

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Teresa Cristina Alves

**Efeitos de diferentes níveis de milho em grãos moídos  
(relação proteína:carboidratos não estruturais) em dietas  
para búfalos sobre o metabolismo no rúmen**

Teresa Cristina Alves

**Efeitos de diferentes níveis de milho em grãos moídos  
(relação proteína:carboidratos não estruturais) em dietas  
para búfalos sobre o metabolismo no rúmen**

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

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Raul Franzolin Neto

FICHA CATALOGRÁFICA

preparada pela

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

A474e	<p>Alves, Teresa Cristina</p> <p>Efeitos de diferentes níveis de milho em grão moídos (relação proteína:carboidratos não estruturais) em dietas para búfalos sobre o metabolismo no rúmen / Teresa Cristina Alves – Pirassununga, 2006.</p> <p>84 f..</p> <p>Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo.</p> <p>Departamento de Zootecnia.</p> <p>Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Raulo Franzolin Neto.</p> <p>Unitermos: 1. Bubalinos 2. Carboidratos não estruturais 3. Proteína 4. Ácidos graxos voláteis 5. Metabolismo ruminal 6. Búfalos. I. Título.</p>
-------	---

*Aos meus pais, João Batista e Zilda Luiza,  
Que sempre acreditaram e investiram em seus filhos.  
Por todo amor, confiança, dedicação, amizade e incentivo.  
Pelas palavras de conforto, advertências e lições de vida.*

*Aos meus irmãos Ana Carolina e João Paulo  
Pelo apoio e companheirismo em todos os momentos.*

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu pai, João Batista, pela colaboração na produção da dissertação, disposição e paciência em sanar minhas dúvidas em qualquer dia e a qualquer hora.

Ao Prof. Dr. Raul Franzolin Neto pela orientação, confiança e execução de análises laboratoriais.

À minha irmã Ana Carolina pela amizade, paciência, auxílio e ensinamentos, principalmente, durante essa fase de minha vida.

Aos funcionários Manoel dos Santos e Ricardo Galeni pela amizade, disposição e principalmente pelo auxílio na condução do experimento. E aos demais funcionários que de alguma forma participaram da execução do experimento.

Às estagiárias Daflin e Laura pela colaboração na condução do experimento e nas análises laboratoriais.

Ao funcionário Raphael do Laboratório de Proteína pela amizade, apoio e auxílio na execução das análises laboratoriais.

Às funcionárias Roseli e Rosilda do Laboratório de Bromatologia, pelo apoio na execução das análises laboratoriais.

Aos funcionários Marcos Ferraz e Anderson do Laboratório de Solos pelo auxílio em algumas análises laboratoriais.

Aos meus familiares pelo apoio e incentivo no alcance de mais essa conquista. Em especial a minha prima Renata pela amizade, companheirismo, pelos bons momentos compartilhados e principalmente pelo apoio nos momentos de dificuldade, e aos seus filhos Ana Julia e Matheus que só trazem alegria á minha vida.

Ao meu namorado Thiago pelo incentivo, companheirismo e amizade.

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

Aos colegas de pós-graduação pela amizade e incentivo.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

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

*Muito Obrigada!*

## RESUMO

ALVES, T.C. **Efeitos de diferentes níveis de milho em grãos moídos (relação proteína:carboidratos não estruturais) em dietas para búfalos sobre o metabolismo no rúmen.** 2007. 84f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.

As funções metabólicas dos bubalinos ainda não estão bem descritas, como em outros ruminantes e há carência de informação sobre o comportamento digestivo. A sincronização da degradação ruminal de proteína e amido propõe incrementar a produção de proteína microbiana no rúmen e a eficiência de utilização de energia, uma vez que as bactérias ruminais necessitam destes dois elementos disponíveis simultaneamente. Quatro búfalos fistulados no rúmen foram utilizados com objetivo avaliar os efeitos de dietas com diferentes níveis de milho em grãos moídos (0, 22, 37 e 49% na MS) em substituição ao feno de *coast-cross*, com ênfase na relação proteína:carboidratos não estruturais (1,02; 0,39; 0,30; 0,26), sobre o metabolismo ruminal. Os seguintes parâmetros foram avaliados: ingestão de matéria seca (IMS); degradabilidade da matéria seca e fibra em detergente neutro do feno de *coast-cross* e da matéria seca e proteína bruta do milho em grãos moído; concentração de amônia; produção de ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico); taxa de passagem de líquido; volume ruminal e pH no rúmen. Os animais foram delineados em Quadrado Latino (4x4). Houve aumento linear na IMS com aumento de milho em grãos na dieta. Foram observadas diferenças no metabolismo ruminal envolvendo a produção de ácidos graxos voláteis, pH, taxa de passagem do líquido ruminal e volume do rúmen entre os tratamentos e pouca influência dos tratamentos na produção de amônia e na cinética de degradabilidade ruminal. Os resultados permitiram concluir que, no geral, os bubalinos apresentam boa capacidade tamponante no rúmen com ligeira queda do pH com aumento da ingestão de milho em grãos moídos e que provavelmente os microrganismos ruminais dos búfalos têm boa capacidade em se adaptar a ambientes ruminais com diferentes relações PB:CNE.

Palavras-chave: bubalinos; proteína; carboidratos não estruturais; ácidos graxos voláteis; búfalos

## ABSTRACT

ALVES, T.C. **Effect of different levels ground grain corn (relation protein:no structural carbohydrates) in buffalo diets on the rumen metabolism** 2007. 84f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.

The metabolic functions of the buffaloes not yet are well described, as in other ruminants and have information lack on the digestive behavior. The synchronization of the ruminal degradation of protein and starch considers to increase the rumen microbial protein production and the efficiency of energy use, since the rumen bacteria needs of these two available elements simultaneously. Four rumen fistulated buffalos were used with objective to evaluate the effect of diets with different levels of ground grain corn (0, 22, 37 and 49% in the DM) in substitution to the coast-cross hay, with emphasis in the relation protein:no structural carbohydrates (1,02; 0,39; 0,30; 0,26) on the ruminal metabolism. The following parameters had been evaluated: dry matter intake (DMI); DM and NDF degradability of DM and NDF of the coast-cross hay and DM and CP of the ground grain corn; ammonia concentration; production of volatile fatty acids (acetic, propionic and butyric); outflow rate; ruminal volume and rumen pH. The animals were delineated in Latin Square (4x4) experiment. There was linear increase in the DMI with increasing level ground grain corn in the diet. Differences in the ruminal metabolism were observed involving the production of acid VFA, pH, liquid outflow rate and rumen volume among the treatments and small influence of the treatments in the ammonia production and the kinetic of ruminal degradability were observed. The results had allowed to conclude that, in the general, the buffaloes present good rumen buffering capacity with light fall of pH with increasing of the ingestion ground grain corn and that probably the microorganisms in the rumen of the buffalos have good capacity to adapt in the environments with different relations CP:NSC.

Keywords: buffaloes; protein; no structural carbohydrates; volatile fatty acids; buffalos



## SUMÁRIO

RESUMO .....	5
ABSTRACT .....	6
1 INTRODUÇÃO .....	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 Proteína .....	11
2.2 Carboidratos.....	14
2.2.1 Carboidratos não Estruturais (CNE).....	16
2.2.2 Carboidratos Estruturais (CE) .....	20
2.3 Relação Proteína:Carboidrato .....	21
2.4 Consumo de Matéria Seca .....	27
2.5 Ácidos Graxos Voláteis, Concentração de Amônia e pH no Rúmen.....	29
2.6 Degradabilidade ruminal .....	32
2.7 Dinâmica Ruminal e Digestibilidade .....	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	37
3.1 Animais e Local de Experimentação.....	37
3.2 Tratamentos e Manejo Alimentar.....	37
3.3 Degradabilidade <i>in situ</i> .....	39
3.4 Taxa de Passagem de Líquidos .....	40
3.5 Determinação de Ácidos Graxos Voláteis .....	41
3.6 Determinação de Nitrogênio Amoniacal .....	42
3.7 Determinação de pH Ruminal.....	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	43
4.1 Ingestão de Matéria Seca.....	43
4.2 Degradabilidade Ruminal.....	47

4.3 pH do Conteúdo Ruminal.....	53
4.4 Concentração de Amônia no Líquido Ruminal .....	55
4.5 Ácidos Graxos Voláteis.....	57
4.6 Dinâmica Ruminal.....	63
5 CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	68

# 1 INTRODUÇÃO

As funções metabólicas que envolvem o sistema digestivo dos bubalinos ainda não estão bem definidas, como em outros ruminantes, principalmente envolvendo a fermentação, digestão, população microbiana e dinâmica no rúmen. Segundo Terramoccia et al. (2000), a relação entre a taxa de degradação ruminal e a taxa de passagem constante de sólidos no rúmen ainda não estão bem definidas para búfalos e as referências utilizadas são as encontradas para outros ruminantes. De acordo com Bartocci et al. (1997) os búfalos retêm por maior tempo a digesta no rúmen-retículo, quando comparado aos bovinos, embora via de regra o tempo de retenção da ingesta no trato digestivo de búfalos seja menor, devido ao menor tempo de permanência no intestino. Diferenças na flora microbiana nas duas espécies animais (PUPPO; GRANDONI, 1994; PUPPO et al. 1999) e nas contrações ruminais, sendo mais intensa em búfalos que nos bovinos (KENNEDY et al., 1992) pode ter influência na degradação ruminal da proteína e de carboidratos.

A digestão de alimentos é um processo extremamente complexo envolvendo microrganismos, enzimas e ações dinâmicas. A proteína da dieta é catabolizada por bactérias e protozoários no rúmen em aminoácidos e amônia que são produtos finais utilizados para síntese de proteína microbiana. Já os carboidratos são fermentados em ácidos graxos voláteis que são usados na produção de energia e a eficiência do crescimento microbial depende da qualidade da energia no rúmen. Os microrganismos são digeridos no abomaso e intestino delgado e os aminoácidos absorvidos são utilizados na produção de proteína pelo organismo ruminante.

A degradabilidade ruminal da proteína e de outros nutrientes tem sido um dos mais significantes parâmetros em sistemas de avaliação de alimentos para ruminantes, tendo em vista a necessidade de suprir adequadamente a demanda microbiana por nitrogênio e energia, evitando perdas de N na forma de amônia ou de energia na forma de metano. Estudos da degradação ruminal em búfalos ainda são muito limitados, em relação aos produzidos em bovinos e ovinos.

A produtividade animal pode ser melhorada com aumento na fonte de carboidratos não estruturais (CNE) que aumenta a relação de glicogenese:lipogenese, produção de ácidos graxos voláteis e reduz a concentração da amônia no rúmen, aumentando a eficiência da utilização do nitrogênio e da

energia. Assim, suplementos alimentares para ruminantes que contêm altas concentrações de CNE promovem freqüentemente melhora na ingestão e digestão de forragens de baixa qualidade. Efeitos na digestão e no desempenho de ruminantes sugerem que respostas à suplementação com CNE podem ser dependentes de níveis de suplementação de proteína degradável no rúmen.

Desta forma, a técnica de sincronização da degradação ruminal de proteína e amido propõe incrementar a produção de proteína microbiana no rúmen e a eficiência de utilização de energia, pois as bactérias ruminais necessitam destes dois elementos disponíveis simultaneamente. O estudo das melhores combinações entre fontes de carboidratos e proteínas degradáveis no rúmen é de grande relevância em nutrição de ruminantes.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes níveis de milho em grãos moídos, com ênfase na relação proteína:carboidratos não estruturais, em dietas para búfalos sobre o metabolismo ruminal.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Proteína

O conhecimento do processo digestivo da proteína nos ruminantes é de suma importância para o entendimento e avaliação das necessidades protéicas desses animais. A síntese e degradação da proteína, que ocorrem no rúmen, alteram qualitativa e quantitativamente os compostos nitrogenados utilizados pelo animal.

Segundo Santos et al. (1998), a proteína ingerida pelo ruminante pode passar para o abomaso sem sofrer ação dos microorganismos ou ser degradada no rúmen, onde as ligações peptídicas são hidrolisadas (proteólise) e os peptídeos e aminoácidos liberados são utilizados para a síntese de proteína microbiana (PM) ou deaminados, produzindo amônia e ácidos graxos voláteis (AGV).

A extensão da degradação protéica pode variar de acordo com os ingredientes da dieta e é dependente do tempo de retenção no rúmen, o qual é menor com a redução do tamanho das partículas. A taxa de degradação intrínseca de cada alimento também pode se alterar com os métodos de processamento, como peletização, extrusão, laminação, floculação e tostagem (CLARK et al., 1992).

Por muitos anos, a proteína bruta (PB) foi o principal termo usado para determinação das exigências protéicas na formulação de dietas para ruminantes, devido, principalmente, à falta de informações e dados sobre a degradabilidade ruminal, o balanço de aminoácidos, tanto das fontes protéicas como da exigência dos animais. A proteína microbiana sintetizada no rúmen é de excelente qualidade, o que permite complementar em muitos casos, as deficiências das fontes alimentares de proteína que escapam à degradação ruminal.

Não apenas a quantidade de proteína microbiana e de proteína alimentar que escapa a fermentação ruminal é importante, mas também a qualidade desta última, a qual pode ter grande impacto na nutrição protéica em vacas e búfalas de alta produção. O balanço de aminoácidos essenciais (AAE) na proteína que chega ao intestino é tão importante quanto a quantidade desta proteína para que se possa

maximizar o desempenho, já que a exigência do animal é em aminoácidos absorvidos e não em PB (SCHWAB, 1994; HUBER; SANTOS, 1996).

Segundo o NRC (1996) a quantidade de nitrogênio que chega ao intestino delgado (ID) é influenciada principalmente pela ingestão de energia fermentável, e é a somatória da combinação entre proteína microbiana (PMic), proteína não degradável no rúmen (PNDR) e proteína endógena, apesar desta última não ser considerada nos cálculos. A composição de aminoácidos destas fontes e a proporção de cada uma delas na proteína total que chega ao intestino determinam a quantidade e o perfil de aminoácidos passíveis de serem absorvidos. O conjunto de aminoácidos provenientes da digestão e absorvidos no intestino delgado compõe o que se denomina proteína metabolizável.

Segundo o NRC (1985), uma porção da proteína ingerida pelo animal pode chegar ao omaso sem sofrer a ação dos microrganismos ruminais, a qual é definida como proteína não degradável no rúmen (PNDR). A fração que sofre catabolismo ruminal, chamada de proteína degradável no rúmen (PDR), tem suas ligações peptídicas quebradas, formando peptídeos e aminoácidos. Estes últimos podem ainda sofrer deaminação, ao final do qual são liberados amônia (NH<sub>3</sub>) e alfa-cetoácidos. É importante ressaltar que inúmeras variáveis contribuem para a extensão de degradação da proteína no rúmen. A princípio, o que determinará essa extensão de degradação é o perfil da proteína que compõe esse alimento, o tipo de processamento aplicado sobre ele e o tempo de retenção no rúmen.

O NRC (2001) define que o alimento possui sua porção nitrogenada dividida em três frações, “a”, “b” e “c”, identificadas e estimadas através da técnica *in situ*. O método é capaz de estimar também a taxa de degradação (c) da fração “b”. A fração “a” representa o nitrogênio não protéico (NNP), a proteína rapidamente solúvel e a proteína presente em partículas de alimentos menores que a porosidade dos sacos de náilon. A fração “b” corresponde a fração protéica potencialmente degradável (que se degrada ou não no rúmen), e é dependente da taxa de degradação e da taxa de passagem (Kp). Assim, da degradação da proteína bruta (PB), tem-se:

$$PDR = a + \frac{b \cdot c}{c + Kp}$$

$$\text{PNDR} = 1 - \text{PDR}$$

Pode-se concluir, portanto, que a PNDR é composta por parte da fração “b” que atinge o omaso sem sofrer modificações pelos microrganismos ruminais.

Argyle e Baldwin et al. (1989) sugeriram dividir a exigência de PDR em exigência de amônia e em proteína verdadeiramente degradável (PVD). Somente a PVD, proveniente de alimentos ou de origem endógena, pode proporcionar aminoácidos e peptídeos que permitem aumentar o crescimento microbiano. A PVD também é importante para a produção de AGVs de cadeia ramificada, podendo ainda ser convertida em amônia, porém em taxa mais sincronizada com a energia disponível no rúmen, quando comparado com fontes de NNP tradicionais, como a uréia (RUSSEL ; SNIFFEN, 1984).

Owens e Zinn (1988) relatam que os microrganismos ruminais geralmente contém entre 40 e 60% de sua MS na forma de PB com as bactérias possuindo em média 50% ( $\pm 5\%$ ) e os protozoários em torno de 40% ( $\pm 20\%$ ). Para as bactérias, a fonte de nitrogênio (N) para a síntese protéica pode ser oriunda da proteína da dieta ou de nitrogênio não protéico (dietético ou proveniente da reciclagem), ao passo que os protozoários não utilizam o NNP como fonte de nitrogênio.

As principais fontes de N para o crescimento microbiano são peptídeos, aminoácidos e amônia, estando todos disponíveis entre uma e duas horas após alimentação, declinando em seguida até a próxima alimentação (HOOVER; STOKES, 1991). Desta forma, a disponibilidade de proteína (percentual na matéria seca e fonte) pode ter um significativo efeito na fermentação ruminal e síntese microbiana, pois segundo Russell et al. (1992), as bactérias ruminais necessitam de amônia, aminoácidos e peptídeos para o máximo crescimento. A amônia é utilizada como fonte preferencial de nitrogênio pelas bactérias fermentadoras de fibra (HUNGATE, 1966). As que fermentam amido, açúcares e subprodutos secundários da fermentação para a síntese protéica também exigem amônia, porém têm suas sínteses aumentadas quando há disponibilidade de peptídeos e aminoácidos por microrganismos ou pode ser oriunda diretamente de NNP.

A quantidade de N-amoniaco no fluido ruminal necessária para maximizar a síntese de proteína microbiana tem sido bastante pesquisada. O que parece existir de fato é que nível ótimo de nitrogênio amoniaco ruminal varia de acordo com a disponibilidade de carboidratos fermentáveis no rúmen (GABARRA, 2001).

No rúmen as bactérias necessitam de fonte de nitrogênio, energia, minerais, vitaminas e outros nutrientes para crescer. Contudo, nitrogênio e energia são exigidos em quantidades maiores e exercem maior influência no crescimento bacteriano. Quando a proteína é degradada mais rapidamente do que é disponibilizada a fonte de energia, ocorre desacoplamento da fermentação, aumentando a concentração de amônia ruminal, que é absorvida pela parede do rúmen, mas a maior proporção é excretada na urina. Norlan (1975) notificou em seus estudos que mais de 25% da proteína de origem alimentar é perdida na forma de amônia ruminal.

Contrariamente, quando grande quantidade de energia é degradada, ultrapassando a velocidade de degradação da proteína, o crescimento microbiano e a eficiência digestiva decrescem. Isto é caracterizado pela fermentação incompleta, onde os microorganismos, deficientes em nitrogênio, desviam ATP para o acúmulo de carboidrato e não para a síntese de proteína microbiana (NOCEK; RUSSELL, 1988).

Russell e Hespell (1981) e Cameron et al. (1991) observaram que a síntese de proteína microbiana e o crescimento microbiano dependem de quantidades adequadas de energia e nitrogênio, que devem estar disponíveis de forma sincronizada no fluido ruminal.

## **2.2 Carboidratos**

Os carboidratos são os principais constituintes das plantas forrageiras, correspondendo a 50 a 80% da MS das forragens e cereais. As características nutritivas dos carboidratos das forragens dependem dos açúcares que os compõem, das ligações entre eles estabelecidas e de outros fatores de natureza físico-química. Assim, os carboidratos das plantas podem ser agrupados em duas grandes categorias conforme a sua menor ou maior degradabilidade, em estruturais e não estruturais, respectivamente (VAN SOEST, 1994), conforme pode-se observar no esquema apresentado na Figura 1.



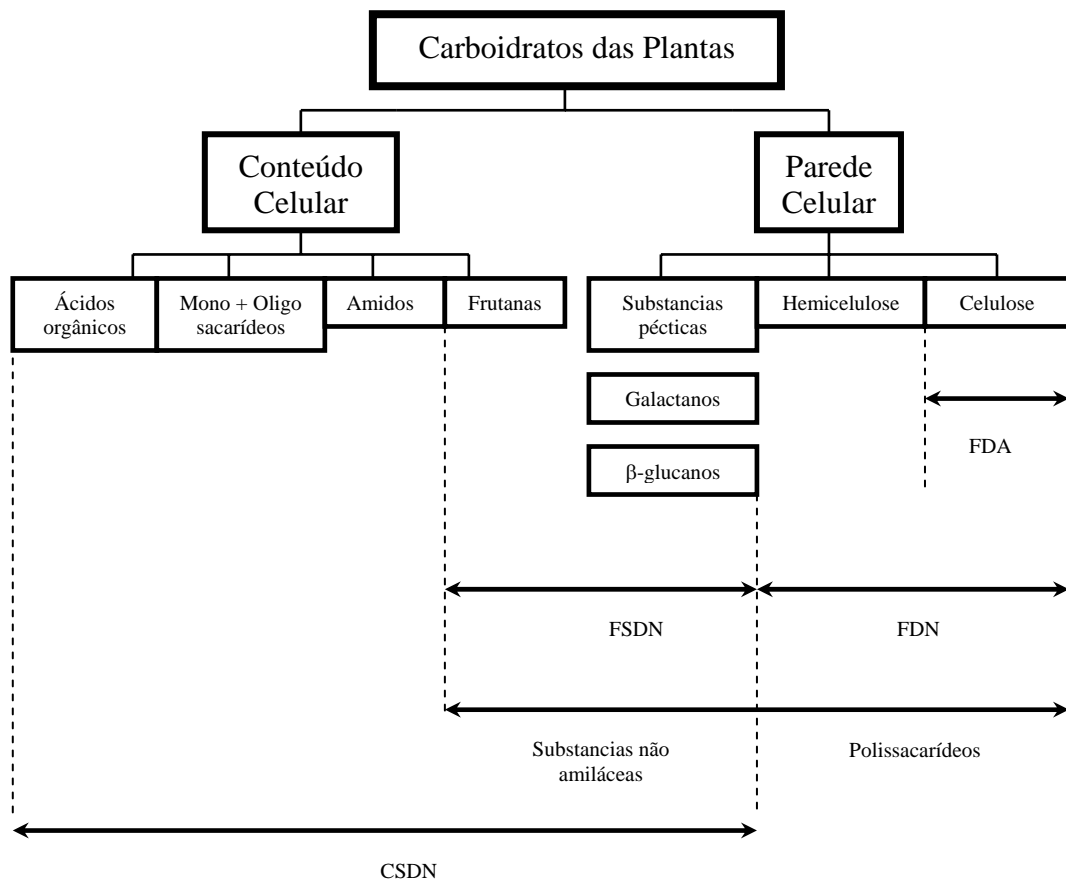


Figura 1 - Carboidratos das plantas. FDA = Fibra em detergente ácido, FDN = fibra em detergente neutro, CSDN = carboidratos solúveis em detergente neutro, FSDN = fibra solúvel em detergente neutro, Açúcares = mono e oligossacarídeos. Lignina em FDA e FDN não está incluída porque ela não é um carboidrato (Adaptado de Hall, 2001)

Entre os carboidratos não estruturais incluem os carboidratos encontrados no conteúdo celular tais como os mais simples (glicose e frutose) e os carboidratos de reserva das plantas, como o amido, a sacarose e as frutanas.

Nos carboidratos estruturais encontram-se os da parede celular das plantas representados principalmente pela pectina, hemicelulose e celulose, que são normalmente os mais importantes na determinação da qualidade nutritiva das forragens (VAN SOEST, 1994).

### 2.2.1 Carboidratos não Estruturais (CNE)

Desde o século XIX, os carboidratos que não fibra bruta ou fibra solúvel em detergente neutro (FSDN) têm sido calculados ou estimados por diferença. Estes carboidratos foram chamados de extrativos não nitrogenados (ENN e mais recentemente carboidratos não estruturais). Os CNE continuam a ser calculados, preferentemente, que analisados diretamente, devido aos vários tipos de carboidratos incluídos nesta fração (Figura 2)

A falta de métodos ou problemas com ensaio para carboidratos individuais torna impraticável a medida individual de CNE e a soma dos componentes. O conteúdo de CNE dos alimentos pode ser calculado baseado nas porcentagens de nutrientes subtraídos de 100% de MS (SNIFFEN et al. 1992)

$$\text{CNE\%} = 100\% - (\text{PB\%} + \text{FDN\%} + \text{EE\%} + \text{Cinzas\%})$$

$$\text{CNE\%} = 100\% - [\text{PB\%} + (\text{FDN\%} - \text{PBF DN\%}) + \text{EE\%} + \text{Cinzas\%}]$$

Onde: PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo, FDN = fibra em detergente neutro e PBF DN = proteína bruta insolúvel em detergente neutro.

Segundo Hall (2001), embora a primeira equação seja mais comumente usada, a segunda equação é preferida, porque ela corrige a FDN para proteína bruta (PBF DN) e evita que se subtraia a PBF DN duas vezes. Efetivamente, a fração CNE inclui quaisquer carboidratos solúveis em detergente neutro.

A fração de carboidratos dos alimentos mais prontamente digestível carece ainda de um sistema satisfatório de classificação, embora eles representem a principal fonte de energia produzida pelos componentes dos alimentos. A falta de uma definição adequada é em parte uma função da diversidade da fração química bem como a falta de pesquisa básica na especificidade de suas características nutritivas. Os carboidratos não estruturais são aqueles carboidratos não inclusos na matriz da parede celular e não são recuperados na fração de FDN, formados de açúcares, amido, ácidos orgânicos e outros carboidratos de reserva como frutanas (TEIXEIRA, 2001).

Segundo Hall (2001), um ponto fraco do cálculo do CNE é que ele coloca todos os carboidratos solúveis em detergente neutro em um único “pool”. Este grupo, nutricionalmente diverso, inclui tanto carboidratos estruturais (parede celular), como carboidratos não estruturais (conteúdos celulares) e carboidratos fibrosos e não fibrosos. A fibra, neste caso é definida, nutricionalmente, como carboidrato não digestível por enzimas de mamíferos. As únicas ligações de carboidratos que as enzimas de mamíferos hidrolisam são aquelas na sacarose, amido e lactose, deixando todos os outros carboidratos polimerizados indigestíveis, exceto por microorganismos.

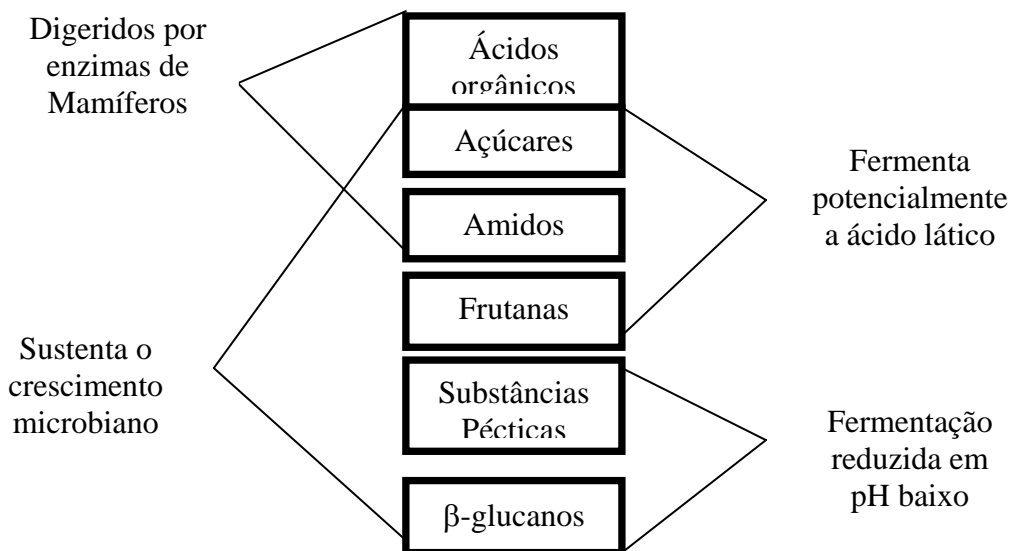


Figura 2 - Características nutricionais de carboidratos solúveis em fibra em detergente neutro (adaptado de Hall, 2001)

De acordo com Hall (1999), taxas de fermentação típica das frações de carboidratos solúveis em detergente neutro são: ácidos orgânicos, ainda não claramente definidos, mas em alguns casos considerada como 0%; açúcares, de 80 a 350%/h; amido de 4 a 30%/h; fibra solúvel em detergente neutro, de 20 a 40%/h. segundo a pesquisadora, a casca de soja apresenta uma taxa de degradação da FSDN de 4%/h.

O amido é o principal componente de muitos grãos de cereais, representa 45 a 80% da composição dos mesmos e está presente nas raízes e nos tubérculos. É um polissacarídeo heterogêneo, composto de dois polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina (FRENCH, 1973; GUILBOT; MERCIER, 1985). Estes polímeros de

glicose são, em parte, responsáveis pelas diferentes taxas de digestão do amido (Zeoula et al., 1998).

A maioria das forragens contém pequena quantidade de amido com exceção de silagens de grãos, de milho (10 a 20% de MS). A degradação ruminal do amido é extremamente variável, da ordem de 40 a 90%, dependendo de fonte, processamento e outros fatores (Teixeira, 2001).

A digestibilidade do amido no trato digestivo de bovinos pode ser aumentada através da proteína suplementar (RUST et al., 1979; VIEIRA et al., 1980). Alcade (1997) revisando a literatura, concluiu que não se conhece quantitativamente a real existência de uma fração solúvel do amido. Segundo Van Soest (1994), o amido tem alta digestibilidade, todavia a extensão da digestão do amido no rúmen pode ser influenciada pelos seguintes fatores: endosperma (córneo versus farináceo), processamento do grão, nível de ingestão do amido, interação proteína e amido, integridade celular pela presença de inibidores. Rooney e Pflugfelder (1986) afirmaram que existem grandes variações na digestibilidade do amido de diferentes alimentos. Em geral, o amido presente nos cereais é mais facilmente digerido que os das raízes e tubérculos, enquanto o amido de leguminosa apresenta digestibilidade intermediária.

Quando o carboidrato não estrutural é incluído na suplementação, fornece energia e esqueletos de carbono para suportar a síntese de proteína microbiana no rúmen (SAUER et al., 1975). Por outro lado, muitos estudos têm demonstrado diminuição da digestão de matéria seca e ingestão de forragem de menor qualidade associada à suplementação com carboidratos não estruturais (RITTENHOUSE et al., 1970; DEL CURTO et al., 1990; OLSON et al., 1999).

Na suplementação de ruminantes que consomem forragens de baixa qualidade com alimentos que contêm altas concentrações de CNE rapidamente digestíveis geralmente se tem observado diminuição na digestão da fibra da forragem (CHASE; HIBBERD, 1987; DEL CURTO et al., 1990; SASON et al., 1990). Resultados de pesquisas *in vivo* (MOULD ; ORSKOV, 1983; MOULD et al., 1983) e *in vitro* (STEWART, 1977; GRANT; MERTENS, 1992; GRANT, 1994) sugerem a acidificação ruminal pela fermentação de CNE particularmente quando o pH ruminal fica entre 6,0 – 6,2, sendo este o primeiro fator responsável pela depressão da digestão da fibra causada pelos CNE (FONDEVILA et al., 2002). Entretanto, outros estudos têm demonstrado que a suplementação com CNE em dietas a base de

fornagens pode ser associada com a diminuição equilibrada da digestão de fibras quando os valores de pH ruminal seja aceitáveis (PIWONKA and FIRKINS, 1993; BODINE et al., 2000; KLEVESAHL et al., 2003).

O tipo de suplementação de carboidratos fornecidos em conjunto com a forragem pode ser o fator de maior impacto na digestão da fibra (HELDT et al., 1999 a, b; FONDEVILA et al., 2002). Os interesses particulares a serem considerados são os relativos impactos na digestão de fibra com açúcares versus amido. Trabalhos *in vivo* indicam que a suplementação com amido tem maiores efeitos negativos na digestão das fibras das forragens que os açúcares simples, em condições adequadas de degradabilidade de proteína ruminal (HELDT et al., 1999 a); Arroquy et al. 2002 obtiveram resultados semelhantes. Estes mesmos autores, em 2005 verificaram que o pH e os efeitos específicos de CNE podem ter um papel de depressores potenciais da digestão da fibra quando fontes de CNE altamente digestíveis são inseridas na dieta de ruminantes que consomem forragem de baixa qualidade (HELDT et al., 1999).

Em relação ao milho, qualquer forma de processamento sobre o grão inteiro, seja através de moagem fina (grau de processamento considerado intermediário) ou através da floculação (um dos mais intensos graus de processamento), é capaz de aumentar a degradabilidade ruminal do amido desse cereal.

A discussão quanto ao efeito de diferentes fontes e formas de processamento de grãos de cereais alterando o local de degradação do amido no trato digestivo sobre o desempenho de bovinos tanto de leite como de corte tem sido intensa nas últimas duas décadas. Em 1986, a “American Animal Science Association” realizou um simpósio para discutir o assunto. Pontos de vista polêmicos e conflitantes foram lançados. Owens et al. (1986) discutiram com muita propriedade fatores limitantes à ingestão intestinal do amido e sugeriram que, em termos energéticos, seria mais interessante para os ruminantes que o amido dos grãos de cereais fossem digeridos preferencialmente no intestino delgado, em detrimento a digestão ruminal. Alguns anos depois, Nocek e Tammiga (1991), após intensa revisão sobre o uso de fontes de amido para vacas leiteiras, também reforçaram a proposta de Owens et al. (1986), porém afirmaram não terem encontrado subsídios na literatura que mostrassem melhores desempenhos em vacas leiteiras alimentadas com fontes de amido de menor degradação ruminal, em comparação às fontes mais degradáveis.

Contrastando com a proposta de Owens et al. (1986), no mesmo simpósio, Theurer (1986) mostrou que o amido de grão de cereais era melhor utilizado por ruminantes quando o material era processado de forma a obter aumentos em sua degradabilidade ruminal e que fontes de amido mais degradáveis no rúmen também apresentavam maior digestibilidade no trato digestivo total.

### **2.2.2 Carboidratos Estruturais (CE)**

A natureza e a concentração dos carboidratos estruturais da parede celular são os principais determinantes da qualidade dos alimentos volumosos, especialmente de forragens. A parede celular pode constituir de 30 a 80 % da MS da planta forrageira, onde se concentram os carboidratos como a celulose, a hemicelulose e a pectina. Além disto, podem constituir a parede celular componentes químicos de natureza diversa dos carboidratos, tais como o tanino, nitrogênio, lignina, sílica e outros. A lignina constitui um polímero fenólico que se associa aos carboidratos estruturais, celulose e hemicelulose, durante o processo de formação da parede celular, alterando significativamente a digestibilidade destes carboidratos das forragens (NORTON, 1982).

Com o avançar da maturidade da forrageira, observa-se aumento nos teores de carboidratos estruturais e redução nos carboidratos de reserva, o que depende, em grande parte, das proporções de caule e folha. Isso se reflete na digestibilidade da forragem, que declina de maneira especialmente mais drástica para as gramíneas do que para as leguminosas (REIS; RODRIGUES, 1993).

A população de microrganismos ruminais é influenciada pela quantidade de fibra na dieta. Em bubalinos, as concentrações de *Entodinium* e do total de protozoários no conteúdo ruminal aumentaram até o nível de 66% de FDN, ocorrendo grande redução com 72% de FDN na dieta. Porém, nos bovinos houve diminuições com a elevação dos níveis de FDN nas rações. As dietas com níveis crescentes de FDN afetaram mais a população de ciliados no conteúdo ruminal dos bovinos que dos bubalinos, apesar de haver redução do número total e de quase todos os gêneros de protozoários ciliados com nível alto de FDN em ambas espécies de ruminantes (FRANZOLIN et al. 2002). Isto foi observado na revisão de

Jouany (1989), o qual citou que, em dietas à base de volumosos comparadas com concentrados, o número de protozoários é geralmente menor e que os protozoários maiores da subfamília Diplodiniinae e do gênero *Epidinium* são os mais freqüentemente encontrados.

### **2.3 Relação Proteína:Carboidrato**

Segundo Cameron et al. (1991) a síntese de proteína microbiana e o crescimento microbiano dependem de uma adequada quantidade de energia e N para a síntese e assimilação de aminoácidos. Um sincronismo entre a degradação ruminal da proteína e carboidratos da dieta é necessária para um ótimo crescimento microbiano e síntese protéica (RUSSEL; HESPEI, 1981). A deficiência em fontes de N (amônia, AA e peptídeos) pode limitar a síntese de proteína microbiana e o crescimento dos microrganismos, principalmente quando dietas contendo uma alta concentração de PNDR são fornecidas (NOCEK; RUSSEL, 1988).

Os principais fatores que afetam o crescimento e eficiência das bactérias ruminais são a energia e a proteína, como foco primário de atenção. Entretanto, dois outros fatores também afetam a fermentação ruminal, de maneira significativa: 1) pH ruminal, o qual estando abaixo de 6,2 pode deprimir o crescimento de microrganismos ruminais, principalmente bactérias celulolíticas e metanogênicas; 2) taxa de passagem, pois a eficiência de crescimento de células microbianas aumenta à medida que aumenta a taxa de diluição e as altas taxas de renovação selecionam espécies bacterianas com taxas mais rápidas de crescimento e provocam a lavagem das espécies com taxas menores de crescimento, aumentando a eficiência microbiana e, podendo até diminuir a extensão da digestão ruminal. Esses fatores, por sua vez, dependem do nível de consumo do animal, sistema de alimentação, tamanho de partícula, qualidade e proporção da forragem e tipo de processamento dos carboidratos dos alimentos (CLARK et al.1992; HUBER et al, 1994; OWENS, 1986; VAN SOEST, 1994).

Segundo Devant et al. (2001), em dietas com baixa proteína e alto teor de concentrado, a baixa disponibilidade de nitrogênio para os microrganismos, limita a síntese de proteína microbiana e a digestão de nutrientes. Neste caso, fontes ricas em PDR seriam mais adequadas para serem suplementadas, permitindo um

aumento da síntese de proteína microbiana, a qual é uma fonte muito bem balanceada em aminoácidos essenciais, sendo superior a qualquer suplemento protéico comercial usados para dietas de bovinos.

Perry e Cecava (1995) observaram que em dietas com alta proporção de alimentos concentrados à base de milho, a suplementação com altos níveis de PNDR reduziu o desempenho animal quando comparada à suplementação com farelo de soja. Isto ocorre devido à diminuição da concentração de nitrogênio amoniacal, de aminoácidos e peptídeos no rúmen, limitando a síntese microbiana. Segundo os mesmos autores, dietas suplementadas com fontes ricas em PNDR não possibilitam aumento consistente no fluxo de aminoácidos para o intestino delgado e não refletem aumentos significativos nas taxas de crescimento e eficiência alimentar.

São poucos os trabalhos que têm a finalidade de estudar as conseqüências das diferentes taxas de degradação dos carboidratos (WIDYOBROTO, 1992; MOULD et al., 1993) ou da combinação da taxa de degradação sincronizada ou não da fração nitrogenada e de carboidratos dos alimentos (HERRERA-SALDANHA et al., 1990; SINCLAIR et al., 1993; MUÑOZ et al., 1995), sobre o processo digestivo. Quando cordeiros receberam infusão duodenal de 200g de amido/dia e foram alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína e proteína não degradável, a digestão de amido aumentou linearmente (CASTLBURY e PRESTON, 1993). Isto sugere que a digestão pós-ruminal de amido pode ser melhorada quando o suprimento de proteína para o duodeno aumenta.

Em ovinos, a infusão abomasal de caseína melhorou a secreção de amilase pelo pâncreas (MAGEE, 1961). Johnson et al. (1997) observaram que ratos alimentados com dietas ricas em amido, a secreção de amilase aumentou quando quantidades adequadas de proteína de alta qualidade foram supridas. Quando a proteína foi substituída por amido, na dieta de ratos, a atividade específica da amilase pancreática diminuiu (BRANNON, 1990). Nocek e Tamminga (1991) sugeriram que, se a síntese e secreção de amilase pancreática fossem aumentadas pelo fluxo de uma maior quantidade de proteína ao duodeno, a digestão de amido no intestino delgado poderia ser aumentada. Streeter e Mathis (1995) utilizaram níveis crescentes de farinha de peixe como fonte de proteína de escape ruminal na dieta de bovinos e não encontraram relação entre a digestão de amido no intestino delgado e o fluxo de nitrogênio para o duodeno.



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

Utilizando rações com fonte de carboidratos de lenta (milho) e rápida (cevada) degradação ruminal na alimentação de vacas holandesas em início de lactação, McCarthy et al. (1989) verificaram que as rações compostas de milho propiciaram maiores consumos de MS, MO e amido. Entretanto, as rações com cevada foram mais extensivamente degradadas no rúmen, propiciando mais energia para o crescimento microbiano. Ovinos alimentados com dietas sincronizadas e não-sincronizadas, quanto a liberação de nitrogênio e energia no rúmen, apresentaram produção de proteína microbiana (g N/Kg MO verdadeiramente fermentável), respectivamente, 27 e 13%, maior com dieta sincronizada (SINCLAIR et al., 1993). Esses mesmos autores verificaram que o valor mínimo de pH no líquido ruminal ocorreu duas horas e 30 minutos após a alimentação, sendo este valor similar para os animais alimentados com dietas sincronizadas e não-sincronizadas. A dieta sincronizada tendeu à maior liberação de nitrogênio, não provocando elevação da concentração de amônia no rúmen. McCarthy et al. (1989) verificaram que o pico de concentração de amônia no líquido ruminal ocorreu, aproximadamente, duas horas após a alimentação. Dietas com fontes de amido de lenta degradação e N de rápida degradação ruminal, fornecidas para vacas holandesas no início da lactação, proporcionaram maiores concentrações de amônia ruminal que dietas com amido de rápida e nitrogênio de lenta degradação ruminal.

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

Heldt et al. (1999a) sugeriram que a magnitude dos efeitos negativos com a suplementação de CNE na utilização de forragens de baixa qualidade pode depender do tipo de CNE e o nível da proteína degradável no rúmen (PDR). Eles observaram que nos menores níveis na suplementação de PDR, todos os tipos de CNE mostraram efeitos negativos na digestão da fibra. Entretanto, em altos níveis de suplementação PDR, a glicose teve menor efeito negativo na digestão da fibra que o amido. Em contraste, pesquisas anteriores (MILLS et al., 1944; BELASCO, 1956; HELMER; BARTLEY, 1971) sugeriram que NNP é mais eficientemente utilizado quando fornecido junto com amido que com açúcares, embora Jonhson (1976) evidenciou essas diferenças no uso de NNP entre fontes de CNE.

Já é sabido que a eficiência da síntese de proteína microbiana requer um balanço no suplemento de nitrogênio não protéico, aminoácido, amônia e de energia (BEEVER, 1993). Infelizmente, isso não ocorre com forragens tradicionais. Peptídeos e amônia de proteína solúvel das folhas são rapidamente liberados pela ação das proteases microbianas (KINGSTON-SMIT; THEODOROU, 2000). Por outro lado, a fonte de energia rapidamente disponível (CSA) tende a ser limitada e os microorganismos têm que utilizar os CE na célula (celulose e hemicelulose) os quais são quebrados em uma taxa muito mais lenta. Conseqüentemente, o resultado é menos amônia no rúmen e redução na eficiência da síntese de proteína microbiana. O aumento na fonte da energia prontamente disponível pode melhorar este contrapeso, com melhoria na eficiência da síntese de proteína microbiana que reduz desse modo, a perda do nitrogênio do rúmen. Isso pode ser explicado pelos maiores níveis de desempenho em animais que se alimentaram com gramíneas com altos níveis de CSA (MAC RAE et al., 1985). Entretanto, há controvérsia a respeito de se o contrapeso da energia e da liberação do nitrogênio dentro do rúmen pode afetar a eficiência da síntese microbiana da proteína. Em estudos com vaca leiteira, Herrera-Saldana et al. (1989), concluíram que o balanço de frações prontamente degradável do amido e da proteína em dietas estimulou um fluxo microbiano maior da proteína do que em dietas desequilibradas. Outros trabalhos, entretanto, têm mostrado somente efeito marginal ou nenhum efeito *in vivo* (HENDERSON et al., 1998; WITT et al., 2000). *In vitro*, Newbold e Rust (1992) observaram que o desbalanço versus o balanço na fonte de quantidades fixas de substratos da proteína e da energia não teve nenhum efeito durável no crescimento bacteriano. Esses resultados estão de acordo com os de Henning et al. (1991) que

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

O interesse particular nos carboidratos não estruturais é devido a predominância de diferentes tipos de CNE (ex: amido, açúcares) na energia densa de ingredientes (ex: grãos de cereais, melaço) que comumente servem de base para muitos suplementos de ruminantes. Certamente, suplementos alimentares para ruminantes que contém altas concentrações de CNE promovem freqüentemente melhora na ingestão e digestão de forragens de baixa qualidade (CHASE ; HIBBERD, 1987; DEL CURTO et al., 1990; SANSON et al., 1990). Efeitos na digestão (OLSON et al., 1999; BODINE et al., 2000) e no desempenho de ruminantes (HENNESSY et al., 1983; BODINE; PURVIS, 2003) sugerem que respostas à suplementação com CNE podem ser dependentes de níveis de suplementação de PDR.

Um aumento na fonte de CSA (carboidratos solúveis em água) aumenta a relação de glicogenese:lipogenese, AGV e reduz concentrações da amônia. Isto indica um potencial para a melhora da produtividade animal em dietas com elevados níveis de CSA e forragens, com um aumento na eficiência da utilização do nitrogênio e da energia em consequência das concentrações reduzidas da amônia do rúmen e da natureza da energia que produz AGVs absorvido do rúmen (LEE, 2003).

A eficiência da produção animal é freqüentemente limitada pela utilização de energia, e não pelo fornecimento de proteína, embora esse último possa alterar o consumo de alimento e, desta forma, alterar a eficiência de produção (OWENS; ZINN, 1988). Herrera–Saldana e Huber (1989) observaram que a sincronização entre proteína e energia degradável foi benéfica em termo de crescimento das células microbianas, digestibilidade ruminal, e utilização de proteína e energia na produção de leite.

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

Russell et al. (1983) concluíram que a disponibilidade de carboidrato reduziu o acúmulo de amônia no rúmen quando avaliaram o efeito da limitação de carboidratos na degradação e utilização da caseína pelas bactérias ruminais.

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

Fontes de amido de alta degradabilidade ruminal podem favorecer o uso de fontes protéicas ricas em proteína degradável no rúmen (PDR), como farelo de soja, em função da melhor sincronização da degradação ruminal entre CNE e proteína.

Singh et al. (2005) fornecendo duas dietas para búfalos, uma com concentrado e outra apenas com volumoso observaram maior contagem bacteriana na dieta que continha concentrado, e a predominância eram cocos gram positivos, imóveis e capsulados, enquanto que na dieta com volumoso predominavam cocos gram negativos imóveis e capsulados.

Kamra et al. (2003) trabalhando com vários níveis de volumoso:concentrado (80:20, 70:30, 60:40 e 50:50 palha:trigo) concentrado em búfalos observaram um aumento da degradabilidade, do pH e da concentração de nitrogênio amoniacal ruminal quando aumentou da quantidade de concentrado na ração e não observaram diferença significativa entre as concentrações de ácidos graxos voláteis no rúmen.

Puppo (2002), comparando bubalinos e bovinos alimentados com diferentes níveis de volumoso:concentrado observou maior contagem total de microrganismos nos bubalinos e a diferença entre a contagem bacteriana entre as dietas foram observadas somente para os búfalos. Os bovinos apresentaram maiores valores para a digestibilidade da matéria orgânica (M.O), FDN e celulose, sendo a digestibilidade da proteína semelhante.

Terramoccia et al. (2000) comparando alimentação com vários níveis forragem:concentrado em três espécies: bovinos, bubalinos e ovinos verificaram maior taxa de passagem de sólidos em bovinos, ovinos e bubalinos, respectivamente. No que diz respeito a proteína bruta e a proteína livre na MS ruminal os valores mais baixos foram obtidos com bovinos, seguidos com ovinos e

bubalinos. Os mesmos autores, ainda relataram taxa de passagem média com uso do marcador Co-EDTA fecal maior para os bubalinos, seguidos de ovinos e por último os bovinos.

Bartocci, 1997 comparando quatro dietas com diferentes níveis de volumoso:concentrado (87,5:12,5; 75:25; 62,5:37,5; 50:50) obteve-se os seguintes resultados: Taxa de passagem de sólidos usando cromo marcado 2,8; 2,42; 2,39; 2,24, respectivamente e taxa de passagem do fluido marcado com Co 7,95; 7,44; 6,43; 6,12.

## 2.4 Consumo de Matéria Seca

O consumo voluntário diz respeito a ingestão *ad libitum* de um alimento e sua determinação é influenciada por fatores como variação animal, aceitabilidade, capacidade de seleção, forma física, níveis de proteína e fibra bruta e densidade energética. Sem dúvida, o maior determinante no consumo é a qualidade do alimento ou dieta total, mas o consumo voluntário pode variar também em função do animal, sua demanda energética e mesmo sua individualidade (MATOS, 1992).

O máximo consumo de forragem pelo ruminante depende das taxas de desaparecimento de celulose e hemicelulose, no rúmen. Estas taxas dependem de vários fatores que interferem na atividade da flora microbiana do rúmen, como: estágio de maturação das forrageiras, ausência de nutrientes para a microflora como nitrogênio ou minerais e a presença, de agentes bacteriostáticos (THIAGO, 1984). Em forragens de baixa taxa inicial de ingestão, a distensão ruminal parece ser o fator mais importante limitando o consumo (ocorrendo antes que as necessidades energéticas do animal sejam atendidas), mas com forragens de alta taxa de digestão (leguminosa ou silagem) o consumo parece estar mais relacionado com a liberação de nutrientes no rúmen, ao invés do simples efeito físico de distensão ruminal (THIAGO; GILL, 1990).

O volume ruminal limita o consumo de dietas com alta proporção de forragens. Entretanto, este volume não traduz a completa ação ruminal, porque sólidos e líquidos ainda que misturados no rúmen continuamente, possuem taxas diferentes de passagem e desaparecimento. Ambos, volume e taxa de passagem

devem ser combinados para determinar a quantidade de material que pode ser ingerido diariamente (CHURCH, 1993).

Taparia e Sharma (1980) observaram que o consumo de matéria seca (MS) pelos búfalos variou em relação ao teor de energia de sua dieta, mas que na maioria dos casos é controlada pelo conteúdo de fibra. O consumo diário de MS em novilhas búfalas pesando entre 220 a 246 kg foi de 75,8, 62,1, 67,5 e 55,8 g MS/kg<sup>0,75</sup> quando os alimentos da dieta consistiam de milho e parte aérea de milho picada (stover); palha de trigo e trevo egípcio; feno de leguminosa curado ao sol (Berseem) e feno de soja perene curado ao sol, respectivamente. Os consumos diários de MS para animais pesando entre 246 a 269 kg foram 81,6, 78,0, 84,1 e 56,3 g MS/kg<sup>0,75</sup>, para dietas contendo milho e silagem de milho; feno de gramíneas e feno curado ao sol de (*Apluda mutica* e *Chloris bartata*), sorgo e parte aérea de sorgo; milheto e parte aérea (stover), respectivamente. Para os búfalos pesando de 290 a 340 kg, as ingestões de matéria seca foram 68,7, 62,4 e 53,1 g MS/kg<sup>0,75</sup>, para os mesmos alimentos, respectivamente. Sendo assim, os autores concluíram que o tipo de forragem fornecida, na forma picada ou peletizada às novilhas influenciam o consumo voluntário e que a composição química, digestibilidade, taxa de passagem e a apetibilidade contribuem para as diferenças no consumo.

Kurar e Mudgal (1981), trabalhando com búfalas secas e não prenhes, com peso entre 392 e 520 kg verificaram que o consumo de matéria seca não foi afetado por nenhum dos três níveis de proteína estudados. As médias diárias de IMS foram 67,67; 67,08 e 67,22 g MS/kg<sup>0,75</sup> para dietas de baixa, média e alta proteína, respectivamente. O consumo de MS foi, no entanto, significativamente influenciado pelos níveis de energia das dietas, sendo para os níveis de baixo, médio e alta energia de: 57,17; 67,09 e 78,33 g MS/kg<sup>0,75</sup>, respectivamente, e de 1,24%; 1,47% e 1,71% do peso vivo, respectivamente.

Taparia e Sharma (1980) alimentando novilhas Murrah não prenhes pesando de 170 a 2760 kg com dietas mistas por 84 dias constaram que o consumo diário de MS/kg<sup>0,75</sup> variou de 62,2 a 88,5 g.

Yoelao et al. (1970) verificaram ingestão de MS de 102, 63 e 79 g para alfafa fresca e trevo, feno de trevo egípcio e feno de leguminosa curado ao sol, respectivamente, em novilhas búfalas.

Arora et al. (1978) observaram consumo de MS diária de 87,2 g/kg<sup>0,75</sup> para búfalos jovens da raça Murrah, alimentados com uma mistura de concentrado,

palha de trigo e forragem verde “*ad libitum*” várias vezes ao dia. Baseando-se em uma equação, foi calculada a ingestão de matéria seca (IMS) diária, no intervalo de 81,40 a 93,84 g/kg<sup>0,75</sup> por animal com peso entre 70 e 220 kg. O consumo médio diário de MS, baseado em bezerros de 140 a 150 kg, foi 87,83 g/kg<sup>0,75</sup>.

Lorenzoni et al. (1986) observaram consumo médio de 2,5% PV de matéria seca para búfalos ao passo que Sangwan *et al.* (1987), testando quatro rações com diferentes fontes de fibra em animais fistulados, verificaram que o consumo de MS em kg para cada 100 kg de PV em búfalos foi de 1,65 kg. Em experimento conduzido por Kennedy et al. (1992) com búfalos de pântano, os autores verificaram consumo de 18,0 g MS/kg PV/dia.

Os efeitos da suplementação protéica foram estudados por Raj Kumar et al. (1993), utilizando búfalos com peso médio de 538 kg. O consumo total de MS variou de 7,49 a 9,00 kg/dia, e 1,40 a 1,69 kg/100 kg PV ou 65 a 81 g/kg<sup>0,75</sup>.

Utilizando níveis crescentes de FDN nas rações, Resende (1994) verificou que a ingestão de MS por peso metabólico e em percentual do PV aumentou linearmente, à medida que diminuiu o nível de FDN da ração. Concluiu que a ingestão ótima de FDN deve estar abaixo de 1,22% do peso vivo.

Em trabalho de desempenho em confinamento, Velloso et al. (1994) verificaram em búfalos Mediterrâneo ingestão de matéria seca de 2,06 kg por 100 kg de PV ou 91,39 g/kg<sup>0,75</sup>, e consumo de PB, de 1,098 kg/dia.

Ramos (2003), em revisão de literatura, citou que o consumo de MS para búfalos em crescimento tem sido determinado usando muitos tipos de alimentos na dieta. Trinta e cinco valores foram observados para ingestão diária de matéria seca, variando entre 53,1 a 126 g MS/kg<sup>0,75</sup>. Na maioria dos casos, o valor do consumo de MS foi determinado usando alimentos de baixa qualidade como principal ingrediente da dieta. Com dietas de melhor qualidade, os valores observados foram mais elevados.

## **2.5 Ácidos Graxos Voláteis, Concentração de Amônia e pH no Rúmen**

Os ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, predominantes na forma de ácidos acético, propiônico e butírico, fornecem a maior parte da energia absorvida pelos ruminantes, estimada em 50-70% da energia digestível total (SUTTON, 1980).

Esses ácidos de cadeia curta são produzidos por fermentação microbiana da celulose e outras matérias orgânicas no rúmen. Cerca de 2/3 do ácido acético absorvido é subseqüentemente oxidado e o restante usado em processos metabólicos, assim como a lipogênese. O ácido butírico é amplamente convertido em corpos cetônicos no epitélio ruminal e metade do ácido propiônico absorvido é convertido em glicose. A proporção molar e o fornecimento total de AGV são os maiores determinantes da utilização dos alimentos pelos ruminantes (FRANCE et al., 1991). Sendo assim a determinação quantitativa dos processos de fermentação ruminal requer medidas precisas de taxa de produção dos ácidos graxos voláteis.

Segundo Kaufmann (1976) o teor de fibra na dieta influencia a taxa de acético:propiônico (C2:C3). A quantidade de ácidos produzida pela fermentação é diretamente proporcional a digestibilidade dos alimentos. A fermentação da palha produz cerca da metade dos ácidos formados durante a fermentação da mesma quantidade de cereais. Esse fator deve ser considerado no uso de misturas de alimentos celulósicos com carboidratos solúveis.

Naga e El-Shazly (1969) avaliaram a eficiência de produção de ácidos graxos voláteis e a digestibilidade de celulose em bubalinos com duas rações, uma com alto nível de concentrado e outra contendo somente volumosos; a produção de AGV ficou entre 5,3 e 11,2 meq/100 mL de líquido ruminal.

Sousa (1999), alimentando bubalinos com diferentes níveis de FDN obteve concentração média total de AGV de 69,94 mM. As concentrações individuais de ácidos acético, propiônico e butírico foram respectivamente 51,31 mM, 12,51mM e 6,12 mM.

Lundri e Razdan (1981) observaram que o pH ruminal não sofreu alteração não ultrapassando 7% entre os valores médios observados em bubalinos alimentados com diferentes níveis de proteína (100%, 80%, 60% e 40% da exigência para manutenção).

Franzolin Neto et al. (1990) observaram pH médio de 6,28 em bubalinos alimentados somente com volumosos. Nogueira Filho (1995), avaliando em um período de 24 horas o pH ruminal de búfalos submetidos a dietas com volumosos e concentrados verificou pH ruminal médio de 6,24. Sousa (1999), trabalhando com diferentes níveis de FDN na dieta de bubalinos obteve pH médio de 6,78.

Hungate (1966), Church (1976), Dehority (1987), Giger-Reverdim et al. (1991) e Zhao et al. (1993) afirmaram que as flutuações no pH do rúmen refletem as



mudanças nas quantidades dos ácidos orgânicos que acumulam no conteúdo ruminal e da quantidade de saliva produzida, sendo assim, o pH ruminal geralmente alcança o nível mais baixo entre duas a seis horas após a alimentação, dependendo da natureza da dieta e da rapidez com que ocorre a ingestão, de forma que dietas com grandes quantidades de amido ou carboidratos solúveis resulta em valores de pH baixo, ao passo que dietas com preponderância de celulose ou outros carboidratos que são metabolizados vagarosamente, a queda do pH não é tão acentuada.

Segundo Lundri e Razdan (1980) bubalinos possuem mecanismos de reciclagem da uréia mais aperfeiçoados que os bovinos, mantendo balanço positivo de nitrogênio com 40% das exigências de nitrogênio necessária para a manutenção de bovinos taurinos.

Preston e Leng (1987) relataram que a concentração ideal de amônia ( $\text{NH}_3$ ) no rúmen varia de 5 a 25 mg/100 mL. A eficiência microbiana máxima ocorre quando o  $\text{NH}_3$  ruminal esteve entre 5 e 8 mg/100 mL (SATTER; SLYTER, 1974). Mehres et al. (1977) recomendaram 24 mg% para um máximo de desaparecimento do substrato, embora, não seja necessário manter, de forma constante, altas concentrações de amônia no líquido ruminal. Contudo, de acordo com Coelho da Silva e Leão (1979), o nível ótimo de amônia no rúmen vai depender da quantidade de energia disponível.

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

Sousa (1999), alimentando bubalinos com diferentes níveis de FDN obteve média geral de 21,46 mg% de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal e a concentração de amônia duas horas após a alimentação foi de 31,76 mg%.

## 2.6 Degradabilidade ruminal

Pesquisas sobre degradabilidade e metabolismo ruminal são de grande importância para modernas avaliações utilizadas em nutrição de ruminantes visando a obtenção de dados mais precisos para que se possa formular rações de forma eficiente conforme o tipo de produção desejada. A avaliação da degradabilidade de nutrientes no rúmen pela técnica de sacos de náilon (HUNTINGTON; GIVENS, 1995), vem sendo utilizada para obtenção de dados sobre a quantidade de nutrientes que sofrem ação microbiana (nutrientes degradados no rúmen) em relação aos nutrientes que passam intactos pelo rúmen (nutrientes não degradados no rúmen).

A fibra em detergente neutro (FDN) é o melhor indicador para a estimativa do potencial do consumo de alimentos por ruminantes que a fibra bruta (FB) ou fibra em detergente ácido (FDA) (MERTENS, 1992; RESENDE et al., 1995).

O aumento de proporção de volumoso na dieta provoca maior degradabilidade das frações fibrosas de alimentos volumosos (CHIMWANO et al., 1976). Segundo Chappell e Fontenot, (1968) o aumento de carboidratos não estruturais na dieta, com substituição da celulose por uma mistura de glicose e milho, em um nível maior que 32% na dieta, implicou em diminuição da degradação de celulose pelos ruminantes. Kennedy e Bunting (1992) trabalhando com diferentes proporções de volumosos (30%, 60% e 90%), em carneiros fistulados, observaram diminuição linear da degradabilidade da fração FDN do feno com redução da quantidade de volumosos da dieta.

Quanto à proteína, extensão da degradabilidade depende da natureza da fonte de nitrogênio alimentar e da composição da dieta basal (GANEV et al., 1979; SIDDONS; PARADINE, 1981).

Castrillo et al. (1992) avaliando o efeito de dois níveis de volumoso:concentrado em dietas para carneiros fistulados, observaram tendência de aumento da taxa de desaparecimento de nitrogênio nos diversos suplementos protéicos testados, associado ao aumento no teor de volumoso. Petit (1992) medindo a degradabilidade ruminal de vários suplementos protéicos em vacas fistuladas recebendo na dieta duas proporções de volumoso na MS (60 e 80%) constatou que essas proporções não tiveram efeito na degradabilidade efetiva da

MS, porém a degradabilidade efetiva da PB dos diversos alimentos incubados diminuiu na proporção mais baixa de volumoso.

Nogueira Filho (1995) avaliando degradação de feno “*coast-cross*” observou valor médio de 66,12% e 40,70% para degradabilidades potencial de MS e PB, respectivamente.

Sousa (1999), comparando três níveis de FDN na dieta de bubalinos e considerando taxas de passagem de 0,02 e 0,04/h obteve valores de 41,02 e 33,25% para a degradabilidade efetiva da MS do feno “*coast-cross*” e 73,83 e 60,07% para degradabilidade efetiva do milho em grãos, respectivamente. Para a degradabilidade efetiva de FDN do feno foram de 35,36 e 26,42% e da proteína bruta de 49,61 e 41,86% para o feno e 65,48 e 52,97 para o milho em grãos.

## 2.7 Dinâmica Ruminal e Digestibilidade

O alimento consumido sofre transformações físicas e metabólicas, até ser absorvido pelo animal. Características do sistema digestivo são atribuídas a uma dinâmica interativa com o alimento que resulta em crescimento e manutenção do ecossistema ruminal promovendo a chegada de nutrientes que suprirão as exigências nutricionais do ruminante.

O ecossistema ruminal pode ser considerado contínuo, cujo tempo de permanência do alimento, em média, pode ser regulado pelo nível de consumo e composição da dieta promovendo, assim, uma melhor utilização dos nutrientes pelos tecidos (Ellis et al. 2000)

Hungate (1966) afirma que alimentos grosseiros induzem à menor taxa de *turnover*, em decorrência do maior tempo de permanência desses alimentos no rúmen para sofrer o ataque microbiano, o que levaria a um aumento de volume ruminal.

Lucci et al. (1982) obtiveram valores mais elevados de *turnover* diários e volumes líquidos ruminais em vacas leiteiras fistuladas, arraçadas unicamente com volumosos quando comparadas àquelas que recebiam concentrados. As concentrações bacterianas também foram mais elevadas quando ingeriram só alimentos fibrosos, e os volumes líquidos ruminais também foram mais altos.

Rode et al. (1985) relataram que houve um decréscimo marcante na degradabilidade da matéria seca, quando a ração continha apenas 24% de forragem, entretanto observaram um aumento constante na taxa de *turnover* ruminal à medida que se elevava o nível de volumoso na dieta.

Em experimento com novilhos fistulados, Poore et al. (1990) encontraram diminuição da taxa de degradação da fibra em detergente neutro (FDN) quando a dieta continha apenas 10% de MS da ração na forma de forragem. Vale assinalar que os outros tratamentos foram de 70% e 40%, e a taxa de *turnover* ruminal não apresentou diferenças significativas.

Melotti et al. (1994) observaram em bovinos mestiços europeus x zebus fistulados, que se alimentavam de capim Napier em quatro fases de crescimento, que o volume líquido ruminal aumentou linearmente do primeiro corte da forrageira para o último, enquanto que o *turnover* líquido ruminal foi mais elevado no primeiro corte.

Sefrin (1994), trabalhando com dezesseis bovinos mestiços europeus x zebus providos de fístulas no rúmen, verificou taxas de *turnover* por hora e por dia mais elevadas no tratamento com 100% de feno (0,085 e 2,030, respectivamente) quando comparado com tratamentos as outras relações de volumoso concentrado.

Os marcadores são utilizados para determinar a digestibilidade de forma mais simples. Eles proporcionam uma série de informações, como a quantidade ingerida de alimentos ou nutrientes específicos, a taxa de passagem da digesta através de todo trato digestivo e a digestibilidade de todo alimento ou nutrientes específicos.

Existem dois tipos de marcadores, os internos e os externos. O marcador externo mais freqüentemente utilizado é o óxido de cromo (KOTB; LUCKEY, 1972). O óxido de cromo proporciona altas recuperações fecais e permite estimativas de coeficiente de digestibilidade semelhantes àqueles obtidos por coleta total de fezes (CROSS et al., 1971; FAI CHNEY, 1972; LIMA et al., 1980).

A digestibilidade e o aproveitamento das rações pelos ruminantes pode ser alterado pela proporção volumoso:concentrado da dieta (CHURCH, 1974) e o coeficiente de digestibilidade da matéria seca geralmente aumenta com o incremento de concentrado na ração. Assim, Batista (1981) utilizando relações volumoso:concentrado de 60:40 para 40:60 observou aumento na digestibilidade da matéria seca das rações com o incremento da quantidade de concentrado.

Valadares Filho (1985) obteve resultados semelhantes trabalhando com os mesmos níveis de concentrado em rações que continham feno de capim gordura como volumoso. Bines e Davey (1970) também encontraram resultados que concordam com essa afirmação.

Carboidratos estruturais são fermentados no rúmen ou no intestino grosso produzindo ácidos graxos voláteis. De acordo com Armstrong e Smithard (1979), a digestão total de carboidratos diminuiu conforme se elevava os níveis de concentrado na ração. Garcia (1982) verificou que variações nos níveis de concentrado das rações de 40 para 60% nem sempre resultam em redução na digestão apesar alguma redução nos coeficientes de digestão total da celulose.

Em animais alimentados somente com forragens, aproximadamente 10% da celulose digestível é fermentada no intestino grosso e, ao adicionar concentrados, há aumento na digestão neste local, com valores oscilando entre 9 e 30% (ARMSTRONG; BEEVER, 1969). Segundo Armstrong e Beever, (1969) e Armstrong e Smithard (1979) há evidências que em torno de 70 a 90% do total digestível é representado pela fermentação ruminal da celulose.

Os bubalinos apresentam maior participação do rúmen no processo digestivo (GOMES, 1982; VALADARES FILHO, 1985 e LIMA, 1986) em relação aos bovinos esse fato pode estar relacionado a um maior peso do rúmen reticulo (ABDALLAH et al., 1982 e LEÃO et al., 1985).

Lundri e Razdan (1980) avaliando o metabolismo de nitrogênio em bubalinos alimentados com dietas isocalóricas, porém, com níveis decrescente de proteína para manutenção (100, 80, 60 e 40% exigências prevista para taurinos) observaram valores médios para digestibilidade de proteína de 41% e para excreção do nitrogênio absorvido de 85,40%.

Segundo Kurar e Mudgal (1981) os requerimentos de proteína digestível para búfalos variam de 2,35 a 2,48 g/kg<sup>0,75</sup>. Em búfalos na fase de crescimento alimentados com quatro rações com diferentes níveis de energia e proteína Kumar et al. (1981) observaram que a digestibilidade da matéria seca variou de 61 a 65% e da proteína de 53 a 63%.

Em pesquisa sobre a digestibilidade aparente da matéria orgânica (MO) e da fibra bruta (FB) em duas rações compostas por volumosos de baixa qualidade, Batista et al. (1982) conduzindo ensaios in vitro utilizando líquido ruminal de búfalas Jafarabadi observaram que para líquido ruminal oriundo de animais alimentados

com feno de capim gordura a digestibilidade da fibra foi de 40% e para novilhas alimentadas com silagem de milho a digestibilidade da fibra foi de 46,40%.

Valadares Filho (1985) pesquisou a digestibilidade e os locais de digestão da MS, dos carboidratos totais digestíveis (CTD), de celulose e da hemicelulose fornecendo dietas à base de feno de capim gordura, silagem de sorgo e silagem de milho nas proporções de 40 e 60% na matéria seca.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais e Local de Experimentação**

O presente experimento foi realizado na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, localizada em Pirassununga no Campus da USP. Foram utilizados quatro animais da espécie bubalina, da raça mediterrâneo. Os animais foram fistulados no rúmen cirurgicamente com técnica adequada de higiene e sanidade e colocadas cânulas de látex flexível de quatro polegadas de diâmetro. No início do experimento os búfalos apresentavam em média 14 meses de idade e 328 kg de peso vivo.

Os animais foram mantidos individualmente em galpão experimental no Campus de Pirassununga da USP, contendo comedouro e bebedouro automático.

As baias eram lavadas duas vezes ao dia para higienização das instalações, e as cânulas semanalmente para evitar possíveis contaminações.

Antes do início do experimento, os búfalos receberam vermífugo e suplementação injetável de vitaminas do complexo A, D e E.

#### **3.2 Tratamentos e Manejo Alimentar**

O experimento foi realizado durante o período de 06/04/2006 à 27/07/2006 em delineamento em Quadrado Latino (4x4) com quatro sub-períodos de 28 dias, sendo 21 dias de adaptação dos animais a cada tratamento.

A quantidade total de alimento diária foi fornecida em duas alimentações diárias, metade no período da manhã (8 horas) e a outra metade no período da tarde (16 horas). Foi fornecido sal mineral comercial à vontade aos animais antes da alimentação no período da manhã.

Semanalmente a quantidade de alimento fornecida a cada animal era ajustada de maneira que fosse mantido o consumo proporcional ao tratamento fornecido, relação feno:milho em grãos moído. As sobras eram pesadas e avaliadas todos os dias pela manhã.

Os tratamentos consistiram na ingestão final de quatro rações contendo diferentes níveis de milho em grãos moídos e diferentes relações proteína:carboidratos não estruturais, com base na matéria seca, assim designados:

M0 => 100% de feno (PB:CNE = 1,02)

M22=> 78% de feno e 22% de milho em grãos moídos (PB:CNE = 0,39)

M37 => 63% de feno e 37% de milho em grãos moídos (PB:CNE = 0,30)

M49 => 51% de feno e 49% de milho em grãos moídos (PB:CNE = 0,26)

O volumoso foi constituído exclusivamente de feno de *coast cross* (*Cynodon dactylon* (L.) Pers) e o concentrado de milho em grãos moídos.

Análises químicas bromatológicas de feno e resíduos nos sacos de náilon (MS, PB e FDN) e do milho e resíduo (MS e PB) além de extrato etéreo e matéria mineral no feno e no milho foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da FZEA/USP conforme técnica descrita por Silva e Queiroz (2002) e os resultados podem ser vistos na Tabela 1.

Carboidratos não estruturais foram calculados pela seguinte fórmula:  $CNE = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDN)$

Tabela 1 – Teores de matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas, carboidratos totais (CHO) e carboidratos não estruturais (CNE) do feno usado em cada subperíodo experimental e do milho

Amostra	MS%	FDN%	PB%	EE%	Cinzas%	CHO%	CNE%	NDT%
Feno P1	94,20	76,86	5,88	0,76	4,69	88,66	11,80	47,09
Feno P2	90,32	78,19	10,48	1,36	5,13	83,04	4,84	46,33
Feno P3	91,00	83,53	7,39	1,26	4,60	86,74	3,21	43,28
Feno P4	91,73	73,56	10,35	1,15	6,18	82,32	8,76	48,98
Milho	86,20	9,00 <sup>1</sup>	11,93	4,79	1,53	81,74	72,74	85,00

<sup>1</sup> Valor calculado com dados médios dos ingredientes (NRC, 1989).

NDT feno calculado pela equação  $NDT = 91,0246 - 0,57158 \text{ FDN} (\%)$ , (Cappelle, 2001).

NDT do milho estimado em 85% (NRC, 1989).

Os animais foram pesados no início do experimento e ao final de cada sub período.



### 3.3 Degradabilidade *in situ*

Degradabilidade *in situ* do feno (MS e FDN) e do milho em grão (MS e PB) foram avaliados do 22<sup>o</sup> ao 26<sup>o</sup> dia de cada período.

Os procedimentos para o desenvolvimento da técnica *in situ* de sacos de náilon foram realizados conforme Ørskov et al. (1980) e Huntington e Gives (1995). Para tanto foram utilizados sacos de náilon com 10 x 20 cm e abertura de poros média de 53 µm (ANKON<sup>®</sup>, INC.). Cerca de 10g de MS de cada ingrediente, moído em peneira de 2 mm foram colocados nos sacos de náilon secos em estufa à 65<sup>o</sup>C.

Para determinação da curva de desaparecimento da MS e FDN do feno, os sacos foram incubados no rúmen por 3, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas e para a curva de desaparecimento da MS e PB no milho nos tempos, 3, 6, 9, 12 e 24 horas. Para a incubação no rúmen, os saquinhos de náilon foram colocados dentro de sacolas de náilon com zíper na parte superior (30 cm de largura e 40 cm de altura). As sacolas foram amarradas com fio de náilon de aproximadamente 50 cm e com peso na parte inferior (250g) para que após colocação no rúmen, ficassem melhor posicionadas próximos ao saco ventral do rúmen. Após a retirada das sacolas do rúmen, estas foram lavadas todas ao mesmo tempo dentro de baldes, e em seguida os saquinhos foram retirados das sacolas e lavados até que a água dos baldes estivessem límpida. Os saquinhos foram secos em estufa de ventilação forçada à 65<sup>o</sup>C por 72 horas. Após a retirada da estufa, foram pesados e seus conteúdos submetidos a análise bromatológica.

O desaparecimento da matéria seca foi calculado pela diferença de pesagens dos saquinhos antes e após a incubação, com base na amostra seca a 100<sup>o</sup>C, da seguinte forma:

$$\text{DMS\%} = 100 \times [1 - (\text{PSPI} - \text{PSV}) / (\text{PSAI} - \text{PSV})]$$

Onde: DMS% = Desaparecimento da MS em porcentagem  
 PSPI= Peso do saco pós-incubação  
 PSAI = Peso do saco antes da incubação  
 PSV = Peso do saco vazio sem lacre

O desaparecimento da PB do milho e FDN no feno foi calculado pela mesma fórmula, sendo que a diferença entre o peso do saco antes da incubação, ou pós-

incubação, e o peso do saco vazio foram multiplicados pelas respectivas porcentagens de PB e FDN, dividindo-se esse resultado por 100.

Os dados de desaparecimento foram ajustados pelo modelo de Orskov e McDonald (1979), conforme a seguinte equação exponencial para expressar a degradabilidade dos alimentos:

$$DP = a + b(1 - e^{-ct})$$

Onde: “*Dp*” é a degradabilidade potencial que representa a quantidade degradada no tempo (*t*), “*a*” é a intersecção da curva do tempo zero e pode ser interpretada como a fração rapidamente solúvel, “*b*” é a fração potencialmente degradável e expressa a fração que será degradada no tempo, e “*c*” a taxa de degradação na qual a fração descrita por “*b*” será degradada por hora. A letra “*e*” é o log natural de  $-ct$ . Os valores das constantes “*a*”, “*b*” e “*c*” foram obtidos do modelo de regressão não linear ajustados no programa computacional STATSOFT (1995).

As constantes *a*, *b* e *c* da equação exponencial foram utilizadas para calcular a Degradabilidade Potencial (*a + b*), representada pela quantidade de alimento que pode se solubilizar ou degradar dentro do rúmen se o tempo não for fator limitante, e a Degradabilidade Efetiva (*De*), a qual representa a quantidade de alimento realmente degradado, definida pelo tempo na qual o mesmo está presente no rúmen (Ørskov et al., 1980) A Degradabilidade Efetiva (*De*) foi calculada pela seguinte fórmula:

$$DE = a + \frac{b \times c}{c + k}$$

Onde: *k* representa a taxa de passagem do conteúdo ruminal por hora (ØRSKOV et al., 1980) e assumindo os valores de 0,02/h, 0,05/h e 0,08/h.

### 3.4 Taxa de Passagem de Líquidos

A taxa de passagem do líquido ruminal foi determinada utilizando-se do Co-EDTA como marcador, com a introdução de 7 g do complexo Co-EDTA no rúmen de cada animal no final da 4ª semana de cada período, retirando-se amostras de líquido ruminal nos tempos 0, 1, 2, 4, 8 e 24 horas após a primeira alimentação diretamente do rúmen, via fistula ruminal com uso de bomba de vácuo adaptada para tal.

As amostras de líquido ruminal foram congeladas a  $-10^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise. As amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e depois centrifugadas. O sobrenadante foi diluído em água pura em uma proporção de 2:10

para que pudesse ser feita a dosagem da concentração do Co/mL utilizando espectrofotômetro de absorção atômica (UDÉN et al.,1980).

A taxa de passagem de líquidos também foi avaliada utilizando-se o polietilenoglicol (PEG) como marcador. No 27º dia de cada período foram introduzidos no rúmen de cada animal, 100 g de PEG diluídos em 500 mL de água, retirando-se amostras de líquido ruminal nos mesmo tempo e da mesma forma que a coleta para Co-EDTA e imediatamente congeladas a  $-10^{\circ}\text{C}$ .

No momento da análise as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e centrifugadas a 11000 g. Em tubos de centrifuga pipetou-se 2 mL do sobrenadante e adicionou-se 10 mL de água destilada, 1 mL de cloreto de bário, 2 mL de hidróxido de bário e 2 mL de sulfato de zinco e sendo novamente centrifugada a 11000 g. Após os devidos procedimentos foram adicionados ácido tricloracético, e realizadas leituras exatamente após cinco em espectrofotômetro UVVIS a 500 nm (HYDEN, 1955).

### **3.5 Determinação de Ácidos Graxos Voláteis**

As amostras de líquido ruminal foram colhidas durante cada período de coleta nos tempos 0, 2, 4 e 8 horas após o fornecimento da primeira alimentação, diretamente do rúmen via fistula com uso de bomba de vácuo adaptada para tal. As amostras foram acidificadas colocando 1 mL de ácido metafosfórico a 25% e 5 mL de líquido ruminal em frascos de vidro e congeladas à  $-10^{\circ}\text{C}$ , até o momento da análise laboratorial.

As amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e transferidas para tubos de centrifuga e centrifugadas por 10 minutos a 4000 rotações por minuto e depois filtradas em filtro Millipore de  $0.2\ \mu\text{m}$ .

As determinações dos ácidos acético, propiônico e butírico no líquido ruminal foram realizadas por cromatografia líquida de alta precisão (HPLC) em equipamento schimadzu 10 A, no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Nutrição Animal (VNP) da FMVZ/USP.

As determinações foram realizadas injetando-se 1,0 microlitro de amostra em cada análise. O número de repetições por amostra foi aquele necessário para que a diferença entre leituras fosse inferior a 5%. A solução padrão foi injetada após cada

injeção de amostra para evitar possíveis distorções das leituras devido a contaminação da coluna.

### **3.6 Determinação de Nitrogênio Amoniacal**

As amostras de líquido ruminal colhidas da mesma forma e nos mesmos tempos que as de AGV e diluídas com ácido sulfúrico 1N, na proporção de 1 mL de ácido para 2 mL de líquido ruminal, sendo em seguida armazenados em frascos de vidro devidamente etiquetados em congelador à  $-20^{\circ}\text{C}$ , até o momento da análise laboratorial.

A determinação do nitrogênio amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ) foi realizada por colorimetria, pelo método de reação hipoclorito fenol segundo o método proposto por Kulasek (1972) e adaptado por Foldager (1977), para tanto as amostras foram descongeladas e colocadas em tubos para centrifugação aos tubos foram adicionados 1 mL de tungstato de sódio 10% aos tubos para a desproteinização e centrifugadas à 3000 rpm por 15 minutos. Após centrifugação foram pipetados 25 microlitros do sobrenadante que, colocados em tubos de ensaio foram acrescidos de 5 mL de reagente fenol e 5 mL de reagente hipoclorito. Os tubos foram agitados e mantidos em banho Maria a  $37^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos. As leituras em absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV/VIS (PERKIN ELMER Lâmbda 10) espectro de 630 nm.

### **3.7 Determinação de pH Ruminal**

Foram colhidas amostras de aproximadamente 50 mL de conteúdo ruminal nos tempos 0, 2, 4 e 8 horas após a alimentação, o pH foi imediatamente mensurado com medidor eletrônico de pH (marca Hanna instruments modelo HI 9321), calibrado em solução tampão de pH 4,0 e 7,0.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente por meio de programa computacional estatística (STATSOFT, INC, 1995). Para teste de comparação de médias utilizou-se o LSD, adotando-se nível de significância de 0,05 para diferença significativa entre os valores médios.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Ingestão de Matéria Seca

O feno de *coast-cross* (*Cynodon dactylon* (L.) Pers) utilizado apresentou-se de baixa qualidade durante o primeiro e terceiro períodos do experimento, com baixos teores de proteína e alto em FDN (Tabela 1).

Na Tabela 2 são apresentados os valores médios da ingestão de matéria seca e dos nutrientes dos búfalos alimentados com níveis crescentes de milho em grãos moídos. As Figuras 3 e 4 apresentam os gráficos e as equações de regressão da IMS em peso metabólico e em % de peso vivo com os níveis de milho na dieta.

A ingestão média de matéria seca foi em 5,66 kg, 1,54 %PV e 67,54 g/kg<sup>0,75</sup> e variaram significativamente ( $P < 0,08$ ) em relação ao aumento da quantidade de milho na dieta dos búfalos, conforme pode-se observar na Tabela 2 e Figuras 3 e 4. Quanto maior a proporção de milho na dieta, maior foi a ingestão de matéria seca pelos animais, o que era de se esperar tendo em vista a melhor qualidade da dieta com a inclusão do milho em grãos. Estes dados estão de acordo com os de Ramos (2003) que citou com base em revisão de literatura, intervalo de ingestão de matéria seca para bubalinos de 53,1 a 126 g/kg<sup>0,75</sup> sendo que utilizando alimentos com altos níveis de energia, a ingestão de MS aumentou concomitantemente.

Na literatura especializada podemos observar uma ampla variação na ingestão de matéria seca por bubalinos em diferentes sistemas de alimentação.

Kurar e Mudgal (1981) trabalhando com diferentes relações energia: proteína na dieta de búfalos, não encontraram relação significativa entre os níveis de proteína na dieta e a ingestão de MS, obtendo valor médio de 67,32 g/kg<sup>0,75</sup>. Já os níveis de energia na dieta, influenciaram na IMS sendo os valores para baixa, média e alta energia de 57,17; 67,09 e 78,33 g/kg<sup>0,75</sup> com 1,24; 1,47 e 1,71%PV respectivamente. Os efeitos da suplementação protéica em búfalos foram estudados por Raj Kumar et al. (1993) que observaram variação na IMS de 65 a 81 g/kg<sup>0,75</sup>.

Yoelao et al. (1970) e Arora et al. (1978) verificaram consumo médio de matéria seca de 90,81 g/kg<sup>0,75</sup> e 87,2 g/kg<sup>0,75</sup>, respectivamente. Sangwan et al. (1987), testando quatro rações com diferentes fontes de fibra verificaram que o

consumo de MS em búfalos foi de 1,65 %PV kg. Em experimento conduzido por Kennedy et al. (1992) com búfalos do pântano o consumo de MS foi de 1,8% PV. Lorenzoni et al. (1986) observaram consumo médio de 2,5% PV de matéria seca para búfalos. Velloso et al. (1994) verificaram em búfalos Mediterrâneo o consumo de MS, 2,06% PV ou 91,39 g/kg<sup>0,75</sup>, e o consumo de PB, de 1,098 kg/dia. Valores estes acima do encontrado no atual experimento. Este fato pode ter ocorrido pelo uso de alimentos de melhor qualidade.

Utilizando níveis crescentes de FDN nas rações, Resende (1994) encontrou ingestão de MS em búfalos, 54,12 g/kg<sup>0,75</sup> e 1,20%PV. Concluiu também que a ingestão ótima de FDN deve estar abaixo de 1,22% do peso vivo. Taparia e Shama (1980) avaliando diferentes dietas em bubalinos verificaram ingestão média de matéria seca de 62,04 g/kg<sup>0,75</sup>. Pradhan et al. (1997), observaram que os búfalos consumiram em média 1,5% do PV ou 72,6 g/kg<sup>0,75</sup>.

As ingestões de FDN do feno, do milho e total sofreram efeitos significativo ( $P < 0,05$ ) dos níveis de milho em grãos moídos na dieta. Como já era de esperar, a ingestão de FDN do feno diminuiu, enquanto a do milho aumentou. O consumo de FDN total, assim como ocorreu com o FDN do feno, diminuiu uma vez que as concentrações de FDN no milho são muito baixas (9% segundo NRC, 1989).

Não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na ingestão de PB do feno (kg) com a variação da concentração de milho em grãos moídos na dieta. A ingestão de PB do milho aumentou significativamente ( $P < 0,05$ ) com a inclusão de milho na dieta, assim como a ingestão total de PB.

O aumento dos níveis de milho em grãos moídos na dieta dos búfalos não influenciou significativamente ( $P < 0,05$ ) na ingestão de carboidratos não estruturais (CNE) do feno. Mas, a ingestão CNE do milho foi significativamente influenciada ( $P < 0,05$ ), uma vez que o milho é rico em amido, provocando também efeito significativo na ingestão de CNE total (kg e %). A relação PB:CNE diminuiu significativamente ( $P < 0,05$ ) com a inclusão de milho em grãos moídos na dieta. Na Tabela 2 pode-se observar que houve uma diminuição brusca da relação do tratamento em que os animais consumiam exclusivamente feno para os demais tratamentos, onde os animais passaram a receber milho na dieta, ingrediente rico em CNE.

A ingestão de NDT do feno diminuiu e a do milho aumentou significativamente ( $P < 0,05$ ) com a inclusão de grãos de milho moídos na dieta. Na Tabela 1 pode-se

observar que o milho tem quase o dobro de NDT do feno, desta forma, o aumento dos níveis de milho em grãos moído, na dieta de búfalos, provocou aumento significativo na ingestão de NDT total.

Os búfalos em média ganharam peso ao longo do experimento, obtendo pesos médios de 343, 367, 377 e 381 kg/animal nos períodos 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

Tabela 2 – Ingestão de matéria seca e de nutrientes em búfalos alimentados com níveis crescentes de milho em grãos moído.

Parâmetro	Níveis de milho na dieta (%)			
	0	22	37	49
IMS (kg)	4,88 <sup>b</sup>	5,65 <sup>ab</sup>	5,98 <sup>ab</sup>	6,13 <sup>a</sup>
IMS (g/kg <sup>0,75</sup> )	57,37 <sup>b</sup>	67,28 <sup>ab</sup>	71,98 <sup>a</sup>	73,53 <sup>a</sup>
IMS (%PV)	1,31 <sup>b</sup>	1,54 <sup>ab</sup>	1,65 <sup>a</sup>	1,68 <sup>a</sup>
FDN Feno (kg)	3,79 <sup>a</sup>	3,45 <sup>a</sup>	2,90 <sup>b</sup>	2,42 <sup>b</sup>
FDN Milho (kg)	0,0 <sup>d</sup>	0,112 <sup>c</sup>	0,202 <sup>b</sup>	0,27 <sup>a</sup>
FDN (kg)	3,79 <sup>a</sup>	3,56 <sup>ab</sup>	3,11 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	2,69 <sup>c</sup>
%FDN	78,04 <sup>a</sup>	62,83 <sup>b</sup>	52,40 <sup>c</sup>	44,25 <sup>d</sup>
PB Feno (kg)	0,338	0,318	0,337	0,280
PB Milho (kg)	0,0 <sup>d</sup>	0,148 <sup>c</sup>	0,268 <sup>b</sup>	0,362 <sup>a</sup>
PB (kg)	0,338 <sup>c</sup>	0,466 <sup>b</sup>	0,605 <sup>a</sup>	0,643 <sup>a</sup>
%PB	6,87 <sup>b</sup>	8,21 <sup>b</sup>	10,13 <sup>a</sup>	10,63 <sup>a</sup>
CNE Feno (kg)	0,334	0,303	0,278	0,221
CNE Milho (kg)	0,0 <sup>d</sup>	0,901 <sup>c</sup>	1,631 <sup>b</sup>	2,207 <sup>a</sup>
CNE (kg)	0,334 <sup>d</sup>	1,204 <sup>c</sup>	1,909 <sup>b</sup>	2,428 <sup>a</sup>
CNE %	7,16 <sup>d</sup>	21,58 <sup>c</sup>	31,53 <sup>b</sup>	39,23 <sup>a</sup>
PB:CNE	1,20 <sup>a</sup>	0,39 <sup>b</sup>	0,33 <sup>b</sup>	0,27 <sup>b</sup>
NDT Feno (kg)	2,26 <sup>a</sup>	2,04 <sup>ab</sup>	1,74 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	1,44 <sup>c</sup>
NDT Milho (kg)	0,0 <sup>d</sup>	1,05 <sup>c</sup>	1,91 <sup>b</sup>	2,58 <sup>a</sup>
NDT (kg)	2,26 <sup>c</sup>	3,09 <sup>b</sup>	3,65 <sup>ab</sup>	4,02 <sup>a</sup>
%NDT	46,42 <sup>d</sup>	54,92 <sup>c</sup>	60,75 <sup>b</sup>	65,30 <sup>a</sup>

Valores médios com letras diferentes na mesma linha diferem entre si (P<0,08) para IMS e (P<0,05) para outros nutrientes

NDT feno calculado pela equação  $NDT = 91,0246 - 0,57158 \text{ FDN } (\%)$ , (Cappelle, 2001).

NDT milho estimado em 85% (NRC, 1989).

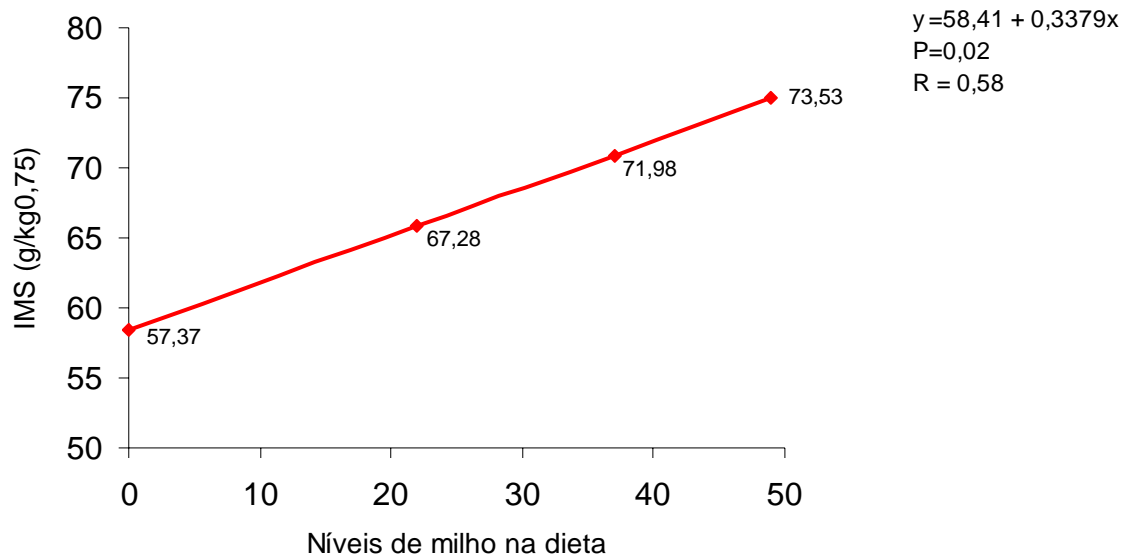


Figura 3 - Ingestão de matéria seca (IMS) em g/kg<sup>0,75</sup> de búfalos alimentados com diferentes níveis de milho na ração

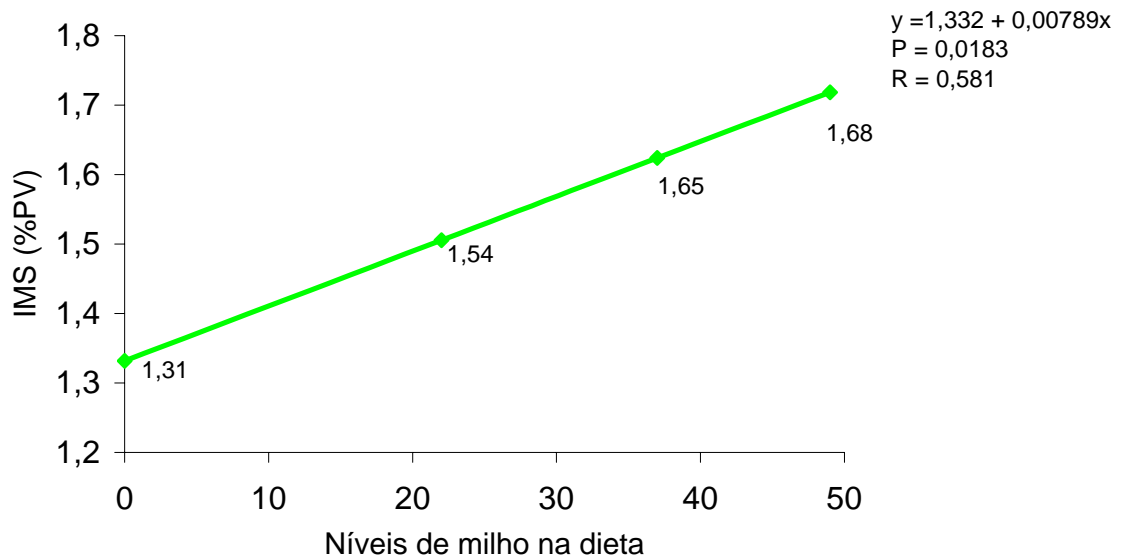


Figura 4 - Ingestão de matéria seca em %PV de búfalos alimentados com diferentes níveis de milho na ração



## 4.2 Degradabilidade Ruminal

As Tabelas 3 e 4 apresentam os efeitos dos níveis de milho na dieta dos búfalos sobre a cinética da degradabilidade da matéria seca (MS) e da fibra em detergente neutro (FDN) do feno de *coast-cross* e da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) no milho em grãos, respectivamente.

Nas Figuras 5, 6, 7, 8 e 9 pode-se observar, respectivamente, o desaparecimento (%) da MS, da PB e da FDN do feno de *coast-cross* e da MS e PB do milho em grãos moído. Em todos os gráficos é verificado comportamento semelhante das curvas para os quatro níveis de milho na dieta.

Nesse estudo os dados da degradabilidade da proteína bruta do feno de *coast-cross* não se ajustaram à equação de Orskov, provavelmente devido ao efeito da contaminação microbiana na amostra. A contaminação microbiana dos resíduos remanescentes nas bolsas de náilon, após a incubação no rúmen, subestima as características de degradação da matéria seca e principalmente da proteína bruta ou nitrogênio de alimentos volumosos com baixos teores de proteína e elevados de fibra (VARVIKKO; VANHATALO, 1990; VALADARES FILHO et al. 1992 a e b).

Na Tabela 3 verifica-se que a inclusão de milho em grãos moídos na dieta de búfalos influenciou significativamente ( $P < 0,05$ ) a degradabilidade da MS do feno de *coast-cross* nas constantes “a” e “c”, não provocando efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) na constante “b”, degradabilidade potencial e degradabilidades efetivas (DE). Sobre a degradabilidade da FDN do feno de *coast-cross* a inclusão de milho foi significativa ( $P < 0,05$ ) na fração solúvel degradável, na taxa de degradação e sobre a degradabilidade efetiva a 0,08/h. A fração “a” em valores absolutos foi menor na dieta em que os animais recebiam 49% de milho em grãos moídos, possivelmente isso ocorreu porque no ambiente ruminal a quantidade de microrganismos amilolíticos estavam em maior número que o celulolíticos ocorrendo assim menor degradação da MS do feno pelos microrganismos ruminais. A degradabilidade potencial da matéria seca e da fibra em detergente neutro do feno até o nível de 37% de milho em grãos moídos na dieta aumentou, em valores absolutos, e no tratamento que os animais recebiam 49% de milho diminuiu, provavelmente os altos teores de milho não beneficiaram microrganismos celulolíticos. A Degradabilidade efetiva do feno (MS e FDN) no tratamento em que os animais se alimentavam exclusivamente de feno apresentaram-se maiores que os demais tratamentos em

valores absolutos. Esse fato pode ter ocorrido devido a presença de microrganismos celulolíticos em maior quantidade na dieta rica em fibras. Os valores absolutos de DE no tratamento com 49% de milho em grãos moídos foram mais elevados que nos tratamentos com 22 e 37% de milho em grãos moído. Esse resultado sugere que maiores concentrações de proteína e energia na dieta possam ter favorecido melhor adaptação e crescimento da população de microrganismos celulolíticos em dietas mistas.

Analisando a Tabela 4 observa-se que o aumento dos níveis de milho provocou efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) na fração solúvel, taxa de degradação e a degradabilidade potencial (DP) na MS do milho. A degradabilidade da PB foi significativamente influenciada nas constantes “a”, “b” e “c”, na degradabilidade potencial e nas degradabilidades efetivas a 0,02 e 0,05/h. A fração solúvel da MS do milho foi significativamente menor no tratamento onde os búfalos receberam 37% de milho em grãos moídos na dieta. A taxa de degradação foi significativamente maior ( $P < 0,05$ ) no tratamento em que os búfalos receberam 22% de milho em grãos moídos na ração. Tanto a degradabilidade potencial quanto efetiva da matéria seca do milho foram, em valores absolutos, maiores no tratamento em que os animais eram alimentados exclusivamente com feno. A incubação dos saquinhos contendo milho em um ambiente ruminal sem a presença do mesmo possivelmente fez com que os microrganismos celulolíticos presentes no rúmen atuassem na degradação da amostra incubada. A fração solúvel da PB do milho em grãos moídos foi significativamente menor no tratamento com 22% de milho em grãos moídos na ração que no tratamento onde os animais recebiam apenas feno. As frações solúvel nos tratamentos com 0 e 37% de milho em grãos moídos na dieta foram significativamente menores que nos tratamentos M22 e M49. Nos tratamentos com 49% e 0% de milho as taxas de degradação foram significativamente menores que nos demais tratamentos. Os tratamentos M0 e M22 apresentaram maiores taxas de degradação que no tratamento com 37% de milho em grãos moídos na dieta. As degradabilidades potenciais foram significativamente maiores e menores nos tratamentos 49 e 37%, respectivamente.

Tabela 3 – Cinética da degradabilidade da matéria seca e fibra em detergente neutro do feno de *coast-cross* em búfalos com dietas contendo níveis crescentes de milho e grãos moídos

Matéria Seca	Níveis de milho na ração				Médias
	0	22	37	49	
A	20,01 <sup>ab</sup>	21,39 <sup>ab</sup>	24,42 <sup>a</sup>	18,78 <sup>b</sup>	21,15
B	52,47	58,76	60,51	54,92	56,66
C	0,0351 <sup>a</sup>	0,0233 <sup>ab</sup>	0,0198 <sup>b</sup>	0,0336 <sup>a</sup>	0,0279
Dp	72,48	80,16	84,92	73,69	77,81
DE 2%	53,45	51,74	52,46	52,52	52,54
DE 5%	41,71	39,29	40,3	40,42	40,43
DE 8%	36,07	34,05	35,53	34,76	35,10
Fibra em Detergente Neutro (FDN)					
a	19,99 <sup>ab</sup>	17,38 <sup>b</sup>	23,48 <sup>a</sup>	21,15 <sup>ab</sup>	20,5
b	55,00	62,18	59,39	57,71	58,57
c	0,0386 <sup>a</sup>	0,0270 <sup>ab</sup>	0,0225 <sup>b</sup>	0,0286 <sup>ab</sup>	0,0291
Dp	74,99	79,56	82,87	78,85	79,06
DE 2%	55,22	51,9	53,48	54,54	53,78
DE 5%	43,13	38,35	40,94	41,78	41,05
DE 8%	37,26 <sup>a</sup>	32,47 <sup>b</sup>	35,83 <sup>ab</sup>	36,11 <sup>ab</sup>	35,41

Valores médios com letras diferentes na mesma linha diferem entre si ( $P < 0,05$ ).  
*a*, *b* e *c* referem-se aos parâmetros de Orskov e McDonald (1979), DP= a degradabilidade potencial e DE = a degradabilidade efetiva para as taxas de passagem de 0,02, 0,05 e 0,08.

Na Tabela 4 pode-se observar que as degradabilidades potenciais e efetivas de Ms e PB média do milho foram menores que as obtidas por Sousa (1999) de 105,07% e 111,02% para as degradabilidades potenciais e 73,83% e 65,48% para DE em taxa de passagem de 0,02/h para da Ms e PB, respectivamente. Essa variação provavelmente reflete as diferenças na dieta dos animais.

Os valores de degradabilidade do feno de *coast-cross* neste trabalho foram mais elevados que os obtidos por Nogueira Filho (1995) de 66,12% e 68,65% nas degradabilidades potenciais de MS e FDN e que os obtidos por Sousa (1999) de 62,88 e 60,44%; 41,02 e 35,35%, respectivamente para valores de DP da MS e FDN e DE da MS e FDN para as taxas de passagem de 0,02/h.

Tabela 4 – Efeito dos níveis de milho sobre a cinética da degradabilidade da MS e da PB (%) no milho em grãos moído

MS	Níveis de milho na ração				Média
	0	22	37	49	
a	23,16 <sup>a</sup>	15,92 <sup>b</sup>	22,83 <sup>a</sup>	20,66 <sup>a</sup>	20,64
b	62,99	58,75	56,55	69,07	61,84
c	0,0683 <sup>b</sup>	0,1037 <sup>a</sup>	0,0675 <sup>b</sup>	0,0774 <sup>b</sup>	0,0792
Dp	86,15 <sup>a</sup>	74,66 <sup>a</sup>	79,38 <sup>ab</sup>	85,73 <sup>a</sup>	81,48
DE 2%	68,62	63,92	65	66,89	66,10
DE 5%	55,82	53,79	53,56	53,91	54,27
DE 8%	48,83	47,28	47,08	47	47,54
<b>PB</b>					
a	25,62 <sup>a</sup>	19,29 <sup>b</sup>	21,56 <sup>ab</sup>	22,38 <sup>ab</sup>	22,21
b	54,01 <sup>b</sup>	74,45 <sup>a</sup>	48,25 <sup>b</sup>	73,48 <sup>a</sup>	62,54
c	0,05611 <sup>c</sup>	0,138 <sup>a</sup>	0,1029 <sup>b</sup>	0,05184 <sup>c</sup>	0,0872
Dp	79,63 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	93,74 <sup>ab</sup>	69,81 <sup>c</sup>	95,88 <sup>a</sup>	84,76
DE 2%	61,98 <sup>bc</sup>	67,35 <sup>ab</sup>	59,32 <sup>c</sup>	70,27 <sup>a</sup>	64,73
DE 5%	50,9 <sup>b</sup>	52,67 <sup>ab</sup>	50,52 <sup>b</sup>	54,39 <sup>a</sup>	52,12
DE 8%	45,22	45,56	45,23	46,59	45,65

Valores médios com letras diferentes na mesma linha diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

a, b e c referem-se aos parâmetros de Orskov e McDonald (1979), DP= a degradabilidade potencial (a + b) e DE = a degradabilidade efetiva para as taxas de passagem iguais a 0,02, 0,05 e 0,08.

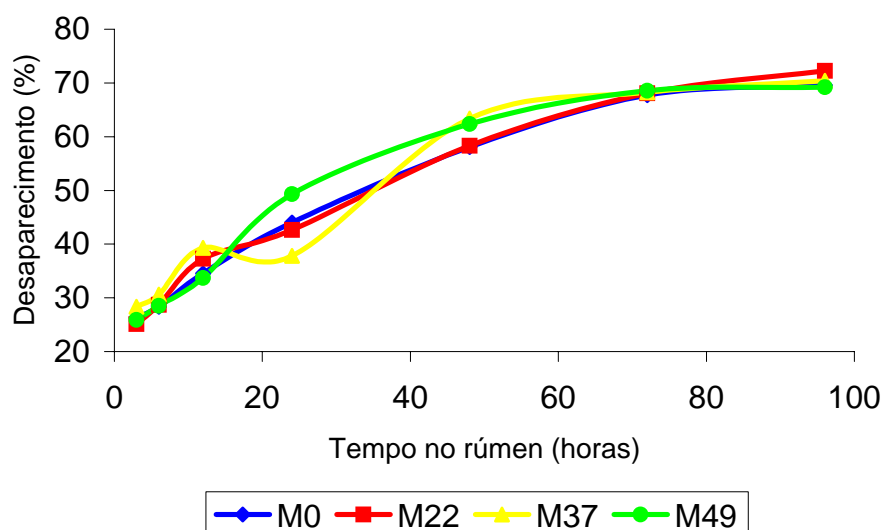


Figura 5 - Desaparecimento médio da matéria seca (MS) do feno de coast-cross em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho na dieta

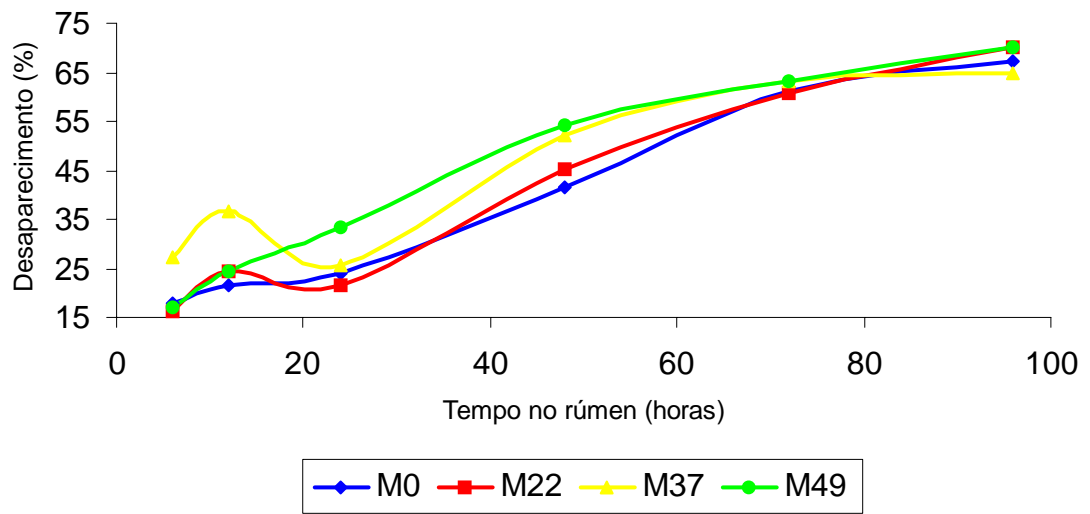


Figura 6 - Desaparecimento médio da proteína bruta (PB) do feno de *coast-cross* em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho na dieta

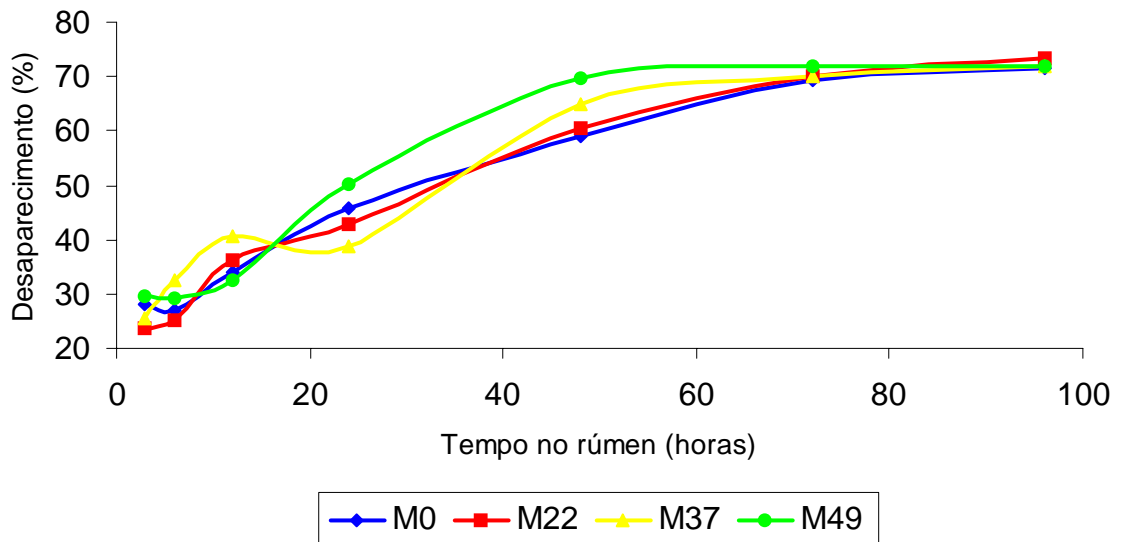


Figura 7 - Desaparecimento médio da fibra em detergente neutro (FDN) do feno de *coast-cross* em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho na dieta

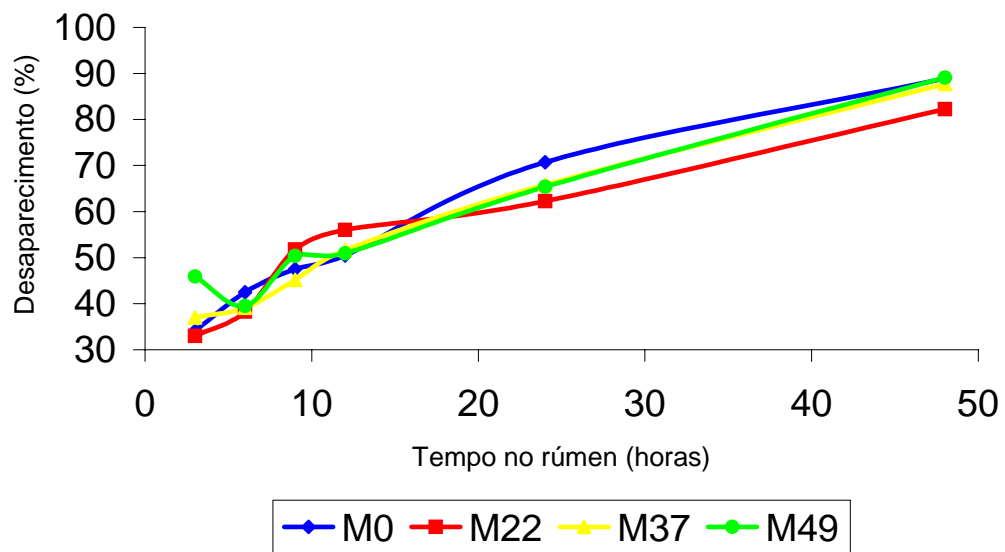


Figura 8 - Desaparecimento médio da matéria seca (MS) do milho em grãos moído, em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho na dieta

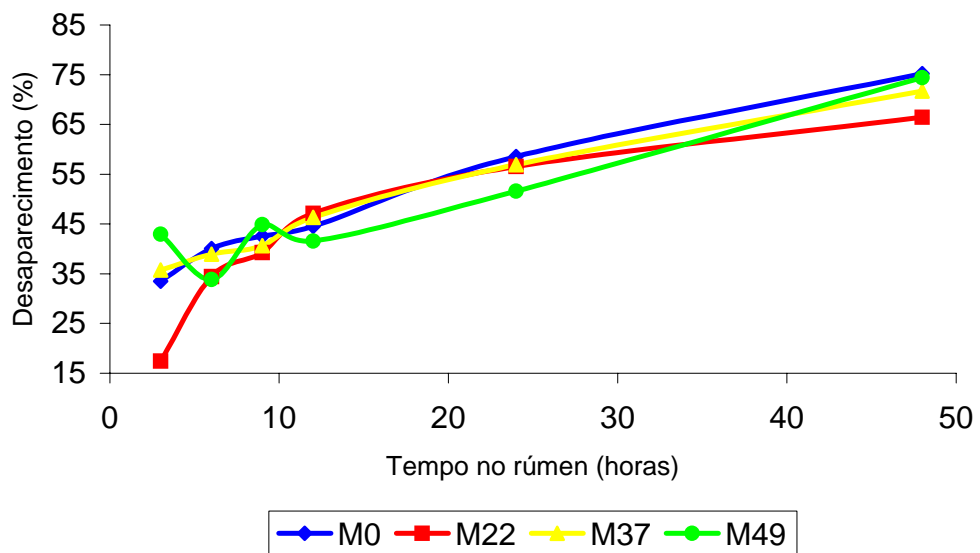


Figura 9 - Desaparecimento médio da proteína bruta (PB) do milho em grãos moído em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho na dieta

### 4.3 pH do Conteúdo Ruminal

Os valores médios obtidos para o pH médio do líquido ruminal, coletado a cada duas horas no período de oito horas após a alimentação matinal encontram-se na Tabela 5 e na Figura 10.

Os valores de pH no líquido ruminal não diferiram significativamente ( $P>0,05$ ) entre os diferentes tempos de amostragem discordando dos achados de Hungate (1966), Church (1976), Dehority (1987), Giger-Reverdim et al. (1991) e Zhao et al. (1993) em que o pH ruminal geralmente alcança o nível mais baixo entre duas a seis horas após a alimentação, dependendo da natureza da dieta e da rapidez com que é ingerida. Assim, no presente trabalho o fator tempo não influenciou significativamente no pH ruminal, apesar de no tempo de 4 horas ter havido uma tendência à queda de pH.

Houve diferença significativa ( $P<0,05$ ), no pH médio do líquido ruminal entre o tratamento M49 e os tratamentos com 0 e 22% de milho em grãos moídos na dieta. Com a inclusão do milho, houve diminuição do pH, concordando com as afirmações de Hungate (1966), Church (1976), Dehority (1987), Giger-Reverdim et al. (1991) e Zhao et al. (1993) de que dietas com grandes quantidades de amido ou carboidratos solúveis resultariam em valores de pH baixo. Kamra et al. (2003) trabalhando com vários níveis de volumoso:concentrado (80:20, 70:30, 60:40 e 50:50) em búfalos observaram também que o pH também diminuiu, com o aumento da quantidade de concentrado.

O valor médio do pH ruminal nos bubalinos de 6,70 encontrou-se dentro dos parâmetros preconizados por Dehority (1987) de pH médio para ruminantes de 6,5, variando entre 5,5 a 7,0 dependendo do tipo de ração consumida. Sousa (1999) alimentando bubalinos com diferentes níveis de FDN observou pH ruminal médio de 6,78. O pH médio obtido por Franzolin Neto et al. (1990) foi de 6,28 para bubalinos alimentados com dieta exclusiva de volumoso. Nogueira Filho (1995), avaliando em um período de 24 horas o pH ruminal de búfalos submetidos a dietas com volumosos e concentrados relatou pH ruminal médio de 6,24. A equação de regressão linear e o gráfico que demonstram a variação do pH com o incremento de milho na dieta dos búfalos e podem ser observados na Figura 11.

Houve correlação negativa entre os níveis de milho na dieta e o pH ruminal, com regressão linear significativa ( $P<0,05$ ). A variação no pH foi baixa entre os

tratamentos, mostrando amplitude de 6,83 a 6,23, indicando que mesmo no nível mais elevado de milho na ração, a fermentação ruminal mais rápida e maior não promoveu redução sensível no pH como era de se esperar, principalmente em relação a dieta exclusiva com feno.

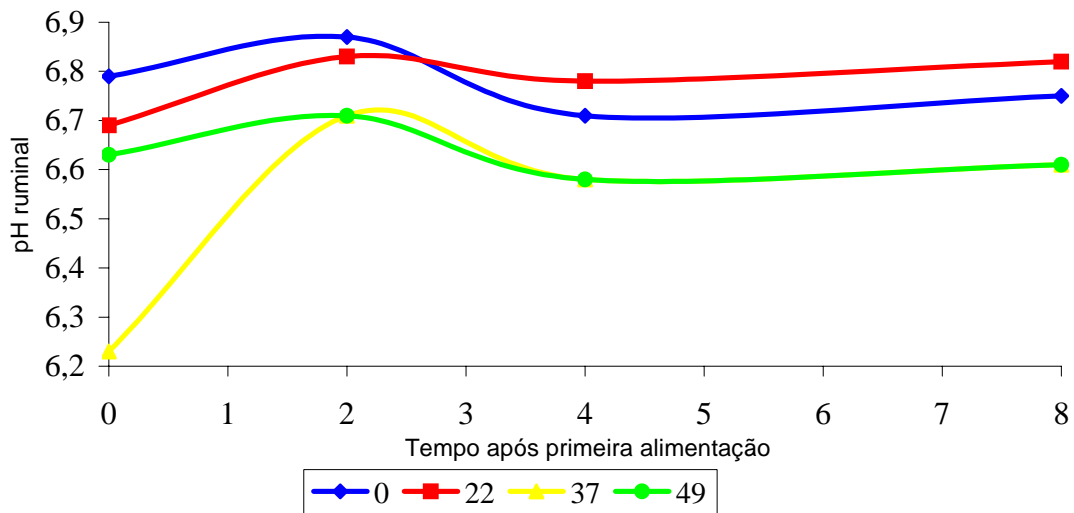


Figura 10 – Valores do pH no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira alimentação, em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moídos (0, 22, 37 e 49% MS)

Tabela 5 – Efeitos das diferentes níveis de milho na dieta de bubalinos e dos tempos de amostragens após a primeira alimentação sobre o pH do líquido ruminal

Tempo (hr)	Níveis de milho em grãos moídos na dieta (%)				Média
	0	22	37	49	
0	6,79	6,69	6,23	6,63	6,67
2	6,87	6,83	6,71	6,71	6,79
4	6,71	6,78	6,58	6,58	6,67
8	6,75	6,82	6,61	6,61	6,72
Média	6,78 <sup>a</sup>	6,77 <sup>a</sup>	6,62 <sup>ab</sup>	6,62 <sup>b</sup>	6,70

Valores médios com letras diferentes na mesma linha diferem entre si (P<0,05)



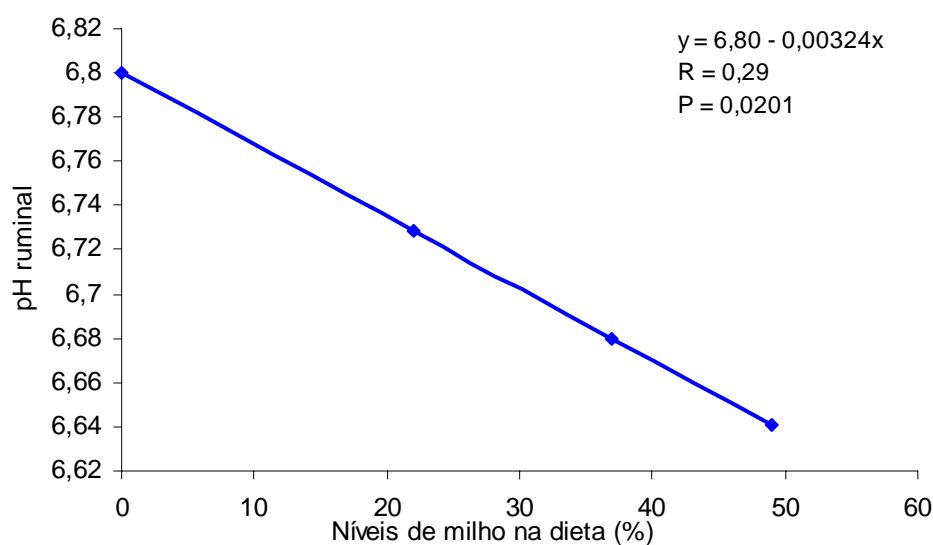


Figura 11 – Variação do pH ruminal em função dos níveis crescentes de milho em grãos moídos na dieta de búfalos

#### 4.4 Concentração de Amônia no Líquido Ruminal

A Tabela 6 e a Figura 12 apresentam as concentrações de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal nos búfalos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moído na ração. Não foram observados efeitos dos níveis crescentes de milho na dieta sobre a concentração de amônia ruminal ( $P > 0,05$ ). Kamra et al. (2003) alimentando búfalos com vários níveis de volumoso:concentrado (80:20, 70:30, 60:40 e 50:50) observaram que o nitrogênio amoniacal aumentou, com o aumento da quantidade de concentrado na ração.

O valor médio encontrado de 7,70 mg% de amônia no rúmen está dentro da variação relatada por Preston e Leng (1987) que é de 5 a 25 mg/100 mL, sendo maior que o valor recomendado por Satter e Slyter (1974) e menor que os recomendados por Preston e Leng (1987) e Pisulewski et al. (1981), que correspondem respectivamente a 5,0 mg%, 8,0 mg% e 9,6 mg%. Mas, esse valor está bem abaixo dos 24,0 mg% recomendados por Mehre et al. (1977) para máximo desaparecimento de substrato, embora esses autores tenham proposto não ser necessário manter, de forma constante, altas concentrações de amônia no líquido ruminal.

Misra e Ranhotra (1969) obtiveram produção de amônia de 33,28 e 25 mg/100 mL de líquido ruminal, respectivamente. Zanetti et al. (1995) verificaram nível médio de amônia ruminal de 17,18 mg/100 mL de líquido ruminal e Sousa (1999) relatou média geral de 21,46 mg% de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal.

O efeito do tempo sobre a concentração de amônia apresentou-se significativo ( $P < 0,05$ ), sendo essa característica comum em ruminantes alimentados de forma intermitente (Mehres et al., 1977). O pico da concentração de amônia no líquido ruminal ocorreu duas horas após o arraçoamento, com valor médio de 11,56 mg%, diminuindo a seguir. Esses dados corroboram com os de Paliwal e Sagar (1990), Zanetti et al. (1995) e Sousa (1999).

Pela Figura 12 pode-se observar que as concentrações de amônia no líquido ruminal de búfalos alimentados com dietas exclusivas de feno é mais constante após o pico que quando os animais receberam diferentes níveis de milho (22, 37 e 49%), principalmente após quatro horas após a alimentação. Isso pode ser explicado pela baixa disponibilidade de carboidratos não estruturais na dieta rica em volumoso (7,16%) embora o teor de proteína tenha sido baixo (6,87%) e, conseqüentemente, também o nível de energia foi baixo (46,12% NDT).

Tabela 6 – Efeitos de níveis crescentes de milho em grãos moídos na dieta de bubalinos sobre a concentração de amônia (mg%) no líquido ruminal

Tempo (hr)	Níveis de Milho (%)				Média
	0	22	37	49	
0	5,71 <sup>b</sup>	5,27 <sup>b</sup>	6,13 <sup>b</sup>	6,65 <sup>ab</sup>	5,9 <sup>b</sup>
2	12,31 <sup>a</sup>	10,45 <sup>a</sup>	11,98 <sup>a</sup>	11,51 <sup>a</sup>	11,56 <sup>a</sup>
4	7,58 <sup>b</sup>	7,95 <sup>ab</sup>	8,77 <sup>ab</sup>	7,61 <sup>ab</sup>	7,98 <sup>b</sup>
8	7,00 <sup>b</sup>	5,16 <sup>b</sup>	4,46 <sup>b</sup>	4,66 <sup>b</sup>	5,32 <sup>b</sup>
Média	8,15	7,20	7,83	7,60	7,70

Valores médios de amônia (mg%) no líquido ruminal não diferem entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ).

Valores médios seguidos por letras diferentes entre os tempos de amostragem diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

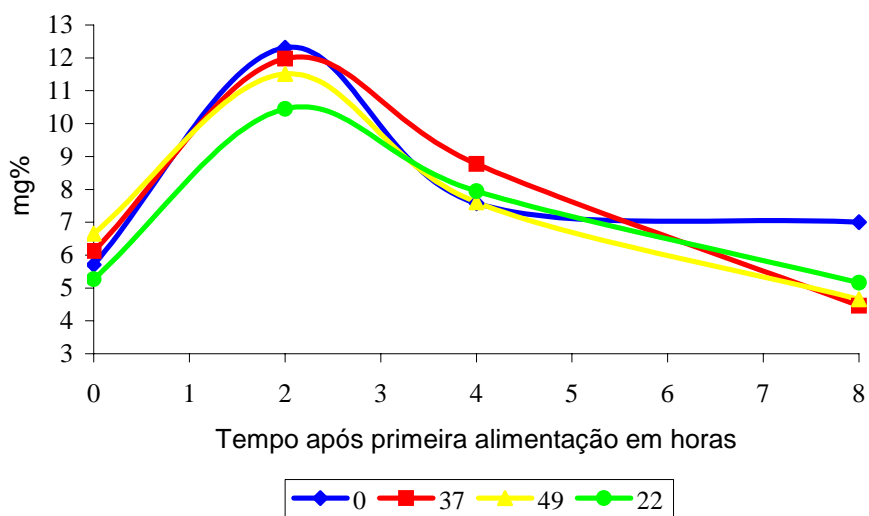


Figura 12 – Concentrações médias de amônia (mg%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira alimentação, em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moídos

#### 4.5 Ácidos Graxos Voláteis

Nas Tabelas 7, 8, 9, 10 e 11 e nas Figuras 13, 14, 15, 16 e 17 podem ser observadas as concentrações de ácido acético ( $C_2$ ), ácido propiônico ( $C_3$ ), ácido butírico ( $C_4$ ), relação acético:propiônico e a concentração total de AGV ( $C_2 + C_3 + C_4$ ).

Houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) do incremento de milho em grãos moídos na dieta promovendo diminuição das concentrações de ácido acético (%M). A porcentagem molar de ácido propiônico, no tratamento que os animais receberam 49% de milho em grãos moídos foi significativamente ( $P < 0,05$ ) maior que os demais tratamentos. Em valores absolutos, foi verificado aumento da concentração de ácido propiônico e diminuição de ácido acético com inclusão de milho em grãos moídos na dieta, o que demonstra melhora na qualidade energética das rações com o crescimento dos níveis de milho em grãos e redução do feno de coast-cross.

A concentração de ácido butírico (%) na dieta em que os animais recebiam exclusivamente feno diferiu significativamente das demais ( $P < 0,05$ ), observando tendência a aumento nas concentrações de butirato, com inclusão de milho na dieta.

A relação acético:propiónico diminuiu com o aumento dos níveis de milho na ração. Este dado está de acordo com as afirmações de Kaufmann (1976) e de Fahey e Berger (1988) de que essa relação é dependente da concentração de volumoso:concentrado na dieta; o teor de fibra na dieta aumenta a relação acético:propiónico. Porém, discorda dos resultados obtidos por Sousa (1999) que não encontrou efeito significativo entre as concentrações de acético, propiónico e butírico e para relação acético:propiónico avaliando diferentes níveis de FDN na alimentação de bubalinos.

Os níveis de milho na dieta não influenciaram significativamente ( $P < 0,05$ ) as concentrações (mM) dos ácidos acético, propiónico e do total de ácidos. A concentração de ácido butírico (mM) na ração com 22% de milho foi significativamente ( $P < 0,05$ ) menor que nos demais tratamentos. Esses dados estão de acordo com os de Kamra et al. (2003) que não observaram efeito significativo ( $P < 0,05$ ) das dietas sobre as concentrações de AGV. Mas os dados obtidos no presente trabalho são contrastantes com as afirmações de Naga e El-Shazly (1969) que avaliando a eficiência de produção de ácidos graxos voláteis em bubalinos alimentados com duas rações, uma com alto nível de concentrado e outra contendo somente volumosos obtiveram diferenças significativas nas concentrações de AGV.

Na Tabela 11 pode-se observar que os valores médios de AGV são bem próximos aos encontrados por Sousa (1999) que alimentando bubalinos com diferentes níveis de FDN obteve concentração média de AGV de 69,94 mM. As concentrações individuais de ácido acético, propiónico e butírico foram respectivamente 51,31 mM, 12,51mM e 6,12 mM. Valadares Filho et al. (1990) obtiveram para bubalinos concentração de AGV totais de 2,34 mmoles/100 mL.

Tabela 7 – Efeitos das diferentes níveis de milho na dieta sobre as concentrações de ácido acético (%M) no líquido ruminal

Tempo (hr)	Níveis de milho em grãos moídos (%)			
	0	22	37	49
0	78,84 <sup>a</sup>	75,44 <sup>b</sup>	74,57 <sup>b</sup>	74,40 <sup>b</sup>
2	77,21 <sup>a</sup>	75,03 <sup>ab</sup>	72,89 <sup>b</sup>	73,34 <sup>b</sup>
4	78,36 <sup>a</sup>	74,71 <sup>b</sup>	72,14 <sup>c</sup>	71,27 <sup>c</sup>
8	77,89 <sup>a</sup>	75,06 <sup>b</sup>	73,25 <sup>b</sup>	71,13 <sup>c</sup>
média	78,08 <sup>a</sup>	75,06 <sup>b</sup>	73,21 <sup>c</sup>	72,54 <sup>c</sup>

Valores de ácido acético no líquido ruminal não diferem entre os tempos de amostragem ( $P < 0,05$ ).  
Valores seguidos por letras diferentes entre os níveis de milho da dieta diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

Tabela 8 – Efeitos das diferentes níveis de milho na dieta sobre as concentrações de ácido propiônico (%M) no líquido ruminal

Tempo (hr)	Níveis de milho em grãos moídos (%)			
	0	22	37	49
0	14,58	14,85	14,86	15,42
2	15,61	15,17	15,79	16,16
4	14,55 <sup>b</sup>	15,02 <sup>ab</sup>	16,17 <sup>ab</sup>	17,68 <sup>a</sup>
8	14,80 <sup>b</sup>	14,38 <sup>b</sup>	15,30 <sup>ab</sup>	17,68 <sup>a</sup>
Média	14,88 <sup>b</sup>	14,85 <sup>b</sup>	15,73 <sup>b</sup>	16,73 <sup>a</sup>

Valores de ácido propiônico no líquido ruminal não diferem entre os tempos de amostragem ( $P < 0,05$ ).  
Valores seguidos por letras diferentes entre os níveis de milho da dieta diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

Tabela 9 – Efeitos das diferentes níveis de milho na dieta sobre as concentrações de ácido butírico (%M) no líquido ruminal

Tempo	Níveis de milho em grãos moídos (%)			
	0	22	37	49
0	6,58 <sup>b</sup>	9,71 <sup>a</sup>	10,58 <sup>a</sup>	10,18 <sup>a</sup>
2	7,19 <sup>b</sup>	9,81 4 <sup>a</sup>	11,32 <sup>a</sup>	10,50 <sup>a</sup>
4	7,09 <sup>b</sup>	10,28 <sup>a</sup>	11,69 <sup>a</sup>	11,06 <sup>a</sup>
8	7,31 <sup>b</sup>	10,56 <sup>a</sup>	11,45 <sup>a</sup>	11,19 <sup>a</sup>
Média	7,04 <sup>c</sup>	10,09 <sup>b</sup>	11,26 <sup>a</sup>	10,73 <sup>ab</sup>

Valores de ácido butírico no líquido ruminal não diferem entre os tempos de amostragem ( $P < 0,05$ ).  
Valores seguidos por letras diferentes entre os níveis de milho da dieta diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

Tabela 10 – Efeitos das diferentes níveis de milho em grãos moídos na dieta sobre a relação de ácido acético:propiónico (%M) no líquido ruminal

Tempo (hr)	Níveis de milho em grãos moídos (%)			
	0	22	37	49
0	5,41 <sup>b</sup>	5,12 <sup>a</sup>	5,04 <sup>a</sup>	4,86 <sup>a</sup>
2	5,00	5,02	4,64	4,62
4	5,41 <sup>a</sup>	5,04 <sup>ab</sup>	4,49 <sup>bc</sup>	4,12 <sup>c</sup>
8	5,28 <sup>a</sup>	5,23 <sup>b</sup>	4,80 <sup>c</sup>	4,16 <sup>c</sup>
Média	5,27 <sup>a</sup>	5,10 <sup>ab</sup>	4,74 <sup>bc</sup>	4,44 <sup>c</sup>

A relação de ácido acético:propiónico no líquido ruminal não diferem entre os tempos de amostragem ( $P < 0,05$ ).

Valores seguidos por letras diferentes entre os níveis de milho da dieta diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

Tabela 11 - Concentrações médias de ácido acético, ácido propiónico e ácido butírico no líquido ruminal (mM), em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moídos

Ácidos	Níveis de milho em grãos moídos (%)				Média
	0	22	37	49	
Acético	53,35	57,17	51,82	52,13	53,62
Propiónico	11,16	11,46	11,09	11,76	11,37
Butírico	4,81 <sup>b</sup>	7,84 <sup>a</sup>	7,99 <sup>a</sup>	7,99 <sup>a</sup>	7,15
Total	68,32	76,47	70,9	71,88	71,89

Valores de ácido no líquido ruminal seguidos por letras diferentes entre os níveis de milho da dieta diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

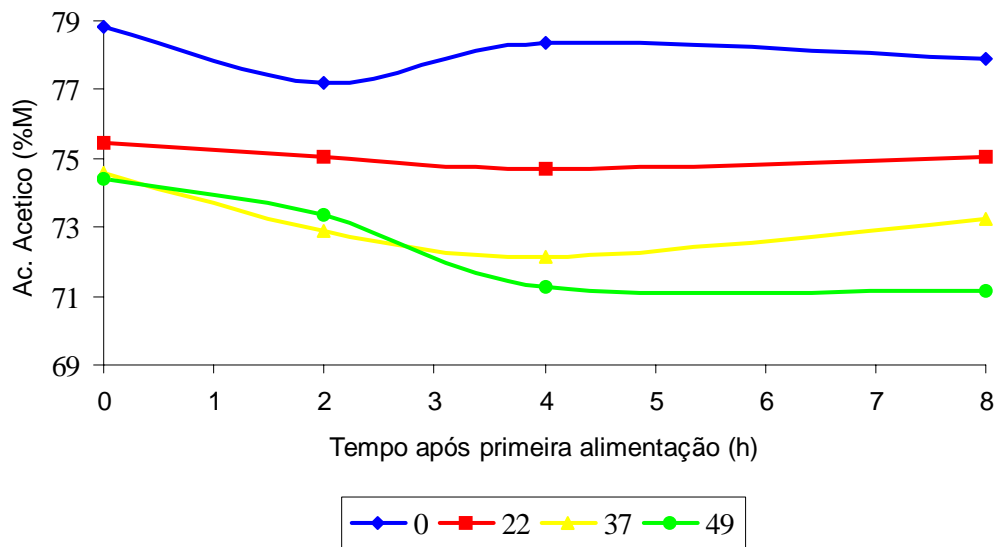


Figura 13 – Concentrações médias de ácido acético (%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira refeição, em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moídos

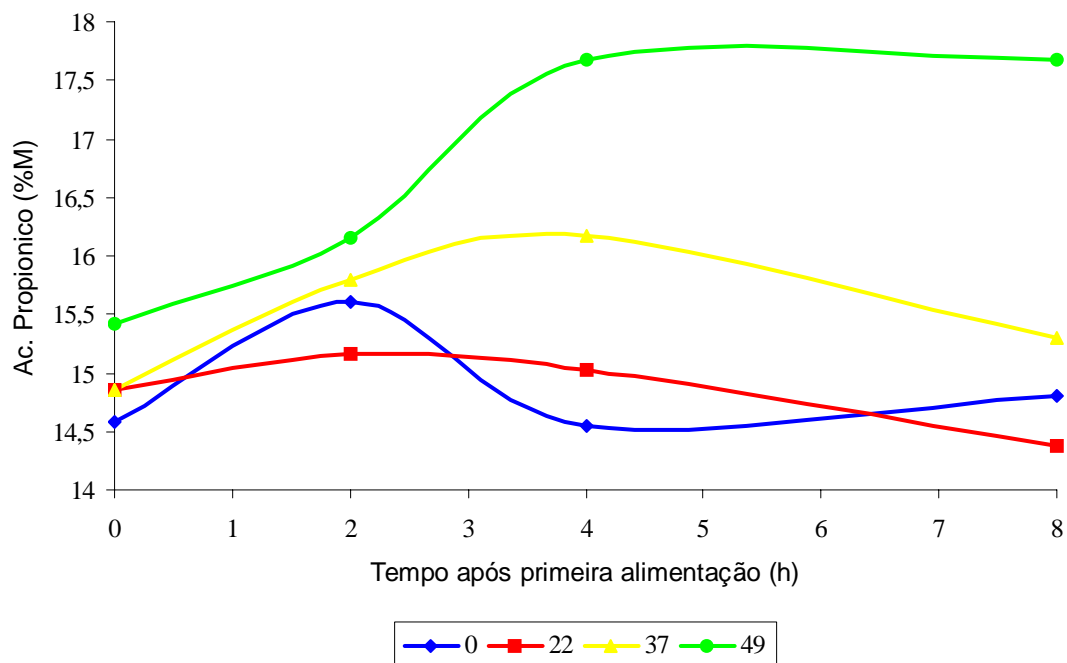


Figura 14 – Concentrações médias de ácido propiônico (%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira refeição, em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moídos

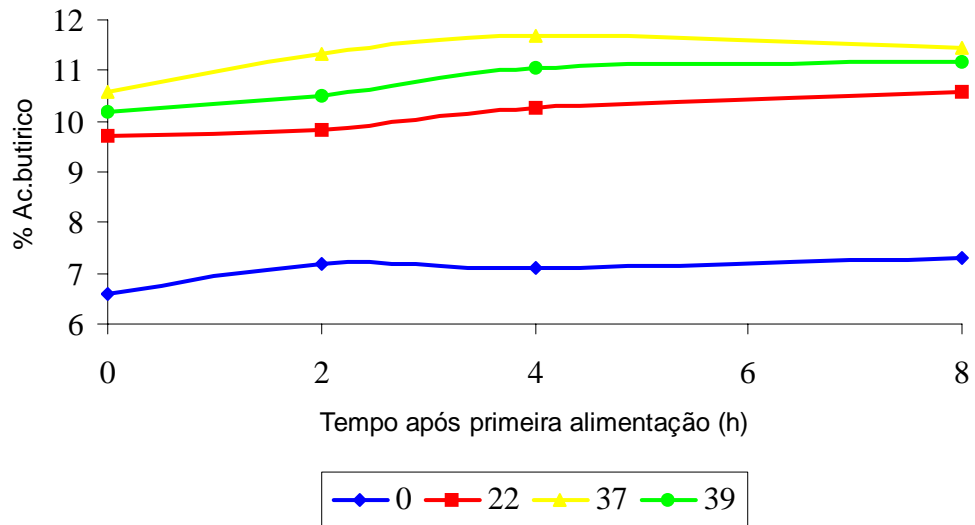


Figura 15 – Concentrações médias de ácido butírico (%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira refeição, em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moídos

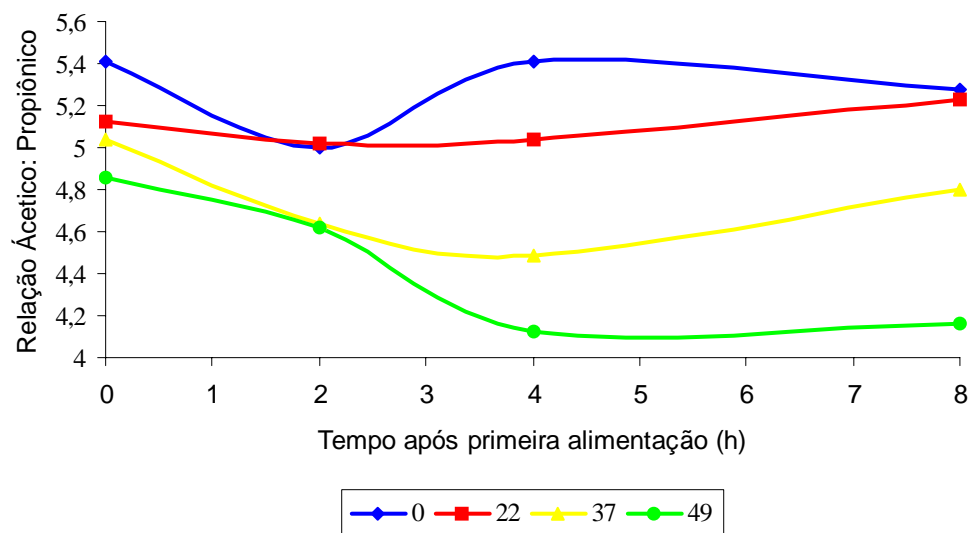


Figura 16 – Relação ácido acético:propiónico (%) no líquido ruminal, em diversas horas após a primeira refeição, em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moídos



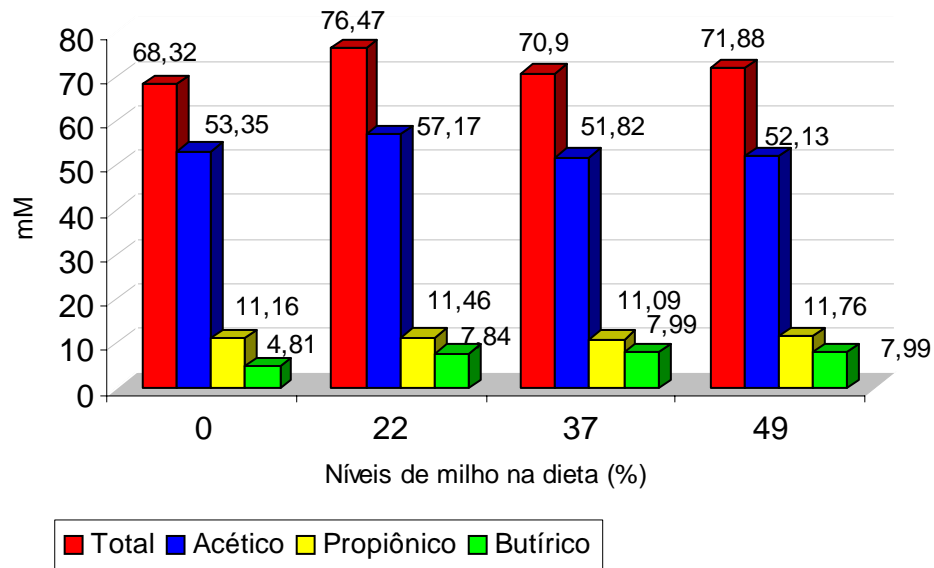


Figura 17 – Concentrações médias de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico no líquido ruminal (mM), em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moídos

#### 4.6 Dinâmica Ruminal

As taxas de passagem de líquido ruminal por dia e por hora e volume ruminal de bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho são apresentadas na Tabela 12 e nas Figuras 18,19 e 20.

Os níveis crescentes de milho na dieta dos bubalinos (0, 22, 37 e 49%) influenciaram ( $P < 0,05$ ) o volume do rúmen (L) e a taxa de passagem do líquido ruminal, ocorrendo tendência ao aumento da taxa de passagem e diminuição do volume ruminal com o aumento de nível de milho em grãos moídos na dieta dos bubalinos. Isto está de acordo com Hungate (1966), Lucci et al. (1982), Rode et al. (1985), Poore et al. (1990) e Sefrin (1994), que verificaram que aumento na proporção de alimento volumoso na dieta provoca menor taxa de passagem pelo fato do processamento do material fibroso, pelos microrganismos no interior do rúmen, ser mais lento. Franzolin (2002) alimentando búfalos com níveis crescentes de FDN (54, 60, 66 e 72%) observaram que o volume do rúmen aumentou e a taxa de passagem do líquido ruminal diminuiu significativamente ( $P < 0,05$ ). A diminuição

da taxa de passagem do líquido e o aumento no volume ruminal no tratamento com 49% de milho pode estar relacionada ao aumento no consumo de matéria seca.

A taxa de passagem média foi de 2,15 litros/dia e 0,09 litros/hora, valores que estão bem próximos dos verificados por Sousa (2004) de 2,18 litros/dia e 0,091 litros/hora para taxa de passagem de búfalos alimentados com cana-de-açúcar e volumoso a base de polpa cítrica, germem de milho, levedura e uréia e Franzolin (2002) em bubalinos recebendo dietas com níveis crescentes de FDN médias de 0,084/h. Mas abaixo dos obtidos por Nogueira Filho et al. (2004) alimentando búfalos com feno de capim *coast-cross* (65%), fubá de milho (20%) e farelo de algodão (15%) sendo taxa de taxa de passagem de 3,85 litros/dia e 0,161 litros /hora.

Comparando as duas metodologias utilizadas para avaliar a dinâmica ruminal observa-se que os valores encontrados para as taxas de passagem foram bem parecidos, apesar de o Co-EDTA ter apresentado valores ligeiramente mais elevados que os do PEG. Quanto ao volume ruminal os valores verificados com o uso do Co-EDTA não condizem com a realidade, pois estão bem abaixo do relatado em literatura já os valores obtidos com o uso do PEG estão de acordo com a literatura especializada.

Volume ruminal médio foi de 43,41 litros para búfalos com peso médio 367 kg. Nogueira Filho (1995) obteve volume ruminal médio para bubalinos pesando 520 kg de 159,5 litros. Sousa (2004) em bubalinos pesando 650kg obteve volume ruminal de 66,38. Franzolin (2002) alimentando búfalos com níveis crescentes de FDN (54, 60, 66 e 72%) verificou volume ruminal médio 76,29 L, com o peso médio dos animais de 540 kg.

Tabela 12 – Taxas de passagem de líquido por dia e por hora e volume ruminal de bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moídos

Parâmetros	Níveis de milho na dieta (%)			
	0	22	37	49
Taxa de passagem de líquido/dia (PEG)	1,92	2,38	2,36	1,95
Taxa de passagem de líquido/dia (Co-EDTA)	2,09	2,68	2,76	2,54
Taxa de passagem de líquido /hora (PEG)	0.0804 <sup>b</sup>	0.0835 <sup>a</sup>	0.0986 <sup>a</sup>	0.0812 <sup>b</sup>
Taxa de passagem de líquido /hora (Co-EDTA)	0,0872	0,112	0,115	0,106
Volume Ruminal (L) (PEG)	52.94 <sup>a</sup>	40,86 <sup>b</sup>	36.89 <sup>c</sup>	42.98 <sup>b</sup>
Volume Ruminal (L) (Co EDTA)	14,63	13,73	12,79	11,58

Valores de taxa de passagem em horas e volume ruminal seguidos por letras diferem, entre os níveis de milho da dieta diferem entre si pelo teste LSD (P<0,05).

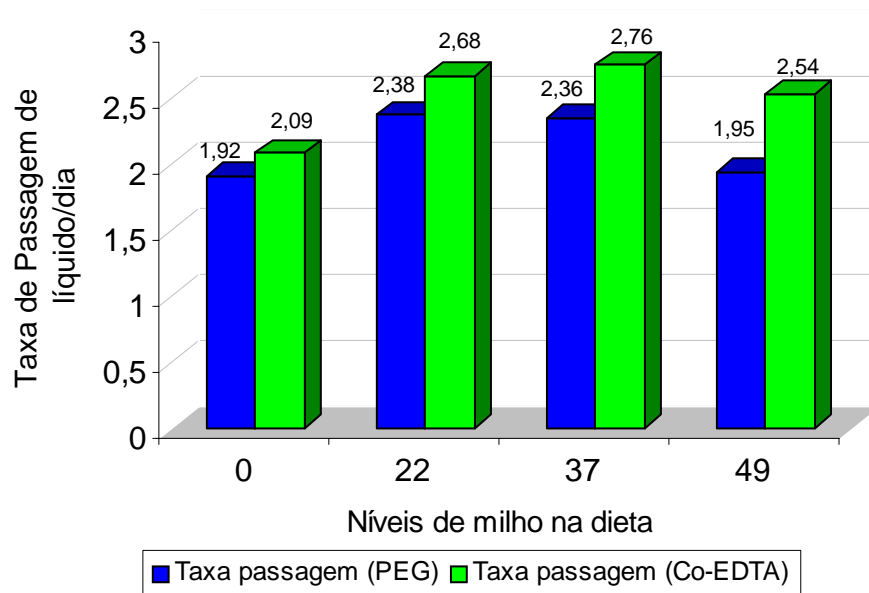


Figura 18 – Taxas de passagem de líquido por dia em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho avaliadas utilizando diferentes marcadores (PEG e Co-EDTA)

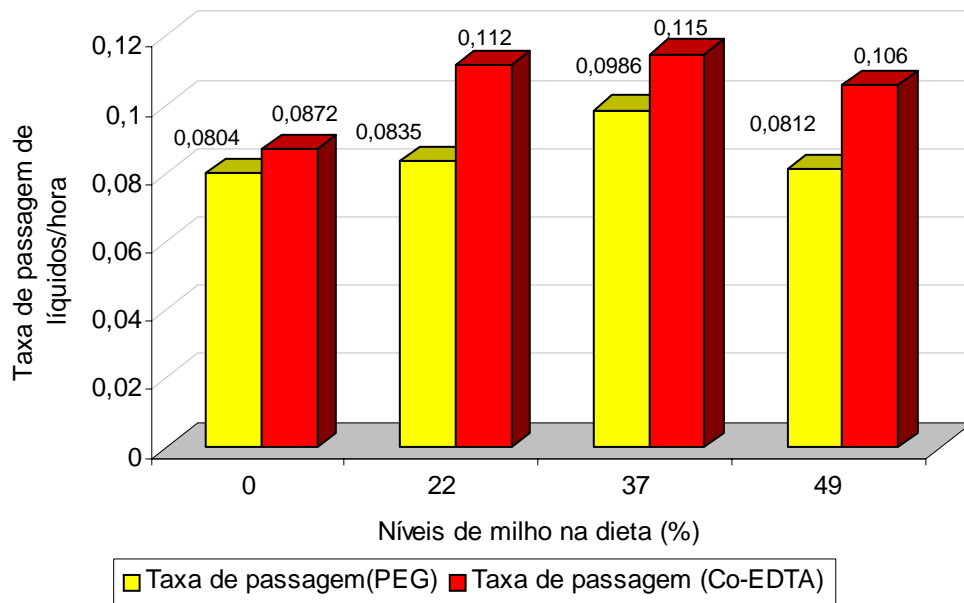


Figura 19 – Taxas de passagem de líquido por hora em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho, avaliadas utilizando diferentes marcadores (PEG e Co-EDTA)

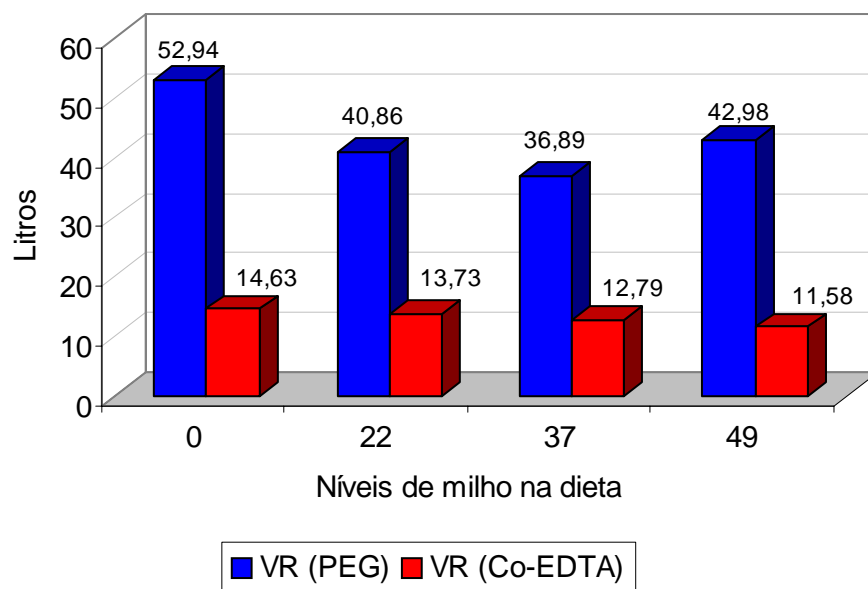


Figura 20 – Volume ruminal (litros) avaliados utilizando diferentes marcadores, PEG e Co-EDTA, em bubalinos alimentados com diferentes níveis de milho em grãos moídos

## 5 CONCLUSÕES

1) Níveis crescentes de milho em grãos na dieta promovem aumento crescente na ingestão de matéria seca em bubalinos.

2) O aumento dos níveis de milho em grãos moídos na dieta de 0 a 49% na MS de búfalos apresenta pouca influência da degradabilidade ruminal da MS e FDN do feno e da MS e PB do milho em grãos moídos, indicando que os microrganismos no rúmen de búfalos têm boa capacidade em se adaptar a ambientes ruminais com diferentes relações PB:CNE.

3) Os búfalos apresentam eficiente sistema de tamponamento ruminal, com ligeira queda linear no pH (amplitude de 0,16), mantendo média de 6,70 com aumento de 0 a 49% de milho em grãos na dieta.

4) Dietas com 37 e 49% de milho em grãos moídos promovem redução na relação acetato:propionato em relação a dieta exclusiva de feno e com 22% de milho, indicando melhoria na fermentação ruminal.

5) Relação elevada de PB:CNE (1,02) observada em dieta exclusiva de feno promove menor queda na concentração de amônia no líquido ruminal ao longo do dia, indicando menor eficiência de síntese microbiana.

6) Nível elevado de milho na dieta (49% MS) mantém taxa de passagem de líquido no rúmen semelhante à dieta exclusiva com feno e menores taxas que dietas com 22 e 37% de milho em grãos moídos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH, O.Y., SHAHIN, K.A., LATIF, M.G.A. 1982. **Allometric growth patterns of the alimentary tract in water buffalo and Friesean crossbreed cattle.** Indian J. Anim. Sci., 52(7): 506-513.
- ALCADE, C.R. **Avaliação da granulometria ou hidratação do milho através da digestibilidade aparente, degradação ruminal e desempenho de bovinos.** 1997. Tese (Doutorado) – Faculdades de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.
- ALEXANDER, C.L.; MEYER, R.M.; BARTLEY, E.E. **Effect of quantity of rumen dry matter and other factors on determinations of rumen fluid volume with polyethylene glycol.** Journal of Animal Science, Albany, v.29, p.69-74, 1969.] [WANER, A.C.I.; STACY, B.C. The fate of water in the rumen. British Journal of Nutrition, Cambridge, v.22, p.369-387, 1983.
- ARGYLE JL ; BALDWIN RL (1989) **Effects of amino acids and peptides on rumen microbial growth yields.** Journal of Dairy Science 72, 2017–2027.
- ARMSTRONG, D.G.; BEEVER, D.E. 1969. **Post-abomasal dogestion of carbohydrate in the adult ruminant.** Proc. Nutr. Soc., 28(4): 121-125.
- ARMSTRONG, D.G.; SMITHARD, R.R. 1979. **The fate of carbohydrates in the small and large intestines of the ruminant.** Proc. Nutr. Soc., 38(3):283-286.
- ARORA, S.P.; ACHHABRA, P.P; ATRIGA and K.N. SHARMA. 1978. **Nutrient requeriments of calves ad libitum feeding system.** Indian j. dairy Sci. n 31, v.9.
- ARROQUY, J.I.; COCHRAN, R.C.; WICKERSHAM, T.A.; LLEWELLYN, D.A., 2002. **Effect of carbohydrate types and supplemental degradable intake protein sources on low-quality forage utilization by beef steers.** J. Anim. Sci. 80 (Suppl. 2), 247 (Abstr.).
- ARROQUY , J.I.; COCHRAN, R.C.; NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C.; JOHNSON, D.E. 2005. **Effect of types of non-fiber carbohydrate on in vitro forage fiber digestion of low-quality grass hay.** Animal Feed Science and Technology 120. 93–106
- BARTOCCI, S; AMICI, A; VERNA, M; TERRAMOCCIA, S; MARTILLOTTI, F. **Solid and fluid passage rate in buffalo, cattle and sheep fed diets with different forage to concentrate ratios.** Livestock Production Science 52 (3): 201-208 Dec 31 1997
- BATISTA, A.M.V. **Soja integral tratada com formaldeído na alimentação de novilhos.** Viçosa, MG:UFV, 1981. 48p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1981.

BATISTA, H.A.M.; AUTREY, K.M.; TIESENHAUSEN, I.M.E.V. 1982. **Comparative “in vitro” digestibility by buffalo, zebu and Holstein cattle.** J. Dairy Sci., 65(5):746-751.

BEEVER, D.E., 1993. **Rumen function.** In: Forbes, J.M., France, J. (Eds.), Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. CAB International, Oxon, UK, 187 pp.

BELASCO, I.J., 1956. **The role of carbohydrates in urea utilization, cellulose digestion and fatty acid formation.** J. Anim. Sci. 15, 496 – 507.

BINES, J.A.; DAVEY, A.W.F. **Voluntary intake, digestion, rate of passage, amount of material in the alimentary tract and behavior in cows receiving complete diets containing straw and concentrates in different proportions.** 1970. Br. J. Nutr., 24(3):1013-1028.

BODINE, T.N.; PURVIS II, H.T.; ACKERMAN, C.J.; GOAD, C.L., 2000. **Effects of supplementing prairie hay with corn and soybean meal on intake, digestion, and ruminal measurements by beef steers.** J. Anim. Sci. 78, 3144 – 3154.

BODINE, T.N.; PURVIS II, H.T., 2003. **Effects of supplemental energy and/or degradable intake protein on performance, grazing behavior, intake, digestibility, and fecal and blood indices by beef steers grazed on dormant native tallgrass prairie.** J. Anim. Sci. 81, 304–317.

BRANCO, A.F. et al. **Efeitos da fonte de proteína da dieta sobre a digestão de amido em bovinos.** Acta Scientiarum. Maringá, v.23, n.4, p.953-959, 2001

BRANNON, P.M. **Adaptation of the exocrine pancreas to diet.** Annu. Rev. Nutr., Palo Alto, v.10, p.85-105, 1990.

CAMERON, M.R.; KLUSMEYER, T.H.; LYNCH, G.L.; CLARK, J.H.; NELSON, D.R. **Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows.** Journal of dairy Science, v. 74, p.1321 – 1331. 1991.

CAPPELLE, E. R.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; CECON, P.R. **Estimativas do Valor Energético a partir de Características Químicas e Bromatológicas dos Alimentos.** Rev. Bras. Zootec., Dez 2001, vol.30, no.6, p.1837-1856.

CASTLEBURY, R.E.; PRESTON, R.L. **Effect of dietary protein level on nutrient digestion in lambs duodenally infused with corn starch.** J. Anim. Sci., Suppl. 1, Savoy, p. 264 (Abstract), 1993.

CASTRILLO, C.; LAINEZ, M.; CASA, J. Et al. 1992. **The effect on increasing the proportion of barley straw in pelleted concentrate diets given to lambs on rumen outflow rate and degradation of protein supplements.** Animal Production, 54(1):59-66.

- CECAVA, M.J. et al. **Effects of dietary energy level and protein source on nutrient digestion and ruminal nitrogen metabolism in steers.** J. Anim. Sci. Savoy, v.69, n.3 p. 2230-2243, 1991.
- CHAPPELL, G.L.M.; FONTENOT, J.P. 1968. **Effect of level of readily available carbohydrates in purified sheep rations on cellulose digestibility and nitrogen utilization.** J. Anim. Sci., 27:1709-1715.
- CHASE JR., C.C.; HIBBERD, C.A., 1987. **Utilization of low-quality native grass hay by beef cows fed increasing quantities of corn grain.** J. Anim. Sci. 65, 557–566.
- CHAUBILITY, U.B.; GUPTA, R.; BIRD, S.H.; MUDGAL, V.D., 1991. **In sacco dry matter disappearance of different protein cakes in the rumen of male buffalo and their solubility in water.** In: Proceedings of the 3rd World Buffalo Congress, p. 165. Abstract.
- CHIMWANO, A.M.; ORSKOV, E.R.; STEWART, C.S. 1976. **Effect of dietary proportions of roughage and concentrate on rate of digestion of dried grass and cellulose in the rumen of sheep.** Proc. Nutrition Society, 35: 101A.
- CHURCH, D.C. **Fisiología digestiva y nutrición de los ruminantes.** Zaragoza, Acribia, 1974. 483p.
- CHURCH, D.C. **Digestive physiology and nutrition of ruminants.** Corvallis, O e B Books, 1976, v.1, 350p.
- CHURCH, D.C. **The ruminant animal – Digestive physiology and nutrition.** Illinois: Waveland Press, 1993. 564p.
- CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. **Symposium: nitrogen metabolism and amido acid nutrition in dairy cattle.** Journal of Dairy Science, v.75, p. 2304 – 2323, 1992.
- COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes.** Editora Livrocetes, Piracicaba, 1979. 380p.
- CROSS, D.L.; BOLING, J.A.; BRADLEY, N.W. 1971. **Chromic oxide and crude protein excretion in the bovine as influenced by water restriction.** J. Anim. Sci., 36(5):982-985.
- CUMBURIDZE, S. ; G. DALAKISVILLI. 1959. **The effectiveness of fattening buffaloes kept partly indoors.** Moloch. Myas Zhiv. N.4, v.16.
- DEHORITY, B.A. **Ciliate protozoa in the rumen of Brazilian water buffalo, bubalus bubalis Linnaeus.** Journal Protozoology, v.26, p.536-544, 1979.
- DEHORITY, B.A. **Rumen Microbiology.** Wooter, USA: Ohio Agricultural Research and Development center, 1987. 239p.



- DEL CURTO, T.; COCHRAN, R.C.; HARMON, D.L.; BEHARKA, A.A.; JACQUES, K.A.; TOWNE, G.; VANZANT, E.S., 1990. **Supplementation of dormant tallgrass-prairie forage: I. influence of varying supplemental protein and (or) energy levels on forage utilization characteristics of beef steers in confinement.** J. Anim. Sci.68, 515 – 531.
- DEVANT, M.; FERRET, A.; CALSAMIGLIA, S.; CASALS, R.; GASA, J. **Effect of nitrogen source in high-concentrate, low-protein beef cattle diets on microbial fermentation studied in vivo and in vitro.** Journal of Animal Science, v. 79, p.1944 – 1955, 2001.
- DZHAAROV, S. 1958. **Buffalo breeding – valuable source of butter and meat production.** Moloch. Myas. Zhiv. N.3, v.16.
- ELLIS, W.C.; POPPI, D.; MATIS, J.H. Feed intake in ruminants:kinetic aspects. In: D MELLO, J.P.F. **Farm Animal Metabolism and Nutrition.** CAB International, 2000. cap.16, p. 335.363.
- FAHEY Jr., G. C.; BERGER, L. L. **Carbohydrate nutrition of ruminants.** In: CHURCH, D. C. The ruminant animal. Englewood Cliffs: Waveland Press, 1988. cap. 14, p. 269-297.
- FAICHNEY, G.J. **An assessment of chromic oxide as an indigestible marker for digestion studies in sheep.** 1972. J. Agric. Sci., 79(3):493-499.
- FOLDAGER, J. **Protein requirement and non protein nitrogen for high producing cow in early lactation.** 1977. Ph.D. thesis. Michigan State University, East Lansing, MI.
- FONDEVILA, M.; BARRIOS-URDANETA, A.; BALCELLS, J.; CASTRILLO, C., 2002. **Gas production from straw incubated in vitro with different levels of purified carbohydrates.** Anim. Feed Sci. Technol. 101, 1–15.
- FRANCE, J.; SIDDON, R.C.;DHANOA, M.S. 1991. **Adaptation os compartmental schemes of interpreting isotope dilution data on volatile fatty acid metabolism in the rumen to the non-steady state and for single-dose injection.** J.Theor. Biol., 153 (2): 247-254.
- FRANZOLIN NETO, R.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; ZANETTI, M.A. **Avaliação dos protozoários ciliados no rúmen de búfalo e bovino.** In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, 14, Salvador, BA, 1990. Anais. Salvador, 1990, p 258-262.
- FRANZOLIN NETO, R.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; OLIVEIRA, M.E.M. **Efeitos de dietas com diferentes níveis de proteína sobre os protozoários ciliados no rúmen de búfalos (*Bubalus bubalis* L.).** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.26, n.4, p.487-493, 1991b.

FRANZOLIN, R. **Comparação da fauna ruminal e da degradabilidade da dieta entre bubalinos e bovinos zebuínos alimentados à base de cana-de-açúcar.** Pirassununga: Universidade Federal de São Paulo, 1996. 78p. Tese (Livre-Docência) - Universidade de São Paulo, 1996, 78p.

FRANZOLIN, R.; DEHORITY, B.A. **Comparison of protozoal populations and digestion rates between water buffalo and cattle fed an all forage diet.** Journal of Applied Animal Research, v.16, p .33-46, 1999.

FRANZOLIN, M.H.T.; SILVEIRA, A.C.; FRANZOLIN, R. **Efeitos de Dietas com Diferentes Níveis de Fibra em Detergente Neutro e do Tamanho de Poros de Sacos de Náilon Incubados no Rúmen sobre a Fauna Ruminal em Bubalinos e Bovinos1.** R. Bras. Zootec., v.31, n.2, p.716-723, 2002

FRENCH, D. **Chemical and physical properties os starch.** J.Anim. Sci., Savoy, v.37, n.4, p. 1048-1061, 1973

GABARRA, P.R.; SANTOS, F.A.P. **Digestibilidade de nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos de novilhos nelore alimentados com fontes protéicas e energéticas com diferentes degradabilidades ruminais.** Dissertação de mestrado. Piracicaba, 2001.

GANEV, G.; ORSKOV, E.R.; SMART, R. **The effect of roughage or concentrate feeding and rumen retention time on total degradation of protein in the rumen.** 1979. J.Agric. Sci., 93:651-656.

GARCIA, A.B. **Digestão parcial e total de carboidratos em quatro diferentes grupos genéticos de novilhos.** Viçosa, MG, 1982. 68p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1982.

GHONEIM, A. et al. 1959. **Study in growth of Egyptian cos and buffaloes up to 1 ½ years old.** Univ. of Cairo, Faculty of Agriculture. Bull 133. Cairo.

CHURC. D.C. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**, 2.ed. New Jersey: Waveland, 1993. 564p.

GIGER-REVERDIN, S.; SAUVANT, D.; NAJAR, T.; RIGAUULT, M. **Diet influence on biological degradation in sacco of cell walls by ruminants.** Anim. Feed Sci. And Technology, v.32, p. 223-227, 1991.

GOMES, S.Z. **Digestão parcial e total da proteína energia e consumo voluntário de matéria seca por diferentes grupos genéticos de bovídeos.** Viçosa, Mg: UFV, 1982. 106p. Tese (doutorado em |Zootecnia) – Universidade de Viçosa, MG: UFV, 1982.

GRANT, R.J.; MERTENS, D.R., 1992. **Development of buffer systems for pH control and evaluation of pH effects on fiber digestion in vitro.** J. Dairy Sci. 75, 1581–1587.

GRANT, R.J., 1994. **Influence of corn and sorghum starch on the in vitro kinetics of forage fiber digestion.** J. Dairy Sci. 77, 1563–1569.

GUILBOT, A; MERCIER, C. **Starch**, in: ASPINALL, G.D. (Ed.). *the polysaccharides*. New York: Academic Press, 1985. p. 229-295.

HALL, M.B.; HOOVER, W.H.; JENNINGS, J.P.; MILLER, T.K.; WEBSTER, A.; **Method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates.** Journal Science Food Agriculture, v. 79, p.2079, 1999.

HALL, M.B.; **Recent advanced in non-NDF carbohydrates for de nutrition of lacting cows**, In: Simposio internacional em Bovinos de Leite, 2., 2001, Lavras. Anais...Lavras: UFAL-FAEPE, 2001. p. 139-148.

HELDT, J.S.; COCHRAN, R.C.; STOKKA, G.L.; FARMER, C.G.; MATHIS, C.P.; TITGEMEYER, E.C.; NAGARAJA, T.G., 1999a. **Effects of different supplemental sugars and starch fed in combination with degradable intake protein on low-quality forage use by beef steers.** J. Anim. Sci. 77, 2793–2802.

HELDT, J.S.; COCHRAN, R.C.; MATHIS, C.P.; WOODS, B.C.; OLSON, K.C.; TITGEMEYER, E.C.; NAGARAJA, T.G.; VANZANT, E.S.; JOHNSON, D.E., 1999b. **Effects of level and source of carbohydrate and level of degradable intake protein on intake and digestion of low-quality tallgrass-prairie hay by beef steers.** J. Anim. Sci. 77, 2846–2854.

HELMER, L.G.; BARTLEY, E.E., 1971. **Progress in the utilization of urea as a protein replacer for ruminants: a review.** J. Dairy Sci. 54, 25 – 51.

HENDERSON, A.R.; GARNSWORTHY, P.C.; NEWBOLD, J.R.; BUTTERY, P.J., 1998. **The effect of synchronous diets on the function of the rumen in the lactating dairy cow.** Proc. Br. Soc. Anim. Sci. 19.

HENNESSY, D.W.; WILLIAMSON, P.J.; NOLAN, J.V.; KEMPTON, T.J.; LENG, R.A., 1983. **The role of energy- and protein-rich supplements in the subtropics for young cattle consuming basal diets that are low in digestible energy and protein.** J. Agric. Sci. (Camb.) 100, 657–666.

HENNING, P.H.; STEYN, D.G.; MEISSNER, H.H., 1991. **The effect of energy and nitrogen supply pattern on rumen bacterial growth in vitro.** Anim. Prod. 53, 165–175.

HERRERA-SALDANA, R.; GOMEZ-ALACORN, R.; TORABI, M.; HUBER, J.T., 1989. **Influence of synchronising protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilisation and microbial protein synthesis.** J. Dairy Sci. 73, 142–148.

HERERA-SALDANHA, R.E. et al. **Dry matter, crude protein and starch degradability of five cereal grains.** J. Dairy Sci., Savoy, v.73, n.9, p 2386-2393, 1990.

HYDEN, S. (1955). **Kungl. Lantbrhgdsk. Annlr.** 22, 139.

- HOOVER, C.W.; STOKES, S.R. **Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield.** Journal of Dairy Science. V. 74, p. 3630 – 3640. 1991.
- HUBER, J.T.; HERRERA-SALDANA, R. **Synchrony of protein and energy supply to enhance fermentation.** In: Asplund, J.M. Principles of protein nutrition of ruminants. Boca Raton: C.R.C. Press, 1994. p.31 -52.
- HUBER, J.T.; SANTOS, F.A.P. **The role of bypass protein in diets for high producing cows.** In: Southwest nutrient management conference, Phoenix, 1996. Proceedings. Phoenix: Univ. Arizona, 1996. p. 55.
- HUNGATE, R.E. **The rumen and its microbes.** USA: Academic Press Inc., 1966. 533p.
- HUNTINGTON, J.A.; GIVES, D.I. **The in situ technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of procedure.** 1995. Nutrition Abstracts and Reviews (series B), 65 (2): 63-93.
- INFASCELLI, F.; DI LELLA, T.; PICCOLO, V., 1995. **Dry matter, organic and crude protein degradability of high protein feeds in buffalos and sheep.** Zoot. Nutr. Anim. 21 (Suppl.), 89–94.
- JOHNSON, R.R., 1976. **Influence of carbohydrate solubility on non-protein nitrogen utilization in the ruminant.** J. Anim. Sci. 43, 184 – 191.
- JOHNSON, A. et al. **Adaptation of rat pancreatic amylase and chymotrypsinogen to changes in diet.** J. Nutr., Bethesda, v.107, p. 87, 1997.
- JOUANY, J.P. Effects of diet on populations of rumen protozoa in relation to fibre digestion. In: NOLAN, J.V.; LENG, R.A.; DEMEYER, D.I. (Eds.) **The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion.** Armidale: Penambul Books, 1989. p.59-74.
- KAMRA, D.N.; SAHA, S.; BHATT, N.; CHAUDHARY, L.C, AGARWAL, N. **Effect of diet on enzyme profile, biochemical changes and in sacco degradability of feeds in the rumen of buffalo.** Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 16 (3): 374-379 Mar 2003.
- KAUFMANN, W. **Influence of the composition of the ration and the feeding frequency on pH-regulation in the rumen and feed intake in ruminants.** 1976. *Livestock Production Science*, 3:103-114.
- KENNEDY, D.W.; BUNTING, L.D. **Effects of starch or ruminal fermentation and detergent fiber digestion in lambs fed bermudagrass hay.** 1992. An. Feed Sci. Tech., 36 (1/2):91-100.

KENNEDY, P.M.; MCSWEENEY, C.S.; FFOULKES, D.; JOHN, A.; SCHLINK, LE; FEUVRE, R.P.; KERR, J.D., 1992. **Intake and digestion in swamp buffaloes and cattle: 1. The digestion of rice straw (*Oryza sativa*).** J. Anim. Sci. Camb. 119, 227–242.

KINGSTON-SMITH, A.H.; THEODOROU, M.K., 2000. **Post-ingestion metabolism of fresh forage.** New Phytol. 148, 37–55.

KLEVESAHL, E.A.; COCHRAN, R.C.; TITGEMEYER, E.C.; WICKERSHAM, T.A.; FARMER, C.G.; ARROQUY, J.I.; JOHNSON, D.E., 2003. **Effect of a wide range in the ratio of supplemental rumen degradable protein to starch on utilization of low-quality, grass hay by beef steers.** Anim. Feed Sci. Technol. 105, 5–20.

KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. **Markers in nutrition.** 1972. Nutr. Abstr. Rev., 42(3):813-845.

KULASEK, G.A. **A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood and blood cells using urease and phenolreagent.** Pol. Arch. Wet., v.15, p.801-810, 1972.

KUMAR, N.; SINGH, U.B.; VERMA, D.N. **Effect of different levels of dietary protein and energy on growth of male buffalo calves.** 1981. Indian J. Anim. Sci., 51(4): 513-517.

KUMAR, V.; WALLI, T.K., 1988. **Rate and extent of dry matter disappearance and protein degradability of five cakes in buffalo rumen.** In: Proceedings of the 2nd World Buffalo Congress, pp.295–301.

KURAR, C.K.; MUDGAL, V.D. **Maintenance requirements for protein in buffaloes.** 1981. Indian J. Anim. Sci., 51(6):817-823.

KURAR, C.K. ; V.D.MUDGAL. 1981. **Maintenance requirements for protein in buffaloes.** Indian J. Anim. Sci. n.51, v. 817.

LEÃO, M.I.; VALADARES, R.F.D.; SILVA, J.F.C. et al. **Biometria do trato digestivo de bubalinos e bovinos.** Rev. Soc. Brás. Zoot., Viçosa, v.14(5) :559-564, 1985.

LEE, M.R.F.; MERRY, R.J.; DAVIES, D.R.; MOORBY, J.M.; HUMPHREYS, M.O.; THEODOROU, M.K.; MACRAE, J.C.; SCOLLAN, N.D. 2003. **Effect of increasing availability of water-soluble carbohydrates on in vitro rumen fermentation.** Animal Feed Science and Technology 104 . 59–70

LIMA, M.A.; VIANA, I.A.C.; RODRIGUES, N.M. **O uso do óxido crômico para estimar a excreção fecal de novilhos zebus em pastejo.** 1980. Rev. Soc.Bras. de Zootec., 9(2):188-202.

LIMA, F.C. **Digestão total e parcial da energia e proteína em taurinos, zebuínos e seus mestiços e em bubalinos.** Viçosa, MG:UFV, 1986. 120p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade de Viçosa, 1986.

LORENZONI, W.R.; CAMPOS, J.; GARCIA, J.A. *et al.* **Ganho de peso, eficiência alimentar e qualidade da carcaça de novilhos búfalos, Nelores, Holandeses e mestiços Holandês-Zebu.** Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.15, n.6, p.486-497, 1986.

LUCCI, C.S.; CONRAD, H.R.; DEHORITY, B.; GRUBB, J.A. **Populações microbianas dos rumens de vacas leiteiras submetidas a diversas rações.** Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, v. 19, p. 153-156, 1982.

LUNDRI, R.S.; RAZDAN, M.N. **Efficiency of nitrogen utilization by zebu cows and buffaloes. 1. Nutrient utilization and nitrogen balances and preformed protein diets.** 1980. Trop. Agric., 57(1):123-131.

LUNDRI, R.S.; RAZDAN, M.N. **Effect of variable amount of dietary nitrogen on pH, VFA and total and particulate nitrogen in the rumen of cow and buffaloes.** 1981. Indian J. Dairy Sci., 34(3): 272-277.

MACRAE, J.C.; SMITH, J.S.; DEWEY, P.J.S.; BREWER, A.C.; BROWN, D.S.; WALKER, A., 1985. **The efficiency of utilization of metabolizable energy and apparent absorption of amino acids in sheep given spring and autumn harvested dried grass.** Br. J. Nutr. 54, 197-209.

MAGEE, D.F. **An investigation, into the external secretion of de pancreas in sheep.** J. Physiol., Palo alto, v.158, p.132, 1961.

MARINHO, A.A.M. **Ciliados do rumen – sua dinamica e importancia no metabolismo digestivo dos ruminantes.** Revisão. Revista Portuguesa de Ciências veterinárias, v.77, p.241-259, 1982.

MATTOS, W. **Alimentos para ruminantes: noções básicas e valor nutritivo:** In: PEIXOTO, A.M; MOURA, J.C; FARIA, V.P. de, Curso de alimentação de bovinos, Piracicaba: FEALQ, 1992. p. 53-70.

MCCARTHY JR., R.D. *et al.* **Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows.** J. dairy Sci., Savoy, v.72, n.8, p. 2002-2016, 1989.

MEHRES, A.Z.; ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. **Rates fermentation in relation to ammonia concentration.** 1977. The British Journal of Nutrition, 38 (3): 437-443.

MELOTTI, L.; LUCCI, C.S.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; LIMA, C.G.; LIMA, F.R.; CUNHA, J.A. **Degradabilidade ruminal de forragens nas formas verde e desidratada.** III. Degradabilidade ruminal do capim Napier (*Pennisetum purpureum* Schum.) em quatro fases de crescimento pela técnica dos sacos de náilon *in situ* com bovinos fistulados. Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science, São Paulo, v. 31, p. 59-67, 1994.

MERTES, D.R. **Análise da fibra e sua utilização na avaliação e formulações de rações.** In: **Anais do simpósio internacional de Ruminantes.** XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira De Zootecnia. Lavras, 1992, Anais... Lavras, MG:SBZ, 1992.

MILLS, R.C.; LARDINOIS, C.C.; RUPEL, I.W.; HART, E.B., 1944 **Utilization of urea and growth of heifer calves with corn molasses or cane molasses as the only readily available carbohydrate in the ration.** J. Dairy Sci. 27, 571 – 578.

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

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

MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R., 1983. **Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate.** Anim. Feed Sci. Technol. 10, 1–14.

MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R.; MANN, S.O., 1983. **Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages.** Anim. Feed Sci. Technol. 10, 15–30.

MOULD, F.L. et al. **Associative effects of mixed feeds: effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages.** Anim. Feed Sci. Technol., Amsterdam, v.10, p.15-30, 1993.

MUÑOZ, L.S. **Estude de digestilité des glucides des concentres chez les ruminants.** 1995. Thesis (Doctoral) – Institute National Agronomique, Paris, 1995.

NAGA, M.A., EL- SHAZLY, k. **Activities of rumen microrganisms in water buffalo and zebu cattle.** 1969. J. Dairy Res., 36 (1): 169-173.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC).**Ruminant nitrogen usage.** Washington: National Academy Press, 1985. 138p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1989. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** National Academy of Sciences. Washington, D.C.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requeriments of beef cattle.** Washington: National Academy Pess, 1996. 242p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** National Academy Pess, 20014. 381p.

NEWBOLD, J.R.; RUST, S.R., 1992. **Effect of asynchronous N and energy on growth of ruminal bacteria in batch culture.** J. Anim. Sci. 70, 538–546.

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

NOCEK, J.E.; TAMMINGA, S. **Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition.** J. Dairy Sci., Savoy, v.74, p.3598-3629, 1991.

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

NOGUEIRA FILHO, J. C. M. ; OLIVEIRA, M E M.; CUNHA, JA; TOLEDO, L R A. **Volume líquido e taxa de turnover no rúmen de zebuínos e bubalinos submetidos a dietas com volumosos e concentrados e sua relação com protozoários ciliados..** Ciência animal brasileira, Goiânia, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2004.

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

NORTON, B.W. **Differences between species in forage quality.** In: HACKER, J.B. (ed.). **Nutritional limits to animal production from pastures.** Farnham Royal: Commonwealth agricultural Bureaux, 1982. p.89-110.

OGNJANOVIC. A. 1974. **Meat and meat production.** Pages 377-400 in W. R. Cockrill, ed. The Husbandry and Health of the Domestic Buffalo. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

OLSON, K.C.; COCHRAN, R.C.; JONES, T.J.; VANZANT, E.S.; TITGEMEYER, E.C.; JOHNSON, D.E., 1999. **Effects of ruminal administration of supplemental degradable intake protein and starch on utilization of low-quality warm-season grass hay by beef steers.** J.Anim.Sci. 77, 1016 – 1025.

ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, L., 1979. **The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage.** J. Agric. Sci. Camb. 92, 499–503.

ORSKOV, E.R.; HOVELL, F.D. de B. **The use of nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs.** Trop. Anim. Prod., v.5, p.195-223. 1980.

ORSKOV, O.V. **Protein nutrition in ruminants.** London, England: Academic Press Inc., 1982. 160p.



OWENS, F.N., ZINN, R.A., KIM, Y.K., 1986 **Limits to starch digestion in the ruminant small intestine.** *J. Ani. Sci.*, 63(5):1634-48.

OWENS, F.N.; ZINN, R. **Metabolismo de la proteína en los ruminants.** In: CHURCH, C.D. (ed). *El rumiant: fisiología digestiva y nutrición.* Zaragoza: Acribia, 1988. p. 255-281.

PALIWAL, V.K., SAGAR, V. 1990. **Effect of dietary fiber protein on rumen microbial fermentation in cattle and buffalo.** *Ind. J. Anim. Sci.*, 60(1):66-70.

PERRY, T. W.; CECAVA, M.J. **Beef cattle feeding and nutrition.** 2. ed. San Diego: Academic Press, 1995. 58p.

PETIT, H.V. **In situ degradability of feed ingredients at two proportions of concentrate.** 1992. *Annales de Zootechnie*, 41(2):145-152.

PISULEWSKI, P.M., OKORIE, A.U., BUTTERY, P.J. et al. 1981. **Ammonia concentration and protein synthesis in the rumen.** *J. Sci. Food Agric.*, 32(8):759-766.

PIWONKA, E.J.; FIRKINS, J.L., 1993. **Effect of glucose fermentation on fiber digestion by ruminal microorganisms in vitro.** *J. Dairy Sci.* 79, 2196–2206.

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 Animal Science*, Savoy, EUA, v. 68, p. 2965-2973, 1990.

PRADHAN, K.; BHATIA, S.K.; SANGWAN, D.C. **Feed consumption pattern, ruminal degradation, nutrient digestibility and physiological reactions in buffalo and cattle.** *Indian Journal of Animal Sciences*, New Delhi, v.67, n.2, p.149-151, Feb. 1997.

PRESTON, T.R.; LENG, R.A. **Ruminant Production Systems.** Queensland, Australia, 1987. 254p.

PUPPO S.; BARTOCCI S.; TERRAMOCCIA S.; GRANDONI F.; AMICI A. **Rumen microbial counts and in vivo digestibility in buffaloes and cattle given different diets.** *Animal Science* 75: 323-329 Part 2, oct 2002

PUPPO, S.; GRANDONI, F., 1994. **Microflora ruminale in bufali alimentati con diete fibrose.** *Agric. Ric* 153, 123–126.

PUPPO, S.; AMICI, A.; GRANDONI, F.; BARTOCCI, S., 1999. **Rumen microbial counts and in vivo digestibility in buffaloes and cattle fed different diets.** *Anim. Feed Sci. Techn.* in press. SAS, Statistical Analysis System Institute, 1993. SAS User's Guide, Statistics, SAS Institute, Cary, NC.

RAJ KUMAR; SANGWAN, D.C.; BHATIA, S.K. *et al.* **Intraruminal metabolism and nutrient digestion in cattle and buffalo fed low grade roughages supplemented with protein sources.** Indian Journal of Animal Sciences, New Delhi, v.63, n.5, p.561-565, May 1993.

RAMOS, A. A. R. **Contribuição ao Estudo dos Bubalinos período de 1972 – 2001.** UNESP-FMVZ, Botucatu, 2003. 576.p.

REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A. **Valor nutritivo das plantas forrageiras.** Jaboticabal, 1993, 26p.

RESENDE, F.D. de. **Efeito do nível de fibra em detergente neutro da ração sobre a ingestão alimentar de bovídeos de diferentes grupos raciais, em regime de confinamento.** 1994. 60 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

RESENDE, F.D.; QUEIROZ, A.C.; FONTES, C.A.A. *et al.* **Fibra em detergente neutro versus fibra em detergente ácido na formulação de dietas para ruminantes.** 1995. Rev. Soc. Bras. Zoot., 24 (3) 342-350.

RITTENHOUSE, L.R.; CLANTON, D.C.; STREETER, C.L., 1970. **Intake and digestibility of winter-range forage by cattle with and without supplements.** J. Anim. Sci. 31, 1215 – 1221.

RODE, L.M.; WEAKLEY, D.C.; SATTER, L.D. **Effect of forage amount and particle size in diets of lactating dairy cows on site of digestion and microbial protein synthesis.** Canadian Journal Animal Science, Ottawa, Canadá, v. 65, p. 101-111, 1985.

RODRIGUEZ, L.R.R; FONTES, C.A.D.; JORGE, A.M.; SOARES, J.E.; DEFREITAS, J.A. **Digestibility of diets with four concentrate levels in cattle and buffaloes** Revista da Sociedade Brasileira De Zootecnia 26 (4): 844-851 jul-aug 1997

ROONEY, L.W.; PFLUGFELDER, R.L. **Factor affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn.** J.Anim. Sci., Savoy, v. 63, n.5, p.1607-1623, 1986.

RUSSEL, J.B.; HESPELL, R.B. 1981. **Microbial rumen fermentation.** *J. Dairy Sci.*, 64:1153-1169.

RUSSELL, J.B. **Fermentation of peptides by *Bacterioides ruminicola* B<sub>14</sub>.** Journal of Dairy Science, v.76, p.826-830, 1983.

RUSSELL, J.B.; O CONNOR, J.D.; FOX, D.G.; VAN SOEST, P.J.; SNIFFEN, C.J. **A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets.** Journal of Animal Science, v. 70, p. 3551 – 3561, 1992.

RUSSEL, J.A.; SNIFFEN, C.J.; VAN SOEST, P.J. **Effect of carbon-4 and carbon-5 volatile fatty acids on growth of mixed rumen bacteria in vitro.** Journal of Dairy Science, Champaign, v.67, n.5, p. 987-994, May 1984.

RUST, S.R. et al. **Corn moisture, protein concentration, and Rumesin and digestion by feedlot steers.** Okla. Agri. Exp. Stn., Stillwater, v.104, p.55-59, 1979.

SANGWAN, D.C.; PRADHAN, K.; SAGAR, V. **Effect of dietary fibre and protein sources on rumen metabolites and nutrient digestibility in cattle and buffalo.** Indian Journal of Animal Sciences, New Delhi, v.57, n.6, p.562-569, 1987.

SANSON, D.W.; CLANTON, D.C., RUSH, I.G., 1990. **Intake and digestion of low-quality meadow hay by steers and performance of cows on native range when fed protein supplements containing various levels of corn.** J. Anim. Sci. 68, 595–603.

SANTOS, F.A.P.; SANTOS, J.E.P.; THEURER, C.B.; HUBER, J.T. **Effects of rúmen-undegradable protein on dairy cow performace: a 12-year literature review.** Journal of Dairy Science, v. 81, p. 3182 – 3213, 1998.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. **Effect of ammonia concentration of rumen microbial protein production in vitro.** 1974. Br.J.Nutr., 32:199-203.

SAUER, F.D.; ERFLE, J.D.; MAHADEVAN, S., 1975. **Amino acid biosynthesis in mixed rumen cultures.** Biochem. J. 150, 357 – 372.

SCHWAB, C.G. **Optimizing amino acid nutrition for optimum yields of milk and milk protein.** In: Southwest nutrition management conference, Phoenix, 1994. Proceedings. Phoenix: Univ. Arizona, 1994. p. 144.

SEFRIN, A.R. **Degradação ruminal do farelo de soja e do feno coast-cross com bovinos fistulados em dietas com diferentes proporções volumoso/ concentrado.** 1994. 99p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, Pirassununga, 1994.

SIDDONS, R.C.; PARADINE, J. **Effects of diets on protein degrading activity in the sheep rumen.** 1981. J.Sci. Food Agric., 32:973-981.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1990. 166p.

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

SINCLAIR, L.A et al. **Effect of synchronizing the rate of diet energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep.** J Agri. Sci., New York, v.120, p251-263, 1993.

SINGH, R; SINGH, M; NAYYAR, S. **Characterization of rumen bacteria isolated from the buffalo calves.** Indian Journal Of Animal Sciences 75 (11): 1295-1299 nov 2005

SNIFFEN, C.J., CONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J. **A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets. II Carbohydrate and protein availability.** *J. Anim. Sci.*, 70: 3562-3577, 1992.

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

STATSOFT, INC. **Statistic for windows** (computer program manual). Tulsa, 1995.

STEWART, C.S., 1977. **Factors affecting the cellulolytic activity of rumen contents.** *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 497–502.

STOKES, S.R. *et al.* **Ruminal digestion and microbial utilization of diet varying in type of carbohydrates and protein.** *J. Dairy Sci.*, Savoy, v.74, p.871-881, 1991.

STOKES, S.R. *et al.* **Ruminal digestion and microbial utilization of diet varying in type of carbohydrates and protein.** *J. Dairy Sci.*, Savoy, v.73, n.4, p.1196-1201, 1995.

STREETER, M.N.; MATHIS, M.J. **Effect of supplemental fish meal protein on site and extent of digestion in beef steers.** *J. Anim. Sci.*, Savoy, v.73, n.4, p.1196-1201, 1995.

SUTTON, J.D. **Digestion and end product formation in the rumen from production rations.** In: RUCKEBUSCH, Y., THIVEND, P. (Ed). *Digestive physiology and metabolism in ruminants.* MTP Press, 1980. p.271-290.

TAPARIA, A.L ; SHARMA, V.V. 1980. **Some factors affecting voluntary food intake in buffaloes.** 1. Effect of feeding long-chopped and ground roughages. *J. Anim. Sci.* (Camb) n.95, v.147.

TEIXEIRA, J.C.; ANDRADE, G.A. **II Simposio de forragicultura e Pastagens – NEFOR- UFLA.** Anais... Lavras. 2001

TERRAMOCCIA, S.; BARTOCCI, S.; AMICI, A.; MARTILLOTTI, F. **Protein and protein-free dry matter rumen degradability in buffalo, cattle and sheep fed diets with different forage to concentrate ratios.** *Livestock Production Science* 65 (1-2): 185-195 jul 2000

THEURER, C.B. 1986. **Grain processing effects on starch utilization by ruminants.** *J. Anim. Sci.*, 63(5):1649-1662.

THIAGO, L.R.L.S. **Fatores afetando o consumo e utilização de forrageiras de baixa qualidade por ruminantes.** Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1984. 35p. (Documentos, n.9)

THIAGO, L.R.L.S.; GILL, M. **Consumo voluntario: fatores relacionados com a degradação e passagem da forrageira pelo rúmen.** Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1990. 65p. (documento, n.43).

UDÉN, P., COLUCCI, P.E., SOEST, P.J.V. **Investigation of chromium, serium and cobalt as markers in digesta.** Rate of passages studies. Journal of the Science of Food and Agriculture. v.31, p.625-632, 1980.

VALADARES FILHO, S.C. **Digestão total e parcial da matéria seca e carboidratos em bovinos e bubalinos.** Viçosa, MG: UFV, 1985. 148p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade de Viçosa, 1985.

VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I et al. **Digestibilidade in vitro e alguns parâmetros de fermentação ruminal medidos em novilhos holandeses, nelores e búfalos mestiços alimentados com ração purificada.**1990 Rev. Soc. Brás. De Zootec., 19(5):441-449.

VALADARES FILHO, S. C., SILVA, J.F.C., SANT'ANNA, R. et al. **Contaminação bacteriana em resíduos da incubação ruminal de alguns alimentos em sacos de náilon.** Rev. Soc. Brás. Zootec., v.21, n.3, p. 467-474, 1992a.

VALADARES FILHO, S. C., SILVA, J.F.C., SANT'ANNA, R. et al. **Degradabilidade in situ aparentes e corrigidas e composição de aminoácidos da proteína não degradada no rúmen de vários alimentos.** Rev. Soc. Brás. Zootec., v.21n.4, p. 744-760, 1992b.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant.** Corvallis, USA: O e B Books Inc., 1983, 374p.

VAN SOEST, P.J. **Nutrition ecology of the ruminants.** Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VARVIKKO, T., VANHATALO, A. **The effect of differing types of cloth and contamination by non-feed nitrogen on intestinal digestion estimates using porous synthetic fibre bags in a cow.** Br. J. Nutr., v.63, n.2, p.221-229, 1990.

VELLOSO, L.; SCHALCH, E.; FRANZOLIN NETO, R.; ZANETTI, M.A. **Desempenho comparativo de zebuinos nelore e bubalinos Mediterrâneo em regime de confinamento.** Rev. Soc. Brás. Zoot., v.23, n.2, p.236 – 241, 1994.

VIEIRA, D.M et al. **Nutrition of the weaned Holstein calf. II. Effect of dietary protein level on nitrogen balance, digestibility and feed intake.** J.Anim. Sci., Savoy, v.50, n.5, p. 945-951, 1980.

WIDYOBROTO, B.P. **Influence de la proportion et de la nature du concentré sur les sites et la dynamique de la digestion chez la vache harte productrice.** 1992. Thesis (doctoral) – L' Université de Rennes, Rennes, 1992.

WITT, M.W.; SINCLAIR, L.A.; WILKINSON, R.G.; BUTTERY, P.J., 2000. **The effects of synchronising the rate of dietary energy and nitrogen supply to the rumen on milk production and metabolism of ewes offered grass silage based diets.** Anim. Sci. 71, 187–195.

YOELAO, K., M. G. JACKSON, AND I. SARAN. 1970. **The effect of wilting berseem and lucerne herbage on voluntary dry-matter intake by buffalo heifers.** J. Agric. Sci. 74:47.

ZANETTI, M.A.; NOGUEIRA FILHO, J.C.; OLIVEIRA, M.E.M. et al. **Níveis de amônia ruminal em bovinos da raça Nelore e búfalos da raça Mediterrâneo.** Anais da XXXII Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000.

ZEOULA, L.M. et al. **Cações de fontes de nitrogênio e amido de alta e baixa degradabilidade ruminal avaliadas pela técnica in situ.**, Acta Scientiarum, Maringá, v.20, n.3, p. 325 -332, 1998.

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