

Relação volumoso concentrado sobre as concentrações ruminais de amônia, pH e ácidos graxos voláteis em vacas leiteiras mestiças

Roughage/concentrate ratio on ruminal ammonia concentration, pH and volatile fatty acids in crossbred dairy cows

CHAPAVAL, Lea ¹; MELOTTI, Laércio ²; ROSSI JÚNIOR, Paulo ³; OLIVINDO, Cellyneude de Souza ⁴; REGO, João Paulo Arcelino ⁵

¹- Pesquisadora III, Embrapa Caprinos, Sobral-CE, Brasil.

²- Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Pirassununga-SP, Brasil.

³- Universidade Federal do Paraná, Departamento de Zootecnia, Curitiba-PR, Brasil.

⁴- Aluna de Mestrado, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

⁵- Estudante de Zootecnia, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral-CE, Brasil.

*Endereço para correspondência: lea@cnpq.embrapa.br

RESUMO

O objetivo com este trabalho foi avaliar o efeito da inclusão de níveis crescentes de concentrados nas rações, sobre as concentrações de amônia e pH ruminal e sobre as concentrações dos ácidos graxos voláteis no rúmen. Foram utilizadas doze fêmeas bovinas, não lactantes e não gestantes, dotadas de cânulas ruminais distribuídas em blocos casualizados. Estes animais foram alimentados *ad libitum* com feno Russel grass (*Cynodon sp*) e concentrados nas proporções de 25%, 50% ou 75% com base na matéria seca. O experimento constou de dois subperíodos experimentais com duração de 28 dias cada, sendo 23 dias de adaptação, e o 28º para a colheita de líquido ruminal (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas). Observou-se redução linear nas concentrações de N-NH₃ com o aumento dos níveis de concentrado; o pH reduziu linearmente em função dos tempos de coleta das amostras e dos níveis de concentrados nas rações. Não houve efeito significativo das proporções de concentrados sobre a concentração de AGVs totais, porém foi observado um efeito linear significativo sobre as relações acetato:propionato.

Palavras-chave: AGVs, amônia ruminal, fontes protéicas, níveis de concentrados, pH ruminal

SUMMARY

The objective with this study was to evaluate the effects of concentrate levels in ruminal ammonia concentration, pH and volatile fatty acids (VFA). Twelve caulated cows, no lactating and no pregnant, were randomly distributed in blocks. Cows were fed Russel grass (*Cynodon sp*) hay *ad libitum* and concentrate in the proportions of 25%, 50% and 75% of dry matter. Two experimental periods, which 23 days for diet adaptation, and the 28th day for rumen fluid sampling (0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 hours). Ruminal N-NH₃ concentration reduced by increasing the levels of concentrate in diets. Rumen pH reduced with sampling time and concentrate level. Total VFA concentration were not affected, but acetate:propionate ratio increased.

Keywords: concentrate level, protein sources, ruminal ammonia, ruminal pH, VFA

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, várias pesquisas foram realizadas com o objetivo de determinar a concentração ótima de nitrogênio amoniacal para que ocorra a máxima síntese de proteína microbiana. (GRUMMER et al., 1982).

Em sua maioria, as bactérias ruminais são capazes de utilizar amônia como fonte de nitrogênio para crescimento. Russel (1992) afirmou que as bactérias que atuam sobre os carboidratos fibrosos utilizam somente amônia como fonte de compostos nitrogenados e, aproximadamente 34% das bactérias que utilizam carboidratos não-fibrosos, usam amônia para crescimento.

Pouco se sabe sobre o efeito da concentração de amônia sobre a proteólise e a deaminação e, de acordo com Erfle et al., (1977), a fixação de amônia pelas bactérias pode variar com a sua concentração. Em 1974, Satter e Slyter observaram que a síntese de proteína microbiana atingia o máximo quando a concentração de amônia atingia de 2 a 5mg/100mL de líquido ruminal. Trabalhos realizados por Satter & Rofler em 1975 relataram o valor ótimo para a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen de 5mg/100mL. Já Okorie et al., (1977) encontraram que a concentração de nitrogênio amoniacal para máximo crescimento microbiano foi de 7mg/100mL. Podem-se observar valores divergentes para a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen citados na literatura. Contudo, a amônia somente será utilizada, eficientemente, quando a taxa de digestão da proteína for similar à dos carboidratos.

As oscilações cíclicas, ocorridas no pH ruminal, são reflexos das atividades metabólicas do rúmen ao longo do dia e variações ocorridas no pH são consideradas resultantes de mudanças na concentração de ácidos graxos voláteis, na quantidade de saliva produzida e na velocidade de absorção

dos produtos finais da fermentação (CHURCH, 1993).

O pH ruminal pode afetar a degradação da proteína em virtude das alterações ocorridas na atividade microbiana.

Mackie & Glichrist (1978), trabalhando com ovinos, observaram que o pH ruminal diminuiu quando se aumentou a quantidade de grãos na dieta em até 60,8%. Terry et al. (1969) encontraram que a degradação da celulose era marcadamente inibida em um pH igual a 6,0.

Todos os carboidratos, digeridos no rúmen, transformam-se em ácidos graxos voláteis (AGVs) que são a fonte de energia mais importante para o bovino: os principais são o acético (C2), o propiônico (C3) e o butírico (C4) e suas concentrações e porções relativas dependem da dieta (LUCCI, 1997).

Com dietas à base de forragem, o pH se mantém bastante estável devido à lenta digestão da fibra. As variações destas proporções com dietas à base de forragens são bruscas e não podem ser previstas. As mudanças que a taxa de fermentação sofre com dietas ricas em concentrados são mais fáceis de prever, pois a microflora é menos variada que nas dietas à base de forragem (CHURCH, 1993). Em geral, quando se diminui a proporção volumoso:concentrado, também diminui a proporção de acetato:propionato (ANNISON & ARMSTRONG, 1970). A proporção acetato:propionato é utilizada para comparar dietas e prever um valor nutritivo relativo. Em geral, quando na dieta se aumenta os níveis de celulose e hemicelulose em relação aos níveis de carboidratos solúveis e amidos, também se aumenta a proporção acetato:propionato. Dados de Murphy et al. (1982), demonstram que a produção de AGV a partir de um determinado substrato (amido, celulose, etc.) varia com a composição da dieta.

O presente trabalho teve como objetivo de se avaliar o efeito dos níveis de concentrados

nas rações sobre as concentrações de N-NH₃ e de AGVs e sobre o pH ruminal.

MATERIAL E MÉTODOS

Doze fêmeas bovinas mestiças holandesas x zebu, com grau de sangue variável, portadoras de cânulas ruminais com 10 cm de diâmetro e 7,5 cm de espessura, foram utilizadas. Os animais apresentavam-se não lactantes e não gestantes, possuindo aproximadamente 550 kg de peso vivo ao início do experimento.

Utilizaram-se as instalações do Estábulo Experimental da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga - USP. Estas consistiam basicamente de baias individuais com cochos de cimento, que permitiam avaliar o consumo de alimentos, e bebedouros automáticos comuns a cada dois animais. O piso era forrado com tapete de borracha e havia, ainda, a presença de ventiladores suspensos ao teto, que eram ligados nas horas mais quentes do dia. Os animais utilizados neste estudo foram mantidos de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, descrito pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (2004).

Utilizou-se delineamento em blocos casualizados em função dos tratamentos utilizados com dois diferentes períodos sucessivos, o primeiro de adaptação e o segundo de coleta, sendo os tratamentos em níveis crescentes de concentrado. Os tratamentos utilizados foram: A = 25%; B = 50%; e C = 75%. As dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas, com exceção da dieta 75:25 a qual apresentou maior teor de proteína bruta, sendo o concentrado constituído de milho em grãos, farelo de soja, farelo de algodão, farinha de peixe, farinha de sangue, farinha de carne, uréia e mistura mineral. O volumoso utilizado foi o feno Russel Grass (*Cynodon*

sp.), o qual teve os fardos desintegrados, resultando em fragmentos de aproximadamente 10 cm de comprimento. A ração foi fornecida em duas refeições, às 08h00min e 16h00min, sendo compostas as proporções volumoso:concentrado com base na matéria seca. A quantidade de ração fornecida foi calculada em função do consumo durante o período de adaptação, de forma que as sobras não ultrapassassem 15%. Durante o arração, o volumoso foi oferecido imediatamente após a ingestão de todo o concentrado. As rações foram pesadas em balança eletrônica com capacidade para 15kg e sensibilidade de 5g (Tabela 1).

As pesagens dos animais foram realizadas no início e final de cada sub-período e antes da primeira refeição do dia.

As amostras de conteúdo ruminal foram coletadas em três pontos diferentes correspondentes ao antro e saco ventrais anterior e posterior, através de uma bomba de vácuo. Foram retirados pelo menos 500 mL de conteúdo ruminal, que era devolvido ao pró-ventrículo, após a colheita das devidas alíquotas. As amostragens de AGVs, amônia e pH foram realizadas às 0h, 2h, 4h, 6h, 8h, 10h, 12h. A amostra referente à 0h foi realizada imediatamente antes que os animais recebessem a primeira refeição, as outras logo após o arração matinal, efetuado às 08h00min. A segunda refeição no dia da coleta foi oferecida somente às 20h00min, quando encerradas as amostragens.

Para determinação dos ácidos graxos voláteis no líquido ruminal, foram coletados aproximadamente 100 mL de líquido do rúmen e centrifugados a 3500 rpm por 15 minutos, 1 mL do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio e adicionando-se 0,2 mL de ácido fórmico P.A., arrolhado, identificado e armazenado em congelador a -20°C. Utilizou-se um cromatógrafo a gás (Modelo 9001 Gas Chromatograph, Marca Finnigan) equipado com coluna de vidro de

2 metros de comprimento e ¼ de polegada, empacotada com 80/120 CarbopackTM B-DA/4% Carbowax® 20M. Os gases utilizados foram o nitrogênio, como gás de arraste na vazão de 25 mL/minuto, oxigênio, como gás comburente na vazão de 175 mL/minuto, e hidrogênio, como gás combustível na vazão de 15 mL/minuto. As temperaturas utilizadas para operação foram do vaporizador 240°C, da coluna de

separação iniciou-se com 175°C aumentando 10°C por minuto até 205°C e detector de ionização de chamas 260°C.

Soluções padrão a 0,1 N de ácido acético, propiônico e butírico, foram preparadas e padronizadas com hidróxido de potássio (KOH) 0,1 N, a fim de produzir solução padrão de ácidos graxos voláteis de concentração conhecida.

Tabela 1. Proporção de ingredientes utilizados e composição bromatológica das rações, com base na matéria seca.

Ingredientes (%)	Proporção volumoso:concentrado		
	75:25	50:50	25:75
Feno	75,0	50,0	25,0
Milho moído	11,3	38,5	65,7
Farelo de soja	7,1	4,5	1,9
Uréia 45% N	0,6	0,8	1,0
Sal branco	0,5	0,5	0,5
Premix mineral	0,5	0,5	0,5
Calcareo	-	0,2	0,4
Protenose de milho	1,0	1,0	1,0
Farelo de algodão	1,0	1,0	1,0
Farinha de peixe	1,0	1,0	1,0
Farinha de carne	1,0	1,0	1,0
Farinha de sangue	1,0	1,0	1,0
Composição bromatológica			
	75:25	50:50	25:75
MS (%)	89,03	88,05	88,05
PB(%)	19,99	16,19	16,50
FDA (%)	35,78	27,54	18,25
FDN (%)	73,78	63,45	48,53
EE (%)	1,55	1,41	2,11
MM (%)	7,28	6,19	5,23
NDT estimado (%)	56,93	65,29	73,65
Ca (%)	0,63	0,62	0,59
P (%)	0,40	0,43	0,40

As determinações foram realizadas injetando-se 1,0 µL de amostra em cromatógrafo, integrado a um computador, que processava os cálculos de quantificação, utilizando-se do software BORWIN versão 1.21 para cromatografia. O número de repetições por amostra foi aquele necessário para que as diferenças entre leituras fossem inferior a 5%.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo, no Campus Administrativo de Pirassununga.

Imediatamente após a coleta, 100 mL de fluido ruminal foram utilizados para a determinação do pH em potenciômetro

digital portátil (marca HANNA modelo HI 8224), calibrados com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. Alíquotas de 2 mL de conteúdo ruminal foram colocadas em tubos de ensaios contendo 1 mL de solução de ácido sulfúrico 1 N e armazenadas sob refrigeração até a realização das análises.

A determinação do nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foi realizada por colorimetria, segundo método proposto por Kulasek (1972) e adaptado por Foldager (1977). Para a desproteinização, adicionou-se 1 mL de tungstato de sódio 10% aos tubos contendo a amostra fixada, centrifugando-se a 3.000 rpm por 15 minutos. Após pipetou-se 25 µL dos sobrenadantes que, colocados em tubos de ensaio, foram acrescidos de 5 mL de reagente fenol (50 mg de nitroprussiato de sódio e 10 g de cristais de fenol diluídos em 1 litro de água destilada) e 5 mL de reagente hipoclorito de sódio (10 g de hidróxido de sódio, 21,3 g de fosfato de sódio dibásico anidro e 25 mL de solução de hipoclorito de sódio 05% diluídos em 1 litro de água destilada). Os tubos foram arrolhados, agitados, e mantidos em banho-maria a 37°C por 15 minutos. Com auxílio de espectrofotômetro (marca Beijing Rayleigh AIC modelo VIS-7220) regulado em 630 nm foram feitas as leituras em absorbância, cujos valores foram utilizados para calcular as concentrações de nitrogênio amoniacal em mg/100 mL de líquido ruminal, através de equação de regressão linear obtida a partir de uma curva de calibração do aparelho com diferentes concentrações de solução padrão. Admitiu-se um R² mínimo de 0,99 para esta curva. O aparelho foi zerado com um tubo branco contendo soluções de tungstato de sódio 10%, solução de H₂SO₄ 01 N e água destilada, diluídos em reagente fenol e hipoclorito nas proporções para análise.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o sistema computacional SAS®. A normalidade dos resíduos foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias, pelo Teste de

Hartley. Os dados experimentais de pH, AGVs, NH₃, foram analisados utilizando-se o procedimento GLM.

RESULTADOS

Os valores de N-NH₃ ruminal nos diversos tempos de amostragem são mostrados no Figura 1. O efeito de tratamento foi significativo (P=0,0162). As equações de regressão mostram uma redução linear nas concentrações de N-NH₃ ruminal com o aumento dos níveis de volumoso nas dietas.

O efeito de tempo sobre a concentração de N-NH₃ ruminal foi significativo (P=0,0001). Nota-se um comportamento quadrático para a concentração de amônia em função do tempo de coleta. Estimou-se que para todas as dietas, a concentração máxima ocorreu por volta de 2,0 horas após a alimentação, cujos valores obtidos foram de 28,26; 30,89 e 31,22 mg/dl, respectivamente, para as rações contendo 25, 50 e 75% de volumoso.

Observou-se também, que os valores máximos obtidos foram menores para a dieta contendo mais concentrado o que sugere maior utilização de amônia para crescimento microbiano quando tal dieta foi utilizada (Figura 1). Os valores do pH ruminal obtidos nos diversos tempos de amostragem encontram-se no Figura 2. O pH variou entre 6,14 e 6,81 no presente estudo

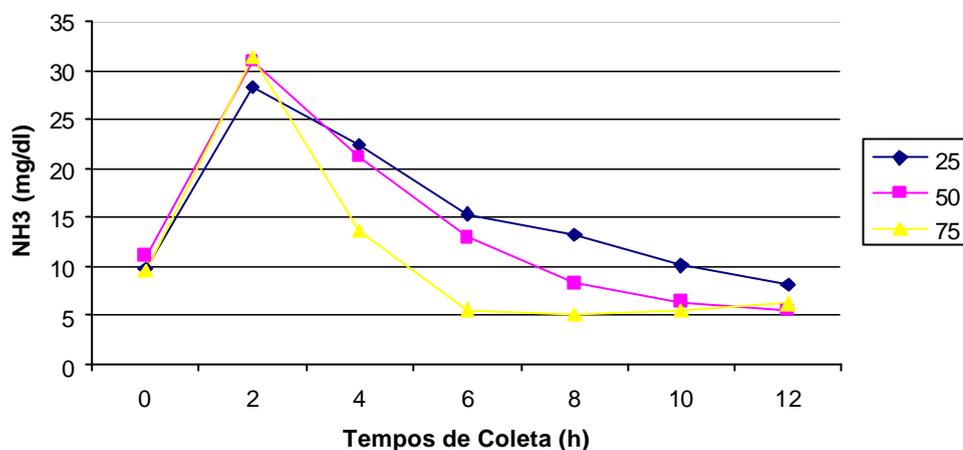


Figura 1. Concentrações ruminais de amônia (mg/dL), em diferentes tempos de amostragem, relacionadas com a proporção volumoso: concentrados da dieta (25:75, 50:50 e 75:25 de proporções volumoso: concentrados)

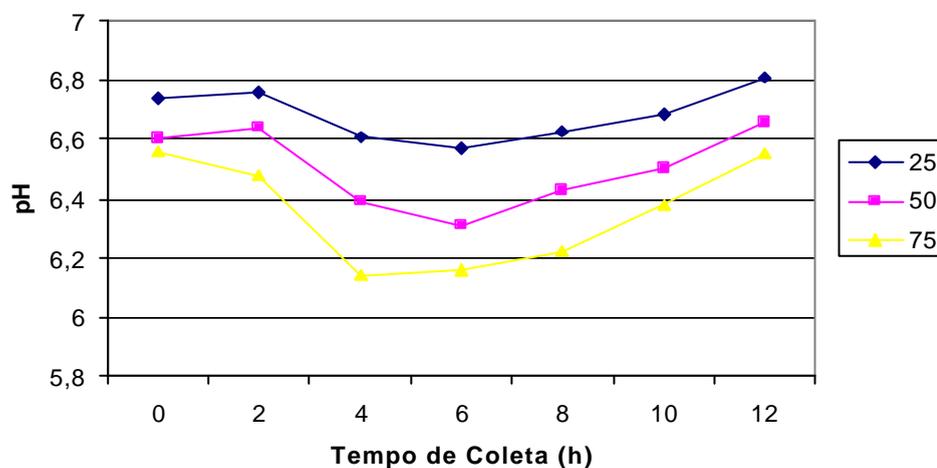


Figura 2. pH do líquido ruminal, em diferentes horas de amostragem, relacionadas com a proporção volumoso: concentrados da dieta e seus respectivos coeficientes de variação (25:75, 50:50 e 75:25 de proporções volumoso:concentrados)

O efeito da interação tempo x proporção volumoso:concentrados foi significativo ($P=0,0088$). Os valores totais de AGVs:

acetato, propionato e butirato ($C2 + C3 + C4$) e a relação acetato:propionato

encontram-se respectivamente nas Tabelas 2 e 3.

Não foram observados efeitos da proporção de concentrado na dieta sobre a soma dos AGVs (C2 + C3 + C4) dosados neste trabalho (P=0,2572), já que os coeficientes de variação podem ser considerados elevados (Tabela 2). Foi registrado somente efeito de tempo para este parâmetro (P=0,0001) que apresentou comportamento

cúbico, de forma que os AGVs atingiram os maiores valores seis horas após o fornecimento da primeira refeição.

Com relação ao tempo de amostragem, observa-se que as diferenças entre tratamentos para a relação acetato: propionato estão mais pronunciadas a partir das 8 horas após administrar a primeira refeição. (Tabela 3)

Tabela 2. Concentrações de AGVs totais (C2 + C3 + C4) no líquido ruminal (mMoL), em diferentes tempos de amostragem, relacionadas com a proporção volumoso:concentrados da dieta e seus respectivos coeficientes de variação

Horas	Tratamento			Média	C.V. (%)
	25	50	75		
0	65,23	69,98	70,71	68,64	20,74
2	64,14	67,65	69,75	67,18	20,63
4	64,48	75,04	72,97	70,83	19,14
6	66,58	75,73	76,68	73,0	19,68
8	61,87	69,5	74,42	68,59	17,18
10	61,96	67,66	70,54	66,72	15,76
12	52,89	57,91	58,73	56,51	22,02
Média	62,45	69,07	70,654	67,35	

Efeito de tratamento não significativo (P=0,2572)

Efeito de tempo significativo (P=0,0001)

Efeito de interação tratamento X tempo não significativo (P=0,9604)

Tabela 3 Relação acetato: propionato (com base na % molar) no líquido ruminal, em diferentes tempos de amostragem, relacionadas com a proporção volumoso:concentrados da dieta e seus respectivos coeficientes de variação

Horas	Tratamento			Média	C.V.(%)
	25	50	75		
0	6,00	5,01	3,09	4,70	31,38
2	5,83	4,96	2,98	4,59	31,98
4	5,94	4,64	2,86	4,48	34,45
6	5,81	4,35	2,65	4,27	35,35
8	5,94	4,45	2,87	4,42	34,52
10	6,09	4,58	2,80	4,49	35,15
12	6,64	5,07	3,64	5,12	29,46
Média	6,04	4,72	2,98	4,58	

Efeito de tratamento significativo (P=0,0001)

Efeito de tempo significativo (P=0,0001)

Efeito de interação tratamento X tempo não significativo (P=0,1286)

DISCUSSÃO

A redução na concentração de amônia ruminal com o aumento do nível de concentrado pode ser justificada pelo aumento na disponibilidade de energia (amido) ruminal que possibilita maior utilização da amônia para crescimento microbiano dessa maneira diminuindo seus níveis.

Os dados concordam com os resultados obtidos por Cameron et al. (1991) e Grigsby et al. (1993), que também observaram redução nas concentrações de N-NH₃ ruminal em animais alimentados com dietas contendo concentrados. Contudo Dutra (1996) e Kinser et al. (1988), utilizando dietas contendo baixos e altos teores de fibra, não observaram diferenças entre os tratamentos. Existe grande controvérsia em relação a concentração de N-NH₃ ruminal requerida para o máximo crescimento microbiano. Segundo Odle & Schaefer (1987), os requerimentos de N-NH₃ são considerados a concentração mínima necessária para manter a taxa de crescimento bacteriano máxima. Para Eardman et al. (1986), a concentração de N-NH₃ requerida para a máxima digestão não é constante, mas varia em função da fermentabilidade da dieta. Ainda com relação a concentração de N-NH₃ ruminal, os valores obtidos neste trabalho são superiores ao valor sugerido de 5,0 mg/dl por Satter & Slytter (1974), para máximo crescimento microbiano.

O aumento da proporção de concentrado na dieta causou um decréscimo (P=0,0103) do pH do líquido ruminal somente a partir das 2 horas depois de oferecida a refeição da manhã, estendendo-se pelo menos até 6 horas após o arraçoamento, conforme mostra o gráfico 2. Pode-se observar, através da equação de regressão, onde Y = valor de pH e x = % concentrados da dieta, um efeito de redução linear no pH com o aumento do

nível de concentrado nas dietas. Tais dados são compatíveis com os encontrados por outros autores (FULTON et al, 1979; BARRIO et al., 1985, 1986; POORE et al., 1990; KENNEDY & BUNTING, 1992; ZHAO et al., 1993) que detectaram queda do pH ruminal quando aumentaram a proporção de concentrados na matéria seca das dietas. O pH mostrou-se mais baixos nos animais que receberam 75% de concentrado (pH=6,14) do que nos animais que receberam 50% (pH=6,31) ou 25% (pH=6,57) de concentrado. O efeito de tempo de amostragem sobre o pH ruminal foi significativo (P=0,0001), mostrando um comportamento quadrático do pH, em função do tempo de coleta para cada nível de concentrado nas rações. Para o grupo recebendo 25% de concentrado, durante a 4^a e 10^a hora, o pH do líquido ruminal apresentou-se um pouco inferior ao valor de 6,7, discordando da recomendação de Mould et al. (1983) e Owens & Goetsch (1988), que afirmam que valores abaixo deste devem ocorrer apenas durante a 1^a e 4^a hora de amostragem ser ideal para não haver queda na taxa de degradação da fibra. Já para o grupo alimentado com 75% de concentrado este limiar foi ultrapassado já na 1^a hora e estendeu-se por todo período de amostragem. Os valores encontrados neste trabalho são superiores aos esperados para dietas contendo grandes quantidades de concentrados, 6,5 a 5,5 conforme citado por Owens & Goetsch (1988).

Segundo Ørskov (1986), o abaixamento do pH ruminal ocorre, principalmente, após a ingestão rápida de alimento, por causa de uma rápida taxa de fermentação. Relata ainda, que a alimentação com grãos de cereais moídos resulta em alguns problemas; dentre os quais, encontra-se a inadequada secreção de saliva para manter o pH entre 6 e 7 e a inadequada estrutura física para estimular a mobilidade ruminal. O pH do fluido ruminal varia entre 5,5 e 6,5, para

dietas concentradas, e de 6,2 a 7,0, para dietas constituídas exclusivamente de volumosos. O tempo após a alimentação, quando o pH é mais baixo, situa-se entre 0,5 a 4 horas e reflete o balanço entre as taxas de produção de ácidos graxos voláteis, o influxo de tampões ou bases do alimento (OWENS & GOETSCH, 1988).

A relação acetato:propionato encontrada neste experimento foi maior principalmente quando da utilização da dieta era predominantemente volumosa, pode ser explicada em virtude da baixa disponibilidade de carboidratos não estruturais no feno, enquanto que a relação era diminuída quando os níveis de concentrado na dieta era aumentado (FRANCE & SIDDON, 1993).

Os resultados encontrados no presente experimento discordam com autores (METHA & SRIVASTAVA, 1998; HOSAMANI et al., 1998; URBANIAK & PRZYBECKI, 1995) que observaram uma diminuição da concentração total de AGVs na medida em que houve aumento de concentrado na dieta. Archimed et al. (1996), porém não observou nenhum efeito na concentração total de AGVs quando houve aumento de concentrado da dieta. Archimed et al. (1996), Tewatia et al. (1997), Urbaniak & Przybecki (1995) observaram uma diminuição na proporção molar de acetato quando houve inclusão de concentrado na alimentação de cabras, o que concorda com os resultados deste trabalho.

CONCLUSÕES

O efeito da inclusão de níveis crescentes de concentrados nas rações, sobre as concentrações de amônia e pH ruminal e sobre as concentrações dos ácidos graxos voláteis no rúmen foram influenciados pela inclusão de concentrados na dieta de fêmeas bovinas, não lactantes e não gestantes,

mestiças holandesa x zebu, com grau de sangue variável.

REFERÊNCIAS

- ANNISON, E. F.; ARMSTRONG, D. G. **Physiology of digestion and metabolism in the ruminant**. England: Oriel Press, 1970. 422p.
- ARCHIMED, H.; SAUVANT, D.; HERVIEU, J.; TERMOIS, F.; PONCET, C. Effects of the nature of roughage end concentrate and their proportion on ruminal characteristics of non lactating goats, consequences on digestive interacion. **Animal Feed Science and Technology**, v.58, p.267, 1996.
- BARRIO, J. R.; GOETSCH, A. L.; OWENS, F. N. Soluble nutrients in protein supplements and *in situ* disappearance. **Canadian Journal of Animal Science**, v.65, p.667, 1985.
- BARRIO, J. R.; GOETSCH, A. L.; OWENS, F. N. Effect of dietary concentrate on *in situ* dry matter and nitrogen disappearance of a variety of feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.2, p.420, 1986.
- CAMERON, M. R.; KLUSMEYER, T. H.; LYNCH, G. L. Effect of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.1321, 1991.
- CHURCH, D.C. **El rumiante: fisiologia digestiva y nutricion**. Metabolismo de la proteína en lo ruminantes. Zaragoza: ACRIBIA, 1993. p.255-258.
- CONSEA. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Disponível em: <<http://www.cobea.org.br/etica.htm#3>>. Acesso em: 25 nov. 2004.
- DUTRA, A.R. **Efeitos dos níveis de fibra e de fontes de proteínas sobre a digestão dos nutrientes e síntese de compostos nitrogenados microbianos em novilhos**. 1996.

118f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ERFLE, J. D.; SAUER, F. D.; MAHADEVAN, S. Effect of ammonia concentration on activity on enzymes of ammonia assimilation and synthesis of amino acids by mixed rumen bacteria in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v.60, p.1064-1069, 1977.

EARDMAN, R. A.; PROCTOR, G. H.; VANDERSALL, J. H. Effect of rumen ammonia concentration on "in situ" rate and extent of digestion of feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2312, 1986.

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

FRANCE, J.; SIDDON, R. C. Volatile fatty acid production. In: FORBES, J.M. J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Cambridge: Cambridge University Press, 1993. p.107- 121.

FULTON, W. R.; KLOPFENSTEIN, J. J.; BRITON, A. Adaptation to high concentrate diets by beef cattle. II. Effect of ruminal pH alteration on rumen fermentation and voluntary intake of wheat diets. **Journal of Animal Science**, v.49, p.785, 1979.

GRUMMER, R. R.; CLARCK, J. H.; DAVIS, C. L.; MURPHY, M.R. Effects of ruminal ammonia-nitrogen concentration on protein degradation in situ. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.2294-2299, 1982.

GRIGSBY, K. N.; KERLEY, M. S.; PARTERSON, J. A. Combination of starch and digestible fiber in supplements for steers consuming a low-quality bromegrass hay diet. **Journal Animal Science**, v.71, p.57, 1993.

HOSAMANI, S. V.; MEHRA, U. R.; DAN, R. S. Effect of different planes of nutrition on urea molasses, mineral block intake, nutrient utilization, rumen fermentation pattern and blood

profile in murrah buffaloes. **Animal Feed Science and Technology**, v.76, p.117, 1998.

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

KINSER, A. R.; FAHEY, G. C.; BERGER JUNIOR, L. L. Low quality roughages in high-concentrate pelleted diets for sheep: digestion and metabolism of nitrogen and energy as affected by dietary fiber concentration. **Journal of Animal Science**, v.66, p.487, 1988.

KENNEDY, D. W.; BUNTING, L. D. Effects of starch on rumen fermentation and detergent fibre digestion in lambs fed bermudagrass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.36, n.1-2, p.91, 1992.

LUCCHI, C. S. **Nutrição e manejo de bovinos leiteiros**. São Paulo: Manole, 1997. p.169.

MURPHY, M. R.; BALDWIN, R. L.; KOONG, L. J. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.55, p.411, 1982.

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

MACKIE, R. I.; GILCHRIST, F. M. C. Microbiological and chemical changes in the rumen during the stepwise adaptation of sheep to high concentrate diets. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.39, p.43, 1994.

METHA, M. K.; SRIVASTAVA, A. In vitro evaluation of formaldehyde treated barley grain. **Indian Journal of Animal Science**, v.15, p.163, 1998.

OKORIE, A.V.; BUTLERY, P. J.; LEWIS, D. Ammonia concentration and protein synthesis in

the rumen. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v.36, p.38, 1977.

ODLE, J.E.; SCHAEFER, D. M. Influence of rumen ammonia concentration on the rumen degradation rates of barley and maize. **British Journal of Nutrition**, v.57, p.127, 1987.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. Englewood cliffs. O& Books Inc., 1988. p.146.

ØRSKOV, E.V. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1624, 1986.

POORE, M. H.; MOORE, J. A.; SWINGLE, R. S. Differential passage rates and digestion of neutral detergent fiber from grain and forages in 30, 60 and 90% concentrate diets fed to steers. **Journal of Animal Science**, v.68, n.9, p.2965, 1990.

RUSSEL, J. B. Minimização das perdas de nitrogênio pelos ruminantes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 1992. Lavras, Minas Gerais. **Anais...** Lavras, Minas Gerais, 1992. 232p.

SATTER, S.D.; SLYTER, L.L. Effects of ammonia concentration on rumen microbial protein production "in vitro". **British Journal of Nutrition**, v.32, p.199, 1974.

SATTER, S. D.; ROFFLER, R. E. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.1219-1223, 1975.

TERRY, R. A.; TILLEY, J. M. A.; OUTEN, G. E. Effect of pH on cellulose digestion under in vitro conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.20, p.317, 1969.

TEWATIA, B. S.; KHATTA, V. K.; VIRK, A. S.; GUPTA, P. C. Use of mulberry leaves (*Morus alba* L.) as natural protein protectant in ration of growing buffalo calves. **Indian Journal of Dairy Science**, v.50, p.457, 1997.

URBANIAK, M.; PRZYBECKI, T. Effect of dehydrated alfalfa on ruminal characteristics and amino acids flow through lambs' duodenum. **Animal Feed Science and Technology**, v.54, p.121, 1995.

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

Data de recebimento: 15/08/2007

Data de aprovação: 25/01/2008