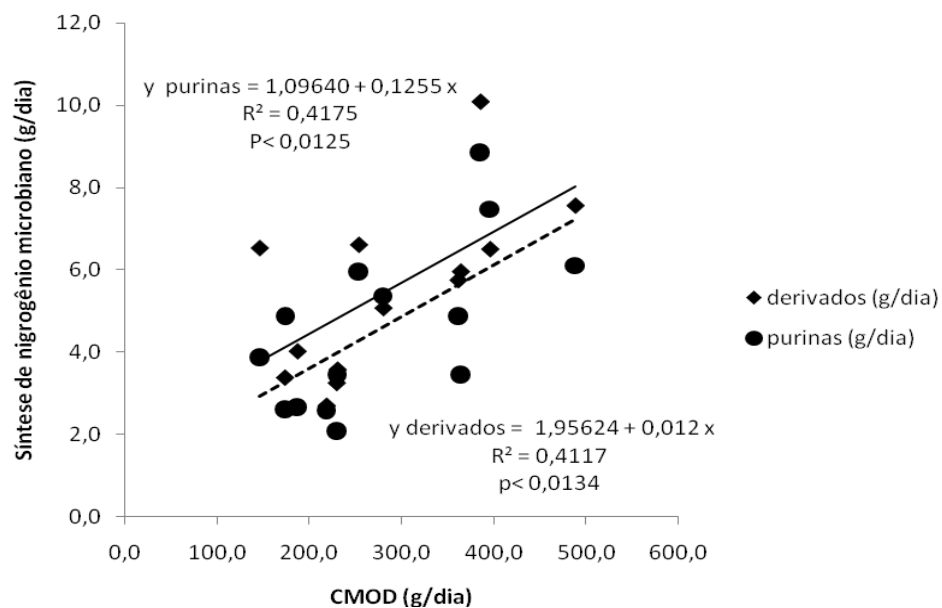


Figura 21 – Relação entre Consumo de matéria orgânica digestível (em g/dia) e síntese de nitrogênio microbiano estimado pelas purinas ou derivados de purinas no Ensaio 2.

6 DISCUSSÃO

6.1 Índices fecais

Segundo Holloway et al., (1981), os componentes fecais podem ser divididos em três categorias: 1ª componentes químicos que são pelo menos parcialmente de origem endógena, por exemplo o N e cinzas; 2ª consiste na maior parte de componentes insolúveis de origem exógena, por exemplo FDA e LDA e 3ª componentes que não podem ser definidos, por exemplo hemicelulose e sódio. Componentes fecais que são relacionados à digestibilidade da MS também são frequentemente relacionados a consumo de MS. A exceção são cinzas e constituintes da parede celular que foram relacionados com digestibilidade, porém não com consumo. Sendo assim, componentes químicos que possuem relação com digestibilidade provavelmente terão relação com consumo.

A relação do N com digestibilidade tem sido relatada por diversos pesquisadores, por exemplo, Boval et al., (2000) encontraram maiores coeficientes de correlação utilizando N, FDA ou ambos conjugados. Estes mesmos autores relatam que o conteúdo de LDA das fezes foi pobremente relacionado com digestibilidade. Já em estudo realizado por Boval et al. (2003), os autores concluíram que os modelos preditivos de DMO utilizando FDN ou FDA não eram significativos. Já a PB, apresentava alta relação com baixos desvios.

A relação entre concentração de PB na MO das fezes e digestibilidade da matéria orgânica é baseada no fato que à medida que diminui a MO e aumenta a excreção de PB microbiana ruminal nas fezes, a digestibilidade da MO aumenta; entretanto outros fatores que não a digestibilidade da MO podem afetar a concentração de PB nas fezes. A PB das fezes é formada pela PB microbiana não digerida, PB endógena e microorganismos sintetizados no Intestino Grosso. O valor de proteína endógena nas fezes formado pelos resíduos indigeridos, secreções enzimáticas e descamação dos tecidos varia e esta variação se assume ser constante por unidade de consumo de matéria seca (Lukas et al., 2005).

As críticas em relação ao método que relaciona Digestibilidade e concentração de N baseia-se no fato de que a excreção fecal de N de origem

endógena e em menor proporção, o residual do alimento, são dependentes do consumo de N e diferente do assumido pelo método, pode variar proporcionalmente ao consumo de matéria orgânica indigestível (Van Soest, 1994; NRC, 1996, apud Carvalho et al., 2007).

No presente experimento, foram correlacionados a excreção total dos índices com o consumo de matéria orgânica. Leite; Stuth (1990) afirmam que em geral, nenhum parâmetro analisado nas fezes, foi altamente correlacionado com as variáveis da dieta quando expressos em percentagem de MO fecal. Já a excreção fecal total de nitrogênio por dia foi altamente relacionada com consumo de MO.

Para Holloway et al., (1981), o constituinte fecal que foi melhor relacionado sozinho com consumo de MS foi o N ($P < 0,01$), apesar disto obteve um baixo R^2 (0,32) e um alto desvio padrão residual (660 g/dia). Porém quando foi associado a outros índices, como por exemplo EE e FDA aumentou consideravelmente o R^2 . O mesmo autor reporta que as frações que contém carboidratos solúveis são mais fortemente relacionadas ao consumo de forragem.

No presente ensaio dentre os indicadores fecais avaliados, o N e a FDA foram os que apresentaram maior correlação com o consumo (Ensaio 1) e adicionalmente a FDN para o Ensaio 2. Adicionalmente, a Lignina e o NIDA foram fracamente relacionados ao consumo. Jarrige (1962) afirma que a lignina em geral é um índice insatisfatório por diversas razões, sendo a principal a pequena escala de variação. Outro fato a ser levado em consideração é que componentes químicos que estão presentes em pequenas quantidades geram altos coeficientes de variação durante os procedimentos de análises. A mesma afirmação pode ser aplicada para o NIDN.

Apesar de no Ensaio 2 a FDN ter sido bem relacionada com consumo tanto de MS como de MO, a sua utilização como índice fecal para estimar consumo parece não encontrar fundamento teórico para apoiar-se. A fração FDN, é formada dentre outros componentes, por hemicelulose e esta fração normalmente possui altas taxas de degradação ruminal. Baixas degradações podem decorrer da formação do composto ligno-celulose, porém quando a mesma é submetida à acidificação no abomaso, grandes taxas de degradação podem ocorrer (OKINE; MATHINSON, 1991).

Para Boval et al, (1996), analisando excreção total de FDN, FDA, FDA livre de nitrogênio ou N (materiais azotados, seguindo palavras do autor), o componente

químico que melhor se relacionou ao consumo de MO foi o N (com desvio padrão de 240g).

Stallcup et al., (1975) observaram alta correlação (0,93) entre excreção fecal de nitrogênio e consumo de matéria orgânica. Da mesma forma, Hutchinson (1958) observou altas correlações (0,9) entre excreção total de N e consumo de matéria seca em ovinos. Porém, salienta o fato de que a exatidão das estimativas diminui a muito altos (45g/dia) ou muito baixos (8g/dia) consumos de N. Consumos acima de 45g/dia aumentam a proporção de N nas fezes pela baixa oportunidade de digestão ou absorção. Já quando os ovinos consomem abaixo de 8 g/dia de N, há uma diminuição no metabolismo o que faz com que diminua a secreção metabólica de N e desta forma a participação do N endógeno nas fezes. Este fato provavelmente não ocorreu no Ensaio 1 pois apenas 6% das médias de consumo de N por dia ficaram abaixo do limite de 8g. Já dos valores de consumo dos animais que recebiam *Cynodon*, 22% apresentaram-se abaixo do limite (dados não apresentados) o que pode representar uma variação significativa nas estimativas de consumo.

Ribeiro Filho et al., (2003, 2005) além dos índices fecais utiliza variáveis relacionadas à pastagem (teores de N e FDA). Esta inclusão de variáveis do alimento é realizada a fim de diminuir os erros de predição de digestibilidade associados a variações qualitativas da dieta. Estas formas de equações poderiam ser utilizadas da mesma maneira para melhorar os coeficientes de correlação de estimativas de consumo em situações como a encontrada nos Ensaios 2 e 3, por exemplo.

Novos experimentos de digestibilidade avaliando a mesma forragem poderiam ser desenvolvidos e em poder das análises químicas dos alimentos e das excreções fecais haveria a possibilidade do desenvolvimento de uma equação única que levasse em consideração o status qualitativo da pastagem isentando o pesquisador da condução de experimentos de digestibilidade *in vivo* a cada nova situação de pastejo. A dificuldade relacionada à aplicação desta equação única é que ela não isenta o pesquisador de amostrar o consumo real do animal e as amostra de alimento teriam de ser tomadas com base em simulações de pastejo ou utilização de animais fistulados no esôfago.

Ambas excreções fecais de FDA e/ou N tem potencial para serem utilizados para estimar consumo de forragem por animais alimentados com gramíneas

tropicais ou temperadas. A escolha por um deles dependeria da possibilidade analítica de cada pesquisador.

6.2 Síntese microbiana ruminal

Os valores médios de composição das bactérias ruminais, 78,14% para MO e 9,51% para o N foram próximos aos observados por Dias et al., (2008) que obtiveram valores de 72,87% e 7,48% para MO e N respectivamente. Clark et al., (1992) compilando dados de 72 observações, encontraram valores médios de 77,5 e 7,71 para % de MO e N respectivamente corroborando os resultados encontrados no presente estudo.

Segundo Perez et al. (1996), um inconveniente da técnica de purinas como marcador microbiano é que a relação entre Purinas/N não é a mesma entre bactérias e protozoários e inclusive entre as diferentes espécies bacterianas. Porém assume-se que as bactérias representam a maior porção do N microbiano no duodeno.

A relação N:purinas obtida neste trabalho é semelhante à observada em outros estudos (Tabela 7). A maior discrepância foi com o estudo desenvolvido por Obispo; Dehority (1999). Os autores afirmam que bactérias isoladas do fluido ruminal possuem em média uma relação Purinas:PB de 0,0306 o que representa apenas um terço do valor encontrado em culturas puras. Baseados neste fato afirmam que provavelmente o fluxo de nitrogênio microbiano que deixa o rúmen é superestimado na maioria das publicações e sugerem que o valor utilizado para o cálculo seja a relação Purinas:PB de 0,0883. Porém quando este valor foi utilizado para o cálculo de fluxo de N microbiano no presente estudo, os valores obtidos foram substancialmente inferiores aos valores estimados pelos derivados de purinas e provavelmente irreais (dados não apresentados). Por exemplo, a síntese microbiana estimada utilizando os valores sugeridos por Obispo & Dehority (1999), seria três vezes menor que o calculado com base na relação encontrada nas bactérias ruminais isoladas deste estudo.

Os desvios médios das estimativas de síntese microbiana por purinas em relação aos derivados de purinas quando utilizada a equação sugerida por Chen;

Gomes, (1992) foram superiores (29 e 23% para os Ensaio 1 e 2, respectivamente) do que quando os derivados de purinas foram calculados utilizando dados do presente experimento (11 e 15% para os Ensaio 1 e 2, respectivamente). Estes resultados sugerem que relação Nmicrobiano:Npurinas é um fator determinante na acurácia da estimativa de síntese quando utilizado os derivados de purinas urinários.

González-Ronquillo et al., (2004) afirmam que o fluxo duodenal de purinas reflete o fluxo de N_m embora valores de síntese microbiana ruminal serão sempre relacionados ao método utilizado, relação N:Purinas bacteriana e método utilizado para estimativa de fluxo.

Esta faixa de variação nos resultados implica que os valores encontrados utilizando purinas podem ser maiores ou menores do que os encontrados utilizando derivados de purinas. Dias et al., (2008) encontraram valores mais altos utilizando purinas em relação a derivados. Os autores sugerem que se forem utilizados os derivados de purinas para estimar a produção microbiana ao invés de bases purinas, os valores estarão subestimados.

Os maiores valores de síntese estimada por purinas em relação aos estimados por derivados poderiam ser explicados pela teoria sugerida por McCallan (1982) que supõe que os ácidos nucléicos que fluem do rúmen são predominantemente representados por microorganismos ruminais, porém quando os ácidos nucléicos da dieta estão protegidos ou associados a estruturas resistentes da parede celular, valores consideráveis de ácidos nucléicos do alimento podem não ser degradados tanto ruminalmente quanto ao longo dos intestinos. Chen et al., (1992) chama atenção para o fato de que possíveis contribuições de purinas da dieta não degradadas no rúmen e vindas de abrasão dos tecidos dos intestinos não são levadas em consideração pela dificuldade de quantificar estas contribuições.

González-Ronquillo et al., (2004) encontraram valores mais altos para síntese microbiana estimada pelos derivados de purinas em comparação com purinas. Os autores utilizaram o fluxo duodenal como padrão para verificar a utilização de métodos indiretos, porém, denotam que apesar da utilização de marcadores das duas fases (líquida e sólida) para o fluxo duodenal o que tornaria a estimativa mais confiável, uma subestimativa de fluxo duodenal não pode ser descartada. Os autores concluem que a utilização de derivados de purinas para detectar mudanças

na síntese microbiana ruminal possui pelo menos a mesma eficiência do que àquelas medidas através do fluxo duodenal.

Tabela 7 – Comparação entre os valores de concentração de purinas nas bactérias ruminais isoladas neste ensaio com dados de literatura*

[] purinas nas bactérias				
Forma de expressão	Presente estudo	Literatura	Tipo de bactérias ruminais	Autor
µmol/g de MO	140,26	168,6	L + S	Gonzáles-Ronquillo, et al. (2004)
Purinas:PB	0,026	0,0306	L + S	Obispo; Dehority (1999)
Purinas:PB	0,026	0,0883	CULT	Obispo; Dehority (1999)
µmol Purinas/g de MS	109,4	164	L	Belenguer, et al. (2002)
mmol Purinas/g de N	1,15	1,97	L	Belenguer, et al. (2002)
µmol Purinas/mg de N	1,15	1,50	L+S	Perez et al. (1996)
µmol Purinas/g de MS	109,4	116	L+S	Reynal et al. (2005)

*L= Bactérias isoladas da fase líquida; S= Bactérias isoladas da fase sólida; CULT= células bacterianas isoladas e cultivadas em laboratório; PB= proteína bruta; MO= matéria orgânica; MS= matéria seca.

Segundo Clarck et al. (1992), o aumento da passagem de compostos nitrogenados para o intestino delgado pode ser atribuído parcialmente à maior quantidade de energia, fornecida pelo maior quantidade de matéria orgânica digestível. A tentativa de estabelecer uma relação entre consumo de matéria orgânica digestível e síntese microbiana, poderia ser uma ferramenta para que tivéssemos idéia de qual método estimou a síntese com maior eficiência.

A eficiência na síntese microbiana dos ovinos recebendo Azevém (Ensaio 1) variou de 22 a 31 gNm/kg de MOD consumida (independente do método e da forma de cálculo utilizados). Esta eficiência é semelhante a valores encontrados por Van Vuuren et al.,(1993) que encontraram valores de 29,4 gNm/kg de MOD consumida em bovinos leiteiros, Amaral, (2008) 25 gNm/kg de MOD consumida em ovinos e superior a Veth & Kolver, (2001) que encontraram valores de eficiência de síntese microbiana em bovinos leiteiros próximos a 19 gNm/kg de MOD consumida.

Já no Ensaio 2, a eficiência na síntese microbiana nos animais recebendo *Cynodon* variou de 9 a 13 gNm/kg de MOD consumida (independente do método e da forma de cálculo utilizados). Esta eficiência é inferior ao resultado encontrado por Pereira et al., (2007) que encontraram eficiência de 2 gNm/kg de MOD consumida porém para Tifton 45 que apesar de também ser uma espécie de *Cynodon* é de melhor qualidade devido ao melhoramento.

Apesar dos inconvenientes, Broderick; Merchen, (1992) recomendam o uso de purinas como um método de eleição para determinar a síntese de proteína microbiana. Devido à grande variação nos resultados encontrados no presente trabalho, afirmação como esta não poderá ser realizada, já que não se em clareza de qual metodologia está estimando a síntese microbiana ruminal de maneira mais acertada.

7 CONCLUSÕES

A excreção fecal de FDA e/ou N tem um alto potencial para estimar consumo por animais em pastejo. Ela implicaria, no entanto, em medidas acuradas da produção fecal dos animais a pasto e na condução de ensaios de digestibilidade em paralelo, com animais alimentados em diferentes níveis de consumo com o pasto cortado verde.

A síntese de nitrogênio microbiano ruminal estimada pela metodologia das purinas ou dos derivados de purinas não foi similar.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, G. A. **Valor alimentar de dietas com azevém (*Lolium multiflorum*, Lam.) e suplementação nitrogenada ou energética.** 2008. 72 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

ANUALPEC **Anuário da Pecuária Brasileira.** São Paulo:Prol, 2008. 380 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 16th, 3rd ed. AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD. 1997.

ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medición del consumo de rumiantes en pastoreo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 1997. p. 1-23.

BALBIR, K. et al., Diurnal variation in the estimates of digestibility. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 13, n. 1, p. 474-479, Jan. 1954.

BELENGUER, A. et al., Urinary excretion of purine derivatives and prediction of rumen microbial outflow in goats. **Livestock Production Science**, St. Louis, v. 77, n. 1, p. 127–135, Nov, 2002.

BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G.; GARCIA, A. V. Aplicação de técnicas para estudos de ingestão, composição da dieta e digestibilidade. **Archives of Veterinary Science**. Curitiba, v. 10, n. 2, p. 29-40, Jan, 2005.

BOVAL, M. et al., The ability of faecal nitrogen to predict digestibility for goats and sheep fed with tropical herbage. **Journal of Agricultural Science**, London, v. 140, n. 4, p. 443–450, Jun, 2003.

BOVAL, M. et al., Digestibility prediction of tropical grass fed by buck and rams, from faecal index. In: CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES CAPRINS, 2000, Tours. **Annales...** Tours, 2000.

BOVAL, M. et al., Évaluation d'indicateurs fécaux pour prédire la digestibilité et les quantités ingérées de *Dichanthium* sp par des bovins creoles. **Annales de Zootechnie**, Paris, v. 45, n. 2, p. 121– 34, Mar, 1996.

BRODERICK, G.; MERCHEN, N. R. Markers for Quantifying Microbial Protein Synthesis in the Rumen. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 75, p. 2618-2632, Abr,1992.

CARVALHO, P. C. et al., Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 1, p. 151–170, Jan, 2007.

CHEN, X. B. et al., The effect of feed intake and body weight on purine derivative excretion and microbial protein supply in sheep. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 70, n. 3, p.1534-1542, May, 1992.

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 the technical details. **International Feed Resources Unit Rowett Research Institute**, Bucksburn: Rowett Research Institute, Aberdeen. 1992. p.22.

CHEN, X. B.; DEB. HOVELL, F. D.; ORSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants : recycling of allantoin into the rumen via saliva and its fate in the gut. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 63, n. 2, p. 197-205, Mar,1990.

CLARCK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R., Symposium: nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle. Microbial Protein Synthesis and Flows of Nitrogen Fractions to the Duodenum of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 75, p. 2304-2323, Aug, 1992.

DIAS, M. et al. Técnicas para estimativa da digestibilidade e produção microbiana em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 6, p. 504–512, Jun, 2008

FERRI, C. M. et al., In vivo digestibility of kleingrass from fecal nitrogen excretion. **Journal of Range Manage**, Colorado, v. 56, n. 1, p. 52-55, Jan, 2003.

GONZÁLES-RONQUILLO, M. et al. A Comparison of Purine Derivatives Excretion with Conventional Methods as Indices of Microbial Yield in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 87, n. 7, p. 2211–2221, Mar, 2004.

HOBBS, N. T. Fecal indices to dietary quality: a critique. **Journal of Wildlife Management**, Louisiana, v. 51, n. 2, p. 317–320, Feb, 1987.

HOLLOWAY, J. W.; ESTEL, R. E.; BUTTS, W. T. Relationship between fecal components and forage consumption and digestibility. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 52, n. 4, p. 836-848, Apr, 1981.

HUTCHINSON, B. J. Factors governing faecal nitrogen wastage in sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v.9, n. 4, p. 508-520, Jul, 1958.

HUTTON, K.; BAILEY, F. J.; ANNISON, E. F. Measurement of the bacterial nitrogen entering the duodenum of the ruminant using diaminopimelic acid as a marker. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 25, n. 1. 165-173, Aug, 1971.

JARRIGE, R. The composition of sheep faeces and its relation to forage digestibility. In: PROCEEDINGS OF INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 1965, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 1965.

KARN, J. F.; HOFMANN, I. Relationships between pasture forage components and fecal chemical composition. **Journal of Range Management**, Colorado, v. 43, n. 4, p. 320-326, Jul, 1990.

KOZLOSKI, G. V. et al. Intake and digestion by lambs of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum, cv. Mott) hay or hay supplemented with urea and different levels of cracked corn grain. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v. 125, n. 1, p.111-122, Jan, 2006.

KOZLOSKI, G. V. et al. Potential nutritional assessment of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mott) by chemical composition, digestion and net portal flux of oxygen in cattle. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.104, n. 2, p.29-40, Feb, 2003.

LANCASTER, R. J. Estimation of digestibility of grazed pasture from faeces nitrogen. **Nature**, v.163, n. 4139, p. 330-331, Feb, 1949.

LEITE, E. R.; STUTH, J. W. Value of multiple fecal indices for predicting diet quality. **Journal of Range Management**, Colorado, v. 43, n. 2, p. 139-143, Mar, 1990.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v. 57, n. 4, p. 347-358, Mar, 1996.

LUKAS, M. et al., Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 83, n. 6, p. 1332-1344, Jun, 2005.

MCALLAN, A. B. The fate of nucleic acids in ruminants. **Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 41, n. 3, p. 309-316, Feb, 1982.

MCALLAN, A. B.; SMITH, R. H. Determination of nucleic acids in digesta. **British Journal of Nutrition**, London, v. 23, n.3, p. 671- 683, Aug, 1969.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Purine quantification in digesta from ruminants by spectrophotometric and HPLC methods. **British Journal of Nutrition**, London, v. 81, n. 2, p. 107–112, Feb, 1999.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: a collaborative study. **Journal of AOAC**. Washington, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, Nov./Dec, 2002.

NUNEZ-HERNANDEZ, G. et al., Evaluation of fecal indicators for assessing energy and nitrogen status of cattle and goats. **Journal of Range Manage**, Colorado, v. 45, n. 1, p.143-147, Mar, 1992.

OBISPO, N. E.; DEHORITY, B. A. Feasibility of Using Total Purines as a Marker for Ruminal Bacteria. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 77, n. 12, p. 3084–3095, Dec, 1999.

O'DONOVAN, P. B. et al. Ad Libitum Intake and Digestibility Canarygrass (Phalaris Arundinacea L.) Clones as Measured of Selected Reed by the Fecal Index Method. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 26, n. 5, p. 1144-1152, Sept, 1967.

OJEDA, A.; PARRA, O.; BALCELLS, J. Urinary excretion of purine derivatives in Bos indicus X Bos Taurus crossbred cattle. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 93, n. 6, p. 821–828, Jun, 2005.

OKINE, E. K.; MATHISON, G. W. Effects of feed intake on particle distribution, passage of digesta, and extent of digestion in the gastrointestinal tract of cattle. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 69, n. 8, p. 3435-3445, Aug, 1991.

ORELLANA BOERO, P. et al., Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, St. Louis, v. 68, n. 8, p. 243–250, Mar, 2001.

PEREIRA, O. G. et al. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em bovinos de corte alimentados com dietas contendo silagem de sorgo e pré-secado de capim-tifton 85. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 2143-2151, Dez, 2007.

PEREZ, J. F. et al. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using N¹⁵ and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. **British Journal of Nutrition**. Cambridge, v. 75, n. 5, p. 699-709, May, 1996.

RENNÓ, L. N. et al. Estimativa da Produção de Proteína Microbiana pelos Derivados de Purinas na Urina em Novilho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 1223-1234, Maio, 2000.

REYNAL, S. M.; BRODERICK, G. A.; BEARZI, C. Comparison of Four Markers for Quantifying Microbial Protein Flow from the Rumen of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 88, n. 11, p. 4065–4082, Nov, 2005.

RIBEIRO FIHO, H. M. N.; DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J. L. Herbage intake and milk yield of dairy cows grazing perennial ryegrass swards or white clover/perennial ryegrass swards at low- and medium-herbage allowances. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.119, n.1, p. 13–27, Mar, 2005.

RIBEIRO FILHO, H. M. N.; DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J. L. Inclusion of white clover in strip-grazed perennial ryegrass swards: herbage intake and milk yield of dairy cows at different ages of sward regrowth. **Proceedings of British Society Of Animal Science**, London, v. 77, p. 499-510, Mar, 2003.

ROBERTSON, J.B.; VAN SOEST, P.J. The detergent system of analysis. In: James, W.P.T.; Theander, O. **The Analysis of Dietary Fibre in Food**. New York: Marcel Dekker, 1981, cap. 9, p. 123–158.

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

SAS **Statistical Analysis Systems User's Guide**. Version 6. Cary, NC: SAS institute, 2001. 1042 p.

SCHLECHT, E.; SUSENBETH, A. Estimating the digestibility of Sahelian roughages from faecal crude protein concentration of cattle and small ruminants. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v.90, n. 9 – 10, p. 369–379, Oct, 2006.

SENGER, C. et al. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 146, n. 1–2, p. 169, Sept, 2008.

STALLCUP, O. T.; DAVIS, G. V.; SHIELDS, L. Influence of Dry Matter and Nitrogen Intakes on Fecal Nitrogen Losses in Cattle. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 58, n. 9, p. 1301–1309, Sept, 1975.

STREETER, C. Digestibility of Grazed Forage: A Review of Techniques used to Estimate the In Vivo. **Journal of Animal Science**, Illinois, v.29, n. 5, p. 757-768. Nov, 1969.

THOMAS, S.; CAMPLING, R. C. Relationship between digestibility and faecal nitrogen in sheep and cows offered herbage *ad libitum*. **Journal of the British Grassland Society**, Oxford, v. 31, n. 1, p. 69–72, Apr, 1976.

VAN VUUREN, M.; VAN DER KOELEN, C. J.; VROONS-DE BRUIN, J. Ryegrass versus Corn Starch or Beet Pulp Fiber Diet Effects on Digestion and Intestinal Amino Acids in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v.76, n. 9, p. 2692–2700, Sept, 1993.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**, 2nd ed. Cornell University Press: New York, 1994. 476 p.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v.74, n. 11, p. 3583-3597, Nov, 1991.

VETH, M. J.; KOLVER, E. S. Digestion of Ryegrass Pasture in Response to Change in pH in Continuous Culture. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 84, n. 6, p. 1449-1457, Jun, 2001.

WOFFORD, H. et al. Evaluation of Fecal Indices to Predict Cattle Diet Quality. **Journal of Range Management**, Colorado, v. 38, n. 5, p. 450–455, Sept, 1965.

ZINN, R.A.; OWENS, F.N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. **Canadian Journal of Animal Science**. Ottawa, v. 66, n. 1, p. 157–166, Jun, 1986.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Dados relativos ao consumo e excreção fecal de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LDA) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) em ovinos alimentados com *Cynodon* (Ensaio 2).

ANIMAL	TRAT	PERÍODO	Pvmédio(kg)	PM(kg0,75)	CMS	CMO	CN	CFDN	CFDA	CLDA	CNIDN
1	1,5	1	23	10,5	315	276	6,6	237	113	26,0	1,70
2	2	1	26	11,5	474	416	10,0	357	170	39,1	2,56
3	2,5	1	31	13,1	707	620	14,9	531	254	58,3	3,81
4	ad	1	25,5	11,3	294	270	7,5	228	116	25,5	1,62
2	1,5	2	26	11,5	406	363	7,3	310	160	34,8	1,78
3	2	2	31	13,1	645	576	11,6	492	254	55,3	2,82
4	2,5	2	25,5	11,3	555	502	10,4	424	220	46,2	2,53
1	ad	2	23	10,5	693	637	13,3	536	284	55,1	3,08
3	1,5	3	31	13,1	412	358	7,5	316	168	35,3	1,91
4	2	3	25,5	11,3	381	333	7,0	295	158	31,2	1,77
1	2,5	3	23	10,5	408	356	7,7	315	167	34,6	1,85
2	ad	3	26	11,5	677	592	12,7	520	279	53,3	3,18
4	1,5	4	25,5	11,3	371	325	8,4	276	143	43,0	2,22
1	2	4	23	10,5	445	389	10,1	331	171	51,6	2,66
2	2,5	4	26	11,5	582	511	13,4	432	224	67,6	3,52
3	ad	4	31	13,1	784	694	19,6	563	304	99,5	5,18
Dados relativos a excreção fecal (g/dia)											
ANIMAL	TRAT	PERÍODO	Pvmédio(kg)	Fezes	MS	MO	N	FDN	NIDN	FDA	FDAc
1	1,5	1	23	242	134,7	101,9	1,58	98,7	0,52	57,6	49,14
2	2	1	26	417	201,2	162,7	2,46	148,7	0,80	85,6	73,21
3	2,5	1	31	701	279,1	224,9	2,98	208,7	1,04	124,2	103,97
4	ad	1	25,5	340	156,0	123,4	1,69	114,5	0,67	65,4	55,48
2	1,5	2	26	352	159,9	133,0	3,80	118,1	0,60	69,1	59,04
3	2	2	31	705	203,0	164,3	1,58	155,5	0,77	89,5	76,00
4	2,5	2	25,5	511	169,6	138,6	1,98	131,8	0,67	77,7	66,44
1	ad	2	23	640	181,1	148,9	2,21	135,9	0,58	79,2	68,73
3	1,5	3	31	487	212,6	170,9	1,65	153,0	0,81	94,4	75,86
4	2	3	25,5	381	187,9	148,2	1,82	138,5	0,76	85,7	70,53
1	2,5	3	23	316	172,3	137,7	2,20	126,6	0,81	75,6	62,20
2	ad	3	26	749	287,8	230,9	3,41	217,7	1,25	129,3	105,94
4	1,5	4	25,5	388	189,9	151,0	2,34	142,9	0,89	81,7	68,45
1	2	4	23	392	207,4	158,6	2,57	150,9	0,96	85,7	72,01
2	2,5	4	26	733	289,0	230,4	3,73	218,8	1,38	126,6	108,28
3	ad	4	31	1069	412,3	309,1	5,20	307,3	1,98	178,0	143,98

APÊNDICE B – Dados relativos ao consumo e excreção fecal de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LDA) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) em ovinos alimentados com *Cynodon* (Ensaio 3).

Dados relativos ao consumo (g/dia)										
ANIMAL	TRAT	PER	Pvmédio(kg)	PM(kg0,75)	CMS	CMO	CN	CFDN	CFDA	
1	0	1	27,3	11,9	708	634	22,6	467	233	
2	10	1	24,75	11,1	739	662	24,2	463	239	
3	20	1	26,5	11,7	887	800	29,7	586	294	
4	30	1	27,6	12,0	681	673	27,5	426	190	
2	0	2	24,75	11,1	507	447	15,7	344	179	
3	10	2	26,5	11,7	627	550	21,2	422	212	
4	20	2	27,6	12,0	561	493	18,5	376	191	
1	30	2	27,3	11,9	786	694	25,2	534	270	
3	0	3	26,5	11,7	369	324	14,5	229	124	
4	10	3	27,6	12,0	578	506	24,1	352	191	
1	20	3	27,3	11,9	748	659	31,2	453	247	
2	30	3	24,75	11,1	611	539	25,7	370	200	
4	0	4	27,6	12,0	657	582	23,9	400	211	
1	10	4	27,3	11,9	872	764	30,8	532	282	
2	20	4	24,75	11,1	754	659	27,4	458	237	
3	30	4	26,5	11,7	1047	917	36,9	641	337	
Dados relativos a excreção fecal (g/dia)										
ANIMAL	TRAT	PER	Pvmédio(kg)	Fezes	MS	MO	Nfezes	FDN	NIDN	FDA
1	0	1	27,3	915	355	305	5,2	244	1,46	151,4
2	10	1	24,75	889	273	231	4,2	189	1,24	113,5
3	20	1	26,5	842	286	243	4,4	190	1,13	115,0
4	30	1	27,6	1020	306	258	4,6	204	1,24	135,0
2	0	2	24,75	582	247	208	3,3	173	1,05	108,9
3	10	2	26,5	849	346	291	5,2	237	1,41	143,6
4	20	2	27,6	691	290	241	4,2	189	1,07	118,0
1	30	2	27,3	921	378	321	5,4	262	1,56	156,2
3	0	3	26,5	391	174	140	3,0	105	0,72	66,0
4	10	3	27,6	721	263	213	4,5	161	1,03	99,3
1	20	3	27,3	951	379	314	6,6	241	1,67	141,0
2	30	3	24,75	591	248	203	4,3	143		101,8
4	0	4	27,6	774	282	232	5,2	183	1,25	118,5
1	10	4	27,3	738	250	207	4,5	163	1,23	103,2
2	20	4	24,75	761	260	211	4,6	166	1,30	106,0
3	30	4	26,5	853	298	247	6,1	191	1,29	128,3

APÊNDICE C – Dados relativos ao consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LDA) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) em ovinos alimentados com Azevém (Ensaio 1).

Dados relativos ao consumo (g/dia)										
ANIMAL	TRAT	PER	PVM	PM(kg0,75)	OMS	OMO	CN	CFDN	CFDA	CLDA
1	1,5	1	22	10,2	222	180	10,3	87	56	3,8
2	2	1	22	10,2	295	239	13,8	116	74	5,1
4	2,5	1	22	10,2	370	300	17,3	145	93	6,4
3	ad	1	20	9,5	501	414	24,3	190	115	10,0
2	1,5	2	20	9,5	229	192	8,9	107	71	3,1
4	2	2	22	10,2	306	256	11,9	143	94	4,1
3	2,5	2	21	9,8	390	327	15,1	183	120	5,2
1	ad	2	18	8,7	744	625	30,5	340	222	11,4
3	1,5	3	21	9,8	280	242	7,0	144	84	17,7
1	2	3	18	8,7	321	278	8,0	165	96	20,3
2	2,5	3	20	9,5	446	385	11,1	229	133	28,1
4	ad	3	22	10,2	815	706	20,6	411	236	56,1
4	1,5	4	22	10,2	496	436	15,3	301	178	23,4
3	2	4	21	9,8	453	398	13,9	275	163	21,4
1	2,5	4	18	8,7	486	428	15,0	295	175	23,0
2	ad	4	20	9,5	794	696	26,9	470	275	44,5
5	1,5	1	24	10,8	275	230	10,7	129	85	3,7
6	2	1	28,5	12,3	434	364	16,8	203	134	5,8
7	2,5	1	25	11,2	476	398	18,4	223	146	6,4
8	ad	1	28	12,2	909	784	37,0	419	273	13,8
6	1,5	2	28,5	12,3	381	330	9,5	196	114	24,1
7	2	2	25	11,2	446	385	11,1	229	133	28,1
8	2,5	2	28	12,2	625	540	15,6	321	187	39,5
5	ad	2	24	10,8	820	710	20,2	415	240	57,0
7	1,5	3	25	11,2	405	356	12,5	246	146	19,1
8	2	3	28	12,2	603	531	18,6	366	217	28,5
5	2,5	3	24	10,8	646	569	19,9	392	232	30,5
6	ad	3	28,5	12,3	892	783	29,1	536	318	46,9
8	1,5	4	28	12,2	303	267	7,5	185	107	14,8
5	2	4	24	10,8	346	306	8,6	212	122	17,0
6	2,5	4	28,5	12,3	515	455	12,8	315	182	25,2
7	ad	4	25	11,2	926	820	23,7	561	322	49,2

APÊNDICE D – Dados relativos à excreção fecal de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido com ou sem cinzas (FDA; FDAc), lignina (LDA) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) em ovinos alimentados com Azevém (Ensaio 1).

Dados relativos a excreção fecal (g/dia)												
ANIMAL	TRAT	PER	Pvmédio(kg)	Fezes	MS	MO	N	NIDN	LDA	FDN	FDA	FDAc
1	1,5	1	22	147	51,4	29,6	1,3	0,3	8,8	26,9	20,3	10,1
2	2	1	22	226	63,4	39,1	1,8	0,4	11,7	32,4	24,3	13,1
4	2,5	1	22	207	58,3	39,5	1,5	0,5	6,9	30,2	23,5	14,9
3	ad	1	20	355	69,8	49,1	2,6	0,5	4,8	32,1	26,3	18,3
2	1,5	2	20	121	49,4	29,7	1,2	0,3	7,9	26,8	17,2	10,7
4	2	2	22	127	46,4	29,3	1,0	0,3	6,5	25,3	16,9	10,9
3	2,5	2	21	186	85,0	57,2	2,3	0,6	15,2	45,3	32,6	21,0
1	ad	2	18	553	194,8	143,3	5,9	1,0	21,0	95,3	69,7	46,3
3	1,5	3	21	162	66,3	46,1	1,4	0,4	8,3	35,5	25,5	18,9
1	2	3	18	204	82,9	59,7	1,9	0,5	11,7	46,6	34,0	24,8
2	2,5	3	20	314	120,6	86,5	2,5	0,5	17,5	65,4	41,2	27,8
4	ad	3	22	560	189,8	138,1	4,2	0,8	24,3	103,8	66,6	44,1
4	1,5	4	22	377	136,9	113,5	2,6	0,4	14,3	83,9	51,6	45,2
3	2	4	21	447	154,9	133,2	1,9	0,5	27,3	102,1	63,9	59,1
1	2,5	4	18	404	110,0	94,6	1,6	0,5	14,6	71,8	45,5	41,4
2	ad	4	20	868	218,9	187,1	3,6	0,7	24,0	143,3	87,6	79,0
5	1,5	1	24	142	53,9	32,1	1,3	0,3	7,3	32,3	17,5	10,6
6	2	1	28,5	361	115,3	75,5	3,3	0,8	4,9	58,3	34,1	20,5
7	2,5	1	25	308	111,5	78,0	3,2	0,7	8,1	62,9	38,2	24,8
8	ad	1	28	810	194,8	139,0	5,9	1,3	15,1	108,0	69,4	47,1
6	1,5	2	28,5	283	115,7	83,5	2,2	0,7	14,2	71,1	45,8	30,8
7	2	2	25	260	97,2	72,7	2,2	0,5	9,3	58,3	37,5	26,6
8	2,5	2	28	544	174,0	132,6	4,4	0,7	15,4	102,2	63,0	46,0
5	ad	2	24	660	207,4	153,6	5,2	0,7	30,1	117,9	72,1	50,8
7	1,5	3	25	325	109,0	90,5	1,8	0,4	10,9	70,1	40,1	34,9
8	2	3	28	496	129,6	108,5	2,4	0,4	14,9	83,9	51,9	46,9
5	2,5	3	24	594	206,1	174,3	3,8	0,8	23,4	132,6	84,3	75,4
6	ad	3	28,5	1069	269,5	225,1	4,1	1,1	29,3	173,2	105,2	93,8
8	1,5	4	28	156	81,0	56,4	1,1	0,3	5,6	49,2	29,9	21,6
5	2	4	24	206	89,6	63,8	1,3	0,3	8,9	52,6	33,1	23,6
6	2,5	4	28,5	286	126,8	93,6	1,9	0,4	8,9	77,2	49,2	35,7
7	ad	4	25	716	164,2	128,6	3,2	0,7	16,9	105,2	65,0	47,9

APÊNDICE E – Dados relativos ao fluxo duodenal de matéria seca (MS), fibra em detergente ácido livre de cinzas (FDAc), nitrogênio microbiano estimado pelas purinas ou derivados de purinas (Nm) em ovinos recebendo Azevém (Ensaio 1).

A	Trat	Per	FEZES		DUODENO		g/ dia		PURINAS	
			MS(g/dia)	FDAc%MS	FDAc%ms	% MO	FluxoMS	Nm deriv	Nm mg/gMS	Nmg/dia
1	1,5	1	51,4	39,5	10,9	64,1	186,1	3,4	44,7	8,3
2	2	1	63,4	38,3	12,1	71,7	201,4	4,4	48,1	9,7
4	2,5	1	58,3	40,4	13,1	73,9	179,5	6,2	63,7	11,4
3 ad		1	69,8	37,7	14,8	76,3	177,4	8,2	59,0	10,5
2	1,5	2	49,4	34,9	9,8	67,6	175,4	3,7	47,7	8,4
4	2	2	46,4	36,4	11,8	65,7	143,4	6,6	39,8	5,7
3	2,5	2	85,0	38,4	18,0	74,1	180,8	6,6	41,3	7,5
1 ad		2	194,8	35,8	15,9	73,8	438,7	16,3	55,1	24,2
3	1,5	3	66,3	38,5	23,5	69,4	108,6	2,6	29,4	3,2
1	2	3	82,9	41,0	18,7	70,1	182,3	2,4	33,6	6,1
2	2,5	3	120,6	34,2	14,6	69,6	282,6	-0,6	39,3	11,1
4 ad		3	189,8	35,1	21,5	72,6	309,7	8,8	48,8	15,1
4	1,5	4	136,9	37,7	23,9	81,0	215,6	7,6	43,0	9,3
3	2	4	154,9	41,3	27,0	80,2	237,0	6,0	37,1	8,8
1	2,5	4	110,0	41,3	23,7	78,4	191,5	10,6	46,2	8,9
2 ad		4	218,9	40,0	24,5	80,3	358,2	13,9	43,2	15,5
5	1,5	1	53,9	32,5	15,3	61,9	114,0	1,2	40,7	4,6
6	2	1	115,3	29,6	18,1	64,1	188,5	1,7	42,6	8,0
7	2,5	1	111,5	34,3	20,5	72,6	186,8	4,3	53,3	10,0
8 ad		1	194,8	35,6	18,8	75,0	369,5	12,2	60,5	22,4
6	1,5	2	115,7	39,6	21,1	58,0	216,9	3,3	41,6	9,0
7	2	2	97,2	38,6	29,5	73,4	127,2	5,0	47,5	6,0
8	2,5	2	174,0	36,2	26,4	74,0	238,9	2,7	46,5	11,1
5 ad		2	207,4	34,8	27,0	75,7	267,0	13,9	44,9	12,0
7	1,5	3	109,0	36,7	36,9	75,2	108,5	5,9	24,7	2,7
8	2	3	129,6	40,1	36,2	81,3	143,3	4,0	24,4	3,5
5	2,5	3	206,1	40,9	29,0	76,3	290,2	5,4	35,2	10,2
6 ad		3	269,5	39,0	32,4	76,5	324,9	10,8	36,1	11,7
8	1,5	4	81,0	36,9	30,0	74,6	99,5	2,6	29,3	2,9
5	2	4	89,6	36,9	34,0	75,1	97,3	4,5	34,3	3,3
6	2,5	4	126,8	38,8	24,1	73,0	204,5	6,0	39,6	8,1
7 ad		4	164,2	39,6	25,1	77,5	258,7	13,4	50,0	12,9

APÊNDICE F – Dados relativos ao fluxo duodenal de matéria seca (MS), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente ácido livre de cinzas (FDAc), nitrogênio microbiano estimado pelas purinas ou derivados de purinas (Nm) em ovinos recebendo *Cynodon* (Ensaio 2).

A	Trat	Per	Fezes		Duodeno		Nm g/dia		Nm purinas mg/gMS
			MS(g/dia)	FDAc%ms	fdac%ms	Fluxo MS, g/dia	DERIV	PURIN	
1	1,5	1	134,7	36,48	26,6	184,5	3,35	4,87	26,41
2	2	1	201,2	36,39	29,7	246,3	4,56	5,95	24,14
3	2,5	1	279,1	37,25	30,5	340,4	4,49	7,47	21,94
4	ad	1	156,0	35,56	27,7	200,4	4,51	3,87	19,32
2	1,5	2	159,9	36,92	36,2	163,0	2,24	2,07	12,70
3	2	2	203,0	37,44	38,0	199,9	0,78	3,13	15,68
4	2,5	2	169,6	39,16	33,3	199,5	4,11	3,45	17,30
1	ad	2	181,1	37,95	33,3	206,1	5,22	6,10	29,58
3	1,5	3	212,6	35,68	34,7	218,5	2,77	2,65	12,14
4	2	3	187,9	37,53	31,4	224,8	0,60	4,55	20,25
1	2,5	3	172,3	36,09	36,5	170,6	1,86	2,57	15,08
2	ad	3	287,8	36,81	33,5	316,4	3,97	4,87	15,40
4	1,5	4	189,9	36,05	34,9	196,0	2,33	2,61	13,30
1	2	4	207,4	34,72	34,5	208,6	2,46	3,45	16,54
2	2,5	4	289,0	37,47	33,7	321,0	3,50	5,36	16,70
3	ad	4	412,3	34,92	30,8	467,4	6,96	8,86	18,95

APÊNDICE G – Dados relativos a digestibilidade ruminal do nitrogênio (DRN) para os Ensaio 1 e 2 (Azevém e *Cynodon*)

Dig. Ruminal N - Azevém				
A	Trat	Per	Derivados purinas	
1	1,5	1	0,21	0,68
2	2	1	0,35	0,73
4	2,5	1	0,54	0,85
3 ad		1	0,76	0,85
2	1,5	2	0,32	0,84
4	2	2	0,83	0,76
3	2,5	2	0,72	0,78
1 ad		2	0,52	0,77
3	1,5	3	0,65	0,73
1	2	3	0,09	0,56
2	2,5	3	-0,37	0,68
4 ad		3	0,68	0,99
4	1,5	4	0,88	1,03
3	2	4	0,75	0,94
1	2,5	4	1,16	1,05
2 ad		4	0,92	0,98
5	1,5	1	0,45	0,78
6	2	1	0,60	0,98
7	2,5	1	0,52	0,83
8 ad		1	0,77	1,04
6	1,5	2	0,09	0,69
7	2	2	0,75	0,84
8	2,5	2	0,22	0,76
5 ad		2	0,85	0,75
7	1,5	3	1,08	0,83
8	2	3	0,83	0,81
5	2,5	3	0,49	0,73
6 ad		3	0,85	0,88
8	1,5	4	0,71	0,75
5	2	4	0,90	0,76
6	2,5	4	0,56	0,73
7 ad		4	0,96	0,94

Dig. Ruminal N - <i>Cynodon</i>				
A	Trat	Per	Derivados Purinas	
1	1,5	1	0,63	0,86
2	2	1	0,62	0,76
3	2,5	1	0,55	0,75
4 ad		1	0,50	0,41
2	1,5	2	0,60	0,57
3	2	2	0,47	0,67
4	2,5	2	0,66	0,60
1 ad		2	0,92	0,98
3	1,5	3	0,33	0,31
4	2	3	0,09	0,65
1	2,5	3	0,61	0,70
2 ad		3	0,56	0,63
4	1,5	4	0,51	0,54
1	2	4	0,67	0,77
2	2,5	4	0,40	0,54
3 ad		4	0,47	0,56

APÊNDICE H – Dados relativos ao cálculo de fluxo de nitrogênio microbiano (Nm) utilizando os derivados de purinas da urina. Ensaio 1.

Cálculo Derivados de Purinas - Azevém														
A	Trat	Per	Alanina/dia		Ac. úrico/dia		Der. Totais/dia							Nm (g/dia)
			mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol	X1	X2	X3	X4	X5	
1	1,5	1	576	3,6	135	0,8	711	4,4	5,3	4,7	4,7	4,7	4,7	3,4
2	2	1	756	4,8	112	0,7	868	5,5	6,5	6,1	6,1	6,1	6,1	4,4
4	2,5	1	1044	6,6	122	0,7	1166	7,3	8,7	8,5	8,5	8,5	8,5	6,2
3	ad	1	1353	8,6	174	1,0	1527	9,6	11,4	11,3	11,3	11,3	11,3	8,2
2	1,5	2	655	4,1	94	0,6	749	4,7	5,6	5,1	5,1	5,1	5,1	3,7
4	2	2	1128	7,1	103	0,6	1231	7,8	9,2	9,0	9,0	9,0	9,0	6,6
3	2,5	2	1111	7,0	117	0,7	1228	7,7	9,2	9,0	9,0	9,0	9,0	6,6
1	ad	2	2779	17,6	218	1,3	2998	18,9	22,5	22,5	22,5	22,5	22,5	16,3
3	1,5	3	482	3,1	97	0,6	579	3,6	4,3	3,6	3,6	3,6	3,6	2,6
1	2	3	419	2,7	109	0,6	528	3,3	3,9	3,2	3,2	3,2	3,2	2,4
2	2,5	3	108	0,7	63	0,4	171	1,1	1,3	-0,5	-0,8	-0,8	-0,8	-0,6
4	ad	3	1383	8,8	251	1,5	1634	10,2	12,2	12,1	12,1	12,1	12,1	8,8
4	1,5	4	1271	8,0	137	0,8	1408	8,9	10,5	10,4	10,4	10,4	10,4	7,6
3	2	4	1020	6,5	116	0,7	1136	7,1	8,5	8,3	8,3	8,3	8,3	6,0
1	2,5	4	1790	11,3	159	0,9	1949	12,3	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6	10,6
2	ad	4	2390	15,1	155	0,9	2546	16,1	19,1	19,1	19,1	19,1	19,1	13,9
5	1,5	1	292	1,8	104	0,6	396	2,5	2,9	1,7	1,7	1,7	1,7	1,2
6	2	1	356	2,3	120	0,7	477	3,0	3,5	2,4	2,3	2,3	2,3	1,7
7	2,5	1	735	4,7	112	0,7	846	5,3	6,3	5,9	5,9	5,9	5,9	4,3
8	ad	1	2032	12,9	217	1,3	2248	14,1	16,8	16,8	16,8	16,8	16,8	12,2
6	1,5	2	590	3,7	109	0,6	699	4,4	5,2	4,5	4,5	4,5	4,5	3,3
7	2	2	846	5,4	129	0,8	975	6,1	7,3	6,9	6,9	6,9	6,9	5,0
8	2,5	2	519	3,3	95	0,6	614	3,8	4,6	3,7	3,7	3,7	3,7	2,7
5	ad	2	2416	15,3	134	0,8	2551	16,1	19,2	19,1	19,1	19,1	19,1	13,9
7	1,5	3	986	6,2	138	0,8	1123	7,1	8,4	8,1	8,1	8,1	8,1	5,9
8	2	3	670	4,2	138	0,8	808	5,1	6,0	5,5	5,5	5,5	5,5	4,0
5	2,5	3	842	5,3	196	1,2	1038	6,5	7,7	7,4	7,4	7,4	7,4	5,4
6	ad	3	1846	11,7	147	0,9	1993	12,6	15,0	14,9	14,9	14,9	14,9	10,8
8	1,5	4	504	3,2	99	0,6	603	3,8	4,5	3,6	3,6	3,6	3,6	2,6
5	2	4	782	5,0	96	0,6	878	5,5	6,6	6,2	6,2	6,2	6,2	4,5
6	2,5	4	1016	6,4	116	0,7	1131	7,1	8,5	8,2	8,2	8,2	8,2	6,0
7	ad	4	2282	14,4	171	1,0	2454	15,5	18,4	18,4	18,4	18,4	18,4	13,4

APÊNDICE I – Dados relativos ao cálculo de fluxo de nitrogênio microbiano (Nm) utilizando os derivados de purinas da urina. Ensaio 2.

A	Trat	Per	Alanina/dia		Ác. úrico/dia		Der. Totais/ d		X1	X2	X3	X4	X5	Nm (g/ dia)
			mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol						
1	1,5	1	619,8	3,9	74,5	0,4	694	4,4	5,2	4,6	4,6	4,6	4,6	3,3
2	2,0	1	768,7	4,9	128,3	0,8	897	5,6	6,7	6,3	6,3	6,3	6,3	4,6
3	2,5	1	728,8	4,6	166,8	1	896	5,6	6,7	6,2	6,2	6,2	6,2	4,5
4	ad	1	760,8	4,8	126,4	0,8	887	5,6	6,6	6,2	6,2	6,2	6,2	4,5
5	1,5	2	449,5	2,8	91,3	0,5	541	3,4	4	3,1	3,1	3,1	3,1	2,2
6	2,0	2	278	1,8	108,6	0,6	387	2,4	2,9	1,2	1,1	1,1	1,1	0,8
7	2,5	2	707,6	4,5	115	0,7	823	5,2	6,1	5,7	5,7	5,7	5,7	4,1
8	ad	2	884,5	5,6	116,5	0,7	1001	6,3	7,5	7,2	7,2	7,2	7,2	5,2
9	1,5	3	494,8	3,1	139,7	0,8	634	4	4,7	3,8	3,8	3,8	3,8	2,8
10	2,0	3	270	1,7	62,2	0,4	332	2,1	2,5	1	0,8	0,8	0,8	0,6
11	2,5	3	384,4	2,4	91,8	0,5	476	3	3,5	2,6	2,6	2,6	2,6	1,9
12	ad	3	655,7	4,1	147,1	0,9	803	5	6	5,5	5,5	5,5	5,5	4
13	1,5	4	468,2	3	82,9	0,5	551	3,5	4,1	3,2	3,2	3,2	3,2	2,3
14	2,0	4	473,5	3	88,4	0,5	562	3,5	4,2	3,4	3,4	3,4	3,4	2,5
15	2,5	4	618,5	3,9	108,6	0,6	727	4,6	5,4	4,8	4,8	4,8	4,8	3,5
16	ad	4	1072	6,8	241,9	1,4	1314	8,2	9,8	9,6	9,6	9,6	9,6	7

APÊNDICE J – Produção total de urina. Ensaio 1 e 2.

Azevém				Cynodon (Ensaio 1)			
ANIMAL	TRAT	PER	NUg/dia	ANIMAL	TRAT	PER	NUg/dia
1	1,5	1	10,90	1	1,5	1	6,0
2	2	1	13,10	2	2	1	6,6
4	2,5	1	16,30	3	2,5	1	8,0
3 ad		1	20	4	ad	1	7,4
2	1,5	2	6,8	2	1,5	2	4,6
4	2	2	8,4	3	2	2	4,7
3	2,5	2	9,6	4	2,5	2	7,5
1 ad		2	14	1	ad	2	6,2
3	1,5	3	6,6	3	1,5	3	5,4
1	2	3	7,4	4	2	3	2,8
2	2,5	3	9	1	2,5	3	4,0
4 ad		3	16,4	2	ad	3	4,8
4	1,5	4	6,1	4	1,5	4	6,0
3	2	4	7,1	1	2	4	6,3
1	2,5	4	8	2	2,5	4	6,1
2 ad		4	10,8	3	ad	4	10,7
5	1,5	1	8,5				
6	2	1	12,3				
7	2,5	1	15,6				
8 ad		1	22,5				
6	1,5	2	10,5				
7	2	2	10,5				
8	2,5	2	15,6				
5 ad		2	14,6				
7	1,5	3	6,7				
8	2	3	9,9				
5	2,5	3	10,8				
6 ad		3	13,8				
8	1,5	4	5,8				
5	2	4	6,5				
6	2,5	4	8,2				
7 ad		4	12,6				