

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Sistemas De Marcadores Para Estimativa Do Fluxo,
Digestibilidade Ruminal E Taxa De Passagem Em Bovinos
Nelore Recebendo Dietas De Alto Grão**

Ana Veronica Lino Dias

**Orientador (a): Profª. Dra. Telma Teresinha Berchielli
Coorientadores: Prof. Dr. Giovani Fiorentini
MSc. Vinícius Carneiro de Souza**

Jaboticabal - SP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Sistemas De Marcadores Para Estimativa Do Fluxo, Digestibilidade Ruminal E
Taxa De Passagem Em Bovinos Nelore Recebendo Dietas De Alto Grão**

Ana Veronica Lino Dias

Orientador(a): Prof^a. Dra. Telma Teresinha Berchielli

**Coorientadores: Prof. Dr. Giovani Fiorentini
MSc. Vinícius Carneiro de Souza**

Trabalho de Conclusão de Curso (Iniciação Científica)
apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como
parte das exigências para graduação em Zootecnia.

Jaboticabal - SP
2º Semestre/2018

D541s Dias, Ana Veronica Lino
Sistemas de marcadores para estimativa do fluxo, digestibilidade ruminal e taxa de passagem em bovinos nelore recebendo dietas de alto grão / Ana Veronica Lino Dias. -- Jaboticabal, 2018
vii, 24 f. : il. ; 29 cm

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal para graduação em Zootecnia, 2018

Orientadora: Telma Teresinha Berchielli

Coorientadores: Vinícius Carneiro de Souza, Giovani Fiorentini

Banca examinadora: Juliana Duarte Messana, Maxwelder Santos

Soares

Bibliografia

1. Cobalto EDTA. 2. FDN indigestível. 3. Marcadores. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.085.2:636.2



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL



DEPARTAMENTO:

ZOOTECNIA

CERTIFICADO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO: SISTEMAS DE MARCADORES PARA ESTIMATIVA DO FLUXO,
DIGESTIBILIDADE RUMINAL E TAXA DE PASSAGEM EM BOVINOS NELORE
RECEBENDO DIETAS DE ALTO GRÃO

ACADÊMICO: ANA VERONICA LINO DIAS

CURSO: ZOOTECNIA

ORIENTADOR (ES): PROFª DRª TELMA TERESINHA BERCHIELLI

COORIENTADOR (ES): Msc. VINÍCIUS CARNEIRO DE SOUZA
PROF. DR. GIOVANI FIORENTINI

PERÍODO: Semestre 10º Ano 2018

Aprovado com conceito: A B C

Este trabalho é recomendado para compor a base de dados CAPELO. Sim Não

Reprovado:

BANCA EXAMINADORA:

	(Nomes)	(Assinaturas)
Presidente	Msc. VINÍCIUS CARNEIRO DE SOUZA	<u>Vinicius Carneiro de Souza</u>
Membro	DRª JULIANA DUARTE MESSANA	<u>Juliana Duarte Messana</u>
Membro	Msc. MAXWELDER SANTOS SOARES	<u>Maxwelder Santos Soares</u>

Jaboticabal 29 / 08 / 2018

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 03 / 09 / 2018

Prof. Dr. ALEX SANDRO CAMPOS MAIA
Chefe do Departamento de Zootecnia
Matr. Nº 422565-0

Dedico esse Trabalho de Conclusão de Curso ao meu primo Vinícius Garcia Lino (in memorian) o qual sinto muita falta, mas sei que de onde estiver ele olha e intercede por mim.

Agradecimentos

Agradeço primeiro a Deus pelo dom da vida, por todas as bênçãos e por toda força que ele me deu nos momentos difíceis. E a minha família, principalmente aos meus pais, Clesio e Marina, e a minha “irmã” Cristiane por sempre me apoiarem em tudo e mesmo distantes sempre estiveram ao meu lado, graças a eles cheguei até aqui.

Agradeço muito as amigas que fiz aqui Letícia, Paulinha, Jayne, Marina, Gabriela pois em todos os momentos, principalmente nos difíceis elas estiveram comigo. Em especial a Letícia que foi amiga, companheira e se tornou parte da minha família nesses quatro anos que dividimos o apartamento.

Agradeço ao meu namorado Guilherme por todo companheirismo, apoio e ajuda, obrigada por me manter firme e por se dispor a virar madrugadas adentro trabalhando junto comigo durante o experimento.

Aos meus amigos Leonardo e Max que tanto me ajudaram em meio ao meu medo de não conseguir um estágio, me surpreenderam e me apoiaram como podiam. Ao Faruk, que foi meu companheiro e me fez rir mesmo em meio à correria e preocupação do dia-a-dia.

Agradeço a Prof^a. Dr^a. Telma Teresinha Berchielli pela oportunidade e confiança em meu trabalho. Agradeço ao meu coorientador Prof. Dr. Giovani Fiorentini que mesmo se mudando para longe sempre me apoiou e torceu por mim e a Dr. Juliana Messana que mesmo com todos os seus orientados e afazeres me ajudou após a mudança do meu coorientador. Ao meu coorientador Ms. Vinícius Carneiro de Souza, pois se não fosse por ele e a Dr^a Yury não teria desenvolvido esse trabalho.

Agradeço a todos os integrantes do Grupo de Estudos em Nutrição de Ruminantes (GENRU) por todo aprendizado profissional e/ou pessoal ao longo desses anos de graduação.

Agradeço aos pesquisadores Ms. Vinícius Carneiro, Zootecnista Kênia Larissa Alves e Letícia Marra, meus companheiros durante todo o experimento que gerou esse meu trabalho de conclusão, obrigada por toda ajuda.

A todos os meus companheiros da Zootecnia 014, pois com total certeza são a melhor turma a qual pude fazer parte.

Por fim agradeço ao grupo PET Zootecnia, que me proporcionou grande aprendizado e crescimento, ao professor Peruzzi serei eternamente grata por além de tutor se tornou amigo e um pai aqui para mim.

A todos, MUITO OBRIGADA!

Índice

1. Considerações Gerais	1
1.1 Referências Bibliográficas	5
2. Sistemas de marcadores para estimativa do fluxo, digestibilidade ruminal e taxa de passagem em bovinos Nelore recebendo dietas de alto grão.	8
RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
2.1 Introdução.....	9
2.2 Material e Métodos	11
2.2.1 Estimativa do fluxo da digesta duodenal.....	13
2.2.2 Análises laboratoriais	14
2.2.3 Cálculos	14
2.2.4 Análise estatística.....	15
2.3 Resultados	16
2.4 Discussão	32
2.5 Conclusão	32
2.6 Referências Bibliográficas	32

1. Considerações Gerais

O setor agropecuário movimenta a economia brasileira, e com a melhora dos índices zootécnicos a produção animal tem se tornado mais eficiente, e conseqüentemente, pode atender as exigências e a demanda do mercado nacional e internacional. No ano de 2017, o PIB do Brasil chegou a aumentar 1% comparado ao ano de 2016, 13% deste aumento foi graças à agropecuária. Desta maneira, podemos notar a grande importância que o setor tem para o país, mesmo quando se leva em conta a crise econômica que tem ocorrido (IBGE, 2018).

Em 2015 o Brasil foi considerado o país com o maior rebanho comercial de bovinos no mundo (209 milhões de cabeças), segundo maior consumidor (38,6 kg/habitante/ano) e segundo maior exportador (1,9 milhões toneladas equivalente carcaça) de carne bovina do mundo todo. O país conseguiu abater neste mesmo ano mais de 39 milhões de cabeças (Gomes, Feijó, Chiarim, 2017). Apesar de todos estes dados, a produção brasileira ainda possui grande potencial para aumentar a produção, e conseqüentemente maximizar produção e retorno financeiro.

Deste modo se tem procurado produzir animais mais eficientes e reduzir a idade de abate. Estratégias de suplementações durante a fase de recria, o uso de semiconfinamento e confinamentos são algumas ferramentas de intensificação de produção na bovinocultura de corte. Sendo assim, cada vez mais são utilizadas dietas balanceadas, e com maior quantidade de concentrado em relação ao volumoso, obtendo-se assim animais de melhor qualidade são cada vez mais utilizadas. No entanto deve-se ter atenção na própria relação animal e digestibilidade do alimento, para que o mesmo possa atingir ao máximo seu potencial produtivo (Berchielli et al., 2010).

Desta maneira, as pesquisas em nutrição animal são de extrema importância para a produção, estas utilizam métodos que fornecem diversas informações a respeito dos alimentos e a maneira que estes afetarão o desempenho dos animais (Berchielli et al., 2011). No entanto, a avaliação do valor nutritivo dos alimentos consumidos pelos animais, em condições de pastejo ou confinados, tem sido um desafio para os nutricionistas (Berchielli, 2000).

A determinação do fluxo da digesta duodenal e produção fecal são de grande interesse nas pesquisas de nutrição, pois através destes se pode estimar a digestibilidade e o consumo de matéria seca de ruminantes. A falta de precisão principalmente no consumo de matéria seca dificulta a formulação de dietas que sejam ideais para os animais (Detmann et al., 2004).

A digestibilidade é um parâmetro muito importante para o estudo da alimentação animal, mas esta quando determinada por meio do método tradicional (coleta de fezes) deve-se ter um controle muito rígido na ingestão e excreção do animal (Berchielli et al., 2000). Desta maneira, idealizou-se outro método chamado de método indireto dos marcadores como substituinte do método tradicional (Silva, 1990), que além da digestibilidade torna possível avaliar a quantidade ingerida dos alimentos ou nutrientes e a taxa de passagem pelo trato digestivo (Berchielli et al., 2000).

Cada vez mais os pesquisadores tem buscado encontrar marcadores que possam chegar a valores mais próximos dos reais para que assim as pesquisas de nutrição animal sejam facilitadas (Oliveira Júnior et al., 2004). Marcadores são substâncias indigestíveis, que são geralmente administradas com o alimento ou diretamente infundidas em algum local do trato digestivo do animal, podendo ser identificadas e quantificadas posteriormente nas fezes ou no final do segmento selecionado para o estudo (Warner,

1981). Estes marcadores são utilizados para estimar fluxo da digesta, consumo, produção fecal e a digestibilidade dos alimentos (Kotb & Luckey, 1972).

A digestibilidade é estimada a partir do conhecimento das concentrações do marcador no alimento e nas fezes. Isso ocorre porque à medida que o alimento transita pelo trato digestivo, a concentração do marcador aumenta gradativamente pela remoção de constituintes do alimento por digestão e absorção (Astigarraga, 1997). Entretanto, para atingir esse aumento na concentração, proporcional a digestibilidade, o marcador deve possuir as seguintes propriedades: ser inerte e não tóxico; não apresentar função fisiológica, não ser absorvido nem metabolizado pelo organismo animal, ser completamente recuperado nas fezes ou local em estudo, misturar-se bem ao alimento e conservar-se uniformemente distribuído na digesta; não influenciar secreções intestinais, absorção ou motilidade, nem a microflora do trato digestivo; apresentar método específico e sensível de determinação, e apresentar baixo custo (Rodriguez et al., 2006).

A digestão ruminal é muito importante nos estudos em que se objetiva maior eficiência alimentar do animal e esta é influenciada por efeitos associativos, nível de consumo, taxa de passagem e interações destes fatores; por isso, constantemente é difícil imitar essas condições *in vitro* (Cochran et al., 1986). Nessas condições, a estimativa da digestibilidade por meio de marcadores pode ser desejável (Van Soest, 1994). Constituintes naturais da dieta que apresentam baixa digestibilidade têm sido utilizados como marcadores internos (*e.g.* fibra em detergente neutro indigestível [FDNi]). Os marcadores internos têm a vantagem de já estarem presentes no alimento e, de modo geral, permanecerem distribuídos uniformemente na digesta durante o processo de digestão e excreção animal (Berchielli et al., 2000). Uma substância que está sendo

sempre avaliada como marcador interno e que faz parte dos componentes da parede celular é o FDNi (Berchielli et al., 2000).

Nesse contexto, os marcadores são ferramentas muito úteis para a estimativa acurada do fluxo e digestão ruminal. Assim, a escolha do método de marcadores para estimativa do fluxo ruminal (sistema único, duplo ou triplo) é um dos principais fatores que podem afetar os resultados dessa avaliação em experimentos com bovinos (Rotta et al., 2014).

O sistema marcador mais adequado para a estimativa do fluxo ruminal ainda permanece controverso na literatura, sendo dependente do tipo de dieta utilizada e local de coleta da digesta (*e.g.* retículo, omaso, abomaso ou duodeno; Krizsan et al., 2010; Rotta et al., 2014; Fatehi et al., 2015). O uso de marcadores internos como FDNi tem se mostrado de grande eficiência nas pesquisas, além de não ser um composto que poderia poluir o meio ambiente, o que causa maior interesse nos dias atuais, graças a preocupação com a natureza (Rotta, 2012). No entanto, Rotta et al. (2014) utilizando o FDNi e itérbio como marcador da fase sólida (grandes e pequenas partículas, respectivamente) e o cobalto como marcador da fase líquida recomendaram o uso de marcadores duplo ou triplo, pois o uso de ambos apresentou resultados semelhantes. O sistema de marcador único, apesar de ser muito usado em estudos no Brasil, tendeu a subestimar os resultados de fluxo ruminal e superestimar os resultados de digestibilidade ruminal dos nutrientes (Rotta et al., 2014). Contudo, o estudo conduzido por Rotta et al. (2014) não é conclusivo uma vez que os autores utilizaram dietas com no máximo 60% de concentrado. De acordo com Fatehi et al. (2015) é importante que a validação das técnicas para estimativa do fluxo ruminal sejam robustas numa ampla gama de dietas.

Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar o método único ou duplo de marcadores para estimar a taxa de passagem, o fluxo e digestibilidade ruminal de MS e nutrientes através do uso de marcadores em bovinos Nelore alimentados com dietas de alto grão (relação volumoso:concentrado de 20:80) e contendo diferentes teores e fontes de nitrogênio. A hipótese testada é que o uso do sistema único de marcadores pode subestimar o fluxo ruminal e superestimar os resultados de digestibilidade ruminal de MS e dos nutrientes em dietas com alta quantidade de grãos. Além do mais, até o presente momento, na literatura consultada não foram encontrados trabalhos comparando o fluxo ruminal utilizando os sistemas de marcadores único e duplo em bovinos Nelore confinados recebendo dietas de alto grão.

1.1 Referências Bibliográficas

ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medicion del consumo de rumiantes en pastoreo.

Anais Simposio Sobre Avaliacao De Pastagens Com Animais. Maringa: Universidade Estadual de Maringa, p.1-23, 1997.

BERCHIELLI, T. T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C. L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 830-833, 2000.

BERCHIELLI, T. T.; BERTIPAGLIA, L. M. A. Utilização de aditivos na produção de bovinos de corte. **Bovinocultura de corte. Piracicaba, FEALQ: Alexandre Vaz Pires**, p. 295-330, 2010.

BERCHIELLI, T. T.; DE VEGA-GARCÍA, A.; DE OLIVEIRA, S. G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. **Nutrição de ruminantes. 2ª edição.** ed. Jaboticabal, SP: Funep. cap. 14, p. 415-438, 2011.

COCHRAN, R. C.; ADAMS, D. C.; WALLACE, J. D.; GALYEAN, M. L. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers.

Journal of Animal Science, 63:1476-1483, 1986.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F. Avaliação da técnica de indicadores na estimação do consumo por ruminantes em pastejo. **Caderno Técnico de Veterinaria e Zootecnia**, p.40-57, 2004.

FATEHI, F.; KRIZSAN, S. J.; GIDLUND, H.; HUHTANEN, P. A comparison of ruminal or reticular digesta sampling as an alternative to sampling from the omasum of lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, p. 3274-3283, 2015.

GOMES, R. C.; FEIJÓ, G. L. D.; CHIARIM, L. Evolução e Qualidade da Pecuária Brasileira. **Boletim técnico EMBRAPA Gado de Corte**. Campo Grande, 2017.

BRASIL. IBGE. **Censo econômico**, 2018. Disponível em: <www.ibge.gov.br> Acesso em: 30/07/2018.

KOTB, A. R.; LUCKEY, T. D. Markers in nutrition. **Nutrition Abstract and Review**, p.813-845, 1972.

KRIZSAN, S. J.; AHVENJÄRVI, S.; VOLDEN, H.; BRODERICK, G. A. Estimation of rumen outflow in dairy cows fed grass silage-based diets by use of reticular sampling as an alternative to sampling from the omasal canal. **Journal of Dairy Science**, p. 1138-1147, 2010.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. **Forage quality, evaluation, and utilization**, p. 450-493, 1994.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. C. D.; PIRES, A. V.; FERNANDES, J. J. D. R.; SUSIN, I.; SANTOS, F. A. P.; NASCIMENTO FILHO, V. F.; ARAÚJO, R. C. D. Avaliação de indicadores para estimar a digestibilidade dos nutrientes em novilhos Nelore alimentados com dietas contendo alto teor de concentrado e fontes nitrogenadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p.749-758, 2004.

RODRIGUEZ, N. M.; SALIBA, E. O. S.; GUIMARAES JUNIOR, R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. **Anais 43ª Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia**, João Pessoa, p.323-352, 2006.

ROTTA, P. P. Desempenho produtivo, exigências nutricionais e avaliação de métodos para estimação de fluxo de digesta em bovinos alimentados com silagem de milho ou cana-de-açúcar. **Dissertação de Mestrado**, UFV – MG, 2012.

ROTTA, P. P.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; COSTA E SILVA, L.F.; PAULINO, M.F.; MARCONDES, M.I.; LOBO, A.A.G.; VILLADIEGO, F.A.C. Digesta sampling sites and marker methods for estimation of ruminal outflow in bulls fed different proportions of corn silage or sugarcane. **Journal of animal science**, p. 2996-3006, 2014.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, Imprensa Universitária. 165p, 1990.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Cornell University Press, 1994.

WARNER, A. C. I. Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. **Nutrition Abstracts and Reviews**, Series B, p.789-820, 1981.

2. Sistemas de marcadores para estimativa do fluxo, digestibilidade ruminal e taxa de passagem em bovinos Nelore recebendo dietas de alto concentrado.

RESUMO – Objetivou-se avaliar o método único ou duplo de marcadores para estimar a taxa de passagem, o fluxo e digestibilidade ruminal de MS e dos nutrientes em bovinos Nelore alimentados com dietas de alto grão, compostas por 80% de concentrado e 20% de volumoso, contendo diferentes teores e fontes de nitrogênio. Foram utilizados 6 novilhos Nelore castrados, canulados no rúmen, duodeno e íleo (peso corporal médio de $354 \pm 26,4$ kg e idade média de 18 meses) distribuídos em quadrado latino 6×6 balanceado para efeitos residuais. Os animais foram distribuídos nos seguintes tratamentos: Ureia – 10 ou 13% de proteína bruta (PB); Glúten de milho 60 – 10 ou 13% PB; Grãos secos por destilação (DDG) – 10 ou 13% PB. A fonte de PB afetou o fluxo duodenal de MS e nutrientes, sendo que os animais alimentados com as dietas contendo DDG (Grãos secos por destilação oriundo do processamento do milho com 13% e 10% PB, respectivamente) tiveram maiores fluxos diários de FDN ($0,730$ e $0,577$ kg.dia⁻¹, respectivamente; $P < 0,01$.); a digestibilidade ruminal também foi afetada e os animais alimentados com as dietas contendo DDG tiveram menor digestibilidade de FDN (61,7%; $P < 0,01$). O sistema de marcadores simples (FDNi) e duplo (Co-FDNi) não afeta o fluxo e digestibilidade ruminal de MS e nutrientes em bovinos Nelore alimentados com dietas de alto grão contendo diferentes níveis e fontes de proteína.

Palavras chave: cobalto EDTA; FDN indigestível; marcadores.

Marker systems for flow estimation, ruminal digestibility and passage rate in nellore cattle fed with high grain diets

ABSTRACT- The objective of this study was to evaluate the single or double marker method to estimate the passage rate, the duodenal flow and ruminal digestibility of nutrients in Nellore cattle fed high-grain diets, composed of 80% of concentrate and 20% of roughage, with different levels and sources of nitrogen. Were used 6 Nellore steers castrated, cannulated in the rumen, duodenum and ileum (mean body weight of 354 ± 26.4 kg and mean age of 18 months) distributed in 6×6 Latin square balanced for residual effects. The animals were distributed in the following treatments: Urea - 10 or 13% crude protein (CP); Corn gluten 60 - 10 or 13% CP; Dry grains by distillation (DDG) - 10 or 13% CP. The source of CP affected the duodenal flow of nutrients. Animals fed with diets containing DDG (dried distillers grains with solubles with 13% and 10% CP, respectively) had higher daily flows of NDF (0.730 and 0.577 kg.day⁻¹, respectively; $P < 0.01$) and ruminal digestibility, however, DDG had lower digestibility of NDF (61.7%; $P < 0.01$). The single-marker (iNDF) and double-marker (Co-iNDF) system does not affect the duodenal flow and ruminal digestibility of nutrients in Nellore cattle fed high grain diets containing different levels and sources of protein.

Keywords: cobalt EDTA; Indigestible NDF; markers.

2.1 Introdução

O entendimento das mudanças na digestão dos nutrientes que ocorrem ao longo do trato digestivo dos ruminantes é muito importante para a compreensão de diferenças no desempenho de animais submetidos a diferentes planos de alimentação (Titgemeyer,

1997). Um dos parâmetros que podem ser considerados importantes para se avaliar o quão nutritivo um alimento é, é a sua digestibilidade (Oliveira Júnior et al., 2004).

A digestibilidade e também o fluxo da digesta podem ser estimados através de substâncias como Cobalto-EDTA (Co-EDTA), itérbio e óxido de cromo que têm sido utilizadas como marcadores (Oliveira Júnior et al., 2004; Berchielli, Oliveira e Garcia, 2008). No entanto, o problema é que nenhuma substância consegue fornecer o valor real deste fluxo. Mas, algumas substâncias podem propiciar dados que possam ser significativos e que assim possam ser usados (Oliveira Júnior et al., 2004). Assim, a escolha do método e do marcador para estimativa do fluxo ruminal (sistema único, duplo ou triplo) é um dos principais fatores que podem afetar os resultados dessa avaliação em experimentos com bovinos (Rotta et al., 2014).

O sistema marcador mais adequado para a estimativa do fluxo ruminal ainda permanece controverso na literatura, sendo dependente do tipo de dieta utilizada e local de coleta da digesta (*e.g.* retículo, omaso, abomaso ou duodeno; Krizsan et al. 2010; Rotta et al. 2014; Fatehi et al. 2015). Além do mais, até o presente momento, na literatura consultada não foram encontrados trabalhos comparando o fluxo ruminal utilizando os sistemas de marcadores único e duplo em bovinos Nelore confinados recebendo dietas com relação concentrado:volumoso de 80:20.

Assim, a hipótese deste estudo é que o uso do sistema único de marcadores pode subestimar o fluxo duodenal e superestimar os resultados de digestibilidade ruminal dos nutrientes em dietas com alta quantidade de grãos. Deste modo, o objetivo desse estudo foi avaliar o método único ou duplo de marcadores para estimar a taxa de passagem, o fluxo e digestibilidade ruminal de MS e nutrientes em bovinos Nelore alimentados com

dietas de alto grão (relação volumoso:concentrado de 20:80) em dietas com diferentes teores e fontes de nitrogênio.

2.2 Material e Métodos

Os procedimentos experimentais, aplicados neste projeto, seguiram os princípios éticos da experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da FCAV-UNESP, protocolo número 16.688/16.

O estudo foi conduzido no setor de Avaliação de Alimentos e Digestibilidade do Departamento de Zootecnia da FCAV-UNESP, Campus Jaboticabal. Foram utilizados 6 novilhos Nelore castrados, canulados no rúmen, duodeno e íleo (peso corporal médio de 300 kg e idade média de 18 meses) distribuídos em quadrado latino 6×6 balanceado para efeitos residuais. Os animais utilizados foram alojados em baias individuais (12 m²) cobertas, cujo piso é cimentado e possui área de cocho coberto e um bebedouro. O experimento teve duração de 138 dias, com 6 períodos experimentais de 23 dias, sendo 14 dias para adaptação às dietas experimentais (Machado et al., 2016) e instalações e 9 dias para as coletas de dados.

Os animais foram distribuídos nos seguintes tratamentos:

- 1) Dieta convencional (Ureia): 13% de proteína bruta (PB);
- 2) Glúten de milho 60:13% PB;
- 3) Grãos secos por destilação oriundo do processamento do milho (DDG);
- 4) Dieta convencional (Ureia): 10% PB;
- 5) Glúten de milho 60;
- 6) Grãos secos por destilação oriundo do processamento do milho (DDG):10% PB.

Para compor os diferentes concentrados foram utilizados: milho moído, farelo de soja, Glúten de milho 60, DDG e ureia (Tabela 1). O glúten de milho 60 e o DDG foram utilizados, nas dietas experimentais, como fontes de proteína não degradada no rúmen (PNDR) com baixa e intermediária degradabilidade ruminal, respectivamente. A uréia foi selecionada por ser uma fonte de N completamente disponível no rúmen. A fonte de volumoso utilizada foi a cana de açúcar picada *in natura*.

Tabela 1. Composição percentual e bromatológica das dietas experimentais.

	Teor de proteína bruta					
	10% PB			13% PB		
	Ureia	Glúten	DDG	Ureia	Glúten	DDG
Ingredientes, %						
Cana	14,8	17,5	17,5	18,1	15,9	17,4
Milho	80,4	74,4	68,8	72,4	69,6	57,2
Farelo de Soja	1,12	-	-	7,11	-	-
Ureia	1,00	-	-	1,24	-	-
DDG	-	-	11,2	-	-	23,0
Glúten	-	5,6	-	-	12,0	-
Premix	2,59	2,46	2,0	2,52	2,52	2,45
Composição bromatológica, %						
Matéria seca	78,1	78,6	78,7	78,0	78,7	78,68
Matéria orgânica	95,7	95,8	95,8	95,4	95,6	95,80
Proteína Bruta	11,8	11,1	11,0	14,7	14,4	13,9
Fibra em detergente neutro	22,3	25,3	27,8	24,0	26,5	27,77
Extrato etéreo	4,04	4,40	4,68	4,39	4,37	5,55

As dietas experimentais utilizadas possuíam 80% de concentrado e 20% de volumoso, e foram formuladas para serem isoenergéticas de acordo com o BR CORTE (Valadares et al., 2010) para atender um GMD de 1,25 kg/d. A relação de volumoso: concentrado foi estabelecida com base no inventário das práticas nutricionais adotadas por nutricionistas em confinamentos no Brasil, elaborado por Oliveira & Millen (2014). As dietas totais eram oferecidas às 6:00 e às 16:00 horas. Durante todo o experimento, as

sobras dos alimentos fornecidos para cada animal foram retiradas e pesadas antes da oferta matinal de alimento, para o ajuste do consumo diário de matéria seca (MS).

2.2.1 Estimativa do fluxo da digesta duodenal

Para a estimativa das digestibilidades parciais, o fluxo duodenal de MS e nutrientes foi estimado utilizando a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) para o sistema único; e para o sistema duplo de marcador foi utilizado o FDNi como marcador da fase sólida e o Co-EDTA como marcador para fração líquida (Udén et al., 1980). O marcador externo (Co-EDTA) foi fornecido do 12º ao 17º, 8 g/animal/ dia (800 mg Co/animal/dia), utilizando bomba peristáltica de infusão contínua (Rotta et al., 2014). Do 15º ao 17º dia de cada período experimental, amostras de digesta duodenal (400 mL/cada) foram obtidas em intervalos de nove horas entre as coletas de cada dia. No dia 15 as coletas eram realizadas às 6h00 e 15h00, no dia 16 às 0h00, 9h00 e 18h00 e no dia 17 às 3h00, 12h00 e 21h00 para representação do fluxo diário (Allen & Linton, 2007).

Ao final das coletas, uma sub-amostra referente ao fluxo de digesta era filtrada em filtro de nylon 100 µm, com área de poro de 44% de superfície (Sefar Nitex 100/44, Sefar, Thal, Suíça) para separação das fases líquida (FL) e sólida (FS). O restante (250mL) foi processado como digesta duodenal total ou não representativa (DNR). Em cada procedimento, todas as amostras referentes a cada fase foram pesadas, congeladas (-20°C) e liofilizadas (72 horas).

A técnica de esvaziamento total do rúmen foi utilizada para quantificação do volume, massa da digesta no rúmen e para determinar a taxa de passagem. As coletas foram realizadas no 21º dia, as 12h00 (4h após a alimentação matinal), e as 8h00 (momento do fornecimento de forragem) do 23º dia de cada período experimental (Oba & Allen, 2003; Allen & Linton, 2007). Após a evacuação total a digesta foi pesada,

homogeneizada a mão retirando-se 3 amostras que posteriormente será feita uma composta (Olson et al., 1999; Wickersham et al., 2004) e imediatamente retornada ao rúmen dos respectivos animais. As amostras coletadas foram secas em estufa de ventilação forçada a temperatura de 55°C e armazenadas para posteriores análises.

2.2.2 Análises laboratoriais

Ao final do experimento, as amostras individuais da dieta, sobra e digesta duodenal foram descongeladas e pré-secas em estufa de ventilação a 55°C, durante 72 horas, moídas em moinho de peneira com malhas de 1 mm. Foram realizadas análises de MS e matéria mineral (MM), de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (1990). A FDN foi estimada seguindo a metodologia descrita por Van Soest et al. (1991), utilizando-se α -amilase, sem adição de sulfito de sódio e adaptado para o analisador de fibra ANKOM 200 (ANKOM Technology, Fairport, NY). A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi quantificada, em triplicata, nas amostras de digestas coletadas no duodeno, nas sobras e alimentos. As amostras utilizadas para a estimativa do FDNi foram moídas em moinho com peneira de 2 mm e incubadas in situ por 288 horas, conforme recomendado por Valente et al. (2011). O cobalto foi analisado em espectrofotômetro de absorção atômica de acordo com o método descrito por Kimura & Miller (1957).

2.2.3 Cálculos

O fluxo duodenal foi calculado baseado no sistema único ou duplo de marcação das fases das digestas utilizando a técnica de reconstituição descrita por Faichney (1975). As avaliações do fluxo duodenal utilizando o sistema único consideraram o FDNi como marcador e para o sistema duplo consideraram o cobalto como marcador da fase líquida e o FDNi da fase sólida.

A digestibilidade ruminal dos constituintes foi calculada da seguinte forma:

$$DR_x = \frac{C_x - FD_x}{C_x}$$

Em que: DR_x = digestibilidade ruminal de X (g/Kg de MS); C_x = consumo de X (g/dia); FD_x = fluxo duodenal verdadeiro de X (g/dia); e X = MO e FDN.

Já a taxa de passagem calculada como sendo a relação entre fluxo ruminal de MS (g/dia) e massa ruminal de MS (g/dia; Batista, 2016).

Durante o período experimental, os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado e receberam uma única dieta durante toda fase de crescimento I e outra dieta durante toda fase do crescimento II (Tabela 1). Para cada fase as dietas foram formuladas à base de milho e farelo de soja, seguindo as recomendações nutricionais propostas pelo NRC (2012). A ração e a água foram fornecidas *ad libitum*.

2.2.4 Análise estatística

O experimento foi desenhado e analisado em delineamento quadrado latino 6×6 fatorial incluindo os efeitos fixos dos tratamentos (dietas e marcadores) e os efeitos aleatórios do animal e período experimental.

As variáveis mensuradas foram avaliadas pelo modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + M_i + F_j + N_k + FN_{jk} + FNM_{ijk} + A_l + P_m + \epsilon_{ijklm}$$

Em que: Y_{ijklm} = variável resposta mensurada no animal l , durante o período m , submetido ao tratamento jk utilizando o sistema marcado de fases i ; μ = constante geral; M_i = efeito do sistema marcador de fases i (efeito fixo); F_j = efeito da fonte proteica j (efeito fixo); N_k = efeito do nível de proteína k (efeito fixo); FN_{jk} = interação entre a fonte proteica j e o nível de proteína k (efeito fixo); FNM_{ijk} = interação entre a fonte proteica j , o nível de proteína k e o marcador i (efeito fixo); A_l = efeito do animal l (efeito

aleatório); P_m = efeito do período experimental m (efeito aleatório); e ε_{ijklm} = erro aleatório não-observável, pressuposto de distribuição normal.

Os resultados foram avaliados quanto à homocedasticidade das variâncias e normalidade dos dados, atendidas as premissas foi efetuada a análise de variância por meio do procedimento MIXED do pacote estatístico SAS® (Statistical Analysis System), versão 9.0 para Windows. As médias dos tratamentos são estimadas utilizando-se o “LSMEANS” e a comparação entre elas, quando necessária, realizada por meio do teste de Tukey com nível de probabilidade de 5%.

2.3 Resultados

A fonte proteica afetou o fluxo duodenal de MS e nutrientes, sendo que os animais alimentados com as dietas contendo DDG (Grãos secos por destilação oriundo do processamento do milho com 13% e 10% PB, respectivamente) tiveram maiores fluxos diários de FDN (0,730 e 0,577; $P < 0,01$). A interação nível proteico, fonte e sistema de marcadores afetou o fluxo de FDN ($P = 0,037$) sendo que as fontes proteicas com diferentes níveis proteicos foram semelhantes entre si, sendo que apenas a Ureia (10 e 13%) não apresentou semelhança entre si. Não houve efeito significativo dos níveis e fontes de proteína, dos marcadores e interações (fontes \times níveis e níveis \times fontes \times marcadores) sobre o fluxo duodenal de MS e MO ($P > 0,05$; Tabela 2).

Tabela 2. Fluxo duodenal de MS e nutrientes utilizando diferentes métodos de marcadores (simples ou duplo) em bovinos Nelore recebendo dietas de alto grão com diferentes fontes de nitrogênio.

	Dietas						Sistema Marcador			P-valor				
	13% Proteína Bruta			10% Proteína Bruta			Simples	Duplo	EPM ¹	NP	FP	NP × FP	SM	NP × FP × SM
	Ureia	Glúten	DDG	Ureia	Glúten	DDG								
Fluxo duodenal														
MS, kg/dia	2,74	2,60	2,73	2,49	2,42	3,03	2,59	2,74	1,12	0,879	0,542	0,643	0,539	0,796
FDN, kg/dia	0,354 ^c	0,367 ^b	0,730 ^a	0,389 ^{ab}	0,429 ^b	0,577 ^a	0,483	0,466	0,288	0,774	<0,01	0,261	0,794	0,037
MO, kg/dia	2,32	2,25	2,36	2,17	2,10	2,69	2,28	2,35	1,01	0,967	0,499	0,626	0,737	0,853

DDG = Grãos secos por destilação oriundo do processamento do milho; ¹EPM = Erro padrão das médias; NP = Níveis de PB; FP = Fonte de PB; SM = Sistema de marcadores.

^{a,b,c} Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Houve efeito de fonte proteica e interação nível e fonte proteica sobre a digestibilidade ruminal de MS e nutrientes, sendo que os animais alimentados com as dietas contendo DDG (Grãos secos por destilação oriundo do processamento do milho com 13%) tiveram menor digestibilidade ruminal de FDN (61,7 %; $P < 0,01$) em comparação a dieta contendo glúten, o qual teve média de 71,3% de digestibilidade ruminal. Não houve efeito significativo dos níveis e fontes de proteína, dos marcadores e interações níveis \times fontes e níveis \times fontes \times marcadores sobre o fluxo duodenal de MS e MO ($P > 0,05$; Tabela 3).

A taxa de passagem ($\% \cdot h^{-1}$) foi afetada pela fonte proteica e pelas interações níveis \times fontes e níveis \times fontes \times marcadores ($P = 0,044$, $P < 0,01$ e $P = 0,042$, respectivamente), a menor taxa de passagem foi obtida nas dietas de DDG com 13% de PB ($0,78\% \cdot h^{-1}$; Tabela 3).

Tabela 3. Digestibilidade ruminal e taxa de passagem utilizando diferentes marcadores em bovinos Nelore recebendo dietas de alto grão com diferentes níveis e fontes de proteína.

Item	Dietas						Sistema Marcador			P-valor				
	13% Proteína Bruta			10% Proteína Bruta			Simple	Duplo	EPM ¹	NP	FP	NP × FP	SM	NP × FP × SM
	Ureia	Glúten	DDG	Ureia	Glúten	DDG								
Digestibilidade ruminal														
MS, %	47,5	53,1	49,2	48,0	59,8	55,6	53,7	50,7	13,4	0,222	0,172	0,745	0,398	0,541
FDN, %	68,6a	74,3a	54,4b	59,0ab	69,3a	69,0a	65,0	66,5	15,2	0,996	<0,01	<0,01	0,695	0,588
MO, %	54,4	57,8	54,0	53,2	63,8	58,5	57,7	56,3	12,8	0,386	0,277	0,702	0,682	0,660
Taxa de passagem														
MS, %.h ⁻¹	1,47a	1,67a	0,78d	1,00b	1,07b	1,29bc	1,18	1,25	0,504	0,111	0,044	<0,01	0,544	0,042

DDG = Grãos secos por destilação oriundo do processamento do milho; ¹EPM = Erro padrão das médias; NP = Níveis de PB; FP = Fonte de PB; SM = Sistema de marcadores.

^{a,b,c,d} Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

2.4 Discussão

O método marcador para estimativa de fluxo ruminal de MS e nutrientes é controverso (Rotta et al., 2014). O sistema único de marcador (FDNi) tem sido utilizado de forma frequente em estudos no Brasil (Rotta et al., 2014). A hipótese inicial deste estudo em que o uso do sistema único de marcadores poderia subestimar o fluxo ruminal e superestimar os resultados de digestibilidade ruminal de MS e nutrientes em dietas com alta quantidade de grãos não foi confirmada. Ambos, os sistemas de marcadores produziram resultados similares de fluxo e digestibilidade ruminal. De acordo com Huhtanen et al. (1994) a utilização do sistema de duplo marcadores (Co-FDNi) produz estimativas de fluxo duodenal com menor variabilidade, o que sugere que as estimativas obtidas com o sistema duplo sejam mais acuradas em comparação ao sistema simples, sobretudo em situações onde a amostra duodenal não é representativa. Há a possibilidade de que houve êxito na amostragem de digesta duodenal neste estudo, o que poderia explicar a ausência de diferença entre os sistemas simples e duplo testados.

O DDG é um subproduto sólido da indústria do etanol que utiliza o milho como matéria prima. É caracterizado por conter maiores teores de fibra em detergente neutro (Da Silva et al., 2015). Tais características podem explicar os maiores fluxos de FDN observados nos tratamentos contendo DDG.

A taxa passagem está relacionada à ingestão e massa ruminal de MS (Chalupa et al., 1986), bem como com a proporção de forragem na dieta e digestibilidade ruminal de FDN (MERTENS & ELY, 1982). A menor taxa de passagem observada no tratamento DDG COM 13% PB provavelmente está relacionada ao maior teor de FDN do DDG o que pode ter conferido um maior tempo de retenção ruminal dessa dieta somada a menor digestibilidade ruminal observada para as dietas contendo DDG. De forma geral,

os resultados de taxa de passagem desse estudo estão próximos aos observados por Da Silva et al. (2007).

Baseado nos resultados obtidos neste estudo, pode se estabelecer a hipótese de que o nível de 10% PB poderia ser utilizado em dietas de alto concentrado para bovinos em confinamento. Contudo, há a necessidade da realização de ensaios de desempenho animal para confirmação dessa hipótese. Caso confirmada, os benefícios econômicos e ambientais são eminentes.

2.5 Conclusão

O sistema de marcadores simples (FDNi) e duplo (Co-FDNi) não afeta o fluxo e digestibilidade ruminal de MS e nutrientes em bovinos Nelore alimentados com dietas de alto grão contendo diferentes níveis e fontes de proteína.

2.6 Referências Bibliográficas

ALLEN, M. S.; LINTON, J. A. V. In vivo methods to measure digestibility and digestion kinetics of feed fractions in the rumen. **Simpósio Internacional de Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes**. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. p.72–89. 2007.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**, 15th ed. Association of Official Analytical Methods Inc., Washington, D.C., USA, 1990.

BATISTA, E. D.; DETMANN, E.; TITGEMEYER, E. C.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; PRATES, L. L.; ... PAULINO, M. F. Effects of varying ruminally undegradable protein supplementation on forage digestion, nitrogen metabolism, and urea kinetics in Nelore cattle fed low-quality tropical forage. **Journal of animal science**, p. 201-216, 2016.

BERCHIELLI, T. T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C. L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 830-833, 2000.

BERCHIELLI, T. T.; DE OLIVEIRA, S. G.; DE VEGA GARCIA, A. Considerações sobre os principais indicadores utilizados em estudos de nutrição com ruminantes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, 2008.

CHALUPA, W.; VECCHIARELLI, B.; ELSER, A. E.; KRONFELD, D. S.; SKLAN, D.; PALMQUIST, D. L. Ruminant fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, p.1293-1301, 1986.

DA SILVA, M. M. C.; RODRIGUES, M. T.; FLORENTINO, C. A.; RODRIGUES, R. H. B.; LEÃO, M.I.; DE MAGALHÃES, A. C. M.; DA SILVA MATOS, R. Efeito da suplementação de lipídios sobre a digestibilidade e os parâmetros da fermentação ruminal em cabras leiteiras¹. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 246-256, 2007.

DA SILVA, J. R.; NETTO, D. P.; SCUSSEL, V. M. Grãos secos de destilaria com solúveis, aplicação em alimentos e segurança—uma revisão. **Pubvet**, p. 190-270, 2015.

FAICHNEY, G. J. The use of markers to partition digestion within the gastrointestinal tract of ruminants. In: Digestion and metabolism in the ruminant. In: **Proceedings of fourth International Symposium on Ruminant Physiology**, Sydney, Australia, pp. 277-291, 1975.

HUHTANEN, P.; KAUSTELL, K.; JAAKKOLA, S. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. **Animal Feed Science and Technology**, p. 211-227, 1994.

KIMURA, F. T.; MILLER, V. L. Improved determination of chromic oxide in calf feed and feces. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p.216-216, 1957.

MERCHEN, N. R. Digestion, absorption and excretion in ruminants. **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**, p. 172, 1988.

MERTENS, D. R.; ELY, L. O. Relationship of rate and extent of digestion to forage utilization-a dynamic model evaluation. **Journal of Animal Science**, p. 895-905, 1982.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of corn grain conservation method on ruminal digestion kinetics for lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, p.184-194, 2003.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. C. D.; PIRES, A. V.; FERNANDES, J. J. D. R.; SUSIN, I.; SANTOS, F. A. P.; NASCIMENTO FILHO, V. F.; ARAÚJO, R. C. D. Avaliação de indicadores para estimar a digestibilidade dos nutrientes em novilhos Nelore alimentados com dietas contendo alto teor de concentrado e fontes nitrogenadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p.749-758, 2004.

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

ROTTA, P. P.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; COSTA E SILVA, L. F.; PAULINO, M. F.; MARCONDES, M. I.; LOBO, A. A. G.; VILLADIEGO, F. A. C. Digesta sampling sites and marker methods for estimation of ruminal outflow in bulls fed

different proportions of corn silage or sugarcane. **Journal of animal science**, p. 2996-3006, 2014.

TITGEMEYER, E. C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal of Animal Science**, p. 2235-2247, 1997.

UDÉN, P.; COLUCCI, P. E.; VAN SOEST, P. J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. **Journal Science Food Agricultural**, p.625-632, 1980.

VALENTE, T. N. P.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A. C.; VALADARES FILHO, S. C.; GOMES, D. I.; FIGUEIRAS, J. F. Evaluation of ruminal degradation profiles of forages using bags made from diferente textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 2565-2573, 2011.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, p.3583–3597, 1991.

WICKERSHAM, T. A.; COCHRAN, R. C.; TITGEMEYER, E. C.; FARMER, C. G.; KLEVESAHL, E. A.; ARROQUY, J. I.; ... GNAD, D. P. Effect of postruminal protein supply on the response to ruminal protein supplementation in beef steers fed a low-quality grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, p.19-36, 2004.

YAHAGHI, M., LIANG, J. B.; BALCELLS, J.; VALIZADEH, R.; SERADJ, A. R.; ALIMON, R.; HO, Y. W. Effect of substituting barley with sorghum on starch digestion, rumen microbial yield and growth in Iranian Baluchi lambs fed high concentrate diets. **Animal Feed Science and Technology**, p. 96-105, 2013.